

HISTOLOGÍA

Células y Tejidos

Tomo I

Belén Z. Iglesias Ramírez
Irene de la C. Rodríguez Pérez
Eduardo de J. Pomares Bory
Teresita Rodríguez Obaya
Andrés Dovale Borjas
Jaime R. Valenti Pérez

Universidad de Ciencias Médica de La Habana

2014

Agradecimientos

No hubiera sido posible realizar este trabajo sin los elementos previos que aportaron tantos histólogos que durante más de 25 años dedicaron sus empeños para legarnos un trabajo metodológico estructurado en base a la identificación de una Escuela Cubana de Histología. Algunos no se encuentran ya entre nosotros y otros que aunque lejos, están en todo pensamiento e idea que hoy en día materializamos los que estamos. Así pues, para todos los que fueron, nuestro eterno agradecimiento y más aún a todos los que serán, que les sirva para transitar por un camino más trillado.

Colectivo de autores

MSc. Belén Z. Iglesias Ramírez. Profesor auxiliar y consultante de Histología. Profesor principal de Histología de la Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Presidente de la Sociedad Cubana de Ciencias Morfológicas. Presidente de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal.
Departamento de Histología. ICBP "Victoria de Girón"

Dra. CM Irene de la C. Rodríguez Pérez. Profesor consultante y titular de **Histología Departamento de Histología. ICBP "Victoria de Girón"**

MSc. Eduardo de J. Pomares Bory Profesor auxiliar de Histología Facultad de Ciencias Médicas Dr. Salvador Allende.

Dra. CM Teresita Rodríguez Obaya. Investigador titular. Profesor asistente de Histología Centro de Inmunología Molecular.

Dr. Andrés Dovale Borjas Profesor titular y consultante de Histología.
Departamento de Histología. ICBP "Victoria de Girón"

Dr. Jaime R. Valenti Pérez. Profesor titular y consultante de Histología.
Departamento de Histología. ICBP "Victoria de Girón".

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN A LA HISTOLOGÍA

MSc. Belén Z. Iglesias Ramírez

Dentro del amplio campo de las ciencias biológicas, que incluyen todo cuanto se conoce acerca de los seres vivos, se enmarcan las Ciencias Morfológicas y las Ciencias Fisiológicas.

De acuerdo con objetivos concretos y métodos especiales de investigación, se han constituido grupos dentro de las ciencias biológicas. Las ciencias morfológicas, estudian la forma, el tamaño, la estructura y el desarrollo de los organismos, y comprenden la Anatomía (estudio macroscópico), la Histología (estudio microscópico) y la Embriología (estudio del período embrionario del desarrollo).

Actualmente, las ciencias morfológicas han rebasado el método puramente descriptivo y, por el método experimental, tratan de interpretar las leyes que rigen la estructura y el desarrollo de los organismos.

Las ciencias fisiológicas estudian el organismo en funcionamiento, e incluyen la fisiología, la bioquímica, la genética y la inmunología.

El enfoque morfofisiológico, comprende el estudio de la estructura microscópica y macroscópica del organismo humano, partiendo de las células, tejidos, órganos y de los sistemas que lo constituyen, vinculados al desarrollo de las funciones que en los distintos niveles de organización se realizan.

El estudio de las células, la biología celular, es indispensable para comprender posteriormente las relaciones celulares en la formación de los tejidos, y la relación de estos en la formación de los órganos.

El estudiante comprobará, durante la lectura de todo el texto, que existe una gran correspondencia entre estructura y función.

No es posible explicarnos los fenómenos que ocurren en el organismo de cualquier ser vivo sin una clara comprensión de su funcionamiento, y para

ello se requiere conocer la estructura.

Así como el espacio y el tiempo son propiedades de la materia en movimiento, inseparables uno de otro, **la estructura y la función** dentro del organismo son interdependientes y constituyen un todo.

Esta relación determina que la estructura sea mejor comprendida si se conoce su función, y también permite que el estudiante deduzca aspectos funcionales cuando, examinando un órgano, tejido o célula, comprueba la existencia de determinados componentes estructurales. Este aspecto nunca será olvidado y constantemente se establecerán las **relaciones morfofuncionales**.

Además, el conocimiento del organismo normal es indispensable antes de estudiar las enfermedades.

Una teoría biológica acertada, sirve de guía al médico en sus actividades prácticas. Los éxitos de la medicina no solo se deben al avance de la Biología general, sino también a los adelantos logrados por las ciencias biológicas especiales. Cada descubrimiento importante en éstas, es un paso de progreso en la medicina y en beneficio de la humanidad.

Algo que los estudiantes deben conocer antes de abordar el estudio de las células y los tejidos y de sus características morfofuncionales, es la importancia que reviste el trabajo con **las imágenes, objetos o técnicas reales**, que además de posibilitar una mejor comprensión de las estructuras, así como de las relaciones en todos los niveles, es una forma de trabajo didáctico para el desarrollo del sistema de habilidades que forma parte de los contenidos de esta ciencia. Mediante la capacitación para el trabajo con la información, lo adiestra en la **observación** y evita el estudio memorístico. Resulta importante el estudio apoyado en la utilización de los atlas, láminas impresas o en formato digital, esquemas, maquetas, modelos, láminas histológicas y todo tipo de recurso visual que facilite la **observación e interpretación** posterior de las estructuras en estudio.

La utilización de imágenes obtenidas con las tecnologías modernas como medios auxiliares en el estudio de los contenidos de esta ciencia debe

servir también para contribuir a que los estudiantes conformen su convicción de que la utilidad de esos medios para la calidad y certeza del diagnóstico solo se pone de manifiesto cuando se emplean para complementar un sólido razonamiento clínico o básico-clínico.

La observación de estructuras, imágenes (reales o virtuales) y situaciones, es una habilidad fundamental que debe desarrollarse en los estudiantes de las ciencias morfológicas para el desenvolvimiento exitoso de su futura profesión, ya que la **observación analítica** utilizada como método de trabajo les brinda una herramienta muy valiosa para la interpretación de situaciones a lo largo de toda su vida profesional. No existe buen médico, ni buen científico si no es un buen observador y toda investigación comienza por la observación.

DEL ÁTOMO AL CUERPO HUMANO

Los organismos vivos entre los que se encuentra el Hombre, constituyen sistemas extraordinariamente complejos y organizados. El Hombre es un ser bio-psico-social, que interactúa con su ambiente y que el mismo repercute en él, ya que es integrante de la comunidad social y de un ecosistema. Muchas enfermedades reconocidas en la actualidad, se sabe que son el resultado de los estilos de vida, de ahí la importancia de estudiarlo no solo en su estructura sino también el medio en que se desenvuelve, ya que en él influyen factores biológicos, psicológicos y sociales.

El cuerpo humano constituye un todo único que se compone de diferentes sistemas que mantienen el metabolismo celular y hacen posible la vida. Todos los sistemas que conoces, como el locomotor, digestivo, respiratorio, urogenital, endocrino y nervioso, están constituidos por órganos.

Los órganos son agrupaciones de tejidos con una estructura particular, adaptada a la función que desempeñan. Los órganos responden a patrones estructurales que estudiaremos en su momento. Todo tejido está constituido por células, matriz extracelular y líquido tisular. Las células, por su parte, constituyen un sistema de agregados moleculares. Y

por último las moléculas están constituidas por átomos. Como ves, hemos descendido en los niveles de organización de la materia: del cuerpo humano hasta el átomo.

La materia, por lo tanto, está organizada en niveles desde inferiores a superiores según el desarrollo alcanzado en la escala evolutiva. Estos niveles son: **subatómico** o de las partículas elementales, el más simple y que está formado por electrones, protones y neutrones entre otras partículas. El **atómico**, es el que constituye los elementos químicos, como por ejemplo, Oxígeno, Hidrógeno, Carbono, Cloro, entre otros. El nivel **molecular** es la unión de átomos iguales o diferentes para formar moléculas como por ejemplo O_2 en estado gaseoso, H_2O (agua), proteínas, lípidos, etc. Los restantes niveles son el **celular** que está constituido por la agrupación de diferentes moléculas que forman unidades celulares con vida propia, estudia las diferentes células que podemos encontrar tanto procariontas como eucariotas. La agrupación de las células constituyen los tejidos es decir, el nivel **Tisular**. A los niveles celular y tisular está dedicado este libro, ya que la Biología celular y la Histología son las ciencias que los estudian.

El **Nivel de organismo**, es un nivel de organización compleja, constituido por las relaciones de comunicación e intercambio que se establecen entre células, tejidos, órganos y sistemas de órganos para dar lugar a un nivel superior en el que se encuentran todos los organismos multicelulares conocidos como animales, las plantas, hongos.

Las **Poblaciones** reúnen los organismos de una misma **especie**, se agrupan en determinado número de individuos como por ejemplo las manadas de leones, elefantes, de lobos, las poblaciones humanas, los bosques de pinos, etc. Cuando varias poblaciones coinciden y comparten un mismo lugar (hábitat) constituyen una **comunidad**. Es muy importante tener en cuenta que existen relaciones entre los diferentes organismos que se incluyen en una Comunidad y que las relaciones entre los mismos pueden afectar de forma tanto positiva como negativa a los individuos que en ella conviven. Y por último el **mundo biológico y**

social, que reúne todos los niveles anteriores en el cual entran en relación diferentes fuerzas y procesos que regulan la vida.

El cuerpo humano

Así vemos que para llegar al **cuerpo humano (nivel de organismo)**, debemos comenzar por el nivel molecular, por el nivel celular, el nivel tisular y de órgano, vinculando las características morfológicas con el

funcionamiento en cada uno de los niveles mencionados.

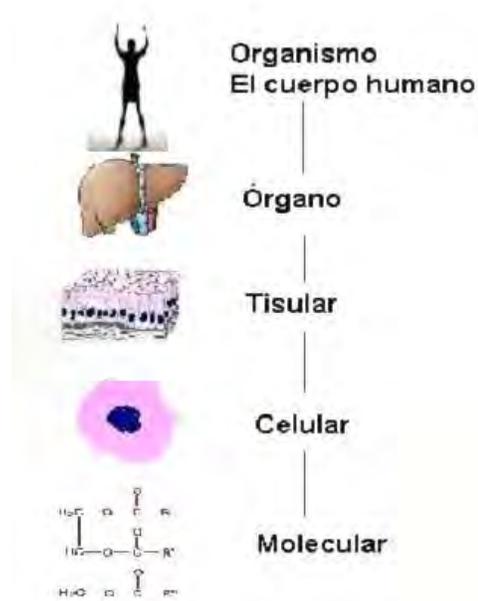


Fig. 1.1 En la imagen se muestran los diferentes niveles de organización de la materia, desde las moléculas al cuerpo humano, que es el nivel de organismo.

El tercer nivel lo constituyen las moléculas, formadas por reuniones de átomos, que poseen propiedades físicas y químicas diferentes a las de los átomos que las componen; por ejemplo, los de cloro y de sodio, que

bajo ciertas circunstancias reaccionan formando el cloruro de sodio o sal común.

Dentro del nivel molecular existen las grandes moléculas de ácidos nucleicos (ADN y ARN), las cuales poseen la propiedad de autorreplicación y que son constituyentes principales de los virus y están presentes en todas las células.

El nivel celular surge por la interacción de agregados moleculares que conforman la materia viviente, organizada de manera tal que permite el metabolismo y la autoperpetuación. A partir de aquí aparece el movimiento biológico, los organismos unicelulares y pluricelulares, y los tejidos, órganos y sistemas. Cada nivel constituye una jerarquía de organización y muestra nuevas propiedades no manifiestas en el nivel inferior.

Para el estudiante es importante comprender desde el inicio las relaciones de estos niveles de organización, así como las dimensiones lineales utilizadas en cada uno de ellos y, en particular, en el nivel celular. Cada nivel de organización se estudia con instrumentos propios para las dimensiones de los elementos que lo forman, de ahí que los niveles molecular, celular y tisular, se estudien con las distintas variantes de microscopios. El nivel de órgano y sistema se estudia con la lupa y el ojo desnudo.

Cada nivel, por sí, constituye una ciencia independiente, con sus métodos de estudio propios y leyes que las rigen. La Química, la Bioquímica, la Biología Celular, la Histología, la Anatomía, la Sociología son ciencias que estudian los diferentes niveles de organización de la materia. Otras ciencias como las Fisiológicas estudian los procesos que tienen lugar en los diferentes niveles, por lo que transcurren relacionadas con las primeras, dándole respuesta al funcionamiento de las estructuras que se estudian, de ahí la importancia que tiene establecer a cada nivel las relaciones morfofuncionales. No hacemos nada con el cuerpo si no lo ponemos en funcionamiento, en movimiento, en los cambios que ocurren en el metabolismo.

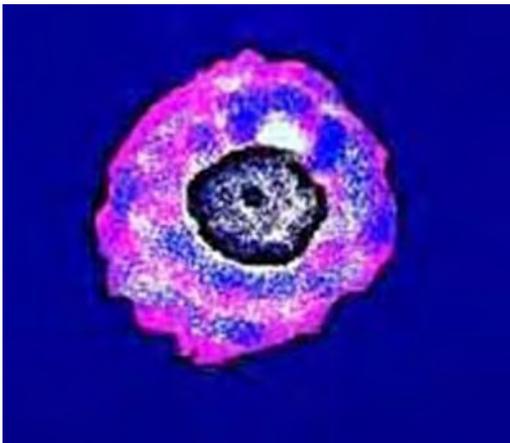
La Embriología es la ciencia que estudia la formación de los seres vivos multicelulares entre los que se incluye el Hombre, la misma trata de comprender y dominar las leyes que lo regulan y rigen. El interés en su estudio está basado en el hecho de que muchos fenómenos de la vida postnatal, tienen su origen y explicación en alguna etapa del desarrollo prenatal. La **anatomía del desarrollo** es el campo de la embriología que se ocupa de los cambios morfológicos que ocurren en las células, tejidos, órganos y cuerpo en su conjunto desde la célula de germinal de cada progenitor hasta el individuo que se forma. La fisiología del desarrollo explica el funcionamiento en esta etapa prenatal. Pero como el desarrollo es un proceso continuo que se inicia con la fecundación y algunos procesos se extienden más allá del nacimiento, ha llevado a denominar esta ciencia como **Biología del desarrollo.**

FORMAS DE LA MATERIA VIVIENTE

Los organismos vivos son sistemas abiertos que, al intercambiar constantemente sustancias y energía con el medio, renuevan sin cesar estructuras y funciones, manteniéndose en una estabilidad relativa.

Como consecuencia de una permanente auto renovación del organismo, en lo viejo se engendra una cualidad nueva, se producen constantemente procesos que dan lugar a cambios cualitativos característicos de las diferentes etapas del desarrollo humano. En cada una de las etapas vitales cambian las necesidades y sus relaciones con el medio ambiente.

En el mundo viviente existen dos grandes grupos de células: las **procariotas** y las **eucariotas** (cario, núcleo). Las **procariotas** presentan el material nuclear disperso en el citoplasma, en forma de un filamento de ADN; y las **eucariotas**, sin embargo, presentan el material



nuclear incluido en una estructura especial, el núcleo, limitado del resto del citoplasma por una estructura membranosa, denominada envoltura nuclear.

Fig. 1.2 En la imagen se observa una célula eucariota, identificable por la presencia del núcleo que se aprecia como una estructura basófila, por su alto contenido en ácidos nucleicos.

En el grupo de los procariotas encontramos las bacterias, entre otros y en los eucariotas se agrupan todas las células de plantas y animales, ya sean unicelulares o pluricelulares.

PROTOPLASMA

Toda la materia viva está constituida por protoplasma, término utilizado por primera vez por Jan Evangelista Purkinje (Libochovice, 17 de diciembre de 1787- 28 de julio de 1869) para nombrar el contenido de las

células animales y vegetales. Los seres vivos más simples se consideran unicelulares y constituyen la unidad biológica de la materia viva, denominada protoplasma.

Composición química del protoplasma

El agua es el principal constituyente del protoplasma y conforma el 70-85% de su masa. El agua celular existe en dos formas; libre y ligada a moléculas. En el agua hay sustancias disueltas en forma de coloide; en ella ocurren reacciones químicas y constituyen el medio que permite la difusión y el transporte de sustancias hacia el exterior o interior de la célula. Existen también importantes electrólitos en altas concentraciones tales como potasio (K^+), magnesio (Mg^{++}), calcio (Ca^{++}), fosfato (PO_4^{---}), sulfato (SO_4^{--}), cloruro (Cl^-) y bicarbonato ($CO_3H_2^-$), los cuales están disueltos en el agua protoplasmática y proporcionan los reactivos químicos para las reacciones celulares y los sistemas amortiguadores (tampones), además, son controladores del pH y algunos actúan como catalizadores de reacciones enzimáticas necesarias para el metabolismo celular.

Otros electrólitos están presentes en menor concentración en forma de trazas; por ejemplo, hierro (Fe^{2-}), cobalto (Co^{++}), manganeso (Mn^{++}), cinc (Zn^{++}), etc., pero no por ello son menos importantes para el desenvolvimiento normal de la célula.

Las **proteínas** constituyen de 10-20% de la masa protoplasmática.

Existen proteínas estructurales y proteínas enzimáticas, las primeras son las que conforman las estructuras intracelulares y, las enzimáticas, las que catalizan las reacciones químicas. Una variedad no menos importante son las nucleoproteínas, presentes en el núcleo y en el citoplasma, encargadas de controlar la función global de la célula y de transmisión de los caracteres hereditarios.

Los **lípidos** son sustancias denominadas así por ser solubles en solventes de grasas. En este grupo encontramos grasas neutras, fosfolípidos, colesterol y otras. La célula contiene un 2-3% de lípidos dispersos o

formando parte estructural de las membranas celulares.

Los **carbohidratos** desempeñan una importante función en el metabolismo celular, y constituyen alrededor del 1% de la masa protoplasmática.

Entre los **ácidos nucleicos** tenemos al ácido desoxirribonucleico (ADN) y los ácidos ribonucleicos (ARN). El ADN forma parte principal del material nuclear y se encuentra también en las mitocondrias. Por su parte, los ARN se sintetizan en el núcleo y van hacia el citoplasma; están encargados de la síntesis de proteínas.

Debido a la presencia de proteínas, el protoplasma semeja un sistema coloidal de muchas fases, y mantiene las propiedades de una emulsión en áreas localizadas con diferentes cualidades, suspendidas en una fase continua en calidad de **gel**.

Las partículas disueltas son hidrófilas, así como los organitos celulares, debido a las cargas eléctricas situadas en la superficie de proteínas. Tales partículas y organitos se mantienen dispersos por repulsión mutua, constituyendo una solución coloidal más o menos densa, es decir, con mayor o menor gelificación. La matriz citoplasmática es más laxa (sol) y los organitos membranosos más densos (geles). En el protoplasma existen cambios del estado coloidal, los cuales se manifiestan en cambios de densidad protoplasmática, movimiento direccional de partículas y organitos (ciclosis), y aun, en la locomoción celular y en otras funciones.

Como podrás darte cuenta **protoplasma** fue un término utilizado para definir la materia de que estaban constituidas las células, tanto procariotas como eucariotas y como lo definió Thomas H. Huxley (Londres, 4 de mayo de 1825- Sussex, 29 de junio de 1895) constituye la base física de la vida.

Propiedades fisiológicas del protoplasma

El protoplasma, posee una serie de propiedades, que se explican a continuación, y que constituyen la base a partir de la cual podemos hablar de células especializadas, ya que la dotación de organitos de una célula

particular está en función de la propiedad del protoplasma (la función), que desarrolle con mayor eficiencia.

La **irritabilidad** es la capacidad del protoplasma de responder a un estímulo dado. Está considerada como una expresión del intercambio celular con el medio. Caracteriza la vida y cesa con la muerte celular.

La **conductibilidad** está dada por la transmisión de una onda de excitación desde el punto de estímulo a otro punto lejano. Esta propiedad está sumamente desarrollada en el tejido nervioso y, en menor grado, en el muscular.

La **contractilidad** es un tipo de respuesta a un estímulo, que determina el acortamiento o la reducción del volumen sin alterar la masa celular. Esta propiedad está muy desarrollada en las células musculares.

La **absorción** constituye una respuesta del protoplasma a sus necesidades de recambio, mediante la cual se toman nutrientes y otras sustancias del medio. Ello conlleva luego el poder utilizarlos, es decir, la asimilación. En la realización de estas y otras funciones generalmente se gasta energía; para lo cual el protoplasma cuenta con una potente maquinaria, que utiliza el **O₂** en la oxidación de sustancias alimentarias y efectúa la **respiración** celular que proporciona energía.

En la **secreción** y la **excreción**, el protoplasma se deshace de sustancias; en el primer caso, la célula después que ha elaborado sustancias útiles, las envía al medio, donde son utilizadas por otra célula u órgano. En el segundo caso se expulsan fuera de la célula productos de desecho.

El **crecimiento** requiere que los procesos de asimilación y síntesis sean más intensos que los de degradación; esto conduce al crecimiento en volumen del protoplasma. Sin embargo, cuando este volumen aumenta demasiado, como consecuencia de que los fenómenos de intercambio los realiza a través de la membrana plasmática, no llegan suficientes nutrientes al área donde se ubica el material nuclear y, por tanto, se desencadena otro mecanismo de crecimiento; la **reproducción**, la cual da como resultado la formación de dos células hijas.

Todas estas propiedades coexisten en los animales unicelulares, aunque con baja eficiencia. Una mayor eficacia se obtiene a través de la especialización celular, de manera que unas células se especializan para efectuar un tipo de función determinada. Así surge la división del trabajo celular entre los miembros de las sociedades celulares que existen en el cuerpo de un animal multicelular.

De esto se deriva que células que efectúan funciones diferentes, poseen aspectos diversos. Cuando un organismo multicelular se organiza en tejidos y órganos, cada parte del cuerpo pasa a depender de otra.

Especialización, diferenciación y potencialidad celular

Diferenciación Las células sufren una serie de cambios estructurales, en los cuales los componentes que llevan a cabo el metabolismo celular se adaptan a la nueva función. Este proceso de adaptación recibe el nombre de **diferenciación celular**.

Cuando las células desarrollan con gran eficiencia una función particular, hablamos de **células especializadas**, por ejemplo, **la célula muscular, la contractilidad; la célula nerviosa, la conductividad**, etc. Para lo cual, las células sufren una serie de transformaciones estructurales (diferenciación) que le permiten adaptarse a la nueva función (especializarse). Por ejemplo, las células musculares tienen forma alargada y presentan filamentos contráctiles en su citoplasma. Las células nerviosas tienen largas prolongaciones que le permiten captar, y transmitir los impulsos.

Al existir células especializadas, esto trae como consecuencia que al unirse formen tejidos que se adaptan a desarrollar determinada función. Los tejidos se unen y forman estructuras más complejas que son los órganos que desempeñan así mismo funciones particulares dentro de las grandes funciones que desarrolla el Organismo y que traen como consecuencia la vida

Potencialidad: La **potencialidad** es la capacidad que tienen las células indiferenciadas de dar lugar a una variedad de tipos celulares diferentes. El óvulo fecundado es una célula omnipotencial, la que da lugar a través

del proceso de diferenciación a distintos tipos de células, entre las que se encuentran células altamente diferenciadas, tales como la neurona y la célula muscular, las cuales pierden mediante su diferenciación la capacidad de reproducción, es decir, una célula especializada ha perdido la potencialidad.

De la misma manera que la especialización incluye una disminución de la potencialidad de las células somáticas, también afecta la capacidad de la célula para reproducirse.

Los organismos multicelulares se perpetúan como especies, no por las células somáticas, sino por células germinativas multipotenciales. Las restricciones de la capacidad reproductora que resultan de la especialización, se manifiestan en algunas células inmediatamente después del nacimiento del individuo (células nerviosas y musculares).

MÉTODOS DE ESTUDIO EN HISTOLOGIA

Dra. CM Teresita Rodríguez Obaya.

MSc. Belén Z. Iglesias Ramírez.

Para estudiar la estructura de las células, tejidos y órganos que constituyen los componentes del cuerpo humano y organismos pluricelulares, el hombre ha desarrollado diversos métodos y técnicas, y ha ido perfeccionando los instrumentos necesarios para conocer con más profundidad la morfología y función de los diferentes niveles de organización de la materia. Es pues importante conocer, antes de estudiar la estructura y la composición de las células y los tejidos, algunos métodos, técnicas e instrumentos de los que se dispone para llegar a estos conocimientos.

OBSERVACIÓN MICROSCOPICA

A finales del siglo XVI Zacarías y Hans Janssen (hijo y padre), construyeron el primer microscopio compuesto (1595). Galileo, que es conocido por sus estudios de Astronomía, fue uno de los primeros investigadores que utilizó el microscopio para fines científicos.

El empleo del microscopio originó nuevos términos, tales como el de **célula** (empleado por Robert Hooke (1635-1703) y las primeras descripciones y grabados de organismos microscópicos fueron los realizados por Leeuwenhoeck (1632-1723) que empleó lentes compuestas en la observación de protozoarios y otros organismos unicelulares.

El ojo humano es capaz de discriminar dos puntos que se encuentren separados por una distancia mayor de 0.1 mm solamente. Esto constituye un obstáculo para el estudio de las estructuras internas de la célula y es por esto que es necesario el empleo de equipos que aumenten la resolución.

La posibilidad de un sistema óptico de distinguir por separado (resolver) dos puntos muy cercanos, se denomina **poder de resolución**.

El poder de resolución en los microscopios, está en relación inversa con la

longitud de onda de la radiación empleada en la fuente de iluminación. La resolución del microscopio óptico aumenta y alcanza su límite cuando se utiliza como fuente de iluminación la luz ultravioleta, producto de su pequeña longitud de onda. El microscopio óptico fue perfeccionándose hasta llegar a los modelos actuales, que pueden alcanzar hasta 0.2 μm de resolución.

A mediados del siglo XX, se inventó un tipo de microscopio que utiliza como fuente de iluminación los electrones. Con este equipo se puede realizar un estudio más detallado de la célula y los elementos subcelulares, moleculares y atómicos.

El microscopio electrónico al emplear una fuente de emisión de electrones, de una longitud de onda de 0.005 nm, puede alcanzar valores resolutivos mucho mayores que el alcanzado por los microscopios ópticos. El límite de poder de resolución del microscopio electrónico es de 0.2 nm.

Actualmente se utilizan las siguientes unidades de medidas

μm - micrómetro (antes, micra) nm - nanómetro (antes, milimicra)

0.1 nm = 1 Å (antes, Amstrong)

TIPOS DE MICROSCOPIOS

Existen diversos tipos de microscopios, los cuales describiremos brevemente señalando sus características fundamentales.

MICROSCOPIO ÓPTICO DE CAMPO BRILLANTE

Este tipo de microscopio utiliza como fuente de iluminación la luz visible. Cuando la muestra a observar es transparente a la luz empleada, el haz luminoso la atraviesa iluminando el campo que se quiere observar. Aquí se emplea un sistema de **iluminación de luz transmitida**.

Este tipo de microscopio, se encuentra formado por un **sistema de iluminación** compuesto por una fuente de luz que puede ser emitida por una lámpara incandescente, en la base del equipo, o proyectada por un espejo (figura 2.1), Este haz de luz atraviesa una lente condensadora que lo concentra sobre la muestra, para obtener una iluminación óptima de la misma. Otra parte importante del equipo es el **sistema óptico**, el

cual esta constituido por varias lentes las que están diseñadas y construidas para evitar o corregir los defectos y las aberraciones que pueden producirse durante la proyección de la imagen. La lente objetivo recibe este nombre por ser la que se encuentra más cerca del objeto a examinar. Esta lente forma una imagen primaria ampliada del objeto, en el plano focal de una segunda lente compuesta, la lente ocular, que recibe este nombre por estar cerca del ojo del observador. La lente ocular amplía la imagen primaria y forma una final ampliada en la retina del observador.

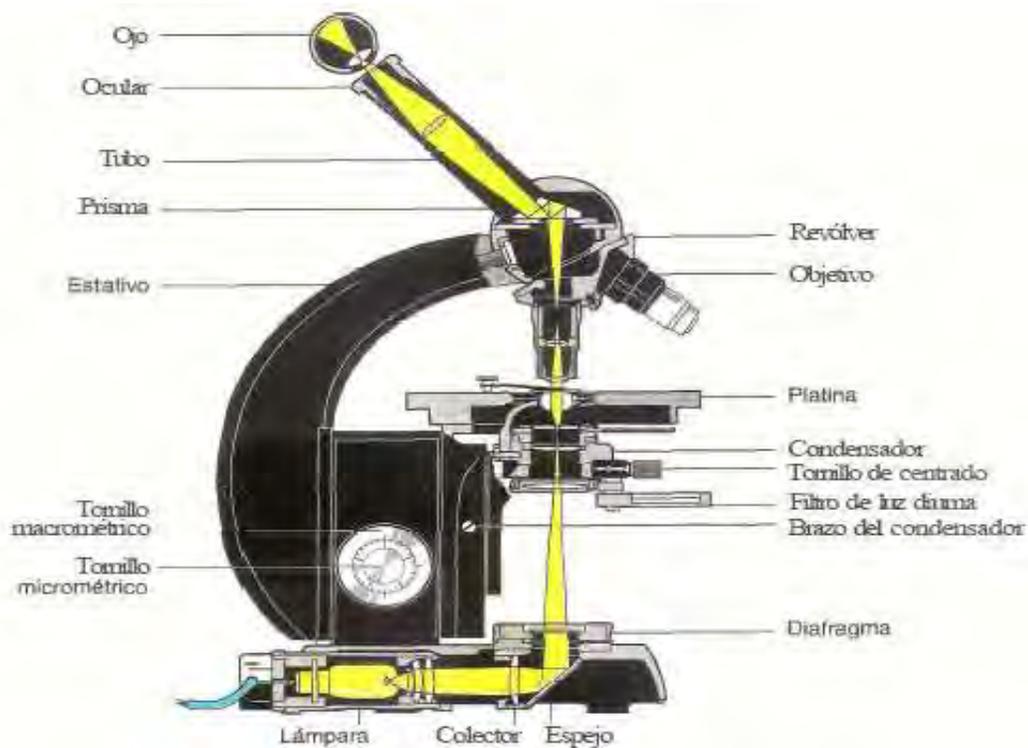
Además del sistema de iluminación y del sistema óptico, en el microscopio existe un sistema mecánico que está constituido por aquellas partes que sostienen los sistemas de lentes y de la muestra, y que además sirve para el enfoque y el movimiento de la muestra bajo el objetivo.

Este tipo de microscopio puede trabajar acoplado a distintos instrumentos, uno de ellos, el micromanipulador, que permite mediante movimientos en los distintos planos del espacio, y de una forma muy precisa, hacer disecciones sobre tejidos y células, introducir micropipetas y microelectrodos para suministrar sustancias o medir potenciales eléctricos en las células.

El esquema básico del microscopio de campo brillante, sirve para el estudio de los diferentes microscopios ópticos, los que al presentar un aditamento, dispositivo o accesorio adicional permitirá una observación más especializada; por ejemplo, el invertido, el de polarización, el de fluorescencia, el de contraste de fase, etc.

Debido a esto es importante estudiar detenidamente las partes de que consta un microscopio óptico de campo brillante, para así comprender mejor el funcionamiento de los microscopios ópticos más especializados que serán descritos posteriormente (figura 2.1)

Fig. 2.1 Se observa un microscopio de campo brillante con todos sus componentes. Sistema de Lentes



MICROSCOPIO ÓPTICO DE CONTRASTE DE FASE.

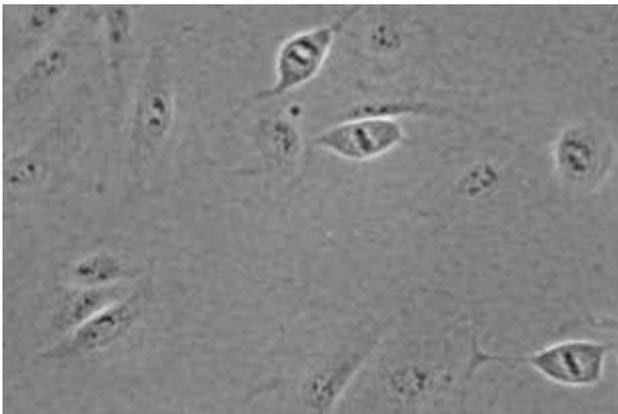


Fig. 2.2 Células en contraste de fase.

Cuando una muestra, por ejemplo una célula, debe ser observada viva, no se puede procesar por ninguna de las técnicas que serán descritas más adelante (inclusión, corte y coloración) y, por tanto, al ser vistas en un microscopio de campo brillante, serían pocos los detalles observables de la muestra. Para una visualización con suficiente contraste, se utiliza un microscopio especial que tiene un dispositivo que transforma las diferencias de fase de la longitud de onda de la luz empleada, en diferencias de amplitud. La luz, al atravesar una muestra, es desfasada normalmente con respecto a la luz

que atraviesa el medio donde se encuentra dicha muestra (agua, aire, aceite. etc.). Este desfasaje es pequeño y el ojo humano no es capaz de distinguirlo; ahora bien, mediante dispositivos que existen en los llamados microscopios de contraste de fase, la diferencia de fase se aumenta lo suficiente como para que el ojo lo distinga, pudiéndose apreciar distintas intensidades de luz que van desde la oscuridad hasta el brillo intenso. Los diferentes tonos intermedios están determinados por las diferencias de espesor en la muestra.

MICROSCOPIO DE CAMPO OSCURO

La luz se dispersa en los límites entre los diversos materiales que poseen diferentes índices de refracción. El condensador especial paraboloide ilumina el objeto oblicuamente. No entra luz directa en el objetivo por lo que el objeto aparece brillante a causa de la dispersión de la luz, mientras el fondo permanece oscuro.

Examen de microorganismos sin teñir suspensos en líquido (preparaciones "húmedas" y en gota pendiente), fitoplancton marino.

MICROSCOPIO DE LUZ ULTRAVIOLETA Y DE FLUORESCENCIA

La luz ultravioleta, que no es visible al ojo humano, pero que si se puede utilizar en microfotografía, tiene una longitud de onda muy corta (300 μm) y es absorbida por algunos componentes celulares como los ácidos nucleicos, o por determinadas sustancias que se le pueden suministrar a las células.

El microscopio de luz ultravioleta puede utilizarse para la toma de microfotografías usando una película sensible a esta radiación, o mediante la visualización de las imágenes captadas por una cámara de televisión sensible a la luz ultravioleta.

La luz ultravioleta, por ser una radiación de alta energía, se utiliza en las técnicas de fluorescencia que consisten en la excitación de los electrones de sustancias presentes en las células o tejidos, o que pueden ser suministrados previamente.

La imagen depende de la absorción de luz ultravioleta (uv) por las moléculas de la muestra. La fuente de luz uv tiene una λ (longitud de

onda) de 200 nm, por lo que alcanza una resolución mayor. Los resultados de la microscopia uv se registran en fotos. La muestra no se puede observar a través del ocular, la luz uv no es visible y daña la retina. La óptica es cuarzo, fluorita o sistemas de espejos aluminizados.

Sirve para detectar y cuantificar ácidos nucleicos y proteínas con determinados amino ácidos.

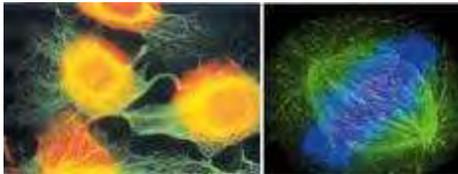


Fig. 2.3. Células al microscopio de fluorescencia.

El Microscopio de fluorescencia utiliza luz ultravioleta como fuente. Para esto se utilizan colorantes especiales o fluorocromos, los cuales, dependiendo del tipo empleado y de la energía de excitación, emitirán una longitud de onda que mediante filtros puede ser observado por ojo humano.

Un ejemplo de esta técnica, consiste en suministrar a células vivas en cultivo o a animales de investigación vivos, uno de estos reactivos y examinar después al microscopio de fluorescencia el sitio donde este material se acumula, por ejemplo, usando naranja acridina como fluorocromo se puede demostrar la localización de ADN, al cual se le observa una fluorescencia de color verde naranja en el núcleo de las células que han captado dicho colorante.

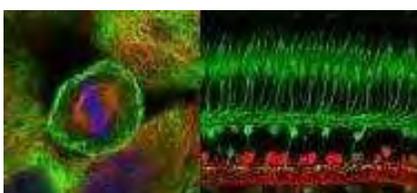
Las sustancias fluorescentes son excitadas por determinada λ , absorben energía y emiten λ mayor (visible). Se utilizan filtros apropiados que dejan pasar la luz y eliminan la luz ultravioleta para proteger la retina.

Fluorescencia natural: vitamina A, B1, Ca, lipofuscina, ceroides, porfirinas.

Fluorescencia inducida: Fluorocromos-fluoresceína, rodamina, naranja acridina-DNA-verde amarillento, RNA-rojo amarillento.

MICROSCOPIO CONFOCAL

Fig. 2.4. Imágenes de estructuras al Microscopio Confocal.



El principio es el de un microscopio de fluorescencia, pero se utilizan dos diafragmas confocales "pinhole" (uno antes

de la muestra y otro después), y enfocan la iluminación en un punto único de la muestra. Utiliza el láser como fuente luminosa monocromática, que va barriendo la muestra por todo su volumen, plano a plano, creando imágenes 2D (dos dimensiones) que una computadora interpreta, generando una imagen 3D del objeto. Se utiliza en tejidos intactos y en secciones gruesas sin hacer cortes histológicos. Aumento notable en la resolución, especialmente en muestras con fluorescencia. Se utiliza en monitorear el calcio en las células, localizar anticuerpos, realizar hibridación *in situ* de alta resolución para localizar la posición de secuencias de ácidos nucleicos en células, visualizar células en tercera dimensión, después de la inyección de marcadores, registrar procesos de secreción en células vivas con marcadores.

MICROSCOPIA MULTIFOTÓNICA

Nuevas aplicaciones van desde un láser de excitación hasta un multifotón. La microscopía multifotónica se basa en la estimulación de un fluorocromo de modo simultáneo por 2 ó más fotones. La energía de ambos se suma y juntos son capaces de estimularlo del mismo modo que lo haría un solo fotón con el doble de energía (doble de frecuencia). Permite excitar un fluorocromo con absorción en luz ultravioleta, con 2 fotones de λ cercana al infrarrojo (700 nm).

Tiene ventajas para las muestras biológicas:

- Excitación de la muestra en un único punto, solamente se producen los pares (o tríos) de fotones en el plano focal. El resto de la muestra al no ser estimulado no emite nuevos fotones.
- Alta capacidad de penetración de los fotones. Ideal para muestras gruesas como embriones enteros vivos.
- Menor daño de la muestra, al estimularse solo el plano focal no se daña el resto de la muestra. Importante al estudiar embriones que serán reimplantados.

MICROSCOPIO DE FUERZA ATÓMICA

El Microscopio de Fuerza Atómica (MFA) es un instrumento mecano-óptico capaz de detectar fuerzas del orden de los nanonewton. Al analizar una muestra, se registra continuamente la altura sobre la superficie de una sonda o punta cristalina de forma piramidal. La sonda va acoplada a un



listón microscópico, muy sensible al efecto de las fuerzas, de sólo unos 200 μm de longitud.

Fig.2.5. Microscopio de fuerza atómica imagen de un pelo.

La fuerza atómica (FA) se puede detectar cuando la punta se aproxima a la superficie de la muestra. Se registrar la pequeña flexión del listón mediante un haz láser reflejado en su parte posterior. Un sistema auxiliar piezoeléctrico desplaza la muestra

tridimensionalmente, mientras que la punta recorre ordenadamente la superficie. Todos los movimientos son controlados por una computadora.

La resolución del instrumento es de menos de 1 nm, y la pantalla de visualización permite distinguir detalles en la superficie de la muestra con una amplificación de varios millones de veces.

El microscopio de FA, puede realizar dos tipos de medidas: imagen y fuerza. En la modalidad de imagen, la superficie es barrida en el plano de la superficie por la punta.

Las medidas de fuerza son útiles en estudios de fuerzas de adhesión y permiten estudiar a nivel de una sola molécula interacciones específicas entre moléculas (ej: interacción antígeno-anticuerpo, interacción entre hebras complementarias de ADN) o interacciones estructurales de las biomoléculas (plegado de proteínas) así como caracterizar la elasticidad de polímeros. También es útil en estudios de indentación de materiales blandos (polímeros) que permitan caracterizar propiedades elásticas de la muestra como el módulo de elasticidad o visco elásticas.

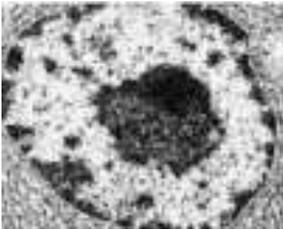
MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN.

Como ya tratamos, los electrones al tener una longitud de onda muy pequeña (0.005 nm) permiten a este instrumento un alto poder de resolución.

El microscopio electrónico se asemeja en algunos aspectos al microscopio óptico, ya que consta de:

a) sistema de iluminación; b) sistema de manipulación de la muestra; c) sistema de formación de la imagen; d) sistema de proyección de la imagen

La **fente de iluminación** es un fino filamento de tungsteno (cátodo) que al ser calentado por el paso de una corriente emite electrones, los



cuales son desprendidos a gran velocidad al establecerse una diferencia de potencial eléctrico entre el cátodo y el ánodo (este se encuentra cerca del primero), pasando a través de este último por una apertura hacia una columna metálica hueca, donde existe un alto vacío para evitar que los electrones que viajan a través de ella sean difractados por moléculas extrañas.

Fig. 2.6. Imagen de un núcleo al microscopio electrónico de trasmisión.

Una vez acelerados los electrones por el ánodo, a traviesan un campo magnético producido por la condensadora, la cual concentrarán los electrones en un haz fino y lo dirigirán hacia la muestra. Esta última se introduce dentro de la columna por un dispositivo especial que expone el objeto a estudiar al haz de electrones el cual constituye el **sistema de manipulación de la muestra**.

La muestra se contrasta con sustancias que contienen metales pesados de alta densidad electrónica en sus átomos, los cuales presentan diversas afinidades por determinados componentes celulares; una vez que el haz de electrones atraviesa la muestra, los mismos chocan con la nube electrónica de estos compuestos que se han depositado sobre los componentes celulares lo que produce un retardo y dispersión de la trayectoria de alguno de los electrones, mientras que otros continuarán

su trayecto hasta llegar a la pantalla fluorescente, donde se forma la imagen.

El dispositivo con la muestra puede moverse en distintas direcciones en un plano perpendicular al eje de la columna o puede ser ligeramente inclinado para algunos estudios en que se requiere este movimiento.

Luego de atravesar la muestra, los electrones pasan inmediatamente a través de la *lente objetivo*, donde se *forma una imagen primaria invertida*, la cual es rectificada por una lente *intermedia* y proyectada hacia una pantalla fluorescente, formando la imagen final aumentada al chocar los electrones y producirse una emisión de ondas en el rango de la luz visible. Por debajo de esta pantalla existe una cámara fotográfica donde se registran las imágenes, una vez retirada la pantalla fluorescente.

MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO.

Existe otro tipo de microscopio electrónico que recibe el nombre de microscopio electrónico de barrido y que se basa en el estudio de los electrones reflejados por una superficie. Un dispositivo integra la imagen, la cual se observa en un sistema de televisión; mediante este equipo es posible estudiar la estructura tridimensional de las superficies; por ejemplo, los cilios de una célula, la forma bicóncava de los hematíes, etcétera.

Este tipo de microscopio electrónico, dado su poder de resolución (alrededor de 20 nm o más), permite el estudio detallado de estructuras cuyas dimensiones se encuentran entre los límites de resolución del microscopio óptico (0.2 μm) y el microscopio electrónico de transmisión que puede alcanzar de 0.3-0.1 nm

glutaraldehído, el tetraóxido de osmio, etc., o pueden actuar coagulando las proteínas cuando se utiliza el calor.

A continuación se realiza la **inclusión** del tejido, para que el material tenga



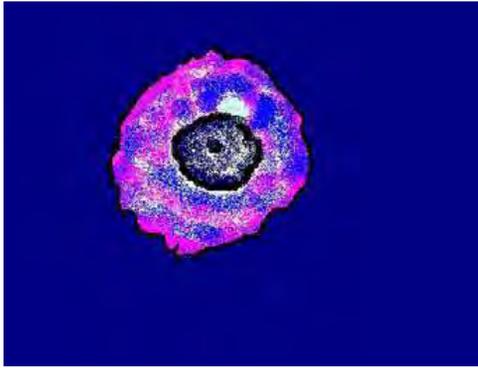
la suficiente firmeza al cortarse. El agua que contiene el tejido se sustituye por una sustancia que le da rigidez y evita que se deforme. Esto se logra introduciendo el material a procesar en alcoholes de gradación creciente, lo que irá sustituyendo el agua por

el alcohol. Después el alcohol es sustituido por un solvente orgánico como es el xilol, la acetona, etc., para de esta forma terminar incluyendo el tejido en una sustancia que es miscible en este solvente orgánico. Estas sustancias son la parafina, que se utiliza en microscopía óptica, y las resinas como el epon y la araldita que se utilizan en microscopía electrónica.

Una vez incluido el material se realiza el corte utilizando equipos especiales, los cuales presentan una cuchilla que corta "lascas" del material. Para microscopía óptica se utilizan cuchillas de acero y el equipo recibe el nombre de **micrótopo**. (Fig. 2.7). En microscopía electrónica se utilizan los ultramicrótopos, que emplean cuchillas de vidrio o diamante. Para el estudiante que comienza es muy difícil, imaginar los planos de corte de una estructura determinada. En la figura 2.8 se representan los cortes dados a un huevo y a una estructura tubular, comparándolos con la imagen que de estos se observa al verlos aislados.

Los cortes para su observación al microscopio óptico, se montan en una lámina de vidrio llamada **portaobjetos**. Para microscopía electrónica se montan en unas rejillas metálicas pequeñas que presentan perforaciones,

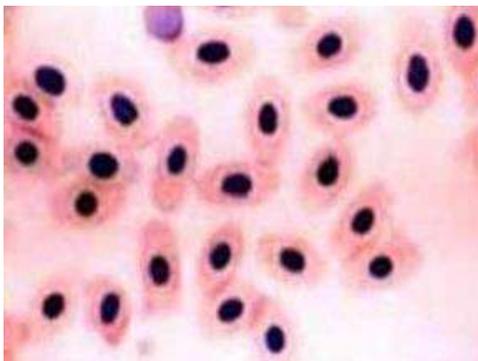
las cuales permiten el paso del haz electrónico. Para el estudio de cortes al microscopio óptico de campo brillante es necesario colorear previamente la muestra con diferentes compuestos químicos (colorantes), que tienen la capacidad de reaccionar con los diversos componentes de las estructuras celulares.



La posibilidad de observar una coloración dada en una estructura se debe a que esta se comporta como un filtro de color, dejando pasar solamente la luz de determinada longitud de onda.

Es importante para el estudiante la comprensión de algunos conceptos

relacionados con la coloración. Los colorantes que corrientemente se emplean para la observación de láminas histológicas, son sales neutras



que presentan radicales ácidos o básicos, es decir, colorantes ácidos y básicos. Una coloración de uso corriente en histología es la hematoxilina y eosina (H/E) que emplea ambos tipos de colorantes. Con esta coloración se observa que el núcleo se tiñe con el

colorante básico (azul), y el citoplasma se colorea con el colorante ácido (rosado).

Fig. 2.9. En la figura se muestra un esquema de una célula eucariota coloreada con Hematoxilina/Eosina. El núcleo se aprecia de color azuloso (basófilo) y el citoplasma se observa rosado (acidófilo). No obstante se observa basofilia localizada en el citoplasma que se corresponde con el retículo endoplasmático rugoso. La basofilia citoplasmática se debe a los ribosomas asociados al retículo. Fig. 2.10. Se observan un frotis de sangre de rana, a 40x. Cada célula se corresponde con un eritrocito, en esta especie los eritrocitos son nucleados. Se aprecia el núcleo oscuro (basófilo) y el citoplasma acidófilo(rosado).

El núcleo, al tener afinidad por el colorante básico (el ADN capta el colorante básico), es **basófilo** y la propiedad que manifiesta esa estructura se denomina **basofilia**. Por su parte, el citoplasma, excepto en células

secretoras de proteínas, es generalmente **acidófilo**, es decir, tiene afinidad con el colorante ácido eosina. La propiedad de reaccionar con los colorantes ácidos, es la **acidofilia**.

Otro grupo de colorantes, los básicos de anilina, incluyen el azul de toluidina, el azul A, el azul de metileno. Se emplean para identificar los mucopolisacáridos. Al colorearse las estructuras, lo hacen de un color distinto al del colorante original. Esa propiedad se denomina **metacromasia**. Los colorantes básicos de anilina son el azul brillante, el rojo neutro y el verde Janus. Las técnicas de tinción incluyen también la utilización de varios colorantes. Ejemplo de ellos son los métodos tricrómicos como el Mallory, el Mallory-Azan y el método de Masson utilizados para demostrar las fibras del tejido conjuntivo, etc.

Otra técnica de coloración muy empleada es la tinción con sales de plata, que tiñe de negro o carmelita oscuro las estructuras celulares, estas se denominan por la afinidad con las sales de platas **argirófilas**. Por otra parte, el fenómeno fundamental que permite la visualización de las estructuras al microscopio electrónico, esta dado por la dispersión electrónica que provocan los elementos químicos que componen las estructuras de la muestra. Estos elementos tienen por lo general bajo peso atómico (C, O, N, H, etc.), por lo que se hace necesario asociar a estas estructuras, compuestos que contengan metales pesados de mayor peso atómico, por ejemplo el tetraóxido de osmio y las sales de uranio, que reaccionan con zonas específicas de la muestra, provocando una mayor dispersión y, por tanto, un contraste entre las diferentes zonas. La imagen que se observa en la pantalla fluorescente del microscopio electrónico está formada por los electrones que atraviesan la preparación sin una gran dispersión. Los diferentes tonos están determinados por la llegada o no de ellos, donde las zonas brillantes corresponden, al lugar en el que un mayor número de electrones chocan con la pantalla fluorescente.

TÉCNICA DE CONGELACIÓN FRACTURA.

Mediante esta técnica es posible estudiar al M/E estructuras celulares superficiales o puestas al descubierto por medio de la fractura de una muestra congelada a muy bajas temperaturas, sin ningún tipo de procesamiento químico que altere la ultraestructura de la misma. La muestra se congela en nitrógeno líquidos (-196 °C) y se monta en un equipo donde hay un dispositivo especial dentro de una campana, en la cual se hace un alto vacío. Mediante una cuchilla se produce un corte que provoca una línea de fractura en la muestra, quedando expuesta la superficie donde se produjo el corte. Esta superficie pierde agua por sublimación y posteriormente se le evaporan carbón y metales pesados desde diferentes ángulos, hasta cubrirla en su totalidad, logrando de esta manera, una réplica o mascarilla de la misma. Por un procedimiento donde se elimina el material biológico, la replica se separa de la muestra y se examina al M/E, en ella se pueden apreciar las características de las estructuras que quedaron impresas en la réplica.

TÉCNICA CITOQUÍMICAS E HISTOQUÍMICAS.

Las células y los tejidos están constituidas por proteínas, carbohidratos y otros componentes, los cuales se encuentran formando parte de la estructura de los mismos. Estas sustancias son químicamente activas, es decir, que en determinadas condiciones es posible hacerlas reaccionar con otros compuestos. Esta capacidad de reacción es el principio en que se basan las técnicas citoquímicas e histoquímicas para la demostración, en las células y en los tejidos, de un compuesto o sustancia, o para la determinar la actividad de una enzima, o complejos enzimáticos celulares e hísticos.

El producto de estas reacciones son compuestos coloreados visibles al microscopio óptico, o de alta densidad para su visualización al microscopio electrónico; por ejemplo, la demostración de lípidos

acumulados intracelularmente en algunas patologías, o la demostración de lípidos que forman parte de estructuras celulares, se puede llevar a efecto mediante diversas técnicas con sustancias que reaccionan con las grasas; uno de estos es el tetraóxido de osmio, que reacciona con los lípidos no saturados, y da un compuesto de color negro que puede distinguirse tanto al microscopio óptico como al microscopio electrónico debido a su alta densidad. En otras ocasiones, es posible, mediante esta técnica, demostrar la presencia o ausencia de un orgánulo celular.

Las células objeto de estudio se ponen en contacto con sustratos específicos que reaccionarán con los componentes químicos de un orgánulo dado, así dando coloración al M/O. Estas técnicas brindan una información de la composición química celular, así como de sus elementos estructurales y su localización.

TÉCNICA INMUNOCITOQUÍMICA E INMUNOHISTOQUÍMICA.

Determinadas células de organismos superiores tienen la capacidad de responder ante sustancias extrañas, **antígenos**, sintetizando otros compuestos llamados **anticuerpos**.

La técnica inmunocitoquímica se basa en el reconocimiento del antígeno por un anticuerpo que previamente se ha conjugado con un fluorocromo, una enzima o un coloide de un metal pesado (por ejemplo el oro).

Al conjugarse con estos compuestos, los anticuerpos pueden reconocer en el tejido o en la célula, los componentes antigénicos contra los cuales fueron desarrollados, poniendo así de manifiesto la localización o presencia de aquellas estructuras objetos del estudio, mediante reacciones químicas o a través de microscopios especializados (microscopios de fluorescencia y electrónico). Si se emplea un microscopio de fluorescencia, el marcador será un fluorocromo, los cuales emiten fluorescencia al ser excitados por la luz ultravioleta; si la reacción antígeno-anticuerpo se evidencia mediante una enzima se hace necesario el empleo del sustrato de la misma, además de una sustancia que proporcione un color determinado o

un precipitado que pueda ser distinguido en un microscopio óptico de campo brillante o con una técnica adecuada al microscopio electrónico.

TÉCNICAS DE FRACCIONAMIENTO CELULAR.

Cuando se requieren separar los componentes intracelulares (organitos), la técnica de elección es la centrifugación o la ultracentrifugación en un medio isotónico. Para esto es necesario romper previamente las células mediante procedimientos mecánicos (en un homogeneizador con émbolo de vidrio o teflón), con la consiguiente liberación al medio de sus componentes.

En la centrífuga las partículas de distinta densidad, forma y tamaño, sedimentan a diferentes velocidades y tiempo. De este modo se obtienen distintas porciones o fracciones celulares.

La unidad que define la velocidad de sedimentación de una partícula en un campo gravitacional, se denomina *unidad Svedverg*, la cual relaciona la velocidad angular del rotor de la centrífuga con la distancia de la partícula al eje del rotor. Esta unidad es una constante para cada partícula y generalmente se describe como una unidad S.

Aunque con esta técnica se obtienen fracciones celulares bastante puras, no es posible evitar la contaminación de una determinada fracción con partes de otra. Como se planteó anteriormente, el comportamiento de las diferentes partes de la célula en el campo centrifugacional, está determinado por varios parámetros que pueden coincidir en organitos diferentes; por ejemplo, una mitocondria pequeña puede tener similar forma, talla y densidad que un lisosoma y, por tanto, se obtiene una fracción mitocondrial contaminada por lisosomas. Este hecho es necesario tenerlo en cuenta cuando se está estudiando el contenido enzimático de determinada fracción, ya que se pueden falsear los resultados (figura 2.10).

TÉCNICA DE CULTIVO DE TEJIDOS.

El método consiste en cultivar células o tejidos en un medio nutritivo. En estos cultivos se realizan estudios sobre distintos procesos, tales como la división, el crecimiento, la diferenciación celular y otros.

Estas células de cultivo provienen de órganos o tejidos animales o vegetales, las cuales, manteniéndolas en un medio nutritivo adecuado, y con temperatura, pH y otros requerimientos especiales, pueden desarrollar muchas de las funciones metabólicas que realizaban cuando formaban parte de los tejidos.

Esta técnica es muy útil para el estudio de los virus, utilizando a las células de cultivo como hospederas de ellos. La técnica en cuestión también se utiliza en el estudio de células cancerosas y su comportamiento en el desarrollo de tumores.

En general, las células de cultivo sirven como material de experimentación sobre el cual se pueden hacer diversos estudios, empleando todas las técnicas descritas. Como hemos estudiado, son diversos los métodos y técnicas empleados; no obstante, con el desarrollo de las ciencias irán surgiendo nuevas técnicas que permitan a los científicos un conocimiento cada vez más profundo de las células y su funcionamiento.

Es importante tener en cuenta que cada método y técnica tiene sus limitaciones y que solo haciendo un uso racional de ellas, se puede lograr un conocimiento cada vez más completo.

INGENIERÍA TISULAR Y MEDICINA REGENERATIVA

La Ingeniería tisular o de tejidos, es un campo de investigaciones que tiene como principales objetivos el desarrollo artificial de tejidos y órganos que posibiliten sustituir los mismos de forma parcial o total, cuando se encuentren dañados en el cuerpo de humanos y animales. Es una rama de la bioingeniería que acopla la biología celular, la nanotecnología, la ingeniería de los materiales, la bioquímica y la química-física, aplicando principios y métodos que contribuyan a la restauración de la estructura- función en los tejidos dañados. La ingeniería tisular puede ser a partir de biomateriales naturales, sintéticos o híbridos. Los biomateriales naturales pueden ser componentes de la matriz extracelular como colágena, elastina, glicosaminoglicanos (ácido hialurónico, condroitín sulfato, dermatán sulfato, etc). Los polímeros sintéticos como polihidroxiácidos y polisacáridos como el quitosán presente es el esqueleto de los crustáceos. Uno de los órganos más nobles para este tipo de intervención es la piel y ya se han estado haciendo investigaciones en la misma desde 1950, las cuales se afianzaron en la década del 90. Se han creado pieles artificiales, humanas liofilizadas, cultivos de queratinocitos, de fibroblastos basados en láminas de ácido hialurónico, láminas de colágeno, hidrogeles, sustratos de quitina y geles de fibrina. Otros órganos han sido objeto de estudio en este campo como por ejemplo, la vejiga, los uréteres, la uretra y en el sistema musculoesquelético, cartílago, hueso, ligamentos y tendones.

Aunque muchas veces se confunden los términos y se dan como sinónimos, la Ingeniería tisular y la medicina regenerativa, son exactamente lo mismo. La medicina regenerativa es el desarrollo de terapias que utiliza células con potencialidad, capaces de inducir la regeneración de tejidos y órganos, estimuladas por el microambiente que las recibe.