



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS

# HISTOLOGÍA Y BIOLOGÍA DEL DESARROLLO

MANUAL DE PRÁCTICAS



***BIOLOGÍA: PLAN DE ESTUDIOS 2008***

***Nombre del Profesor: María Isabel Montes Pérez***

# HISTOLOGÍA Y BIOLOGÍA DEL DESARROLLO

---

## CONTENIDO

No. de práctica	Nombre de la práctica	No. Página
	Reglas de seguridad en el laboratorio	3
1	Técnica anatómica. Técnicas para embriología e histología.	5
2	Técnica de coloración hematoxilina-eosina (H-E) y tejido epitelial de revestimiento I.	31
3	Tejido epitelial II: glandular exocrino y técnica tricrómica de Gallego.	36
4	Epitelio glandular endócrino y técnica tricrómica de Mallory.	39
5	Tejido conectivo I. Técnica de Sylven para la demostración metacromática de mucopolisacaridos sulfatados (Técnica de Lison).	42
6	Tejido conectivo II. Tejido linfoide.	50
7	Tejido conectivo III. Tejido sanguíneo.	53
8	Tejido muscular.	58
9	Tejido nervioso. Técnica general del Río-Ortega con carbono de plata amoniacal piridinado.	59
10	Gametogénesis y fecundación.	61
11	Segmentación, gastrulación y neurulación.	77
	Literatura	89

## **REGLAS DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO**



- Localizar todos los equipos de seguridad como extinguidores, lavador de ojos, regaderas, etc.
- Proteger los ojos si trabajará con reactivos corrosivos, peligrosos o con luz ultravioleta.
- Usar bata de laboratorio, lo protegerá del material corrosivo o blanqueadores.
- Nunca pipetee con la boca o pruebe algún reactivo.
- No fumar, comer o beber en el laboratorio.
- El pelo largo de preferencia recogerlo.
- No usar sandalias con los pies descubiertos.
- No colocar los libros o cuadernos en el área de trabajo.
- Reporte cualquier daño o accidente en el laboratorio.
- Pregunte al maestro cualquier duda en el manejo de reactivos y/o equipos.
- Todos los reactivos pueden ser un riesgo para la salud, trabaje con cuidado.
- La mayoría de las prácticas de este laboratorio usan reactivos cancerígenos o tóxicos, así como agentes potencialmente patógenos, trabaje con seriedad y cuidado.
- En caso de contaminarse con algún reactivo lavarse con agua rápidamente y avisar al maestro.

## P R O L O G O

*El presente manual se ha integrado, con base en las experiencias adquiridas de los profesores y técnicos del Laboratorio de Histología y Embriología de la Facultad de Ciencias; así como las sugerencias que a través del tiempo, han hecho los alumnos; por lo que nuestro objetivo es facilitar la comprensión, de los conocimientos adquiridos en el curso de Histología y Biología del Desarrollo.*

*El manual consta del programa del curso de histología y biología del desarrollo y de 11 prácticas; las cuales integran técnicas que permiten resolver problemas de tipo histológico de vertebrados aplicable a invertebrados, además de asociar conocimientos con técnicas aplicadas a biología del desarrollo.*

*El manual ha sido desarrollado por la profesora M. en C. Olivia Margarita Tapia Vázquez en colaboración con M. en C. María Isabel Montes Pérez, Biol. Deyanira Rodarte Venegas y Téc. Lab. Eva Angelina Inda Presichi.*

## SESIÓN TEÓRICO PRÁCTICA No. 1 TÉCNICA ANATÓMICA, TÉCNICAS PARA EMBRIOLOGIA E HISTOLOGIA

### INTRODUCCIÓN.

En la actualidad el estudio de la Histología y de la Embriología no sólo comprende estudios morfológicos, sino también una serie de métodos y técnicas, asociados a datos y conceptos interdisciplinarios, fundamentalmente con la genética, la biología celular y molecular, que permiten integrar nuevas técnicas para trabajar en el avance de la teoría del desarrollo.

Sin embargo es importante tener en cuenta que la embriología moderna ahora biología del desarrollo, sólo puede avanzar, basándose en el conocimiento que proporciona la embriología descriptiva; por lo que el propósito de la presente práctica, es que el alumno obtenga conocimiento en relación a las técnicas que deberá aplicar, para conocer las primeras fases del desarrollo ontogénico así como, la metodología para el análisis histológico.

Para la adquisición del conocimiento anatómico, debemos principiar por aprender la terminología más común; así como efectuar una disección (como ejemplo de técnica anatómica), empleando animales de laboratorio, auxiliándose con modelos y láminas de libros.

Damos el nombre de técnica Histológica a la serie de procedimientos que nos van a permitir realizar el estudio microscópico de un tejido o de sus componentes celulares (técnica citológica). De tal manera que las muestras obtenidas o fracciones de los órganos deberán ser representativos, debiendo ser reducidos a fracciones de tejidos de mínimo 5 micras y máximo 15, de tal forma que se permita ser tan delgada y transparente que al utilizar técnicas de coloración sea posible su análisis microscópico; por lo tanto en forma general, diremos que la técnica histológica comprende varias etapas, objetivo de la presente práctica.

### OBJETIVOS.

- Identificará los diferentes planos de simetría en los organismos de estudio.
- Identificará las cavidades anatómicas; así como los órganos, aparatos y sistemas localizados en ellas.
- Determinará la importancia de la técnica de disección.
- Conocerá y aplicara correctamente algunos métodos de estudio aplicables a la histología y biología del desarrollo.
- Conocerá el manejo de los diferentes aparatos utilizados para la técnica Histológica.
- Determinará el cuidado que se le deberá tener a cada uno de los diferentes aparatos utilizados.
- Establecerá las ventajas y desventajas en el manejo de los diferentes tipos de Micrótomos.
- Establecerá las ventajas y desventajas de la obtención de cortes por inclusión en parafina y por congelación.
- Conocerá y aplicara correctamente, algunos métodos de estudio de la embriología.

## MATERIAL POR EQUIPO

### 1.-. TÉCNICA ANATÓMICA:

Material:

- Charola de disección
- Estuche de disección
- Tijeras rectas
- Bisturí
- Un embudo de 15 cm. De diámetro
- Algodón
- Frascos Gerber
- Un frasco gotero ámbar con su respectivo gotero
- Alfileres
- Cuatro cajas de petri chicas
- Un matraz con agua destilada
- Un frasco con cloroformo
- Guantes
- Etiquetas
- Lápiz
- Bibliografía

Reactivos

- Solución de formalina buffer 10%

## TRABAJO PRÁCTICO

### A. TÉCNICA PARA DISECTAR

- 1.- Tomar al animal (en este caso rata), colocando la palma de la mano sobre el dorso, con el dedo pulgar alrededor del cuello, jalarlo con firmeza sin apretarlo, no jalarlo de la cola.
- 2.- Colocarlo debajo del embudo.
- 3.- Cubrir el orificio del tallo del embudo con un algodón.
- 4.- Colocar dentro del embudo un algodón con cloroformo y esperar que el animal se muera.
- 5.- Localice los planos de simetría.
- 6.- Colocar la rata con el dorso sobre la tabla de disección, atándolo o fijándolo con alfileres de sus patas, con las extremidades extendidas.
- 7.- Observe las regiones corporales.
- 8.- Hacer una incisión sobre la línea media desde el pubis (sin cortar órganos genitales), hasta el cuello, después hacer cortes hacia las extremidades, separar la piel. Observar el tejido conjuntivo que une piel y músculo (fascia).
- 9.- Corte los músculos abdominales desde el pubis hasta el diafragma.
- 10.- Esquematice los aparatos observados en la cavidad abdominal.
- 11.- Abra la cavidad torácica y esquematice los aparatos contenidos en ella.
- 12.- Efectúe la extirpación de un aparato por persona y llevarlo a fijación.

## **B. TÉCNICA HISTOLÓGICA.**

1.- Obtención de la pieza (realizado en la práctica No. 1)

2.- Fijación (realizado en la práctica No. 1)

3. LAVADO DE LA MUESTRA.

El agente dependerá del fijador que se haya usado y varía desde el agua corriente, por ejemplo para eliminar el formaldehído, hasta el alcohol - yodatado para eliminar el bicloruro de mercurio o bien el alcohol del 70% para eliminar el Bouin.

## **4. DESHIDRATACIÓN.**

Se emplearán como deshidratantes principales el alcohol etílico, acetona, alcohol isopropílico, etc. La deshidratación debe ser cuidadosamente controlada para evitar una retracción excesiva del material. El alcohol etílico en concentraciones progresivas del 15% hasta alcohol absoluto, es el agente más utilizado; sin embargo dependerá del tipo de organismo y órgano la técnica de deshidratación a utilizar.

## **5. TRANSPARENTACIÓN.**

Antes de pasar las piezas a la parafina, se hace necesario “transparentarlas” con una sustancia que sustituya al alcohol y las prepare para recibir a la parafina. Entre las más utilizadas tenemos al xileno, tolueno, benceno, cloroformo, etc.

NOTA: Deberá tenerse especial cuidado en este paso; ya que se pueden quemar las piezas.

## **6. INCLUSIÓN EN PARAFINA.**

La inclusión de las piezas en una parafina es necesaria, pues cuando ésta ha solidificado, nos provee de un medio lo suficientemente duro y resistente para mantener intactos todos los constituyentes tisulares, cuando los cortamos en “rebanadas” cuyo grosor medimos en micrómetros. Al igual que en el caso de la deshidratación, la inclusión se hace gradualmente usando al principio una parafina blanda (punto de fusión de 52°-54° C) una mediana (54°-56° C) y finalmente el bloque definitivo lo hacemos con una parafina más dura (56°-58° ó 60° C). La inclusión definitiva puede llevarse a cabo con ameraffin o paraplast.

## **7. OBTENCIÓN DE CORTES.**

La obtención de cortes se realiza mediante el uso de aparatos llamados Micrótomos, los cuales mediante una cuchilla pueden obtenerse cortes del orden de tres hasta 25 micras.

Los micrótomos más utilizados, son el tipo Minot para inclusiones en parafina, el micrótopo de congelación y el Criostato, para obtener cortes mediante la congelación de una fracción de órgano.

## **RESUMEN DE POSICIÓN ANATÓMICA, REGIONES Y TÉRMINOS DE DIRECCIÓN EN VERTEBRADOS.**

Todos los animales usados en el laboratorio para diversos fines científicos deben ser manejados con extremo cuidado, evitando con esto, posibles traumas físicos, por mordeduras, rasguños o

bien una contaminación. Los animales más comúnmente usados en anatomía son: conejo, rata, ratón, cobayo, hámster. Para nuestro curso es importante conocer la anatomía de éstos y otros animales y compararla con la anatomía humana.

Para obtener una mejor disciplina en el estudio anatómico de estos animales, es necesario conocer una serie de términos anatómicos, posiciones de ejes planos. Es necesario que la imagen que se tenga del cuerpo sea la de un organismo vivo, funcional y dinámico para lograr una comprensión satisfactoria tanto de su estructura como de su función.

Todos los términos descriptivos que proporcionan información para la localización de estructuras en relación con las demás, se definen suponiendo que el cuerpo está de pie con los ojos viendo al horizonte, los brazos a los lados con las palmas hacia delante y los pies en sentido paralelo con los talones juntos. Para los otros animales de los mencionados, la posición anatómica es, parado sobre las cuatro extremidades y con la cabeza al frente. Los términos que se usan son:

- 1.- Anterior o ventral.- La parte delantera o la parte del vientre.
- 2.- Posterior o dorsal.- La parte de atrás del cuerpo. Los dos términos anteriores son aplicables al hombre. En otros animales es conocida como lomo. Para los otros animales es anterior o craneal la que se refiere a la región dirigida hacia la cabeza y posterior o caudal se refiere a la región dirigida hacia la cola o cauda.
- 3.- Superior.- Por encima o algo situado en una parte más alta en el cuerpo que el punto de referencia original.
- 4.- Inferior.- Por debajo o algo situado en una parte más baja del cuerpo que el punto de referencia original.
- 5.- Medial.- Una línea que va desde el centro de la frente hasta un punto entre los dos pies, define la línea central del cuerpo. Este término se usa para indicar el movimiento hacia la línea media.
- 6.- Lateral.- Cuando una estructura está alejada de la línea central en dirección a los lados. Lateral significa movimiento alejándose de la línea central.
- 7.- Extremo.- “fuera de” Generalmente se usa con referencia a la superficie más alejada del interior de un órgano hueco.
- 8.- Interno.- “dentro de” Estructuras que se encuentran dentro del cuerpo o más cerca de la parte interior de un órgano hueco.
- 9.- Superficial.- Algo que está más cerca de la superficie externa del cuerpo. Tiene significado similar a externo pero es un término preferible cuando se refiere a una estructura que se acerca a la superficie, pero no la alcanza.
- 10- Profundo.- Algo que está alejado de la superficie indica que una estructura se encuentra cubierta por otras.
- 11- Proximal.- Definición estricta significa, más cerca del punto de unión o de la línea media.
- 12- Distal.- Definición estricta, significa más alejado del punto de unión o de la línea media.
- 13.-Parietal.- Usado para descubrir las paredes que encierran la cavidad del cuerpo o que rodean los órganos.
- 14.-Visceral.- Órganos colocados en el interior de las cavidades.

## PLANIMETRIA

El cuerpo anatómico debe estudiarse aplicando cortes en diversos planos así se tiene:

- 1.- Un corte que divide al cuerpo en mitades de la izquierda es un plano o medio sagital.
- 2.- Cualquier plano paralelo al plano medio es parasagital.
- 3.- Un corte que divide al cuerpo en mitades ventral y dorsal es un plano ventral o coronal.
- 4.- Los planos transversales u horizontales se encuentran en ángulo recto con los otros; dividen al cuerpo en parte craneal y caudal. Se habla de corte longitudinal cuando es paralelo a la dimensión más larga del cuerpo u órgano. Un corte del cuerpo u órgano es perpendicular al corte longitudinal.

## CAVIDADES

El organismo humano, posee ciertas características fácilmente distinguibles o identificables, que pueden servir como punto de referencia para el estudio de las estructuras que lo componen, así por ejemplo, presenta simetría bilateral; otra característica es que recuerda un tubo dentro de otro tubo. El tubo externo es la pared del cuerpo, mientras que el interno es el tubo visceral; la cavidad que los separa está formada por la cavidad del cuerpo o celómica.

La cavidad del cuerpo o celómica es una cavidad ventral y está limitada por la pared del cuerpo. Esta pared comprende la piel, los tejidos conjuntivos, los huesos, los músculos y las membranas serosas. En los mamíferos durante la vida embrionaria, esta cavidad se subdivide por medio de una partición músculo membranosa en forma de cúpula, el diafragma, en las cavidades torácica y abdominal. La cavidad pericárdica también se desarrolla embriológicamente a partir del celoma.

La cavidad torácica contiene la tráquea, los bronquios, los pulmones, el esófago, los nervios, el corazón y los grandes vasos sanguíneos y linfáticos conectados con el corazón. También contiene ganglios linfáticos y el timo.

La cavidad torácica está tapizada por la pleura, que la divide en las cavidades pleurales derecha e izquierda, cada una de las cuales contiene un pulmón. Los otros órganos torácicos están en el mediastino, entre estas cavidades pleurales.

La cavidad abdominal contiene el estómago, el hígado, la vesícula biliar, el páncreas, el bazo, los riñones y los intestinos delgado y grueso.

La cavidad abdominal está tapizada por el peritoneo que rodea la cavidad peritoneal. Los riñones se consideran extra peritoneales puesto que están detrás de la serosa peritoneal.

La cavidad pélvica es la parte de la cavidad abdominal que está por debajo de una línea imaginaria trazada entre las crestas más salientes del hueso sacro de la cadera. Está rodeada de modo más completo por paredes óseas que el resto de la cavidad abdominal. Está dividida por un anillo pélvico estrecho, que corresponde a la entrada de la pelvis, en la pelvis mayor o falsa por arriba, y la pelvis menor o verdadera, por abajo. La cavidad pélvica mayor, o falsa, es la parte más inferior de la cavidad peritoneal y contiene partes de los órganos señalados en la cavidad

abdominal. La pelvis menor, o verdadera, contiene la vejiga, el recto y algunos de los órganos de la reproducción. La pelvis verdadera, en general, está por debajo del peritoneo.

La cavidad dorsal está dentro de los límites de la pared del cuerpo dorsal. Contiene el cerebro y la médula espinal. La cavidad dorsal es una cavidad ósea continua formada por los huesos del cráneo y las vértebras, está tapizada por las meninges del cerebro y de la médula espinal.

Las cavidades orbitarias contienen los ojos, los nervios ópticos, los músculos de los globos oculares y el aparato lagrimal.

Las fosas nasales están llenas con las estructuras que forman la nariz.  
La cavidad bucal contiene la lengua y los dientes.

## **TÉCNICAS ANATÓMICAS.**

Para llevar a cabo el estudio microscópico y macroscópico de las estructuras de un organismo, se recurre a diferentes procesos conocidos como técnicas anatómicas.

Entre las primeras técnicas que podemos mencionar está la disección, la cual requiere de la selección previa de organismos, prefiriéndose ejemplares jóvenes y delgados.

Si se quiere conservar el cadáver se fijará inmediatamente después del sacrificio; si no es factible, se conservará en refrigeración a 4°C, máximo.

Las sustancias más recomendables como líquidos de embalsamiento tienen como ingrediente formalina, fenol líquido, glicerina, alcohol metílico y agua. Cada ingrediente tiene sus características; así la formalina es un fijador que a altas concentraciones endurece los tejidos, el fenol los esteriliza, los ennegrece y a altas concentraciones daña a las personas que trabajan con él. La glicerina impide la desecación del cadáver. El alcohol metílico tiene gran poder de difusión.

Una forma de fijar tejidos es aplicando estos a través de las arterias femorales y carótidas. Generalmente se introduce una cantidad de fijador igual a la cantidad de sangre que el espécimen poseía en vida.

## **TÉCNICA DE INYECCIÓN DE MATERIAL SOLIDIFICANTE.**

Es una técnica que se usa principalmente en la preparación de material para museos. Las sustancias inyectables pueden ser parafina, resina, gelatina, almidón. En el caso de la parafina inyectada es necesario calentar el cadáver, sumergiéndolo en agua caliente. Normalmente ésta técnica se emplea para estudiar vasos sanguíneos o vasos linfáticos, sin embargo, estos se hacen más aparentes por medio de látex. El cual les da mayor resistencia.

Los animales de laboratorio deben cuidarse detalladamente en todos sus aspectos; es decir, deben procurar condiciones ambientales adecuadas al animal de experimentación, por lo tanto

es importante usar cuartos con temperatura y ventilación apropiadas, jaulas, bebedores, comederos, camas, alimentos, etc.

Otro de los factores que determinan el buen éxito de un trabajo experimental son la manipulación y marcaje de estos animales; por lo tanto se hará una breve reseña sobre estos puntos.

1.- Conejo.- Para sacar al conejo de la jaula hay que sostenerlo de las orejas con una mano y con la otra mano tomarlo de las patas posteriores; para transportarlos, hay que poner el dedo índice entre las orejas y con los otros dedos controlar la cabeza; la otra mano que es la que lleva el peso, hay que colocarla por debajo de la cabeza.

2.- Rata.- No se debe jalar nunca de la cola sino poner la palma de la mano sobre el dorso del animal, con el dedo pulgar alrededor del cuello y por debajo de la boca con firmeza y sin apretarlo.

3.- Ratón.- Este puede ser levantado de la cola, tomándolo de la base de ésta, no de la punta. Para inmovilizarlo tomarlo con los dedos pulgar e índice alrededor del cuello, volver la mano y sostenerlo de la cola con el tercer o cuarto dedo.

4.- Cuyo.- Se maneja en forma parecida a las ratas.

5.- Hámster.- Se deben manejar entre las dos palmas de las manos sin apretarlos.

El marcaje de los animales puede ser muy variado; los marcadores deben ser sencillos, permanentes, fáciles de aplicar y fácilmente descifrables e inofensivos para el animal. Entre los más empleados están los colorantes, la perforación de las orejas, tatuajes, bandas para las ratas, clips para las alas y collares.

## **CONSERVACIÓN DE EMBRIONES.**

La criobiología es la ciencia que trata el comportamiento de los seres vivos o de sus constituyentes a muy bajas temperaturas. La preservación del material biológico tiene por objeto mantenerlo en estado viable para que pueda ser utilizado en trasplantes y pueda llevar a cabo su función fisiológica después de la misma.

Las técnicas de crio conservación son útiles en numerosos campos científicos, por lo que uno de los avances importantes es la transferencia de embriones para la conservación temporal recobrados de donadores antes de ser transferidos o congelados; lo cual se logra en un medio de Solución Buffer Fosfato (PBS), suplementado con 10% suero, una fuente de proteínas que reduce la tensión superficial favorece la sedimentación, evita que los embriones se adhieran a algún elemento utilizado para su manipulación, incorpora sustancias promotoras del crecimiento que favorecen su desarrollo, absorbe e inhibe metales pesados tóxicos que puedan estar presentes en el medio. La viabilidad embrionaria declina después de 12 horas (Palma y Brem, 1993).

Los embriones pueden ser conservados, in vitro, para su posterior transferencia mediante: Cultivo a temperatura ambiente, refrigeración entre 0°C a + 4°C o congelación a -196°C. Método desarrollado por Chupín (1986). Los embriones son deshidratados parcialmente como ocurre en el método estándar, luego se les deshidrata nuevamente colocándolos en una solución mixta de glicerol y sucrosa. Esta segunda deshidratación deja a los embriones en condiciones de ser enfriados rápidamente. Las pajuelas son colocadas en el cuello del termo de nitrógeno, durante 5 minutos, posteriormente son sumergidas al nitrógeno líquido. Los resultados obtenidos fueron dispares, según el estadio de desarrollo del embrión congelado. Martino y col. (1996) realizaron modificaciones, congelando ovocitos en gradillas de microscopio electrónico con 1 µl de etilenglicol (EG) sumergiéndolas inmediatamente en nitrógeno líquido. Obteniendo tasas de sobrevivencia semejantes a los de ovocitos expuestos al EG, pero sin congelamiento. Ahora se sabe que las nuevas técnicas de crioconservación ofrecen nuevas esperanzas a las parejas que tienen problemas de fertilidad. Estas novedades de las técnicas de crio conservación pueden utilizarse no solo en humanos, sino también en la ganadería. Su principal utilidad se halla en el mantenimiento de bancos de tejidos ováricos y poblaciones de ganado. Por lo que a los animales se refiere, sirve de apoyo a los esfuerzos científicos para proteger a especies en peligro de extinción.

Fig.1. Esquematiza e indica los planos simétricos y terminología anatómica utilizada en un mamífero (vaca).

Fig.2. Esquematiza las cavidades y terminología anatómica de un ave.

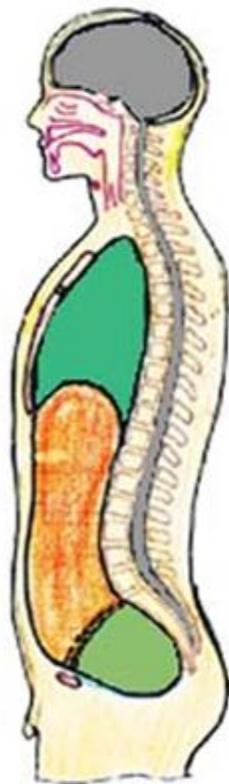


Fig. 3. Indica las cavidades corporales. Sección medial

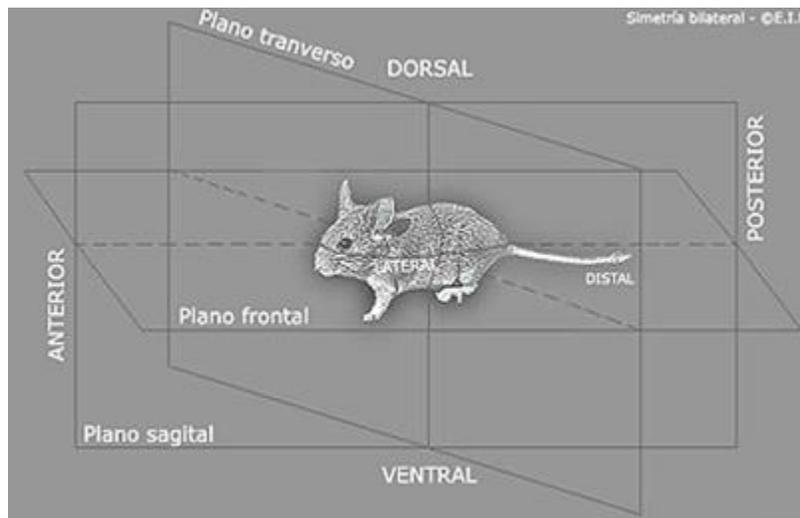


Fig.4. Planos de sección o simetría

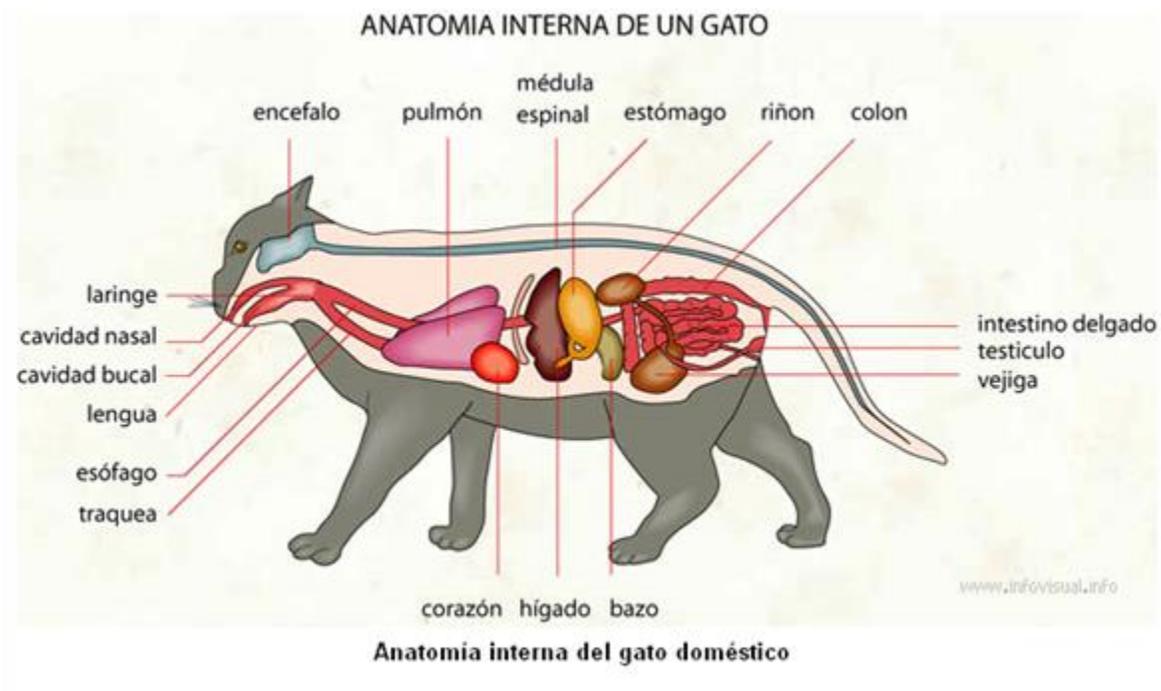


Fig. 5. Anatomía de un gato.

Fig. 6. Esquematiza la anatomía interna de un pez.

Fig. 7 Esquematiza los planos de simetría de un embrión de humano.

## **MÉTODOS DE ESTUDIO DE LOS TEJIDOS.**

La observación de un material biológico, se puede hacer en su estado natural (in vivo). Cuando se coloca en condiciones artificiales (in vitro), o bien, después de su muerte (estudios postvitales o postmortem), La selección de las condiciones de observación dependerá del tipo de estudio que se quiera efectuar y como es natural, las técnicas o procedimientos, el material y el equipo a utilizar serán diferentes en cada ocasión.

La observación de células en cultivo o materiales extraídos de un organismo tales como células sanguíneas y espermatozoides, es posible hacer la observación directa usando los microscopios de contraste de fases y de interferencia, o bien, tiñendo al material con colorantes poco tóxicos. Como podemos suponer, este tipo de observación, está condicionada por las características propias del material y se limita a ejemplos en los que por lo general el factor grosor es determinante.

Cuando se trata de estudiar un material después de muerto; por lo general porciones de órganos o tejidos, se recurren a procedimientos más elaborados y lo primero que se debe hacer, es detener los procesos que conducen a su descomposición. Esta operación la conocemos como fijación.

Después de fijado el material se le puede someter a diversos procedimientos al final de los cuales, podremos realizar el estudio microscópico general (técnicas topográficas), de ciertas particularidades estructurales (Técnicas especiales); buscar datos acerca de sus componentes químicos (Técnicas citoquímicas o histoquímicas) o efectuar su estudio ultraestructural (Técnicas de microscopía electrónica o de barrido).

Todas estas manipulaciones, son variaciones de tres pasos fundamentales: la fijación del material, la obtención de fragmentos ó cortes lo suficientemente delgados como para poderlos observar al microscopio y su coloración.

### **1.- OBTENCIÓN DE LA PIEZA.**

Esta debe hacerse lo más rápido posible, después de la muerte del animal, procurando que el fragmento del órgano que se ha tomado no sea mayor de un centímetro por lado.

### **2.- FIJACIÓN.**

Para toda preparación histológica la buena conservación de dicho material va a ser de suma importancia. Entendemos por fijación la acción de “fijar” a los componentes tisulares ó celulares en un momento determinado, deteniendo sus funciones autolíticas y precipitando proteínas, estabilizando una buena fijación, para lograr esto, debemos cubrir los siguientes y principales requisitos.

- a. Prevenir los cambios post-mortem, tales como la autólisis y la putrefacción.
- b. Preservar las estructuras de la manera más cercana a como estas se conservaban en vida.
- c. Endurecer el material lo suficiente como para resistir las manipulaciones subsecuentes.
- d. Aumentar la afinidad por los colorantes que se emplearán para visualizar los diferentes componentes tisulares o celulares.

La fijación la podemos lograr con métodos físicos como el frío, calor o usando sustancias llamadas fijadores. De estas últimas las más usadas son el formaldehído en solución acuosa al 10 %, el alcohol, el ácido acético, el bicloruro de mercurio, el ácido ósmico. Por lo general estas sustancias se utilizan como mezclas fijadoras y no de manera aislada.

## **CUALIDADES DE LOS FIJADORES:**

La primera cualidad de un buen fijador es la capacidad de penetración en los tejidos, de tal manera que el líquido pueda fijar tanto las capas superficiales como las zonas profundas.

El fijador debe producir una coagulación total de las proteínas, pero no es necesario que ésta sea instantánea. La rapidez de acción de un fijador debe ser con el objeto de matar lo más rápidamente posible a las células, la coagulación total, por el contrario, debe producirse secundariamente, a modo de no producir contracciones en los tejidos.

La acidez de un fijador es una cualidad importante, ya que el poder de coagulación o precipitación de la mayoría de los fijadores sólo se lleva a cabo en medio ácido o neutro; un medio alcalino paraliza esta acción inmediatamente.

Finalmente, anotemos que un buen fijador no debe alterar los tejidos, ni dejarlos quebradizos o frágiles, debe dejarlos aptos para ser teñidos selectivamente.

## **CARACTERÍSTICAS DE LOS FIJADORES:**

El fijador da la dureza suficiente para permitir una resistencia a todas las manipulaciones siguientes de los tejidos sin deformarse. El endurecimiento es una operación distinta a la fijación; la mayor parte de los fijadores actuales endurecen suficientemente a los tejidos, pero lo opuesto no es verdad; no todos los líquidos endurecedores son buenos fijadores.

La fijación debe producir, al mismo tiempo, la insolubilidad de los elementos constitutivos de células y tejidos. Es necesario evitar que las estructuras conservadas por el fijador sean destruidas posteriormente por la acción de los líquidos de lavado o las soluciones colorantes; esta estabilidad varía según los fijadores.

De las diversas reacciones entre el fijador y el tejido, resultan también verdaderas diferencias ópticas con modificaciones más o menos grandes en la refringencia de los distintos componentes celulares, resaltando detalles invisibles en el estado vivo, determinando según el reactivo, el mayor o menor éxito en la interpretación.

## **ACCIÓN DEL FIJADOR SOBRE LOS TEJIDOS:**

La manera de actuar de los fijadores, sobre los componentes tisulares, es muy variable y depende de cada fijador en particular; algunos de ellos tienen acciones similares.

El efecto que los fijadores tienen sobre los tejidos vamos a analizarlos basándonos en el formol al 10%, pues es el fijador más ampliamente usado.

Las reacciones del fijador con las proteínas tisulares son numerosas y complejas, ya que puede combinarse con una variedad de grupos diferentes, formando en muchos casos puentes de unión entre ellos. A esta acción, de formar enlaces entre cadenas proteínicas adyacentes, debe el formol su éxito como fijador. Muchas de estas reacciones son reversibles, algunas sumamente lábiles, y un cierto número de reacciones irreversibles.

Lo importante de estas observaciones para la Histología, es que después del tratamiento con formol, seguido del lavado, la mayoría de los grupos activos quedan en condiciones para reaccionar con los reactivos empleados posteriormente.

## **DESVENTAJAS DE LOS MÉTODOS DE FIJACIÓN:**

Los métodos de fijación, desde el punto de vista histoquímico, tienen numerosas objeciones, siendo las principales:

- a. Pérdida de sustancias solubles, por ejemplo, lípidos en fijadores disolventes de grasas y proteínas, polisacáridos y materiales inorgánicos en fijadores acuosos.
- b. Desplazamiento de algunos constituyentes celulares por difusión, dando artefactos de arrastre, por ejemplo agregación de pequeñas partículas y artefactos de fijación, por ejemplo formación de conglomerados de ácidos nucleicos en el núcleo.
- c. Desnaturalización de proteínas con alteración de sus propiedades físicas.
- d. Alteración química de los grupos reactivos de las proteínas.
- e. Destrucción de enzimas.

En la mayoría de los casos es el formol el fijador al que menos objeciones pueden oponérsele. Desde el punto de vista histológico, la única objeción importante es que da una deficiente imagen nuclear, especialmente en tejidos que tienen una cantidad grande de células.

## **FIJADORES MÁS UTILIZADOS:**

### **SOLUCIÓN SALINA FORMOLADA AL 10%**

Agua destilada	900 ml
Cloruro de sodio	8.5 g
Formaldehído comercial	100 ml

### **FORMOL NEUTRO AMORTIGUADO O FORMALINA BUFFER**

Fosfato de sodio monobásico	72 g
Fosfato de sodio dibásico	117 g
Formol	1800 l
Agua destilada	18 l

## **INCONVENIENTES DEL FORMOL.**

Su manejo puede provocar dermatitis y molestias en las manos, y sus vapores son irritantes para las fosas nasales. La fijación en formol, si se emplean soluciones no amortiguadas, tiende a reducir la tinción basófila y por lo tanto, no proporciona una definición nuclear óptima, especialmente en tejidos guardados en formol. En tejidos que contienen mucha sangre como el

bazo, produce la formación de abundantes gránulos de un pigmento pardo oscuro, que consisten en hematina ácida con formaldehído y que es birrefringente.

## **LIQUIDO DE BOUIN.**

Solución acuosa saturada de ácido pícrico al 10%	75 ml.
Formol concentrado	25 ml
Ácido acético glacial	5 ml.

## **VENTAJAS DEL LÍQUIDO DE BOUIN.**

Es uno de los mejores fijadores para el estudio del glucógeno, penetra rápidamente a los tejidos y produce poca contracción, es un buen fijador, salvo para el riñón. Este fijador es muy adecuado para los colorantes de anilina de Masson, Mallory y Heidenhain, según el tamaño de la muestra la fijación requiere de 1 a 12 horas.

## **INCONVENIENTES DEL LÍQUIDO DE BOUIN.**

Produce lisis de los glóbulos rojos, disminuye la cantidad de hierro férrico demostrable. Los tejidos no deben permanecer en este líquido por más de 12 o 24 horas (según su tamaño) porque vuelve duros y quebradizos a los tejidos y se tiene dificultad para realizar los cortes. Las piezas fijadas en Bouin no deben ponerse en agua. Después de la fijación, las piezas patrón se deben conservar en alcohol etílico al 70%.

## **FIJADOR DE ZENKER.**

Cloruro mercuríco (HgCl <sub>2</sub> )	50 g
Bicromato de potasio	25 g
Sulfato de Sodio	10 g
(Puede suprimirse)	
Agua destilada	1 l.

Se añaden cinco ml de ácido acético glacial por 100 ml de fijador antes de usarlo.

## **VENTAJAS DEL FIJADOR DE ZENKER.**

Tiende a mejorar la tinción de los núcleos y el tejido; la tinción tricrómica resulta especialmente favorecida. La tinción del citoplasma con colorantes ácidos se acentúa, y se puede percibir detalles de la cromatina del núcleo.

## **INCONVENIENTES DEL FIJADOR DE ZENKER.**

A veces produce ciertas molestias. La solución del cloruro mercuríco corroe todos los metales, salvo la aleación del níquel conocido como Monel. La solución de Zenker destruye muchos glóbulos rojos, el cloruro mercuríco produce un encogimiento pronunciado y disminuye la cantidad de glucógeno demostrable.

## **FIJADOR DE CARNOY.**

Alcohol etílico absoluto	60 ml
Cloroformo	30 ml
Ácido acético glacial	10 ml

## **VENTAJAS DEL FIJADOR DE CARNOY.**

Es adecuado para pequeños fragmentos tisulares, por ejemplo obtenido por raspado, que se fijan bien en 30 minutos a dos horas. También inicia la deshidratación y es un buen fijador para el glucógeno; los núcleos se tiñen bien y la diferenciación es buena.

## **INCONVENIENTES DEL FIJADOR DE CARNOY.**

Produce lisis y lacado de glóbulos rojos, encogimiento importante, y solo conviene para fragmentos tisulares pequeños. Disuelve los lípidos (incluyendo la grasa neutra) y la mielina.

## **TÉCNICA DE DESHIDRATACIÓN BENCENO**

	Reactivo	Tiempo ( horas)
Jarra 1	R-OH 70%	1
Jarra 2	R-OH 96%	1
Jarra 3	R-OH 96 %	1
Jarra 4	R-OH 96 %	2
Jarra 5	R-OH 100 %	1
Jarra 6	R-OH 100 %	1
Jarra 7	R-OH 100 %	2
Jarra 8	R-OH / Benceno	3
Jarra 9	Benceno	2
Jarra 10	Benceno	2
Jarra 11	Parafina / Benceno	3
Jarra 12	Parafina	4

**NOTA:** Los tiempos varían, tomando en cuenta el tipo de organismo y órgano, el tamaño de la pieza, tipo de fijador utilizado, duración en el fijador.

# HISTOLOGÍA Y BIOLOGÍA DEL DESARROLLO

## TÉCNICA DE THEILACKER (1985)

Deshidratación e infiltración en Ameraffin, (Anfibios y Peces).

CALCULO PARA 95 O 100 ml DE SOLUCIÓN				
HORAS	SOLUCIÓN	95% ETANOL (ETOH)	1-BUTANOL (NBA)	AGUA DESTILADA
1	70% DE ETOH	70		25
1	70% DE ETOH	70		25
3	70% DE ETOH+NBA	50	20	30
3	83% DE ETOH+NBA	50	33	17
1.5	95% DE ETOH+NBA	45	55	
1.5	95% DE ETOH+NBA	45	55	
1	100% DE ETOH+NBA	25	75	
1	100% DE ETOH+NBA	25	75	
1	100% DE NBA		100	
1	100% DE NBA		100	
2.5-8	AMERAFFIN DE 55-57 ° C			



Fig. 8. Escribe el nombre de los aparatos, e indica para que se utiliza cada uno de ellos, explicando en forma breve los cuidados que se le deben de tener.

## C. TÉCNICA PARA OBTENCIÓN DE EMBRIÓN DE AVE:

### Material

- Huevos de ave (fecundados)
- Caja de finger Bowl.
- Estuche de disección.
- Cuchara sopera.
- Caja de petri.
- Papel filtro.
- Termoplato.
- Termómetro.

### Reactivos.

- 500 ml de solución salina al 09 %
- Fijador de Bouin
- Fijador de Davison
- Fijador formalina buffer

### MÉTODO:

1. Obtención de huevos de ave.
2. Prepare la incubadora y establezca una temperatura de 37°C, y 65% de humedad. Esto puede lograrse introduciendo a la incubadora una caja de petri con agua.
3. Incubar durante 24 horas o más, dependiendo de la fase de desarrollo que se quiera obtener.
4. Mantener una circulación de aire constante dentro de la incubadora; para permitir el intercambio gaseoso del embrión.
5. Voltar con sumo cuidado los huevos de dos a cuatro veces al día, para mantener un buen desarrollo del mismo; además de no permitir se adhieran las membranas del embrión, al cascarón.
6. Colocar una solución de cloruro de sodio (NaCl) al 9% a una temperatura de 25°C, en una caja de Finger Bowl.
7. Partir el huevo en dos y colocarlo con mucho cuidado en la caja de Finger Bowl (Fig.9).
8. Se localiza el disco germinal y con unas tijeras se recorta al embrión. El disco germinal debe estar siempre en la parte superior y central del huevo. Al blastodermo se le queda anexo una fina película, que es la membrana vitelina (Fig.10).
9. Se toma el disco germinal con una cuchara (espumadera) y se coloca en una caja de petri que deberá tener solución salina y un papel filtro recortado al tamaño del embrión, donde quedará centrado (Fig. 11 y 12).
10. Se hacen dos lavados sucesivos con solución salina, teniendo cuidado de no tocar el embrión.
11. Se fija en Bouin o reactivo de Davison, por un período de 24 horas.
12. Pasadas las 24 horas se tira el fijador y se procede a realizar la técnica adecuada, según el tamaño del embrión obtenido.



Fig. 9 Manera en que deberá obtener los embriones de pollo, una vez colocado el cloruro de sodio a una temperatura de 25°C.



Fig. 10 Embrión de pollo en caja de Finger Bowl, con solución de cloruro de sodio al 9%.

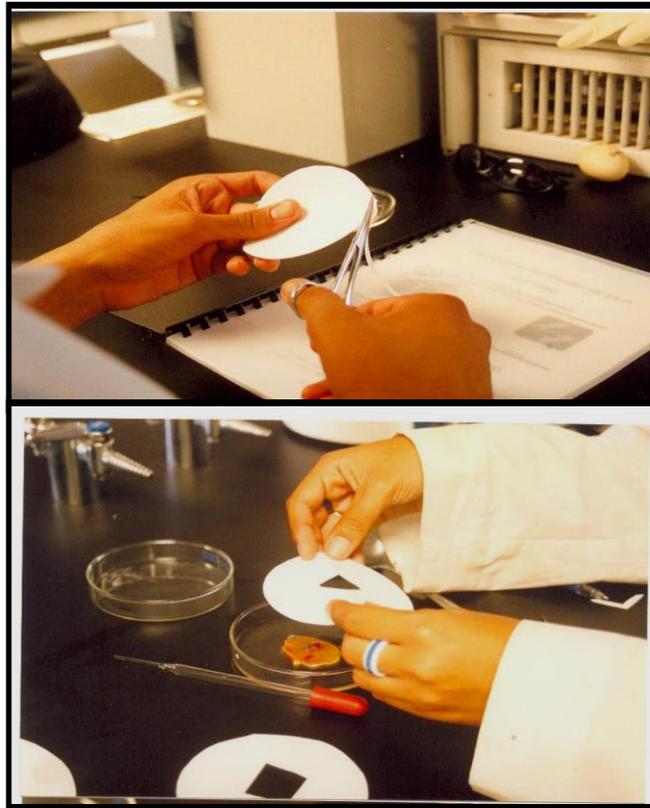


Fig. 11. Embrión de pollo colocado en una caja de petri, y la preparación del papel filtro, que deberá ser cortado a la medida del embrión, para su fijación y siguiente procesamiento.



Fig. 12. Forma en que debe colocarse el papel filtro, una vez cortado en la caja de petri.

## MÉTODO DE MONTAJE PARA EMBRIONES DE POLLO (Fig. 13 y 14).

Tinción con Hematoxilina de Herlich:

1. Fijación con Bouin de 12 a 24 horas.
2. Alcohol al 70% durante 30 minutos.
3. Alcohol al 50% durante 30 minutos.
4. Alcohol al 35% durante 30 minutos.
5. Agua destilada 30 minutos.
6. Hematoxilina de Herlich por 7 minutos.
7. Si es más grande, teñir durante 10 minutos.
8. Lavado rápido en agua destilada.
9. Decolorar en ácido clorhídrico (rápido).
10. Lavar con agua de la llave, 20 minutos.
11. Lavar con agua destilada, 10 minutos.
12. Alcohol al 35%, durante 30 minutos.
13. Alcohol al 50%, durante 30 minutos.
14. Alcohol al 70%, durante 30 minutos.
15. Alcohol al 85%, durante 30 minutos.
16. Alcohol al 96%, durante 30 minutos.
17. Alcohol absoluto por 60 minutos.
18. Salicilato de metilo + alcohol 96%, durante 20 minutos.
19. Salicilato de metilo (hasta transparentar) durante dos días.
20. Salicilato de metilo + xileno (gota a gota) durante 10 minutos.
21. Xileno I, 15 minutos.
22. Xileno II, 15 minutos.
23. Montar en resina sintética.



Fig.13 Embrión de pollo.

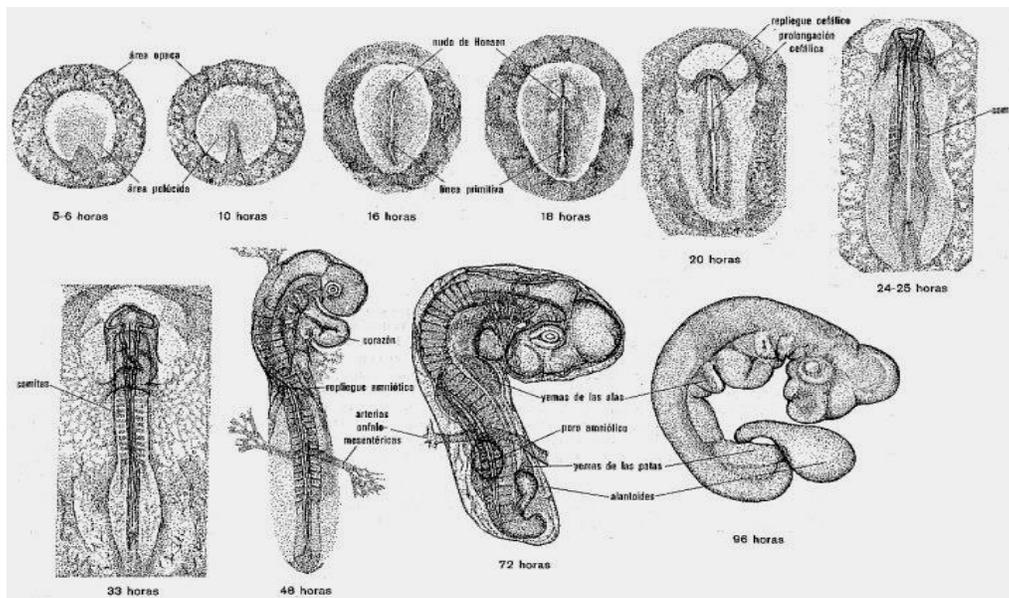


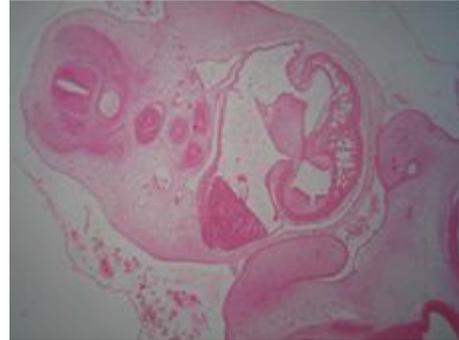
Fig. 14 Principales estadios de desarrollo del huevo de ave.

## MÉTODO DE COLORACIÓN EN BLOCK (Fig. 15).

Deshidratación de embriones según Carmegio:

La fijación de las piezas embriológicas siempre se hace en Bouin y por un lapso de 12 a 24 horas, después del cual se procede al lavado en alcoholes, según la técnica a seguir.

Alcohol 30%	por la mañana
Alcohol 32%	por la tarde
Alcohol 34%	por la mañana
Alcohol 36%	por la tarde
Alcohol 38%	por la mañana
Alcohol 40%	por la tarde
Alcohol 42%	por la mañana
Alcohol 44%	por la tarde
Alcohol 46%	por la mañana
Alcohol 48%	por la tarde
Alcohol 50%	por la mañana



**Fig. 15** Corte de embrión de pollo.

Por dos semanas más, se sigue el mismo procedimiento hasta llegar al alcohol absoluto.

Alcohol absoluto - xileno	un cambio de 1 a 3 minutos.*
Xileno	un cambio de 3 minutos. *

\*Deben ser observados los embriones en forma constante, hasta que queden transparentes; ya que si no se hace así, se tiene el riesgo de quemarse el embrión.

Xileno parafina	de 10 a 15 min.
Parafina I (52-54°C)	30 min.
Parafina II (52-54°C)	30 min.
Parafina Ameraffin	1 hora

Después de éstos pasos se procede a la inclusión y a la obtención de cortes del orden de 5 a 8 micras, por medio del micrótopo. Los portaobjetos y los cubreobjetos deben lavarse con alcohol del 96% aunque sean nuevos y secarse perfectamente, ya lavados los portaobjetos se les unta albúmina de Mayer o bien gelatina previamente diluida y preparada.

Cuando se trata de gelatina, es muy importante tener en cuenta para el montaje de los cortes, tener listo el baño de flotación con la gelatina; debiendo realizar lo siguiente:

En un matraz o vaso de precipitado se agregan 500 ml de agua destilada y se cubre la superficie con un poco de gelatina; mientras se hincha la gelatina, se pone a calentar agua destilada en un matraz y una vez caliente se agrega al vaso que contiene a la gelatina, hasta disolverla totalmente. Ya disuelta se agrega al baño de flotación, manteniendo una temperatura entre los 40°C.

Se introduce el portaobjeto inclinado dentro del baño de flotación y se montan los cortes. Los cortes se colocan en el portaobjeto en forma seriada y en el mismo sentido, en el centro del porta; cuidando que la superficie brillante quede sobre la superficie del (portaobjetos). Después de colocar los cortes sobre los portaobjetos, debe secarse el exceso de agua con un trapo limpio y después debe dejarse la preparación 10 minutos al aire antes de que se pongan en la plancha secadora, para que se evapore el agua que permanece bajo los cortes y estos quedan más firmemente pegados; dejando posteriormente en la incubadora a una temperatura de 37°C por lo menos 24 hrs. posteriormente se procede a la aplicación de la técnica de desparafinación.

## **TÉCNICA DE DESPARAFINACIÓN:**

1. Xileno, tres cambios de cinco minutos, cada vez. Hasta eliminar totalmente la parafina.
2. Alcohol absoluto xileno, tres cambios de cinco minutos, cada vez.
3. Alcohol absoluto o 96%, tres cambios de cinco minutos cada vez
4. Alcohol del 70% tres cambios de cinco minutos cada vez.
5. Lavar en agua formolada (para una mejor coloración).

## **TÉCNICA DE COLORACIÓN HEMATOXILINA-EOSINA.**

1. Hematoxilina 1 minuto.
2. Lave en agua de la llave, hasta eliminar el exceso de colorante.
3. Alcohol ácido, rápido. (Hasta obtener un color rosa o rojo).
4. Agua de la llave, hasta eliminar exceso de alcohol ácido.
5. Agua amoniaca, aproximadamente cinco minutos (vira a color azul).
6. Agua destilada, dos cambios.
7. Eosina un minuto.
8. Lavar con alcohol del 96%, hasta eliminar exceso de colorante.
9. Alcohol 96%, dos cambios de cinco minutos.
9. Alcohol absoluto xileno, dos cambios de cinco minutos.
10. Xileno, tres cambios de cinco minutos cada uno.
11. Montar en resina sintética.

**NOTA:** Es importante hacer la prueba de tiempos, primero con una laminilla y observar, que no contengan nada de agua.

## **TÉCNICA DE DAWSON**

La técnica de Dawson es excelente para la demostración de la formación del tejido óseo en los embriones o en los animales pequeños y depende de la aclaración de los tejidos blandos con KOH; basada en la tinción del hueso con alizarina y el emplazamiento de los tejidos corporales por glicerina. (Fig. 16)

### **MÉTODO:**

1.- Se fijan los embriones o los animales pequeños en alcohol del 96%, durante 48 a 72 horas, la fijación prolongada en alcohol hace a los tejidos menos vulnerables a la maceración por las soluciones cáusticas de potasas.

2.- En los especímenes preparados por este método, cualquier grasa se saponifica en el material aclarado como masas blancas y opacas. Por lo tanto hay que extraer las grasas inmediatamente después de la fijación por medio de un tratamiento con acetona durante 2 a 4 días, dependiendo del tamaño del espécimen. Regrese el espécimen al alcohol del 96º por 12 a 24 horas.

3.- Coloque el espécimen en hidróxido de potasio al 1% hasta que los huesos sean claros a través del músculo.

4.- Transferir los especímenes al rojo de alizarina al 0.1% en una solución de KOH al 1%, el espécimen se deja en la mezcla hasta que los huesos se tiñan del color adecuado, (cubrir el frasco con papel aluminio) para esto hay que observar al embrión por transluminación. Si el colorante es absorbido por la solución antes de que se haya obtenido la máxima intensidad, el espécimen puede ser transferido a una nueva solución. Si el aclaramiento en potasa cáustica ha evolucionado hasta mejor grado, solo el hueso tomará la tinción.

5.- Coloque luego el espécimen en la siguiente solución, por tres días.

Hidróxido de potasio	_____	1 g
Agua destilada	_____	79 ml
Glicerina	_____	20 ml

6.- Cuando los tejidos estén bien claros y los huesos sean visibles a través de los músculos, los especímenes se pasan a concentraciones de glicerina de 20%, 40%, 80% y se dejan una semana en cada una.

Finalmente cuando los huesos quedan teñidos y no hay restos de colorante en los tejidos se pasa a glicerina pura y se colocan unos granitos de timol como conservador.



Fig. 16. Técnica de Dawson, embrión de cerdo.

## ACTIVIDADES:

1. Realiza las actividades que se te piden en las figuras anteriores.
2. Inclusión en parafina (órganos procesados) Extra clase.
3. Obtención y aplicación de las técnicas para embriones de aves.

## PRÁCTICA NO. 2 TÉCNICA DE COLORACIÓN HEMATOXILINA – EOSINA (H-E). Y TEJIDO EPITELIAL DE REVESTIMIENTO.

### INTRODUCCIÓN.

La coloración de los tejidos tiene por objeto aumentar el contraste entre sus diferentes estructuras. Haremos una división de estas técnicas, tomando como criterio lo que queremos demostrar. Tenemos de esta manera tres grupos:

- 1° Las técnicas generales o topográficas que permiten realizar el estudio de Órganos y tejidos en su totalidad y no con base en un componente en especial.
- 2° Las técnicas especiales que ponen de manifiesto algún o algunos componentes especiales por ejemplo fibras colágenas, musculares, elásticas etc.
- 3° Las técnicas Histoquímicas que permiten la identificación y localización específica de sustancias en un tejido, observado al microscopio.

**TEJIDO EPITELIAL.** La palabra “EPITELIO” fue utilizada por Ruysch en 1701 para designar al tejido que recubre el labio y deriva de epi = sobre y tele = papila o pezón. Este tejido incluye a un conjunto de elementos de muy diversas estructuras, origen, función y distribución, pero que tienen en común las siguientes características.

- Los tejidos epiteliales están formados casi exclusivamente por células. La sustancia intercelular es muy escasa y se le llama en este caso “cemento intercelular”.
- Las células guardan entre sí un orden muy definido y adoptan formas poliédricas.
- No poseen vasos sanguíneos.
- Todos los epitelios descansan sobre una estructura, que los separa de otros tejidos, generalmente conjuntivos y que es conocida como membrana basal.
- Los tejidos epiteliales presentan complejos de unión que le confieren gran integridad tisular

### OBJETIVOS:

- Conocerá el fundamento de la técnica de desparafinación y de la técnica de coloración Hematoxilina-Eosina.
- Aplicará correctamente la técnica de desparafinación y la de coloración Hematoxilina-Eosina. Evaluará sus resultados.
- Identificará a los epitelios simples, sobre todo tipo de material.
- Evaluará el grado de dificultad para identificarlos.

## MATERIAL POR EQUIPO:

- Un trapo limpio
- Dos portaobjetos
- Dos cubreobjetos
- Cinco cajas de petri chicas
- Dos agujas de disección

## TÉCNICA DE COLORACIÓN HEMATOXILINA-EOSINA

Esta técnica de hematoxilina-eosina, corresponde al grupo conocido como generales ó topográficas. Es una coloración regresiva en la que intervienen dos colorantes: La Hematoxilina (colorante básico), que es un colorante nuclear aunque no es exclusivo, pues tiñe también rbo núcleo proteínas citoplásmicas, mielina, etc., en violeta. El otro colorante es la Eosina (colorante ácido), que se usa para teñir citoplasma en un color rosa que contrasta con la Hematoxilina (coloración de fondo).

La Hematoxilina (C6 H14 O6) es un colorante natural obtenido del área tropical *Hematoxylum campechianum* (Linn). Leguminosa. La Hematoxilina de Harris que es la que generalmente se usa, es una de las varias fórmulas que existen para prepararla. Aunque se le denomine técnica de Hematoxilina, el colorante utilizado no es en realidad la hematoxilina, sino una laca alumínica de Hemateína. La hemateína (C6 H12 O6) es el producto de oxidación de la hemateína.

## TÉCNICA DE DESPARAFINACIÓN.

- 1.- Sustituto Xileno ----- 3 cambios de 5 a 10 minutos.
- 2.- Alcohol absoluto -----5 min.
- 3.- Alcohol 96% ----- 5 min.
- 4.- Alcohol 80% ----- 5 min.
- 5.- Alcohol 70% ----- 5 min.
- 6.- Alcohol 50% ----- 5 min.
- 7.- Agua Formulada.

**NOTA: Los tiempos varían, según el tipo de órgano y tamaño de la muestra.**

## COLORACIÓN HEMATOXILINA- EOSINA

- 1.- Coloración con Hematoxilina ----- 5 min.
2. Lavar en agua de la llave.
- 3.- Lave con alcohol ácido ----- vire a rosa
4. Lavar en agua de la llave.
5. Virar en agua amoniacal
6. Lavar en agua destilada (tres veces)
- 10- Coloración con Eosina ----- 3 minutos.
- 11- Alcohol 96% ----- dos cambios 30 seg. (lavado).
- 12- Alcohol absoluto ----- dos cambios 5 min. cada uno.
- 13- Alcohol absoluto xileno ----- dos cambios de 5 min. cada uno.
- 14- Xileno ----- 3 cambios 5 min. cada uno.
15. Montar en resina sintética.

**NOTA: El tiempo en la Hematoxilina y en la Eosina, varía dependiendo de la madurez de la misma.**

## RESULTADO:

Núcleos ----- azules  
Citoplasma ----- rosa o naranja

## PREPARACION DE REACTIVOS:

### HEMATOXILINA DE HARRIS.

Hematoxilina cristalizada ----- 1.0 gr  
Alcohol etílico absoluto ----- 10.0 ml  
Alumbre de potasio ----- 20 gr  
Oxido rojo de mercurio ----- 0.5 gr  
Agua destilada ----- 200 ml

Se disuelve la hematoxilina en el alcohol y el alumbre en el agua caliente; se mezclan ambas soluciones. Se lleva la mezcla a ebullición y se agrega rápidamente el óxido mercúrico. Cuando la mezcla toma color rojo púrpura se retira del fuego y se enfría. Filtre antes de usar varias veces.

## **EOSINA:**

Solución acuosa al 1% de Eosina Y

Agregue una pizca de Orange G.

## **MATERIAL Y METODO:**

### **I. Epitelios simples.**

Análisis microscópico y elaboración de esquemas de las siguientes preparaciones:

1. Epitelio plano simple -----Riñón ó mesenterio
2. Epitelio cúbico simple -----Riñón, tiroides, ovario.
3. Epitelio cilíndrico -----Intestino delgado, intestino grueso, algunos conductos excretores.

### **II. Epitelios especiales**

Análisis microscópico y elaboración de esquemas de las siguientes preparaciones.

1. Epitelio cúbico estratificado o de transición -----Uréter, vejiga urinaria.
2. Epitelio cilíndrico pseudoestratificado ciliado-----Tráquea.
3. Epitelio germinativo-----Testículo y ovario.

### **III. Epitelios estratificados.**

Análisis microscópico y elaboración de esquemas de las siguientes preparaciones:

1. Epitelio plano estratificado mucoso-----Lengua, esófago o vagina.
2. Epitelio plano estratificado córneo ----- piel humana.

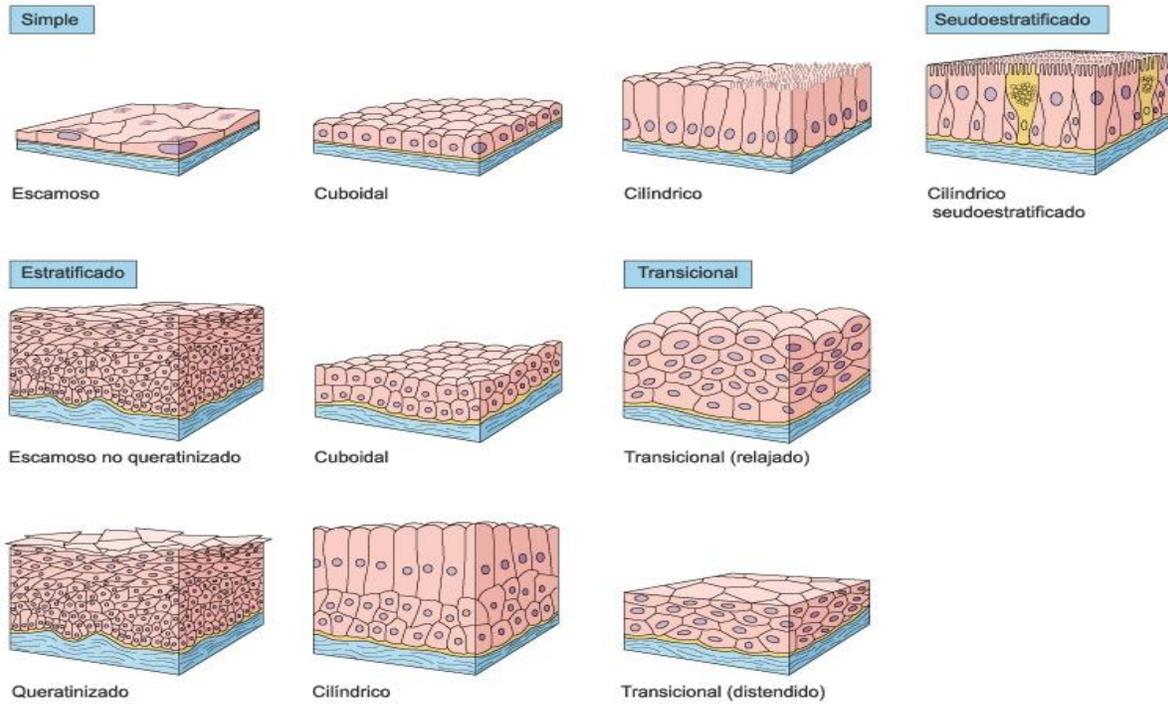
A continuación se presentan las fotografías referentes a ésta práctica.

- **Identifique y enumere lo siguiente:**

- a) Tipos de epitelio de revestimiento
- b) Nombre de estructuras observadas
- c) Órgano
- d) Aumento
- e) Técnica de coloración

## ACTIVIDAD:

1. Esquematiza e indica las estructuras observadas en tu muestra problema y evalúa los resultados con base en la técnica aplicada.



**Fig. 17.** Tipos de epitelios de revestimiento, epitelios especiales y diferenciaciones de la región apical de las células.

## SESIÓN TEÓRICO PRÁCTICA No. 3 TEJIDO EPITELIAL GLANDULAR EXOCRINO Y TÉCNICA TRICRÓMICA DE GALLEGO

### INTRODUCCIÓN:

La característica primordial de este tejido es el verter sus secreciones hacia una superficie, directamente o por medio de un conducto. La superficie puede ser la externa (la piel) o una cavidad prolongación del medio externo (tubo digestivo, árbol respiratorio y tracto urogenital).

Hay glándulas muy sencillas en su estructura, como por ejemplo las células caliciformes, células que en sí son una glándula y que aisladas unas de otras forman parte de ciertos epitelios de revestimiento como el intestinal y el respiratorio.

Otras glándulas son parte de un órgano y en ellas se distinguen dos porciones, la funcionalmente activa o secretora (Adenómero) y un conducto que comunica con alguna superficie; todo ello incluido en un tejido diferente, el tejido conjuntivo, que le sirve de sostén y como medio de nutrición. De ellas tenemos como ejemplos las glándulas sudoríparas, las glándulas estomacales, intestinales, traqueales, etc.

Hay finalmente glándulas más complejas con un número muy grande de adenómeros y conductos de diferente diámetro que desembocan en uno o más conductos principales. Estas glándulas son órganos completos y estructuralmente más elaborados. En estos casos, y en general en cualquier órgano de la economía, se distinguen dos porciones: La funcionalmente característica o parénquima y la de sostén o estroma. En una glándula el parénquima lo compone el tejido epitelial, adenómeros y conductos excretores; al estroma lo forma una cápsula conjuntiva que la delimita y tejido conjuntivo que sostiene al parénquima y que contiene además a los otros componentes del órgano como los nervios, vasos sanguíneos y vasos linfáticos. Glándulas de este tipo son las salivales, el páncreas, la próstata y el hígado.

La técnica tricrómica de Gallego es una de las muchas técnicas topográficas que permiten, además poner de manifiesto y de manera especial a las fibras colágenas, ya que estas destacan netamente sobre el resto de los componentes tisulares; por lo tanto también es considerada como técnica especial.

### OBJETIVOS:

- Identificará sobre todo tipo de material a los epitelios GLANDULARES.
- Establecerá las diferencias morfofisiológicas, entre los epitelios glandulares exócrinos.
- Aplicará correctamente y conocerá el fundamento de la técnica tricrómica de Gallego.
- Describe tu muestra problema.

## **MATERIAL Y MÉTODO:**

4 cajas de petri por persona.  
2 agujas de disección.  
Un trapo.  
Una caja de colores.  
Dos portaobjetos por persona.  
Dos cubreobjetos por persona.  
Etiquetas.

## **MÉTODO TRICRÓMICO DE GALLEGO:**

- 1.- Fijación en formol al 10% durante 24 horas o más.
- 2.- Obtención de cortes por congelación.
- 3.- Agua formolada por lo menos dos horas antes de efectuar la coloración.
- 4.- Fucsina acética durante cinco minutos.
- 5.- Lave en agua destilada.
- 6.- Viro fijación en formol acético durante dos minutos.
- 7.- Lave perfectamente bien en agua destilada.
- 8.- Pícro índigo carmín, un minuto.
- 9.- Alcohol pícrico dos veces de un minuto, cada vez.
- 10.- Alcohol absoluto, un cambio rápido.
- 11.- Alcohol absoluto-xileno dos veces, tres minutos cada vez.
- 12.- Xileno tres veces, de tres minutos cada vez.
- 13.- Montar en bálsamo de Canadá o resina sintética.

**NOTA: El tiempo en los reactivos y colorantes varia, dependiendo del tipo de tejido.**

## **PREPARACIÓN DE REACTIVOS Y COLORANTES.**

### **Fucsina acética.**

Agua destilada \_\_\_\_\_ 10 ml  
Fucsina fenicada \_\_\_\_\_ 10 gotas  
Ácido acético \_\_\_\_\_ 1 gota

### **Fucsina fenicada de Ziehl.**

Fucsina básica \_\_\_\_\_ 1g  
Fenol cristalizado \_\_\_\_\_ 5 g  
Alcohol de 96% \_\_\_\_\_ 10 ml  
Agua destilada \_\_\_\_\_ 90 ml

### **Formol acético.**

Agua destilada \_\_\_\_\_ 10 ml  
Formol puro \_\_\_\_\_ 2 gotas  
Ácido acético \_\_\_\_\_ 1 gota

## **Pícro índigo carmín.**

Carmín índigo al 1% \_\_\_\_ una parte

Ácido acético \_\_\_\_\_ dos partes

## **Resultados:**

Núcleos en rojo violáceo.

Haces colágenos en azul.

Capa córnea en amarillo.

Fibras musculares en verde amarillento.

## **I. ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE LAS SIGUIENTES PREPARACIONES:**

- 1.- Sublingual
- 2.-Submaxilar
- 3.-Cuero cabelludo o piel
- 4.-Glándula mamaria o próstata
- 5.-Intestino delgado
- 6.-Piel de anfibio.

## **ACTIVIDAD:**

1. Esquematiza e indica las estructuras observadas en tu muestra problema y evalúa los resultados con base en la técnica aplicada.
2. En cada epitelio observado, indica los siguiente:
  - Clasificación de la glándula observada.
  - Que función tienen estas glándulas.
  - Objetivos observados.

## **CUESTIONARIO:**

## SESIÓN TEÓRICO PRÁCTICA No. 4 EPITELIO GLANDULAR ENDOCRINO Y TÉCNICA TRICRÓMICA DE MALLORY

### INTRODUCCIÓN.

Los vertebrados superiores tienen dos mecanismos por medio de los cuales se integran las funciones de sus tejidos y órganos, manteniendo la homeostasis. Uno es el control que ejerce el Sistema Nervioso con la transmisión de los impulsos nerviosos, el otro la producción de mensajeros químicos “las hormonas” a cargo del Sistema Endocrino.

Al igual que en el caso de las glándulas de secreción externa, nos encontramos con que la complejidad estructural es variable. Hay grupos de células dispersas en varios sitios, fuera o dentro de órganos que elaboran hormonas pero cuya función endocrina no es la única. Tenemos por ejemplo: los ovarios, los testículos, el intestino, el páncreas y posiblemente otros más.

Por otra parte hay órganos enteros que funcionan como glándulas endocrinas, entre ellos tenemos a la Hipófisis, la tiroides, las suprarrenales y la pineal. Las glándulas endocrinas no tienen conductos, de manera que las secreciones se vierten a los capilares sanguíneos que en un número muy grande se encuentran en el estroma que rodea a las células epiteliales. El parénquima es probablemente más importante en volumen y distribución que el estroma, el que se ve reducido en muchos a una trama reticular. Las células epiteliales tienen tal disposición en cordones, nidos celulares o bien folículos, que por lo menos una de sus superficies está en relación con los capilares.

### REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN:

Los mecanismos de regulación fisiológica son muy diferentes de glándula a glándula. En términos generales la secreción se verá afectada por estímulos nerviosos, hormonales o por estímulos químicos no hormonales. En el caso de las glándulas endocrinas, el estímulo hormonal se lleva a cabo por un fenómeno de retroalimentación, positiva o negativa.

### OBJETIVOS:

- Identificará sobre todo tipo de material al tejido epitelial glandular endocrino.
- Clasificará a los diferentes tipos de glándulas observados en el laboratorio.

## **MATERIAL Y MÉTODO:**

- 4 cajas de petri por persona.
- 2 agujas de disección.
- Un trapo.
- Una caja de colores.
- Dos portaobjetos por persona.
- Dos cubreobjetos por persona.
- Etiquetas.

## **MÉTODO TRICRÓMICO DE MALLORY.**

**FIJACIÓN:** Se recomienda por el magnífico resultado que se obtiene, fijar en solución de Zenker. Cortes incluidos en parafina de 6 micras.

- 1.-Desparafinar los cortes.
- 2.-Remover el precipitado de bicloruro de mercurio con lugol, de tres a cinco minutos.
- 3.-Hiposulfito de sodio al 5% de 30 a 40 segundos.
- 4.-Lavar en agua de la llave y enjuagar con agua destilada.
- 5.-Colorear con la solución de fucsina durante cinco minutos.
- 6.-Lavar en agua destilada para diferenciar los tonos rojos, 15 a 30 segundos, dos cambios.
- 7.-Colorear con la solución de azul de anilina 10 min.
- 8.-Pasar directamente en alcohol del 96, dos cambios rápidos, para diferenciar el azul de anilina.
- 9.-Alcohol absoluto xileno, tres cambios de cinco minutos cada cambio.
- 10.-Aclarar en xileno, tres cambios, cinco minutos cada uno.
- 11.-Montar en bálsamo de Canadá o resina sintética.

## **RESULTADOS:**

Núcleos en color rojo.

Colágeno en azul oscuro.

Fibras elásticas de color amarillo pálido.

I. Análisis microscópico de las preparaciones indicadas. Hipófisis.

- Tiroides.
- Suprarrenal.
- Ovario.
- Testículo.
- Páncreas

II. Elaboración de esquemas.

**ACTIVIDAD:**

1. Esquematiza las preparaciones fijas de las glándulas endocrinas.
2. Esquematiza e indica las estructuras observadas en tu muestra problema y evalúa los resultados con base en la técnica aplicada.

**CUESTIONARIO:**

## SESIÓN TEÓRICO PRÁCTICA No. 5

### TEJIDO CONECTIVO I

#### TÉCNICA DE SYLVEN PARA LA DEMOSTRACIÓN METACROMÁTICA DE MUCOPOLISACARIDOS SULFATADOS (TÉCNICA DE LISON).

#### INTRODUCCIÓN.

##### Histogénesis.

El tejido conjuntivo se forma esencialmente a partir del mesénquima, que se origina del mesodermo, a expensas del esbozo que se invagina por la línea primitiva, pero parte de sus células tienen origen ectodérmico de la cresta neural y endodérmica de la placa precordial. El mesodermo puede conformarse en formaciones segmentarias, que son los somitos o bien permanecer difusos en cuyo caso forman el mesénquima y este, a su vez, evolucionará hacia la formación de todos los elementos del tejido conjuntivo propiamente dicho, cartilaginoso y óseo, parte del tejido muscular y del tejido sanguíneo.

En el mesénquima existen células mesenquimatosas, las cuales son capaces de diferenciarse en tipos diferentes de células del tejido conjuntivo como histiocitos, fibroblastos, mastocitos, células plasmáticas, entre otros.

##### TEJIDO CONECTIVO PROPIAMENTE DICHO.

Bajo el nombre de tejido conectivo propiamente dicho se agrupan los tejidos que, aunque de aspecto diferente, tiene como característica común el poseer una sustancia intercelular de consistencia viscosa. Algunos de ellos unen a los diversos tejidos, órganos y sistemas; constituyen su soporte mecánico y facilitan la difusión y el almacenamiento de todo tipo de metabolitos: tienen por lo tanto, un papel muy importante en la nutrición. Otros dan origen a los elementos formes de la sangre finalmente algunos más son muy importantes para la defensa del organismo. En resumen, el tejido conjuntivo propiamente dicho constituye un verdadero medio interno.

##### OBJETIVOS:

- Aplicará y conocerá el fundamento de la técnica de Lison
- Identificará a las variedades del tejido conectivo propiamente dicho sobre todo tipo de material.
- Establecerá las características del tejido conectivo.
- Establecer las características del tejido óseo y cartilaginoso.

## I. Técnica de Lison

La metacromasia se señala como un cambio de absorción de ciertos colorantes básicos cuando se encuentran como “polímeros”. Al cambiar su espectro de absorción cambia su color original. Entre los colorantes que se pueden utilizar tenemos el azul de toluidina, tionina, azul de metileno, entre otros.

El azul de toluidina como otros colorantes básicos del grupo de las tiazinas, da reacción metacromática en presencia de los mucopolisacaridos sulfatados, o con otras sustancias al cambiar las condiciones de coloración. El que una sustancia se tiña metacromática u ortocromáticamente depende de la presencia de cargas negativas de su número y proximidad. Para que los grupos electronegativos al combinarse con el colorante básico lo vuelva metacromático, es necesario que lo hagan formando largas cadenas “polimerización”, que absorban la longitud de onda diferente. Esto dependerá como hemos mencionado del número de cargas y de que se encuentren a una distancia mínima de 5 a 7 Å.

### MATERIALES:

- Dos cajas de petri por persona.
- Dos agujas de disección.
- Un trapo limpio.
- Dos portaobjetos.
- Dos cubreobjetos.
- Cortes de Tráquea.
- Agua destilada.

### MÉTODO:

- 1.-Desparafinar los cortes y llevarlos hasta agua destilada.
- 2.-Colorear los cortes con la solución de azul de toluidina durante un tiempo que puede variar entre cinco minutos y una hora.
- 3.-Enjuagar los cortes 10 segundos en la solución reguladora de fosfatos, agitando y secando con papel filtro.
- 4.-Limpiar el portaobjetos para eliminar la solución reguladora y sumergirlo rápidamente en un baño de alcohol butílico durante tres segundos.
- 5.-Tolueno o xileno durante 3 a 4 minutos.
- 6.- Montar en resina sintética.

## RESULTADOS:

Estructuras metacromáticas en rojo púrpura o rojo violáceo, estructuras basófilas no metacromáticas en azul.

## PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

1.-Solución reguladora de fosfatos pH 3-5.

Fosfato dibásico de sodio                      5 ml

Fosfato ácido de potasio                      95 ml

2.- Solución de azul de Toluidina.

Disolver 0-1 g de azul de toluidina en 100 ml de la solución reguladora de fosfatos.

## II. Análisis microscópico de los siguientes tejidos:

- 1.-Tejido conjuntivo laxo----- Intestino o piel.
- 2.-Tejido conjuntivo denso----- Piel de anfibio o humana.
- 3.-Tejido elástico----- Arteria.
- 4.-Tejido mucoso o gelatinoso----- Cordón umbilical.
- 5.-Tejido adiposo ----- Lengua.
- 6.- Tejido óseo y cartilaginoso----- Hueso compacto, Oreja y tráquea.

## III. Ejercicio:

1. Elabore el esquema de los tejidos observados, indicando el nombre de las estructuras observadas.
2. Esquematiza e indica las estructuras observadas en tu muestra problema y evalúa los resultados con base en la técnica aplicada.
3. Complementa el cuadro de las variedades del tejido conjuntivo propiamente dicho.

**VARIETADES DEL TEJIDO CONJUNTIVO PROPIAMENTE DICHO**

<b>TEJIDO</b>	<b>COMPONENTES CARACTERISTICOS</b>	<b>CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES</b>	<b>LOCALIZACION</b>	<b>FUNCION</b>
<b>MESENQUIMA PRIMITIVO</b>				
<b>TEJIDO CONJUNTIVO LAXO</b>				
<b>TEJIDO CONJUNTIVO DENSO REGULAR</b>				
<b>TEJIDO CONJUNTIVO DENSO IRREGULAR</b>				

## HISTOLOGÍA Y BIOLOGÍA DEL DESARROLLO

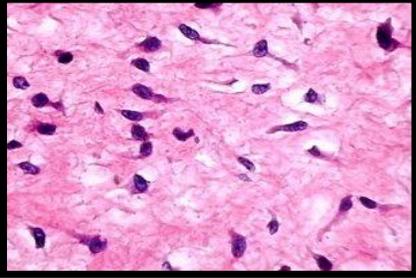
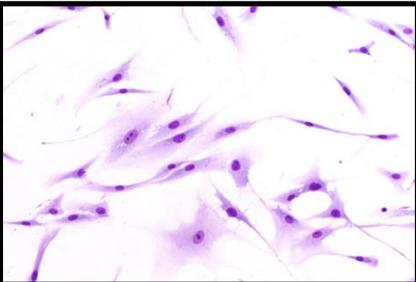
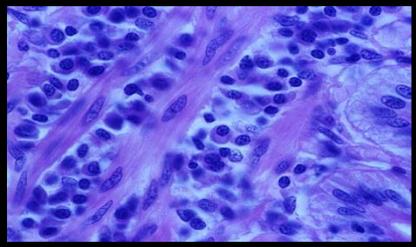
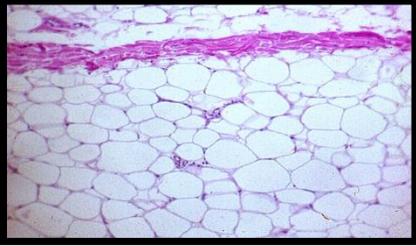
---

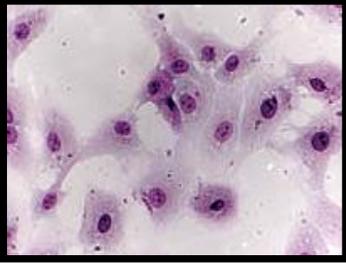
<b>SISTEMA RETICULO ENDOTELIAL</b>				
<b>TEJIDO RETICULAR</b>				
<b>TEJIDO ELASTICO</b>				
<b>TEJIDO ADIPOSO</b>				
<b>TEJIDO MUCOSO</b>				

<b>TEJIDO PIGMENTARIO</b>				
<b>TEJIDO OSEO</b>				
<b>TEJIDO CARTILAGO HIALINO</b>				
<b>TEJIDO ELASTICO</b>				

ACTIVIDAD:

1.- Indica lo que se te pide en el cuadro de los tipos celulares del tejido conjuntivo propiamente dicho.

CELULAS DEL TEJIDO CONJUNTIVO		
TIPO DE CÉLULA	CARACTERÍSTICAS	FUNCIÓN
 <p><b>MESENQUIMÁTICA.</b></p>		
 <p><b>FIBROBLASTOS.</b></p>		
 <p><b>CÉLULA CEBADA O MASTOCITO.</b></p>		
 <p><b>CÉLULA PLASMÁTICA.</b></p>		
		

<b>ADIPOCITOS.</b>		
 <b>CÉLULAS PIGMENTARIAS.</b>		

## SESIÓN PRÁCTICA No. 6 TEJIDO CONECTIVO II. TEJIDO LINFOIDE

### INTRODUCCION:

El sistema linfático forma parte del sistema inmunológico del organismo. Su función es la de defendernos de las agresiones externas, por ejemplo de los virus o las bacterias.

El sistema linfático está compuesto por ganglios linfáticos que son pequeñas bolitas que a veces podemos palparnos en el cuello o en las axilas. Estos ganglios están distribuidos por todo nuestro cuerpo, y se unen unos con otros por los vasos linfáticos. Por este sistema discurren los **linfocitos**, que son las células encargadas de proteger el cuerpo.

El tejido linfático o linfoide es una variedad del tejido conjuntivo, fundamentalmente celular. Este está formado por una trama tridimensional de fibras reticulares, células reticulares y macrófagos fijos. En las mallas de este retículo citofibrilar existen células libres, principalmente linfocitos T y B, en diversas fases de maduración, macrófagos libres y plasmocitos.

El conjunto de órganos linfáticos como timo, bazo, amígdalas, ganglios linfáticos, las masas de tejido linfático entre otros órganos, conocidos como nódulos linfoides o placas de Peyer, los linfocitos de la sangre y de la linfa y los linfocitos y plasmocitos del tejido conjuntivo, constiuyen el **sistema inmunitario**.

### OBJETIVOS:

- Identificará al tejido adiposo sobre todo tipo de material.
- Identificará a los órganos linfoides sobre todo tipo de material.
- Establecerá las diferencias morfofisiológicas entre los órganos linfoides.

### Análisis microscópico de los siguientes tejidos:

1. Ganglio linfático.
2. Timo.
3. Amígdala.
4. Bazo.
5. Placas de Peyer

# HISTOLOGÍA Y BIOLOGÍA DEL DESARROLLO

---

## ELABORACIÓN DE ESQUEMAS

### ACTIVIDAD:

1. Investigar la histogénesis del sistema linfático.

### CUESTIONARIO:

2. Establezca lo que se pide en el siguiente cuadro:

ÓRGANO	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	LOCALIZACIÓN ANATÓMICA	FUNCIÓN
AMIGDALA			
GANGLIO LINFÁTICO			
BAZO			

# HISTOLOGÍA Y BIOLOGÍA DEL DESARROLLO

---

<b>TIMO</b>			

## SESIÓN TEÓRICO PRÁCTICA No. 7 TEJIDO CONECTIVO III, TEJIDO SANGUINEO

### INTRODUCCIÓN:

El tejido sanguíneo se encuentra en el interior de los vasos sanguíneos y el corazón, y circula por todo el organismo impulsado por el corazón; así como por los movimientos corporales. Entre sus principales funciones está la de transportar nutrientes y oxígeno desde el aparato digestivo y los pulmones, respectivamente, al resto de las células del organismo. También se encarga de llevar productos de desecho desde las células hasta el riñón y los pulmones, y de mantener homogéneamente la temperatura corporal. Entre sus células se encuentran las que forman el sistema inmunitario, que utilizan el torrente sanguíneo y la red de vasos sanguíneos para viajar a cualquier parte del organismo y defendernos frente a las enfermedades.

Ahora bien al tejido sanguíneo se le considera como un tejido conjuntivo especializado constituido por una matriz extracelular líquida denominado plasma sanguíneo. Las células sanguíneas se clasifican en dos tipos: eritrocitos, hematíes o glóbulos rojos y leucocitos o glóbulos blancos; además de contener fragmentos celulares denominados plaquetas. Los leucocitos se dividen a su vez en granulares: neutrófilos, basófilos y eosinófilos, y en agranulares: linfocitos y monocitos.

El plasma es el componente fluido o líquido de la sangre y representa más de la mitad del volumen sanguíneo. Está formado por multitud de moléculas, desde iones hasta proteínas voluminosas. Es el principal medio de transporte de nutrientes y productos de desecho.

Con el desarrollo embrionario y luego fetal, el tejido mesenquimal "va madurando" y diferenciándose, y forma entre otros al tejido hematopoyético y sanguíneo. En el adulto el tejido sanguíneo se forma en la médula ósea roja de los huesos, constituyendo la etapa final del proceso hematopoyético.

### OBJETIVOS:

- Elaborará un concepto de tejido sanguíneo.
- Enumerará a los componentes de este tejido.
- Clasificará a los leucocitos indicando cuales son las bases de la clasificación
- Conocerá los valores normales de los elementos formes.
- Describa la morfología de cada uno de los elementos formes, sobre todo tipo de material.

- Conocerá las bases teóricas de las coloraciones Hematológicas.
- Aplicará correctamente la técnica de Wright.

## **MATERIAL:**

- Dos cajas petri chicas por persona.
- Portaobjetos limpios y desengrasados, 5 por persona.
- Una lanceta por persona.
- Torundas de algodón.
- Alcohol.
- Jabón.

## **TÉCNICA DE WRIGTH:**

La técnica de Wright es una técnica topográfica por medio de la cual se identifican los elementos formes de la sangre; se considera como una de las coloraciones hematológicas más usadas. Las técnicas de coloración hematológicas se basan en la aplicación de un colorante neutro formado por los eosinatos de azul y azur de metileno en solución alcohólica.

El colorante de Wright es una preparación comercial del eosinato de azur, formando a su vez una mezcla de eosina amarillenta, azul de metileno, azur A, azur B y de violeta de metileno. El pH de la solución de lavado es uno de los factores esenciales para la obtención de resultados adecuados en la coloración; un pH bajo favorece los tintes rojos y un pH alto los tintes azules. Se recomienda por lo tanto, el empleo de una solución buffer de fosfatos a un pH neutro.

## **MÉTODO:**

1.- Para hacer el frotis sanguíneo, colocar una gota de regular tamaño cerca del extremo de un portaobjeto limpio y desengrasado. Con otro portaobjeto formando un ángulo de 45°, hacer coincidir la gota con el borde del mismo, y extenderla a lo largo de todo el portaobjeto, evitando hacer poca o demasiada presión. Los frotis que se consideran buenos para la observación deben ser delgados.

2.- Sobre el frotis ya seleccionado, colocar un número determinado de gotas de colorante de Wright recién filtrado, hasta cubrir el frotis y dejarlo actuar cinco minutos (Para efectuar la coloración, el portaobjetos se puede colocar en el fondo de una caja de petri y cubrir para disminuir la evaporación del colorante).

3.- Colocar el mismo número de gotas de solución Buffer al colorante, mezclar perfectamente y dejarlo así durante 7 minutos.

4.- Eliminar el colorante y solución Buffer, lavar con agua destilada limpiando bien el portaobjeto por el lado opuesto al frotis y dejar secar al aire.

5.- Observe a inmersión.

## PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS Y COLORANTES.

### Colorante de Wrigth.

Colorante de Wrigth en polvo \_\_\_\_\_ 2g

Glicerina \_\_\_\_\_ 40 ml

Alcohol metílico \_\_\_\_\_ 960 ml

### Buffer para coloración de Wrigth.

Sol. A.

NaHPO<sub>4</sub> \_\_\_\_\_ 4.49g

Agua destilada ----- 500 ml

SOL B.

NaHPO<sub>4</sub> \_\_\_\_\_ 4.75g

Agua destilada \_\_\_\_\_ 500 ml

### MEZCLAR

SOL A \_\_\_\_\_ 497.07 ml

SOL B \_\_\_\_\_ 489.18 ml

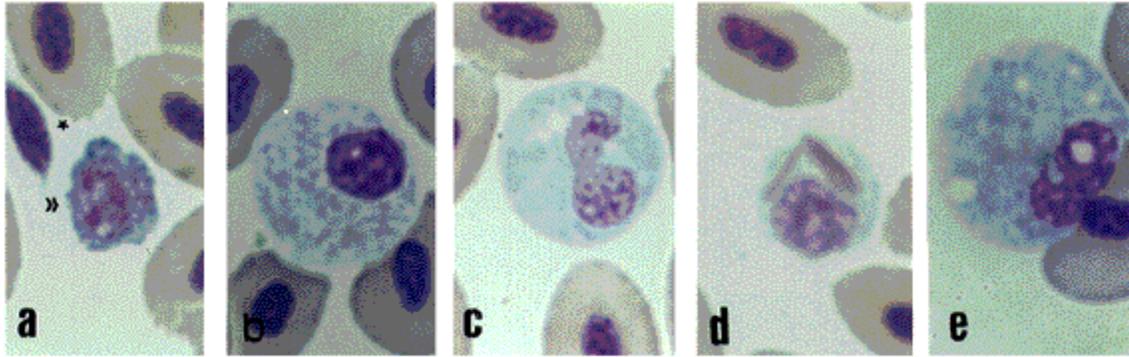


Fig. 18. Tejido sanguíneo de *Salminus maxillosus Valenciennes*.

a) Trombocito y linfocito b) Neutrófilo tipo I; c) Neutrófilo tipo II; d) Eosinófilo; e) Monocito.  
Cada leucocito se encuentra rodeado por eritrocitos. Tinción Rosenfeld. Objetivo 1600X

### **ELABORAR ESQUEMAS DE LOS ELEMENTOS FORMES DE LA SANGRE.**

Se deberá hacer entrega de un informe de la práctica correspondiente, conforme a lo explicado en clase, haciendo además un diagnóstico de sus resultados.

**ELABORACIÓN DE ESQUEMAS.**

**NEUTRÓFILO**

**EOSINÓFILO**

**BASÓFILO**

**MONOCITO**

**LINFOCITO**

**PLAQUETAS**

**CUESTIONARIO:**

## SESIÓN TEÓRICO PRÁCTICA No. 8 TEJIDO MUSCULAR.

### INTRODUCCIÓN:

El tejido muscular es un tejido prácticamente celular, altamente diferenciado; aproximadamente el 50% del cuerpo, está formado por este tipo de tejido, correspondiendo el 40% al músculo esquelético y del 5 al 10%, al músculo liso y cardiaco. Sus células pueden presentar formas de husos o cilindros. Las células contienen sarcolema (membrana, citoplásmica) y sarcoplasma (citoplasma); además de todos los organelos normales en cualquier célula, tienen estructuras características denominadas miofibrillas, elementos fundamentales en el fenómeno de contracción muscular.

El tejido muscular es de origen mesodérmico y por lo tanto se van a encontrar músculos derivados de los somitos y músculos derivados de los arcos branquiales, con sus respectivos nervios.

### OBJETIVOS:

- Identificará a las tres variedades de tejido muscular sobre todo tipo de material.
- Establecerá las diferencias estructurales, entre los tres tipos de células musculares.

### MATERIAL:

#### Análisis microscópico de las siguientes preparaciones:

- Músculo liso -----→ Intestino.
- Músculo estriado somático -----→ Lengua.
- Músculo estriado cardiaco -----→ Corazón.

### ELABORACIÓN DE ESQUEMAS.

### ACTIVIDAD:

1. Establece las diferencias morfofisiológicas entre las variedades del tejido muscular.

### CUESTIONARIO:

## SESIÓN TEÓRICO PRÁCTICA No. 9 TEJIDO NERVIOSO TÉCNICA GENERAL DEL RÍO-ORTEGA CON CARBONATO DE PLATA AMONIAACAL PIRIDINADO

### INTRODUCCIÓN:

El sistema nervioso se distribuye en todo el organismo, por lo que todos sus componentes mantienen entre sí y con otros tejidos, una continuidad funcional; de esta manera puede cumplir con las funciones altamente especializadas que le son características: detectar y responder ante los estímulos internos y externos. Las neuronas o células nerviosas, son la unidad estructural y funcional del Sistema Nervioso y por lo tanto del tejido nervioso; sus propiedades de irritabilidad y conductibilidad, llevadas a un máximo de especialización, permiten el control y mantenimiento del equilibrio orgánico.

### OBJETIVOS:

- Identificará a los componentes del tejido nervioso.
- Establecerá las diferencias entre el cerebro, cerebelo y médula espinal.
- Establecerá la relación morfológica y fisiológica del cerebro, cerebelo y médula espinal, con las meninges.

### MATERIAL.

- Tres cajas petri chicas
- Ganchos de punta fina de vidrio
- Todo el material deberá ser lavado perfectamente en agua destilada.

### MÉTODO.

- 1.- Fijación en formol al 10% 24 horas o más.
- 2.- Cortes por congelación.
- 3.- Lavado y selección de los cortes en agua destilada.
- 4.- Impregnación en carbonato de plata amoniacal, con una gota de piridina para 10 mililitros. Calentar a 40 °C, hasta que los cortes tomen un color café oscuro. No importa que se enturbie la solución.
- 5.- Lavar en agua destilada.
- 6.- Reducir los cortes en formol al 10% y lavarlos después con agua destilada.
- 7.- Virar en cloruro de oro al 1 por 500 primero a la temperatura del laboratorio hasta que los cortes tomen un tinte gris uniforme y calentarlo después a 40°C hasta que el corte se torne violeta intenso.

8.- Hiposulfito de sodio al 15% durante 15 a 30 segundos.

9.- Lavar en agua destilada.

10.-Alcohol del 96°

11.-Creosota de 5 a 10 minutos.

12.-Montar en bálsamo de Canadá.

## **PREPARACIÓN DE REACTIVOS:**

### **CARBONATO DE PLATA AMONICAL.**

Nitrato de plata al 10% ----- 5 ml

Carbonato de sodio al 5% ----- 15 ml

Mezclar ambas soluciones y disolver el precipitado formado añadiendo amoniac, gota a gota agitando constantemente. Añadir agua destilada hasta completar 76 ml.

Preparar en el momento de usar.

## **ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE LAS SIGUIENTES PREPARACIONES.**

1.- Cerebro

2.- Cerebelo

3.- Médula espinal

## **ACTIVIDAD:**

1.- Establece las diferencias morfofisiológicas entre:

a) Cerebro

b) Cerebelo

c) Medula espinal

## **CUESTIONARIO:**

## SESIÓN TEÓRICO PRÁCTICA No. 10 GAMETOGÉNESIS Y FECUNDACIÓN (Dos sesiones)

### INTRODUCCIÓN

La gametogénesis es el proceso de formación de gametos en las gónadas (ovarios y testículos), por medio de la meiosis a partir de células germinales. Mediante este proceso, el número de cromosomas que existe en las células sexuales se reduce de diploide a haploide, es decir, a la mitad del número de cromosomas que contiene una célula normal de la especie de que se trate. En el caso de los humanos, si el proceso tiene como fin producir espermatozoides, se le denomina espermatogénesis y se realiza en las gónadas masculinas o testículos. Si el resultado son óvulos, se denomina ovogénesis y se realiza en las gónadas femeninas u ovarios.

### CÉLULAS GERMINALES:

La mayor parte de los organismos pluricelulares presentan dos tipos de células: Las células somáticas que representan a la parte del organismo que no hereda las características a las nuevas generaciones y las células germinales que representan características genéticas y fenotípicas que las hace diferentes del resto de las células.

Las células germinales o gametos de los distintos animales, difieren en forma y tamaño. En ambos sexos existen diferencias muy marcadas en lo que se refiere a dimensiones, longevidad, nutrientes, etc.

### ÓVULO:

La célula sexual femenina es el óvulo, originada en el ovario, generalmente es de forma esférica aunque los hay de forma ovoide en aves, alargados en lampreas y peces gonoideos. Su tamaño es también muy variable los hay desde 70  $\mu\text{m}$  hasta los grandes huevos de reptiles y aves.

Los óvulos presentan muchas características que los diferencian de las células somáticas, todos los óvulos son más grandes que el resto de las células, la disposición de los organelos es diferente así como su cantidad, presenta una disposición polar bien definida debido a la posición del núcleo y del vitelo.

Todos los óvulos, con pocas excepciones, presentan membrana vitelina, algunas veces con elementos accesorios, presentes de acuerdo a las necesidades ambientales en los que se desarrollan. En los peces más primitivos, como amphioxus, los óvulos tienen un diámetro de 0.1 mm con un núcleo desplazado hacia el polo animal y con muy poco vitelo en el citoplasma.

## **ESPERMATOZOIDES:**

Los espermatozoides de los diferentes grupos animales, presentan una gran variedad de formas. Sin embargo, los espermatozoides de los vertebrados presentan una estructura común, la cual se compone de dos partes: la cabeza y la cola. La cola a su vez se divide en cuatro regiones: el cuello, parte media, parte principal y la parte final. En la cabeza se encuentra el acrosoma y el núcleo muy condensado donde residen las características genéticas. Al acrosoma también se le da el nombre de casquete anterior.

En los tubos seminíferos los espermatozoides no tienen movilidad hasta que son transportados al epidídimo, donde adquieren su madurez fisiológica. En los vertebrados inferiores, los espermatozoides son mezclados con sustancias mucoides secretadas en los conductos genitales de los machos. En los mamíferos existen glándulas que colaboran en la formación del semen y corresponden a la próstata y la vesícula seminal. Estas sustancias son ricas en fructuosa que probablemente sirve como nutriente a los espermatozoides.

## **FECUNDACIÓN EN ORGANISMOS ACUÁTICOS (ERIZO DE MAR).**

La observación del desarrollo embrionario en los organismos acuáticos es de suma importancia para los Investigadores, técnicos que se dedican a la acuicultura y los dedicados a la pesca en general, porque comprende varios aspectos del origen de los organismos, así como la necesidad de estudiar la biología del desarrollo, tipo de reproducción y ciclos reproductivos de los recursos pesqueros.

Además, un aspecto por demás importante, es que los ovocitos de erizo tienen grandes ventajas en didáctica porque son de buen tamaño, translúcidos y fáciles de observar, sobre todo para el proceso de fecundación, poliespermia; así como las primeras fases de desarrollo.

## **FECUNDACIÓN:**

La fecundación es la fusión de los gametos (óvulos y espermatozoide), seguida de la unión de los dos núcleos de los gametos; esta acción inicia el proceso de desarrollo embrionario.

La acción del espermatozoide sobre el óvulo, estimula a este último para desarrollar la serie de fenómenos que llevan a la organización del nuevo embrión. Por lo tanto, la fecundación ejerce funciones de activador sobre el óvulo. La adición de cromosomas es otro aspecto totalmente diferente.

Debe señalarse que el papel que tiene la fecundación en el ciclo biológico de varios organismos no siempre es el mismo. Aunque en los metazoos y metáfitos la fecundación origina el desarrollo del huevo que conducirá al embrión.

Uno es la activación del huevo y el otro es la mezcla de los caracteres hereditarios en la descendencia. El último aspecto de la fecundación se llama anfimixia y de hecho cae dentro de las ciencias genéticas.

## OBJETIVO GENERAL:

El alumno comprenderá, el proceso de meiosis (ovogénesis y espermatogénesis) en diferentes organismos, así como el de fecundación en erizo de mar.

## OBJETIVOS PARTICULARES:

- Identificará al epitelio germinativo en los ovarios y testículos que se proporcionen.
- Identificará a los diferentes tipos celulares, durante el proceso de ovogénesis y espermatogénesis en el epitelio germinativo.
- Explicará la importancia de la relación morfofisiológica de los diferentes tipos de ovocitos y espermatozoides en los diferentes organismos estudiados.

## MÉTODO:

- A. Análisis microscópico de ovarios, testículos y espermatozoides de:

Ovario	Testículo	Espermatozoides

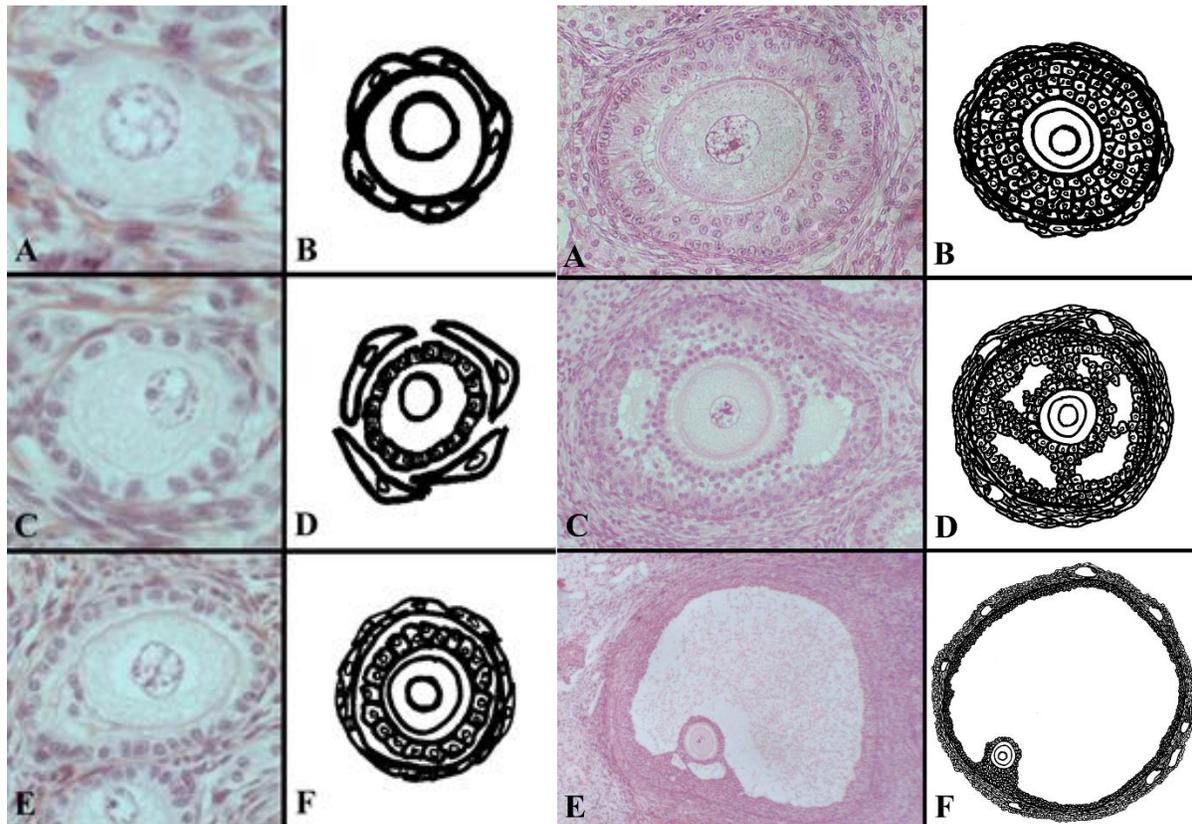


Fig. 19 A Indica los nombres correspondientes de las estructuras de cada ovocito. Tinción H-E, objetivo 40 X (fuente [www.uam.es](http://www.uam.es)).

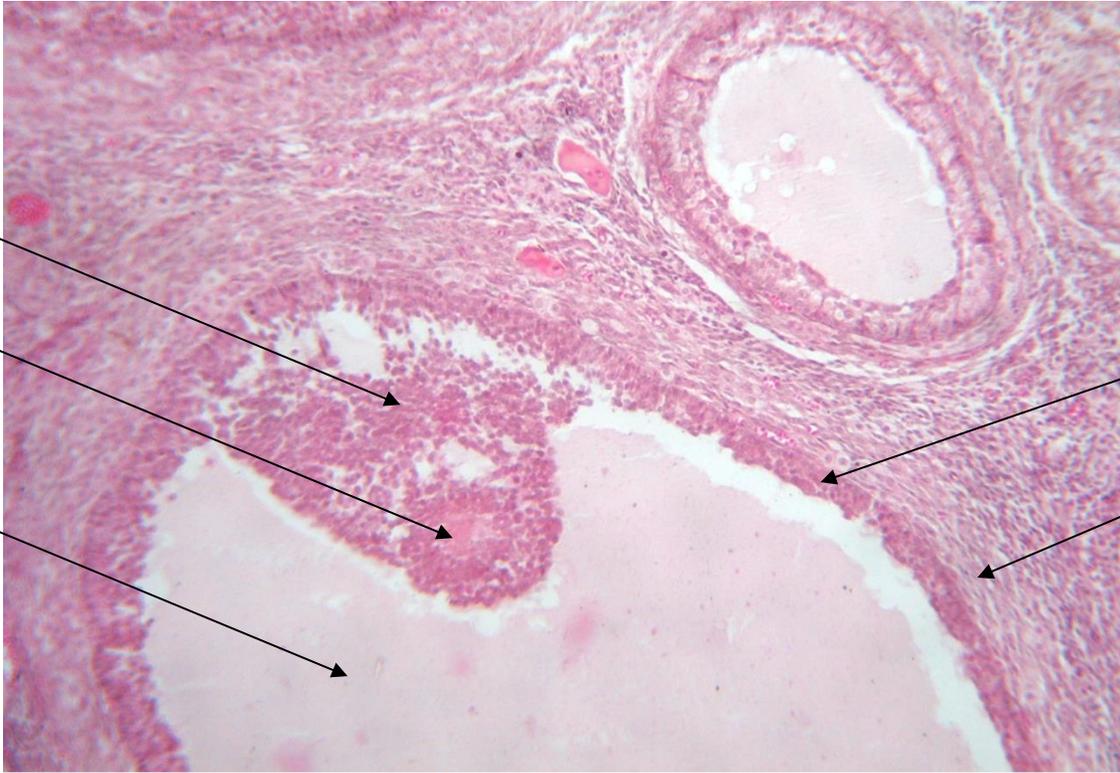
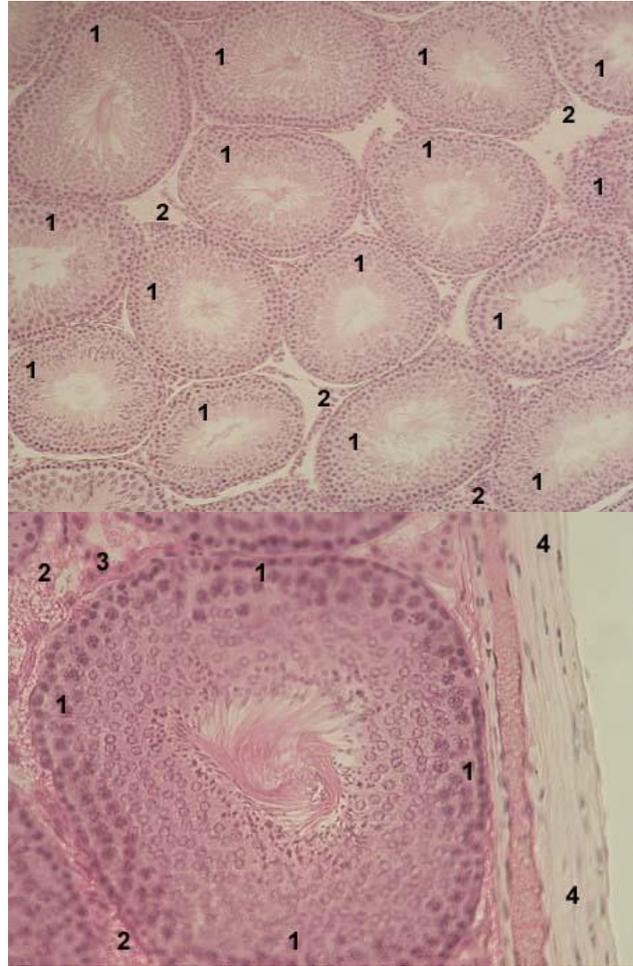


Fig. 19 B Indica los nombres correspondientes a las estructuras señaladas del ovocito maduro. Tinción H-E, objetivo 40 X.

**Fig. 20** Testículo con presencia de:

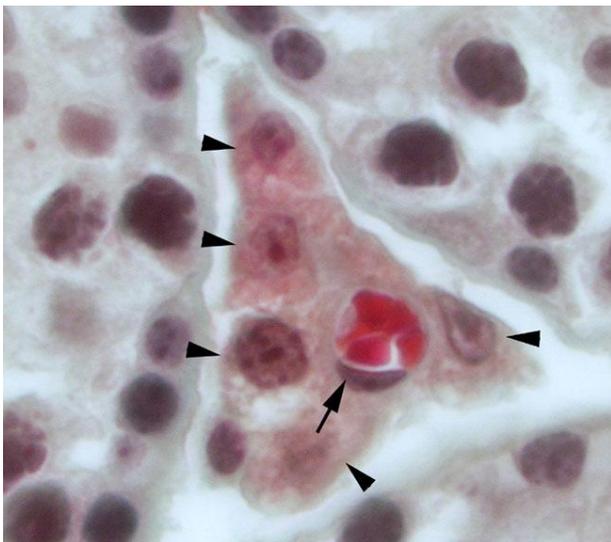
1. tubos seminíferos.
2. Tejido conjuntivo intersticial.



**Fig.21** Testículo con presencia de:

1. Tubo seminífero.
2. Tejido conjuntivo intersticial.
3. Células de Leydig.
4. Túnica albugínea.

Fuente:ESPEJOS:[www.histol.chuvashia.com](http://www.histol.chuvashia.com)  
[histol.narod.ru](http://histol.narod.ru) [histol.boom.ru](http://histol.boom.ru)



**Fig. 22.** Células de Leydig (puntas de flecha), secretoras de testosterona, asociadas a un capilar sanguíneo, en el que se resalta el núcleo de la célula endotelial (flecha). Obsérvense los eritrocitos de color rojo intenso. Tinción con tricrómico de Masson (Universidad Autónoma de Madrid)



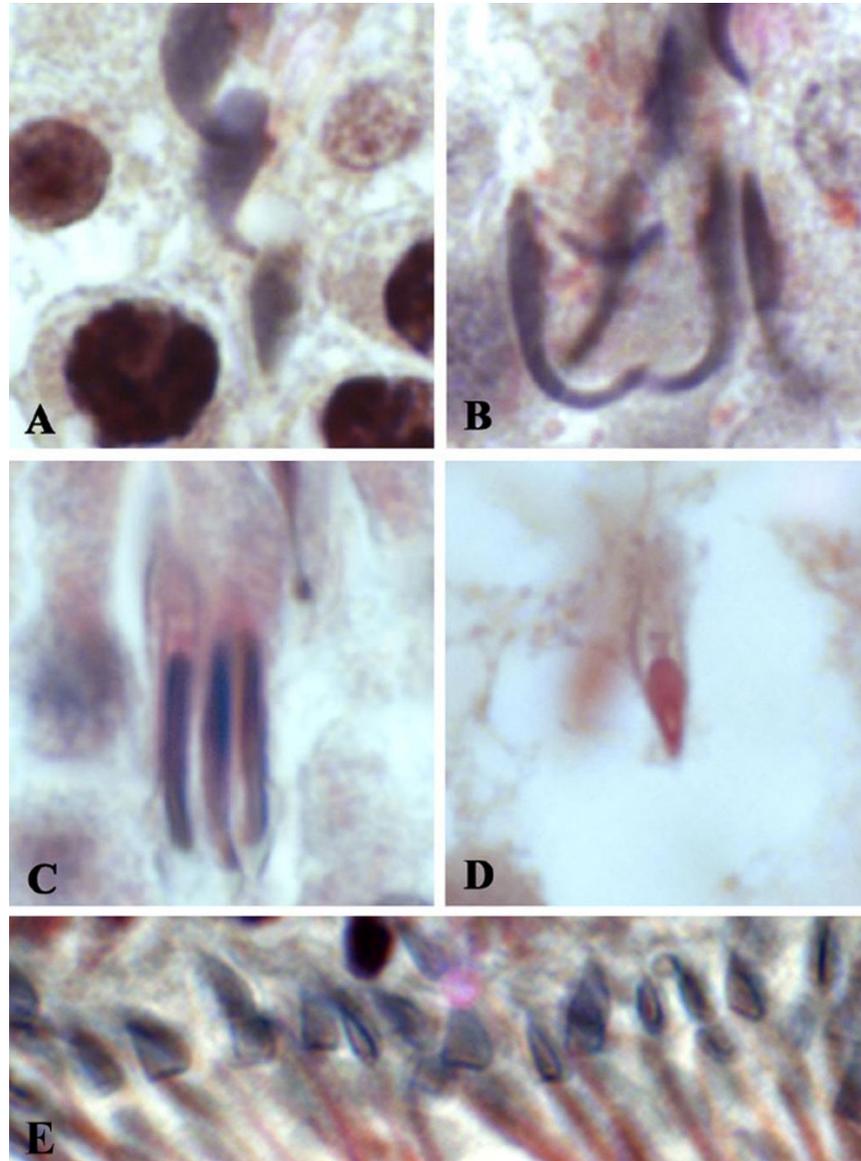


Fig. 23 Núcleos de espermátidas en secciones de testículo teñidas con tricrómico de Masson. Se observan claras diferencias entre las distintas especies. A.- Ratón. B.- Rata. C.- Hámster. D.- Humano. E.- Jerbo.

**B. Desarrollo embrionario de organismos acuáticos. Erizo de mar**  
(*Strongylocentrotus franciscanus* y *S. purpuratus*).

## Material y equipo:

- 6 erizos(es necesario conocer previamente la época de desove de las diferentes especies)
- 6 vasos precipitados de 300 ml.
- 6 matraces de 300 ml.
- 3 pipetas de 5 ml. y 3 pipetas de 1 ml.
- 3 vidrios de reloj.
- 3 jeringas de 5 ml.
- 3 pipetas Pasteur.
- Microscopio

## Reactivos:

- Agua de mar, decantada o filtrada.
- Sol. KCl al 0.5 mol.
- Gasa.

## METODO:

1. Inducción al desove. (Utilizando solución de KCl de 0.5 Mol).

Para saber si las gónadas están desarrolladas, se prepara una solución de KCl de 0.5 Mol y se efectúa un muestreo que consiste en inyectar 1ml. de la solución a cada erizo en la parte bucal, y si la gónada está desarrollada, en un minuto expulsará los óvulos o espermatozoides; si el material colectado va a ser utilizado después de 1 o 2 días, es recomendable envolverlos en gasa y guardarlos en refrigeración a 10°C (Fig. 26).

2. Llena 5 matraces con agua de mar hasta el tope.

3. Inyecta 1 ml de solución de KCl de 0.5 Mol en el labio bucal del erizo.

4. Lava al erizo inyectado, con agua de mar para limpiarle el líquido somático y el excremento, y coloca a cada erizo sobre un matraz con el ano hacia abajo; espera unos minutos.

5. La hembra empieza a expulsar los óvulos, de color amarillo blanquecino que caen en el matraz (Fig. 27).

6. El macho expulsa el esperma que cae en el matraz como una nube de color lechoso y enturbia el agua (Fig. 27).

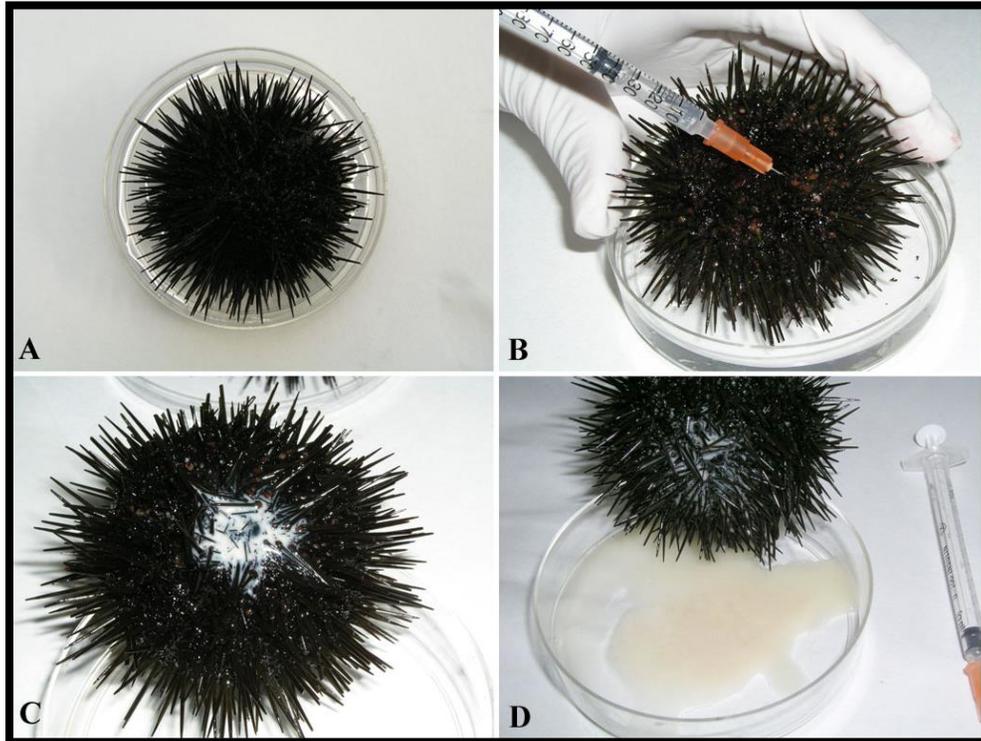


Fig. 24 Inyección de la solución de KCL de 0.5 ml. Al erizo.



Fig. 25 Hembra y macho en desove.

Precauciones que se deben tomar en cuenta para el método de inseminación artificial y el método de lavado.

- 1) Examina los ovocitos y utiliza aquellos que estén maduros y de forma esférica. (No deben emplearse ovocitos obtenidos de hembras inmaduras, ya que éstos son de forma irregular y de distintos tamaños).
- 2) Como una hembra desova de 3 a 5 millones de ovocitos, los que se suspendan en la superficie del líquido es mejor eliminarlos a la hora del lavado.
- 3) Distribuye los ovocitos obtenidos en 6 vasos de precipitado de 300 ml y mide la temperatura.

## HISTOLOGÍA Y BIOLOGÍA DEL DESARROLLO

- 4) Mezcla en un vaso de precipitado el esperma obtenido de 2 o 3 organismos. Agrega 5 ml de esperma a cada uno de los vasos de precipitado que contienen los óvulos; (a este proceso se le denomina inseminación, y anota en el vaso la hora exacta de la inseminación. (Fig. 28)
- 5) Una vez realizada la fecundación, elimina el excedente de esperma mediante 6 lavados continuos, a intervalos de 10 minutos cada uno, para evitar que el agua se ensucie y perjudique el desarrollo embrionario.
- 6) Durante el lavado elimina los huevecillos que no se sumerjan en el lapso de reposo de 10 minutos.
- 7) Presta atención a la fluctuación de temperatura durante el desarrollo embrionario y evita que ésta se eleve a más de 30 °C.



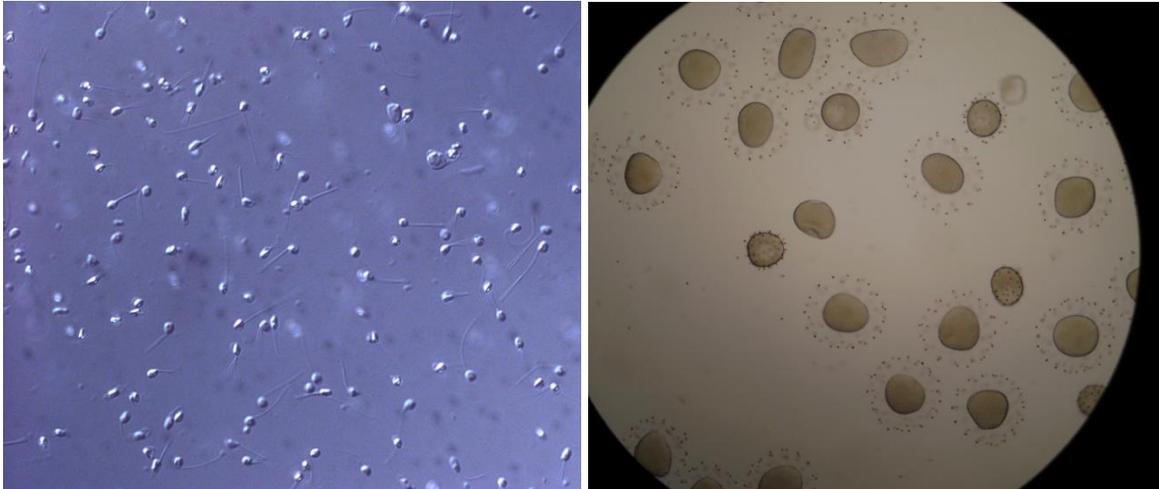


Fig. 26 Obtención de gametos, fecundación de galleta de mar.

## OBSERVACIONES AL MICROSCOPIO

### 1. Ovulo no fecundado y espermatozoide.

Coloca primero en un vidrio de reloj óvulos no fecundados y obsérvalos bajo el microscopio (15 x10) y posteriormente agrega una gota de espermia con una pipeta. Observarás que alrededor del óvulo se juntan infinidad de espermatozoides. (Dibuja un esquema de lo observado) (Fig.29).



Fig. 27 Infinidad de espermatozoides alrededor del ovulo.

### 2. Óvulo fecundado.

Mientras haces el esquema de la Fig. 29 en el transcurso de 10 a 20 minutos se forma la membrana de fecundación. Esta empieza a formarse inmediatamente después que penetra un espermatozoide para evitar la penetración de otro. (Fig. 30).



Fig. 28 Formación de la membrana de fecundación.

### 3. Etapa de 2 y de 4 células.

Mientras terminas de dibujar el esquema 2, el huevecillo se divide en dos células. La división se termina en aproximadamente 5 minutos. Observa cuidadosamente ese proceso. Para pasar de la etapa de dos células a cuatro transcurren 30 minutos. Dibuja esos dos esquemas (Fig. 31).

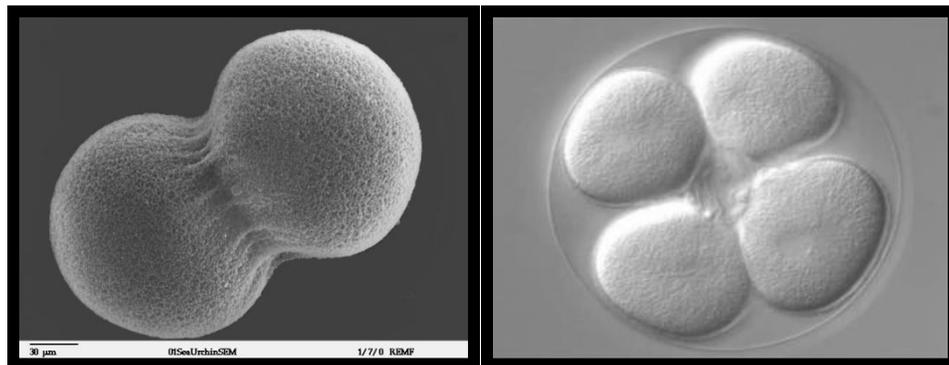


Fig. 29 Formación de 2 y 4 células.

4. Para que te expliques cómo ocurre la segmentación del huevecillo, imagínatelo como el globo terrestre. Las etapas de 2 y 4 células serían como si se partiera al globo con un cuchillo del polo norte hacia el polo sur, quedando dividido en 4 partes. La etapa de 8 células sería un corte transversal por el ecuador, quedando 4 células en el hemisferio norte y 4 en el hemisferio sur, sumando un total de 8 células del mismo tamaño (Fig. 32).

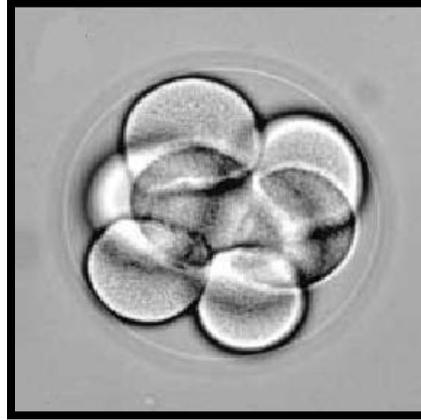


Fig. 30 Formación de 8 células.

## 5. Etapa de 16 células.

Para pasar de la etapa de 8 células a 16 células, las 4 células del hemisferio norte se segmentan longitudinalmente y las 4 del hemisferio sur transversalmente, sumando un total de 16 células de 3 distintos tamaños: grandes, medianas y chicas. Dibuja el esquema teniendo en mente lo anterior (Fig. 33).



Fig. 31 Formación de 16 células.

## 6.- Etapa de mórula.

Como la célula inicial se va segmentando a intervalos de 30 minutos, el tamaño de las células se va haciendo más pequeño cada vez, y el número de éstas es casi incontable. Esta etapa recibe el nombre de mórula por el parecido que tiene al fruto de la mora (Fig. 34).

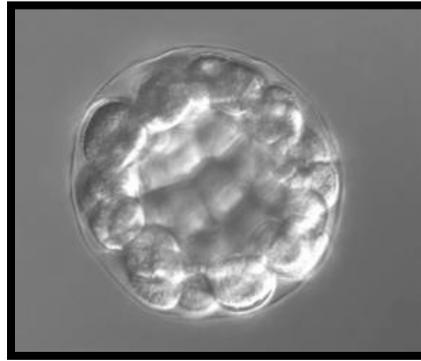


Fig. 32 Etapa mórula.

## 7.- Etapa de blástula y gástrula.

El embrión da vueltas con la ayuda de los cilios hasta romper la membrana y eclosionar. Se le denomina blástula, y tiene forma de pelota de baseball. Posteriormente, empieza la invaginación, que ocurre como si empujaran el embrión con un palo por el polo sur. Allí se va formando el origen del intestino. El orificio que se forma es el blastoporo que posteriormente viene a ser el ano. La boca se forma cuando la parte A llega a tocar la B (Fig.35)

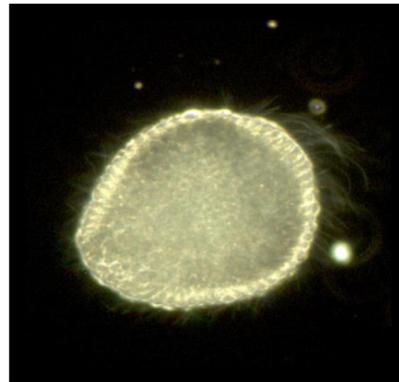


Fig. 33 Etapa de gástrula.

## 8. Larva prismática.

Como la forma que presenta la larva es triangular se le denomina prismática o piramidal. Debido a que estas larvas se mueven muy activamente dentro del acuario, al observarlas al microscopio es conveniente colocarlas en un vidrio de reloj. Los puntos A y B anteriores han llegado a unirse y se abre el orificio de la boca (Fig. 36)

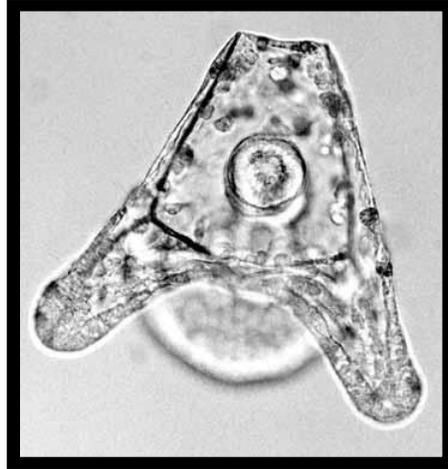


Fig. 34 Larva prismática.

## 9. Larvas pluteus.

Al igual que en el caso anterior estas larvas son muy activas. Observa primero este movimiento con bajo aumento de  $5 \times 10$  y observa en la larva su formación esquelética y pigmentación (Fig. 37).



Fig. 35. Larva pluteus.

## ACTIVIDADES:

- Localizará al epitelio germinativo.
- Identificará los diferentes tipos celulares.
- Establecerá las diferencias morfológicas entre los diferentes tipos de células germinales.
- Establecerá las diferencias entre los tipos de ovocitos maduros de las especies observadas en el laboratorio.
- Establecerá las diferencias entre los tipos de espermatozoides de las especies observadas en el laboratorio.
- Obtener los gametos masculinos y femeninos de erizo de mar y realizar la fecundación in vitro.
- Observar la membrana de fecundación y los consecuentes estadios de desarrollo.
- Esquemas, con nombre en todas las estructuras observadas, técnica, aumentos y organismo.
- Realizar laminillas fijas con las divisiones celulares obtenidas, a partir de la fecundación realizada en clase.

## CUESTIONARIO:

## SESIÓN TEÓRICO PRÁCTICA No. 11 SEGMENTACION, GASTRULACION Y NEURULACION

(Temas de exposición)

### INTRODUCCIÓN.

Una de las características de la reproducción sexual en los animales, es que su compleja estructura pluricelular, se origina a partir de una sola célula: el óvulo fecundado; ésta célula única, ahora llamada cigoto o huevo se transforma en un cuerpo pluricelular, que se caracteriza por un drástico aumento en sus actividades respiratorias y sintéticas la cual tiene lugar al principio del desarrollo y se logra mediante varias divisiones celulares (MITOSIS), lo que corresponde al proceso de **Segmentación**.

Las células resultantes de las primeras divisiones de la segmentación no son especializadas en su mayor parte y permanecen por igual sin especialización metabólica, dado que su actividad sintética está adaptada, antes que para actividades moleculares especializadas, para la reproducción de DNA y de las proteínas requeridas para la división celular. Después de algunas divisiones celulares sincronizadas el embrión se asemeja a una mora, de ahí el nombre de mórula, de aquí en adelante las divisiones celulares pierden su sincronía dependiendo de la cantidad de vitelo (yema) que se presente.

Con el tiempo el embrión en proceso de segmentación desarrolla una cavidad central denominada blastocele denominándose entonces etapa de blástula, iniciándose cambios importantes a nivel bioquímico, que permiten comunicaciones celulares en nuevas y diferentes formas.

Con base en lo anteriormente mencionado inicia en el embrión uno de los períodos más críticos de su desarrollo y que corresponde a la etapa de **gastrulación**. Hasta este momento, la evolución del desarrollo de la mayor parte de los animales se ha encontrado bajo la dirección de las instrucciones de derivación materna y de los procesos que se llevaron a cabo en el huevo antes de la fecundación. La gastrulación se caracteriza por profundos rearrreglos, aunque bien ordenados, de las células en el embrión, Uno de los principales cambios durante la gastrulación temprana es la adquisición que realizan las células para experimentar movimientos morfogenéticos dirigidos, reorganizando al embrión (Tabla 1), los cuales ocasionan la reordenación del embrión a partir de la blástula, a una etapa que se caracteriza por la presencia de tres capas germinales.

**TABLA 1.** Describe los movimientos de la gastrulación que involucran al embrión en su totalidad y da un ejemplo de cada uno de ellos.

TIPO DE MOVIMIENTO	DESCRIPCIÓN	EJEMPLO
INVAGINACIÓN		
INVOLUCIÓN		
EPIBOLIA		Formación del ectodermo en anfibios, erizo de mar y tunicados.
INGRESION		
DELAMINACIÓN		

Después de los movimientos morfogenéticos, el futuro destino en el desarrollo del embrión depende en consecuencia, de las interacciones inductoras entre estos grupos celulares recién asociados; de tal forma que el fenómeno inductor primario estriba en la influencia que ejerce el notocordio o cordamesodermo en el ectodermo suprayacente, dando lugar a la transformación de una banda de células ectodérmicas no especializadas, en el primordio del sistema nervioso central; iniciando el proceso de **neurulación**.

La neurulación por lo general se considera como el periodo de desarrollo que comienza al presentarse los primeros indicios de formación de la placa neural y que concluye con el cierre del tubo neural.

## **OBJETIVO GENERAL:**

El alumno aplicará y comprenderá, la técnica para el estudio de la biología del desarrollo de anfibios y aves.

## **OBJETIVO PARTICULARES:**

- Aplicará la técnica para la obtención de embriones de anfibios y aves
- Conocerá el ciclo reproductivo los anfibios y de las aves.
- Conocerá las fases de desarrollo embrionario de anfibios y aves.
- Conocerá sus aplicaciones en la acuicultura.
- Evaluará y discutirá sus resultados.

## **TRABAJO PRÁCTICO:**

### **A. DESARROLLO EMBRIONARIO DE ANFIBIOS.**

#### **MATERIAL:**

- 1 jeringa de 1 ml. (insulina)
- Estuche de disección
- Portaobjetos excavados.

#### **REACTIVOS:**

- 0.5 ml. De progesterona en solución.
- 100 ml. De solución Holfreter.

#### **MÉTODO:**

##### **INDUCCIÓN AL DESOVE:**

- 1.- Succionar 1 ml. de la inyección con la jeringa, y sacar el aire.
- 2.- Inyectar a la rana, tomando con una mano las patas de la rana y con la cabeza baja, e inyectar a través de la piel y del músculo abdominal, hasta la cavidad del cuerpo, en uno de los cuartos abdominales inferiores. Presionar el embolo de la jeringa lentamente para evitar dañar los órganos internos con la solución, y sacar con sumo cuidado la jeringa, limpiando con una torunda de algodón suavemente.
- 3.- Coloque al animal en un frasco o recipiente adecuado, con poco agua.
- 4.- La ovulación dependerá de la temperatura a la que se mantenga el animal.
- 5.- Después de tiempo requerido se procede a “ordeñar” al animal para forzar el desove. La hembra limpia se toma de las patas traseras con una mano, manteniéndola con el dorso hacia arriba; la otra mano se coloca con la palma hacia abajo sobre la cabeza, apretando el cuerpo del animal por detrás de las patas anteriores. Entonces, con las patas traseras ligeramente dobladas

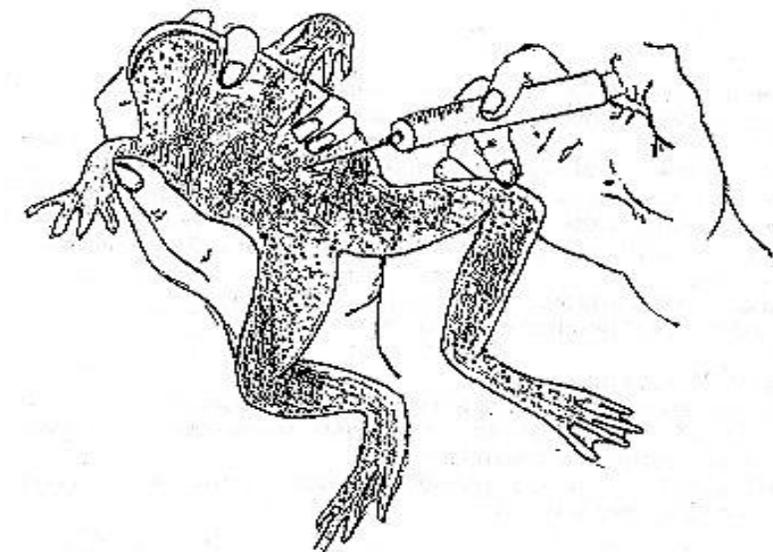
hacia abajo, se comprime suavemente el abdomen, ejerciendo la presión hacia la cloaca, extrayendo así algunos huevos, se suspende el ordeño y se coloca al animal en su recipiente. Para preparar la suspensión de esperma, se procede de la misma manera que la ovulación.

6.- Una vez que se han obtenido espermatozoides y ovocitos, previamente identificados en el microscopio, se juntan ambos en una caja petri, se remueven y se dejan reposar unos 20 a 30 minutos. Cuidando que no haya excesiva cantidad de espermatozoides por óvulo (poliespermia).

7.- Transferir los huevos a diferentes cajas petri conteniendo una solución recién preparada de Holfreter y observar su desarrollo. La gradual hinchazón de la ganga que circunda los huevos, además de la evidencia de la inseminación manifiesta por la rotación de los huevos, con los polos pigmentados hacia arriba. El primer plano de división empieza antes de terminar la primera. Se desechan los huevos moteados o rotos.

8.- Fijar los diferentes estadios de desarrollo.

9.- Esquematizar los diferentes estadios de desarrollo



**Fig. 36** Representación esquemática de la manera como se debe llevar a cabo la inyección de la hormona o glándula pituitaria

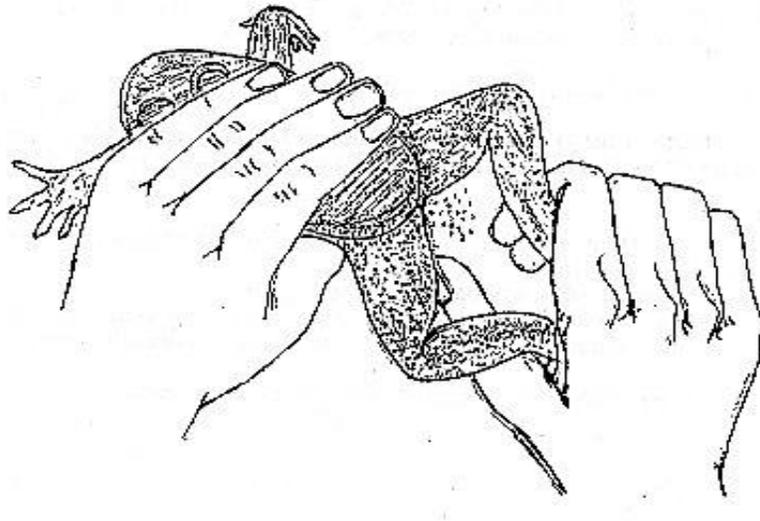


Fig. 37 Desove o Expulsión de gametos por presión

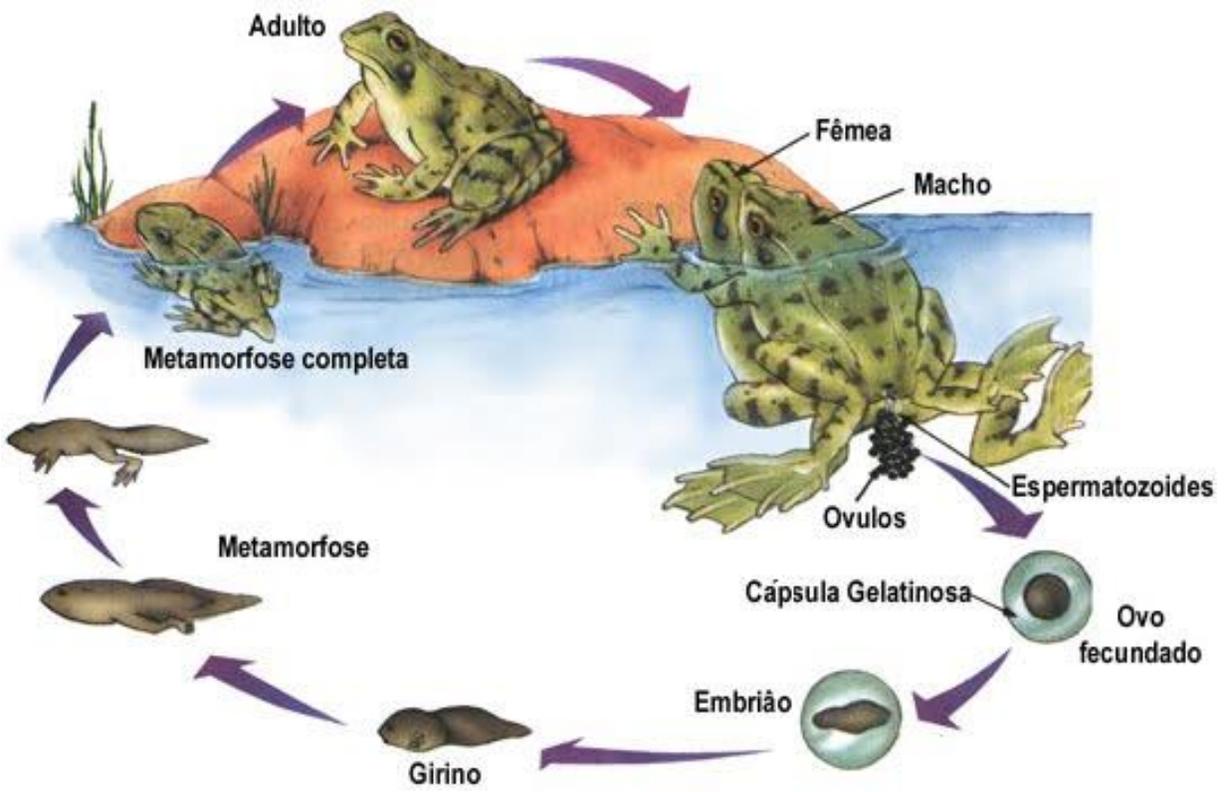
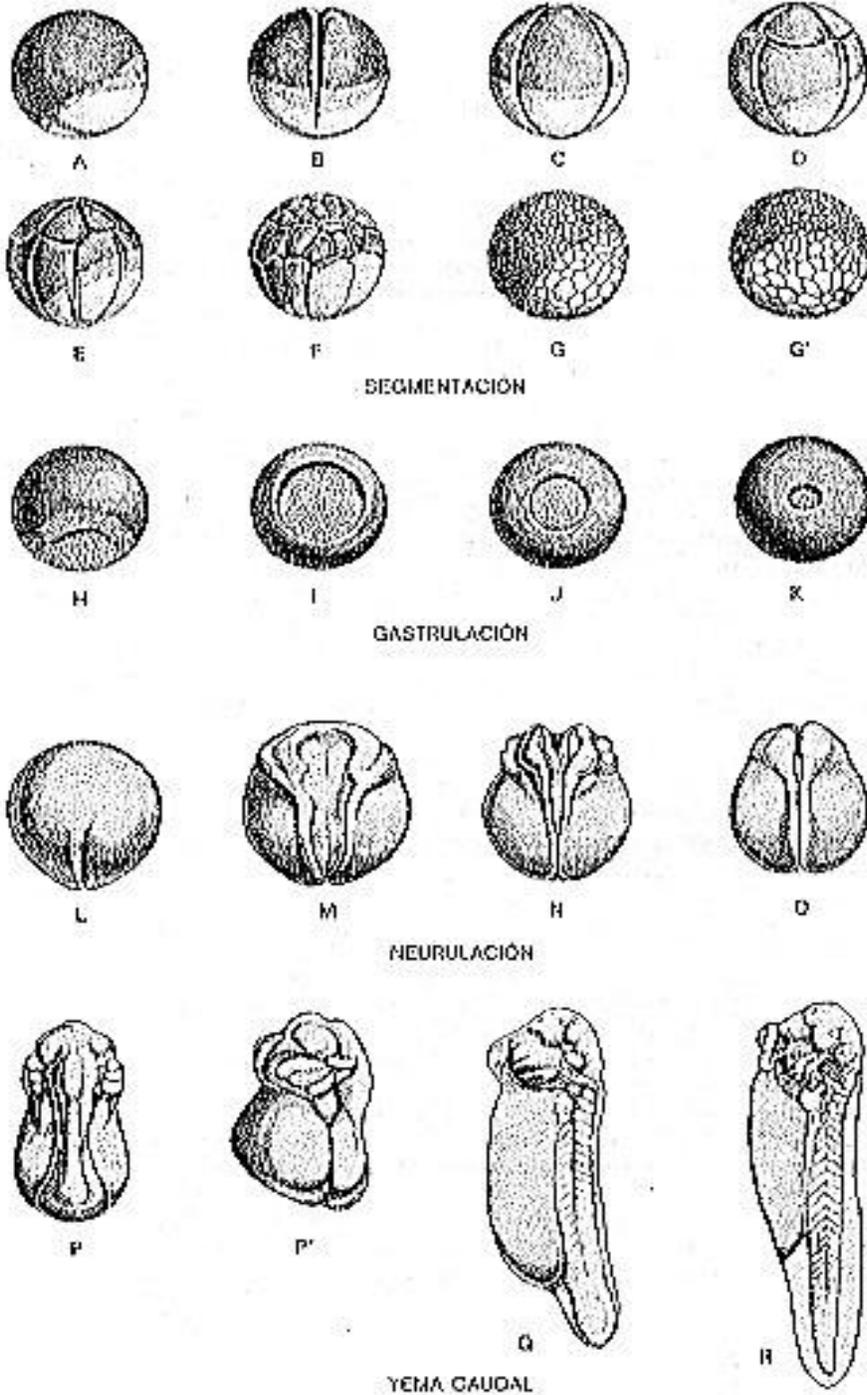


Fig. 38 Ciclo de vida de anfibio.



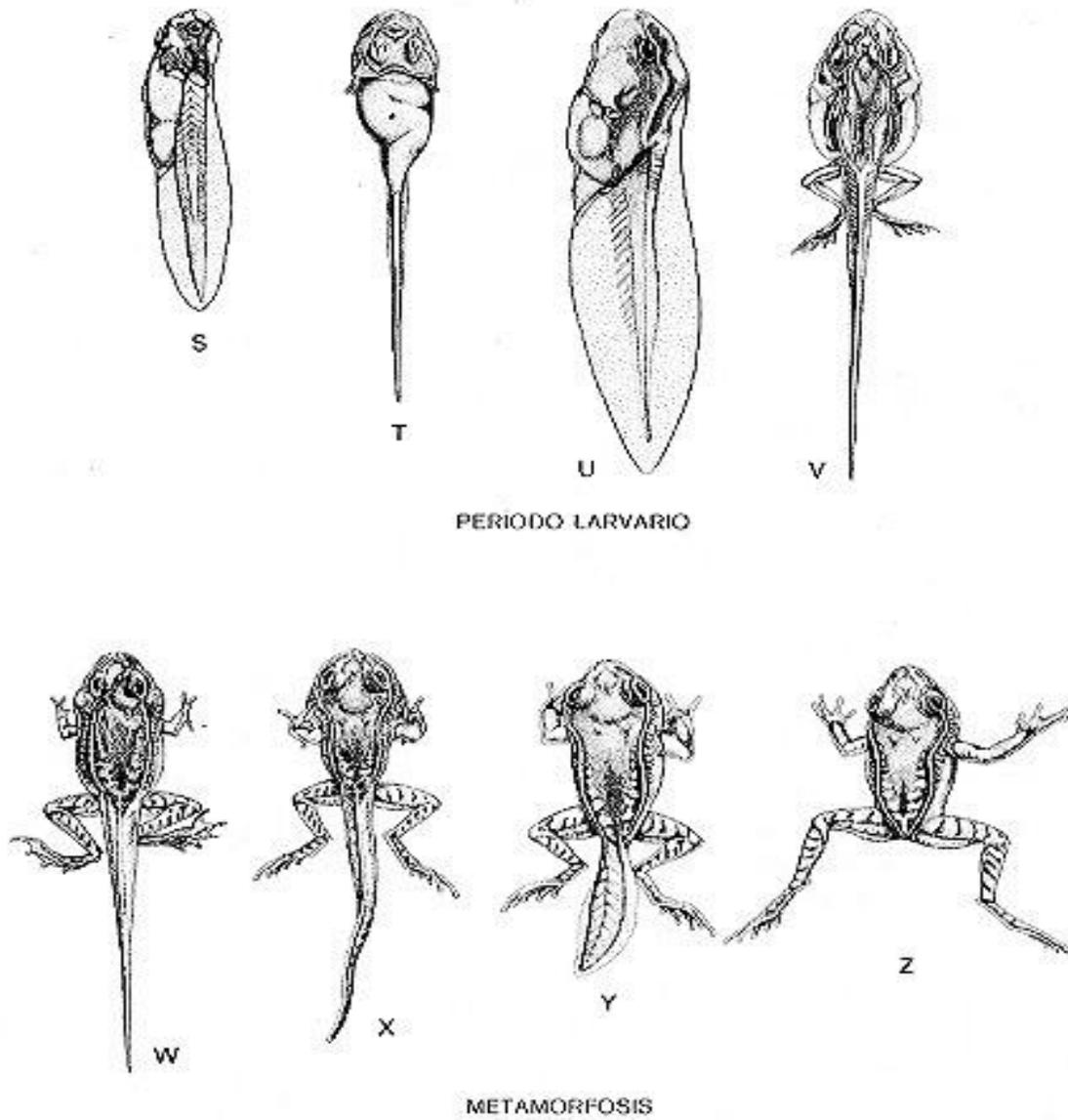


Fig. 39 Desarrollo de la rana (Según Witschi)

## B. DESARROLLO EMBRIONARIO DE AVES

### MATERIAL:

Embriones de aves obtenidos en la práctica número 2.

### MÉTODO:

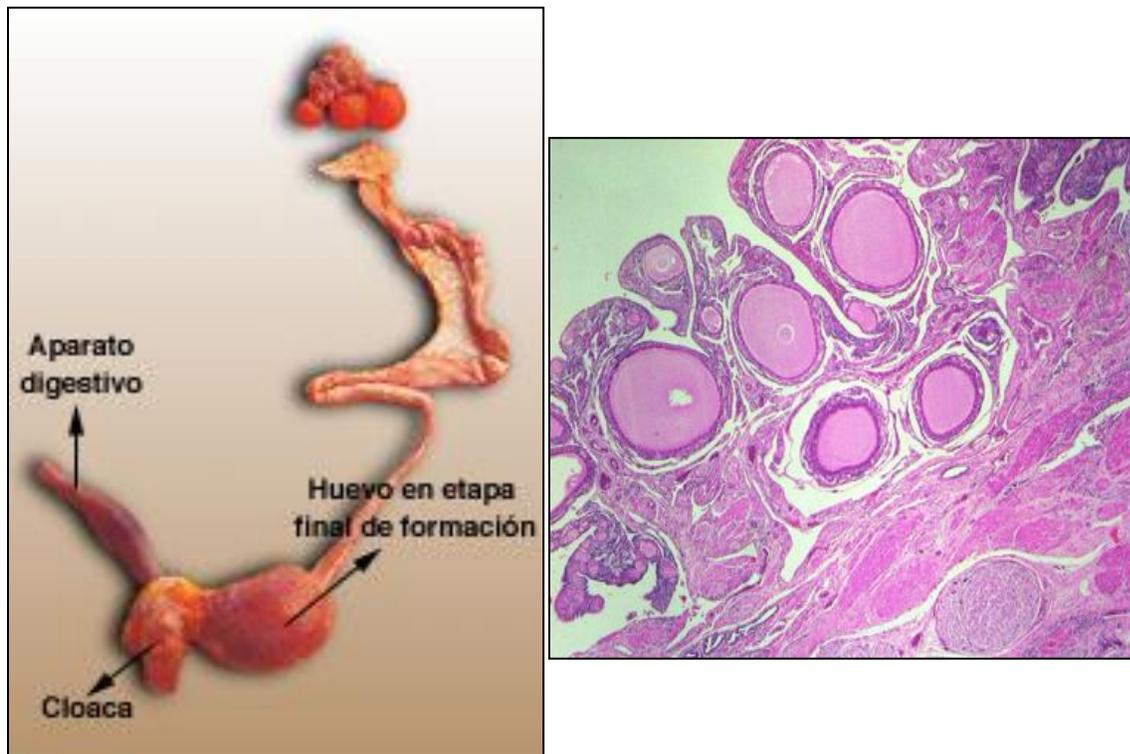


Fig. 40 Aparato reproductor de ave y corte histológico de ovario.

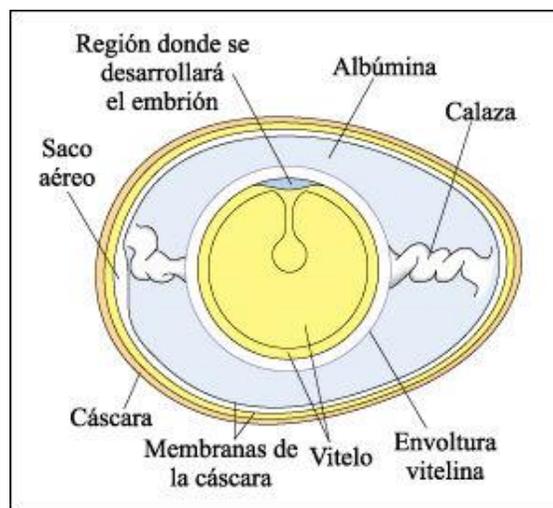
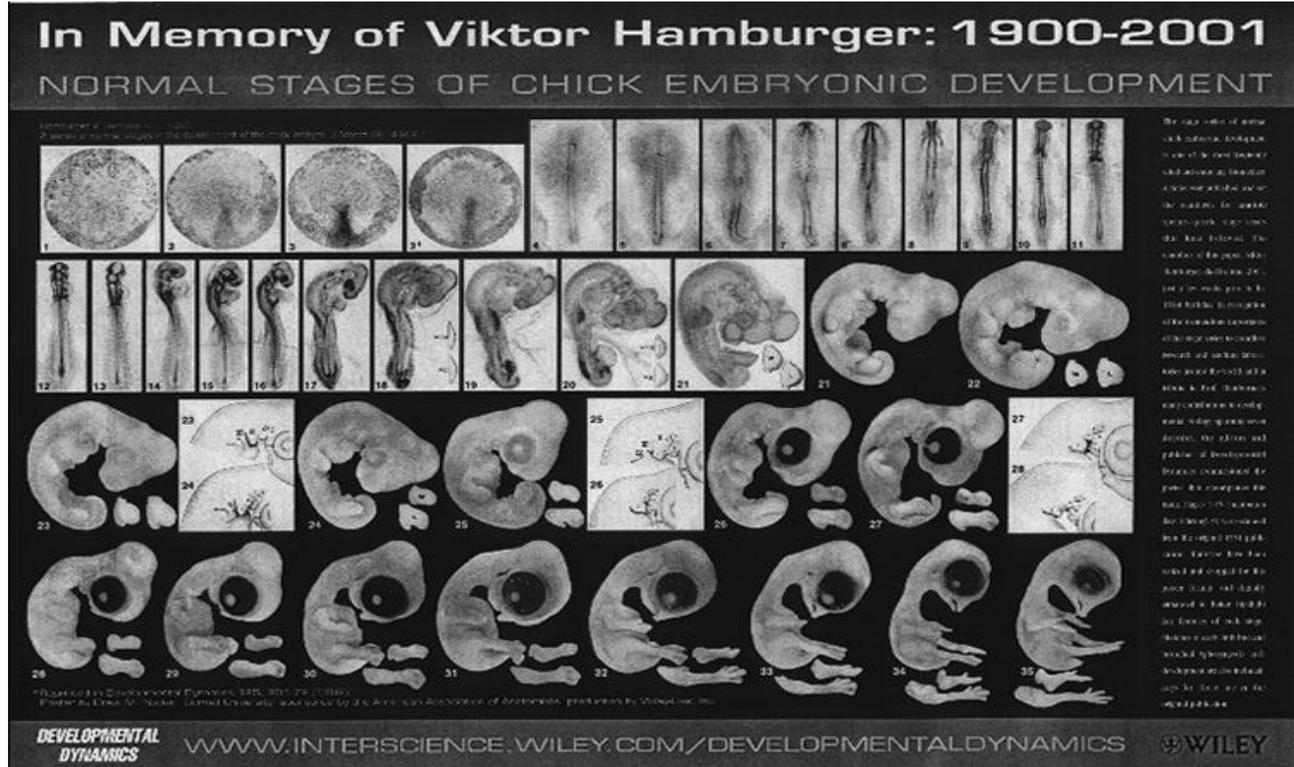


Fig.41 Huevo de ave mostrando sus estructuras.

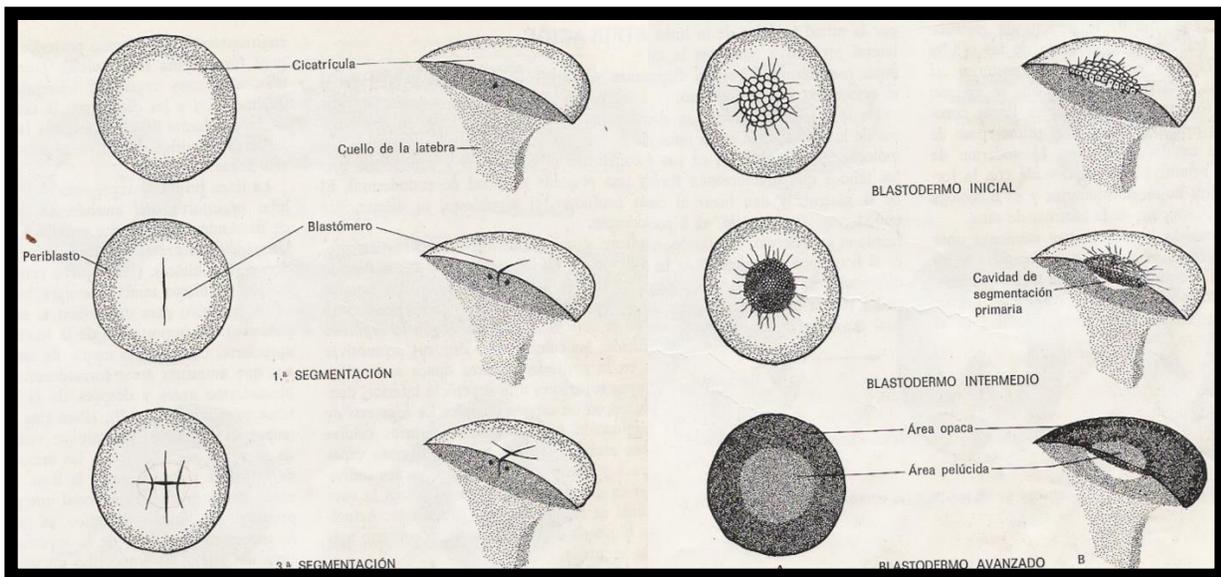
## HISTOLOGÍA Y BIOLOGÍA DEL DESARROLLO

**Tabla 2.** Cronológica que indica la aparición de los principales caracteres morfológicos de la ontogenia del pollo.

TIEMPO	Caracteres morfológicos	TIEMPO	Caracteres morfológicos
18 h	Línea primitiva completa, prolongación cefálica	45 h	Arcos aórticos I y II.
20 h	Repliegue cefálico anterior.	48 h	25-26 pares de somitas, fin de la línea primitiva, repliegue amniótico posterior.
24 h	4 pares de somitas, pliegues medulares salientes.	56 h	Inicio de los esbozos de los miembros, arcos aórticos I, II, y III.
26 h	Inicio de la soldadura de los pliegues neurales.	60 h	Inicio de la alantoides.
33 h	12-13 pares de somitas, cerebro completo, repliegue amniótico anterior, corazón diferenciado, arco aórtico.	72 h	37-39 pares de somitas, poro amniótico, alantoides externamente visible, arcos aórticos I, II, III, y IV.
37 h	Movimientos cardíacos, inicio de la torsión	96 h	Amnios definitivo, embrión colocado sobre el flanco izquierdo, somitas completos, arcos aórticos III, IV, V y VI.



**Fig. 42** Principales estadios de desarrollo del huevo de gallina.



**Fig. 43** Segmentación en aves.

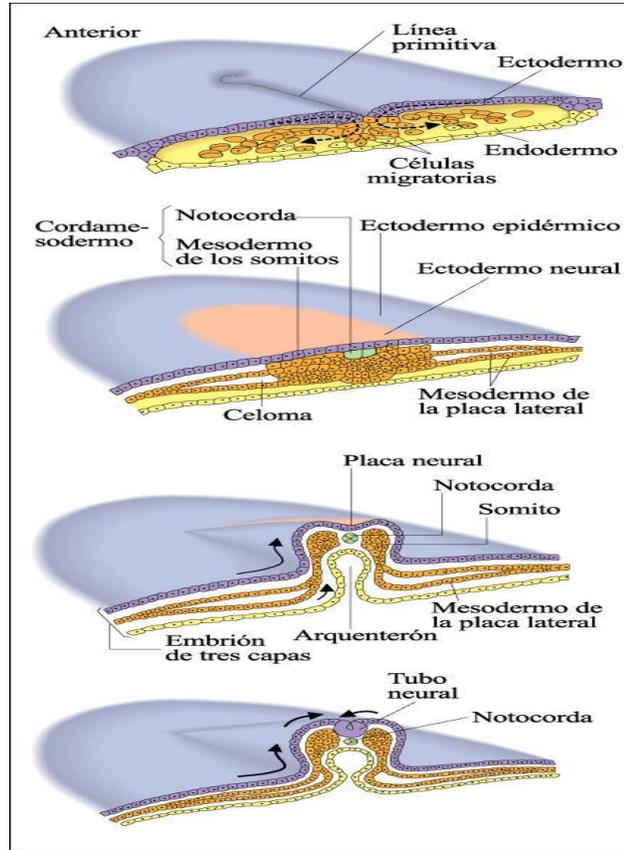


Fig. 44 Gastrulación en aves.

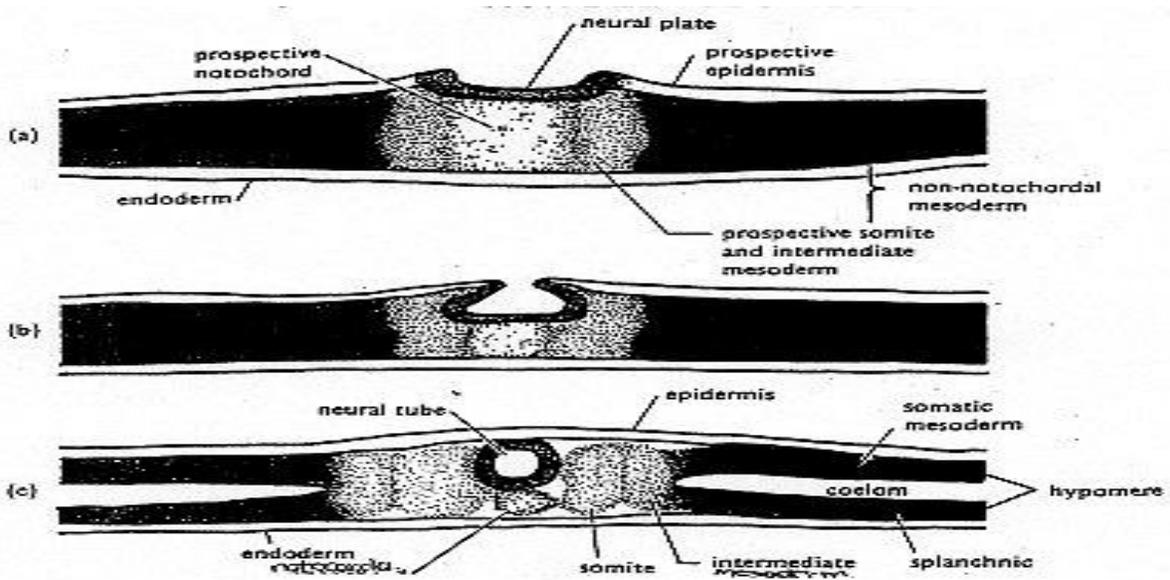
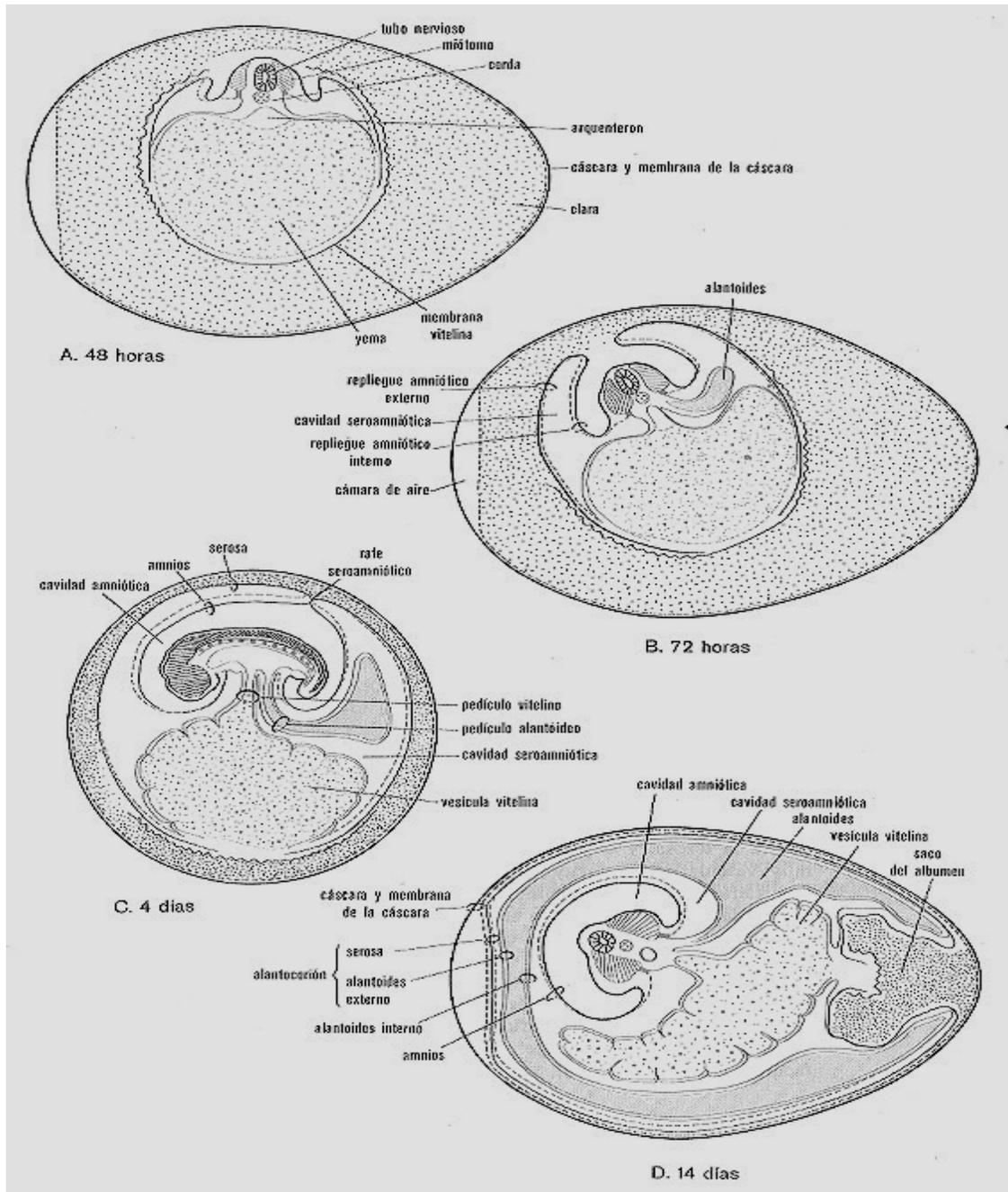


Fig. 45 Formación del tubo neural.



**Fig. 46** Formación de las membranas extraembrionarias.

## CUESTIONARIO.

## LITERATURA

### TÉCNICA HISTOLÓGICA:

Foster, A.S. 1949. Practical Plant Anatomy. Ed. D: Van Nostrand Company, Primoeton.

Gabe, G.L. 1968. Techniques Histologiques. Masson Et. Cie Edieurs, Paris.

Humason, G.L., 1972. Animal Tissue Techniques. Third Edition. W.H. Freeman and Co. U.S.A.

Lison, L ; 1960. Histochemistry Theoretical and Appliqued. Vol. I and II, Third edition, J and A Churchil ltd; London.

### HISTOLOGÍA ANIMAL:

Andrew, W.C. and C.P. Highman, 1974, Histology of Vertebrates, the C.V. Mosby Company, U.S.A.

Banks, W.J. 1974. Histology and Comparative Organology a text-Atlas. The Williams and Wilkins Co, U.S.A.

Bloom, W. and D.W Fawcett- 1975. A Texbook of Histology. Tenth Edition, Reimpresión, Editions, Desse, Liege.

Chevremont, M. 1971. Notions de Cytologie et Histologie, Deuxiec Edition, Reimpresión, Editions, Desse, Liege.

Darlington, C.D; y L.F. La Cour;The Handling of Chromosomes. Allen and Unwin, Ltd; London, 1962.

Di Fiore, M.S.H. 1961. An Atlas of Humans Histology, Lea and Feviocr Editions, Philadelphia.

ElieseV, V.G. 1974. Atlas de la Estructura Microscópica y Ultramicroscópica de las Células, Tejidos y órganos, Editorial. Mir. Moscú.

Fernández Guzmán M. P. 2002. Manual de biología del desarrollo. 3ra. Edición. Ed. El manual moderno. México.

Ham, A.W. 1975. Histología, citología y Microanatomía Humana, Salvat Editores, S.A. España.

Junqueira, L.C.J. C. y A.N. Contopoulos. 1977. Basic Histology. Lange. Medical Publications, 2ª. Ed. U.S.A.

Greep, O.R. Le Weuse. 1973. Histology, Third Editions. Mc Graw Hill Boox Co. U.S.A.

Rhodin, J.A.G. 1974. Histology. Oxford Medical Oublications, New York.

Sobotta/Hammersen. 1985. Histology. Color Atlas of Microscopic Anatomy. Third Editions. Urban & Schwarzenberg-Baltimore, Munich.

Burkitt .1993. Wheater' Funcional Histoly 3e. A text & Colour Atlas. Churchill Livingstone, 3<sup>rd</sup> Editions.

Steven A. & J. Lowe. 1996. Human Histology 2e Mosby Paperback.

Jeffrey B. Kerr. 1998. Atlas Of Functional Histology. Mosby Paperback.

## **HISTOQUÍMICA Y CULTIVO DE TEJIDOS:**

Parker, R.C; 1961. Methods of Tissue Culture. Medical División of Harper and Brothers, New York.

Pearse, A.G.E. 1960. Histochemistry, Theorical and Aplied. S.Quart. J. Micr. Sci. 92. S.4. Churchill London.

Spannhof L. 1966. Histoquímica Práctica. Editorial Acribia, Zaragoza España.  
Thomas, J.A; 1965. (edit), Les Cultures Organotypiques. Masson et Cie, Paris.

## **HISTOLOGÍA VEGETAL:**

Carvajal-Sandoval A. 1991. Manual de Histología Vegetal. Departamento de Botánica. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. 31 pp.

Cortés, F. 1986. Cuadernos de Histología Vegetal. Editorial Marban. S.A. Mdris, España. 190pp.

López C.L; J. Márquez G; G. Munguía S. 1998. Técnicas para el Estudio del Desarrollo de Angiospermas. Departamento de Biología Laboratorio de Citología Vegetal. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.

Stevenson, F.F. & T.R. Mertens. 1980. Anatomía Vegetal. Editorial Limusa. México. 209 pp.

### **Consulta en las siguientes direcciones:**

<http://bugs.bio.usyd.edu.au/2003A+Pmodules/module2/2x1.html>

<http://www.botany.hawaii.edu/faculty/webb/BOT311/VascTissue/311VascTis.html>

<http://webserver.pue.udlap.mx/~pwesche/1.4.2.3.html>

<http://www.geocities.com/fateros.cito/index.htm>

<http://webserver.pue.udlap.mx/~pwesche/1.4.1.html>

<http://webserver.pue.udlap.mx/~pwesche/1.4.2.html#V>

<http://bugs.bio.usyd.edu.au/2003A+Pmodules/module1/1AB2.html>

<http://www.laflecha.net/canaels/ ciencia/noticias>

[http://www.vet-uy.com/.../artic\\_avic/037/avic037.html](http://www.vet-uy.com/.../artic_avic/037/avic037.html)

[trc.ucdavis.edu/.../bird/overview0/overview.html](http://trc.ucdavis.edu/.../bird/overview0/overview.html)

[www.msstate.edu/dept/poultry/faq-ans1.htm](http://www.msstate.edu/dept/poultry/faq-ans1.htm)

TRANSFORMACIÓN EPITELIO-MESENQUIMÁTICA DURANTE EL  
DESARROLLO EMBRIONARIO

EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSFORMATION DURING EMBRYONIC DEVELOPMENT

María Angélica Montenegro & Mariana A. Rojas

EMBRYONIC DEVELOPMENT OF THE BRAIN

©David B. Fankhauser, Ph.D.,

Professor of Biology and Chemistry

University of Cincinnati Clermont College,

Batavia OH 45103

[www.aps.uoguelph.ca/~swatland/ch8\\_2.htm](http://www.aps.uoguelph.ca/~swatland/ch8_2.htm)

<http://academic.sun.ac.za/medphys/Life14.html>

<http://ag.ansc.purdue.edu/poultry/clipart.htm#Embryos>

<http://diccionario.sensagent.com/gametogenesis/es-es/>

<http://www.agrarias.unlz.edu.ar/files/anatomia/conectivo.htm>