

TPH4 - TRABAJO PRÁCTICO Nº 4: CARTÍLAGO, HUESO, SANGRE Y HEMATOPOYESIS

I. TEJIDO CARTILAGINOSO

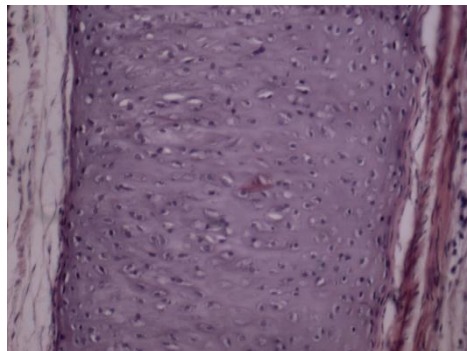
OBJETIVOS DEL TP

- Identificar los componentes tisulares (celulares y extracelulares) del cartílago.
- Identificar los tipos de tejido cartilaginoso según su morfología y componentes de la matriz extracelular.

Preparados para MO

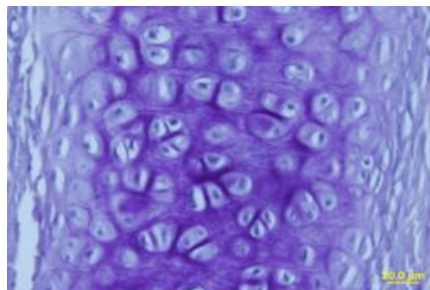
1) Preparado de tráquea - H&E:

- **Cartílago hialino.** Observar la tinción de la matriz extracelular y compararla con la tinción del TC circundante; reconocer el pericondrio fibroso (TCCDNM) y el pericondriocondrógeno. Reconocer en base a su morfología, localización y tinción un condroblasto y un condrocito; identificar condroplasto o laguna y cápsula. Reconocer grupo isógeno axil y coronario. Reconocer en la matriz extracelular el área territorial e interterritorial en base a la intensidad tintorial y observar la textura hialina de la matriz.



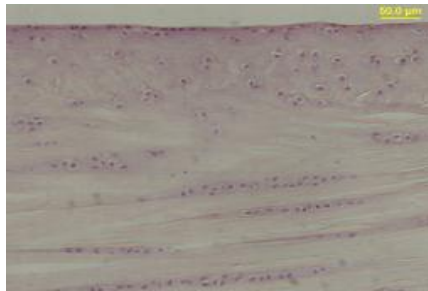
2) Preparado de pabellón auricular - Resorcina-fuscina con H&E:

- **Cartílago elástico.** Observar la textura de la matriz extracelular y compararla con el cartílago hialino; reconocer pericondrio; diferenciar condroblasto y condrocito; reconocer condroplasto o laguna y cápsula. Diferenciar grupo isógeno axil y coronario. Reconocer en la matriz extracelular el área territorial e interterritorial en base a la densidad de fibras elásticas.



3) Preparado fijo de fibrocartílago - H&E:

- **Cartílago fibroso.** Observar la disposición de los condrocitos en hileras entremezcladas con haces de fibras de colágeno y fibrocitos. Notar la ausencia de pericondrio.



Fotomicrografía de MET

- 1) Analizar la ultraestructura de un condrocito y de un condroblasto.
- 2) Diferenciar la ultraestructura de los componentes de la matriz extracelular del cartílago hialino y del fibrocartílago.

EJERCICIOS

- a. Mencione los componentes de la matriz cartilaginosa y correlaciónelos con la función del tejido cartilaginoso.

- b. Complete el siguiente cuadro comparativo:

	Cartílago hialino	Cartílago elástico	Cartílago fibroso
Componentes de la matriz extracelular			
Disposición de condrocitos			
Presencia de pericondrio?			
Localización			
Función			

- c. Explique el fundamento de la afinidad tintorial de la matriz extracelular del cartílago hialino con H&E.
 - d. Realice un esquema estructural (al MO) de una sección de cartílago hialino. Indique: pericondrio, condroblastos, condrocitos en su laguna, grupo isógenos axiales y coroneales, matriz territorial y extraterritorial.
- c. Realice un esquema estructural de una sección de fibrocartílago.
 - d. Explique los mecanismos de crecimiento del cartílago.

II. TEJIDO ÓSEO

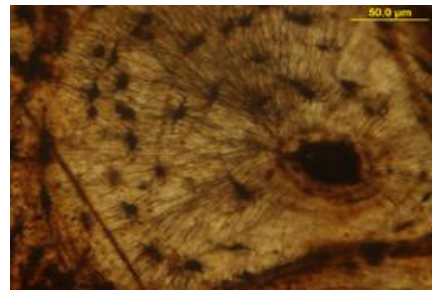
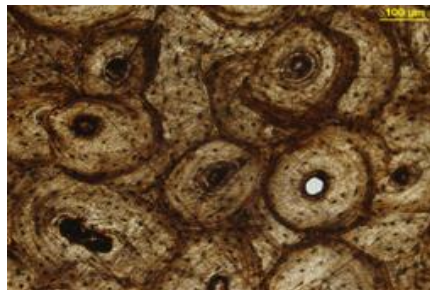
OBJETIVOS DEL TP

- Reconocer los componentes del tejido óseo y su forma de organización espacial.
- Describir las características estructurales y reconocer al MO el tejido óseo.
- Reconocer las distintas formas de organización del tejido óseo: hueso compacto y esponjoso: primario o reticular y laminar.
- Describir la estructura y organización macroscópica y microscópica del hueso esponjoso y compacto
- Establecer un diagnóstico diferencial entre hueso compacto y hueso esponjoso.
- Explicar: a) los fundamentos de las técnicas de procesamiento del hueso para su estudio en MO (descalcificación con posterior coloración con H&E y desgaste) y b) la utilidad de cada una de ellas.
- Describir el proceso de osificación endocondral.
- Reconocer las diferentes zonas del proceso de osificación endocondral y los tejidos y componentes tisulares que se observan en dicho proceso.

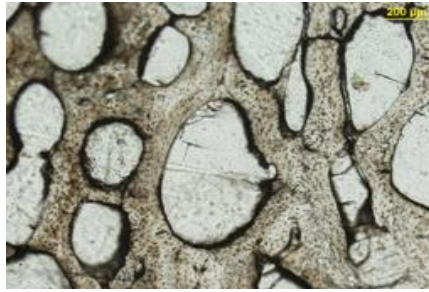
Preparados para MO

1) Preparado fijo de hueso - hueso seco por desgaste, tinta china:

- Observar arquitectura del tejido óseo. Notar la ausencia del componente orgánico. Establecer diferencias con el preparado de hueso descalcificado.
- **Hueso compacto.** Observar el periostio. Identificar las osteonas: laminillas concéntricas, osteoplastos con canalículos óseos entre las laminillas, conducto de Havers, línea de cemento, conductos de Volkmann. Identificar los sistemas circunferenciales interno y externo, sistema intersticial.

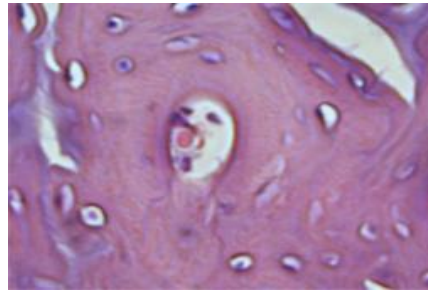
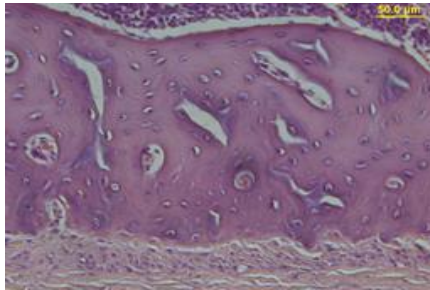


- **Hueso esponjoso.** Observar las trabéculas formadas por laminillas con osteoplastos, (sin osteonas ni conductos de Havers) y rodeadas por espacios medulares.



1) Preparado de hueso - hueso descalcificado, H&E:

- **Hueso compacto.** Reconocer periostio, endostio, osteonas (conductos de Havers, osteocitos en osteoplastos, láminas); conducto medular con tejido hematopoyético. Establecer diferencias con el preparado de hueso seco.

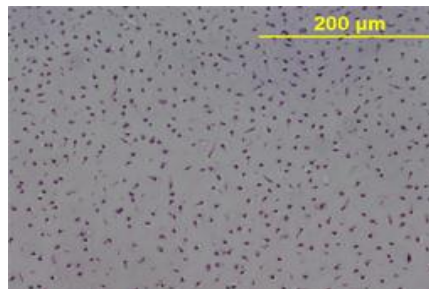


- **Hueso esponjoso.** Reconocer periostio, endostio, médula ósea, trabéculas, osteocitos en osteoplastos. Establecer diferencias con el preparado de hueso seco.

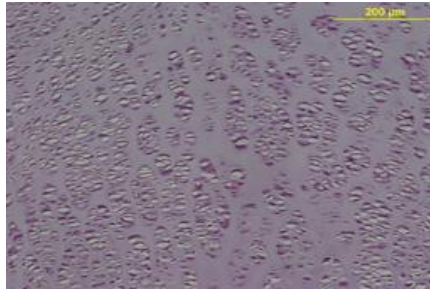
3) Preparado de osificación endocondral - hueso descalcificado, H&E.

- **Proceso de osificación endocondral.** Diferenciar epífisis, metáfisis y diáfisis. Reconocer el pericondrio que rodea al cartílago (excepto en la zona articular) y el periostio que rodea a la zona de trabéculas óseas. Reconocer los distintos estadios de osificación en base a la morfología y componentes tisulares de cada zona:

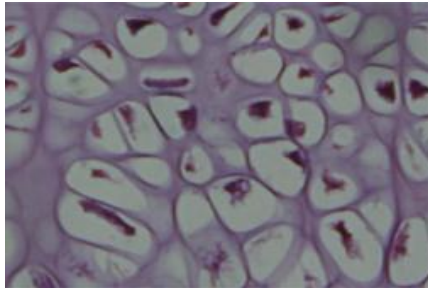
- a. Cartílago en reposo: condrocitos en condroplastos rodeados por una matriz extracelular basófila (matriz cartilaginosa).



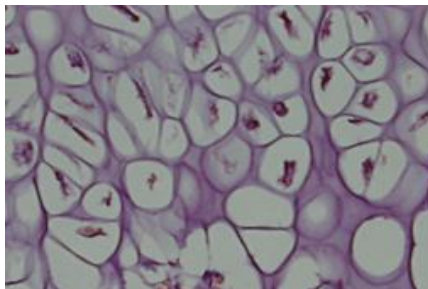
- b. Cartílago seriado o en proliferación: condrocitos dispuestos en grupos isógenos axiles.



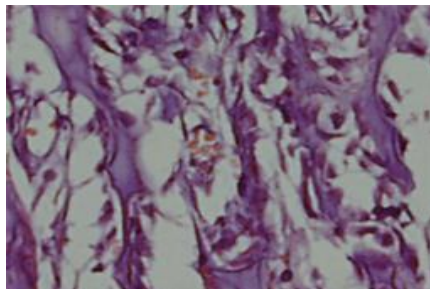
- c. Cartílago hipertrofiado: condrocitos hipertrofiados dispuestos en grupos isógenos axiales.



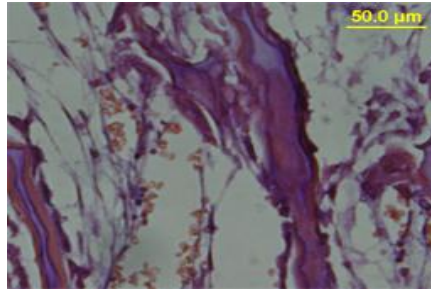
- d. Cartílago calcificado: matriz extracelular intensamente basófila.



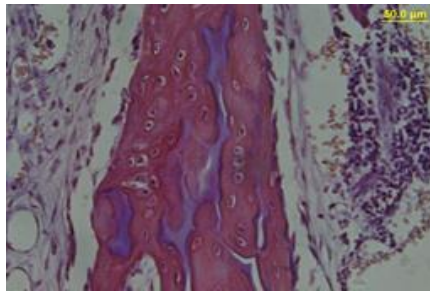
- e. Trabécula directriz: matriz cartilaginosa (basófila) rodeada o no por osteoblastos.



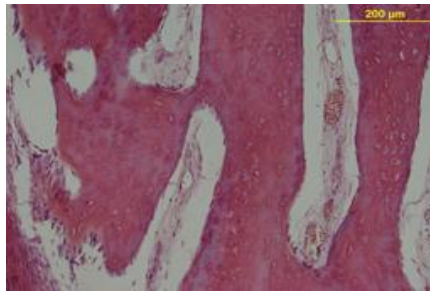
- f. Trabécula primaria: matriz cartilaginosa rodeada por sustancia osteoide (acidófila) y osteoblastos.



- g. Trabécula secundaria: matriz cartilaginosa rodeada por matriz extracelular ósea, osteocitos y osteoblastos.



- h. Trabécula terciaria: osteocitos y matriz extracelular ósea rodeados por osteoblastos. Reconocer el tejido hematopoyético en el espacio entre las trabéculas. Identificar a los osteoclastos con su laguna de Howship.



Fotomicrografía de MET

- 1) Diferenciar la ultraestructura de un osteoblasto (reconocer abundante RER), un osteocito, y un osteoclasto (reconocer numerosos núcleos, abundantes mitocondrias y Golgi desarrollado, vacuolas absorptivas, procesos citoplasmáticos en borde en cepillo, la laguna de Howship)

APOYO TEÓRICO

Técnicas para visualizar tejido óseo:

1) Descalcificación: proceso por el cual se eliminan completamente las sales de calcio del tejido luego de haber sido fijado. Hay varios tipos de descalcificación, las más utilizadas son las químicas. Descalcificación con solución acuosa de ácido nítrico: utiliza ácido nítrico y agua destilada.

Descalcifica un bloque óseo de 5mm en 12-24 horas. Para comprobar si la descalcificación es completa se usa amoníaco y oxalato amónico, que formará precipitados de hidróxido cálcico si no está completa la misma.

2) Desgaste: no hay presencia de sustancia orgánica. Se realiza macerando el hueso en agua y luego en bencina. Una vez blanco y seco, se corta una lámina con una sierra y la misma se pule con piedra de afilar o pómez con agua para evitar mayor daño tisular. Al terminar el pulido se sumerge en alcohol absoluto y después en benzol. Luego se lo deja secar y se lo monta.

EJERCICIOS

- Explice el fundamento del procesamiento del hueso por descalcificación y explique su utilidad.
- Realice un esquema de las distintas etapas del proceso de osificación endocondral, tal como se ven en un preparado descalcificado y coloreado con H&E.
- Realice un esquema estructural de un preparado por desgaste de hueso compacto. Indique: el sistema de Havers u osteonas (línea de cemento, laminillas concéntricas, osteoplastos con canalículos, canal de Havers). Periostio y endostio.
- Explice el fundamento de la tinción de la matriz extracelular ósea y la matriz cartilaginosa con H&E.

e. Complete el siguiente cuadro comparativo:

	Osteoblasto	Osteocito	Osteoclasto
esquema			
estructura			
ultraestructura			
localización			
función			

f. Complete el siguiente cuadro:

	Tejido cartilaginoso	Tejido óseo
Componentes celulares		
Matriz amorfa		
Tipo de colágeno		

- Justifique qué componentes del sistema de endomembranas reducen su tamaño y funcionalidad en el osteocito respecto del osteoblasto.

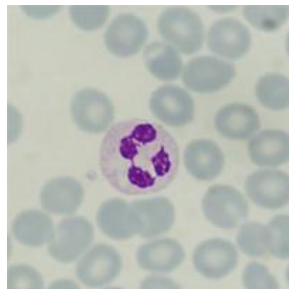
III. SANGRE

OBJETIVOS DEL TP

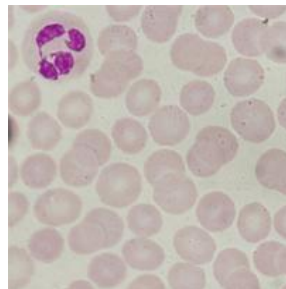
- Explicar el concepto de extendido celular y diferenciarlo de un corte histológico.
- Identificar las partes de un frotis o extendido sanguíneo y el comprender el fundamento de la técnica de coloración de May-Grünwald-Giemsa.
- Identificar los elementos figurados de la sangre en un frotis o extendido.

Preparados para MO

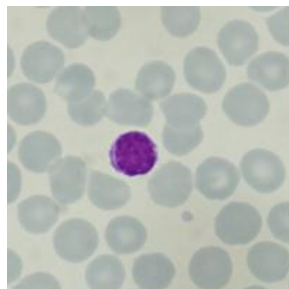
- 1) Preparado de **frotis o extendido de sangre** humana coloreado con May-Grünwald-Giemsa:
Recorrer el frotis y localizar la cola, el cuerpo y la cabeza. Identificar en el cuerpo del frotis los elementos figurados: eritrocitos, leucocitos (granulocitos: neutrófilos, eosinófilos y basófilos, y agranulocitos: linfocitos y monocitos) y plaquetas, según su morfología (características de los núcleos, la abundancia de citoplasma y la tinción de las granulaciones) y su tamaño relativo al eritrocito. Observar la cantidad relativa de cada uno de los elementos.



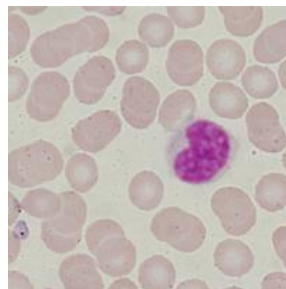
neutrofilo



neutrofilo



linfocito



monocito

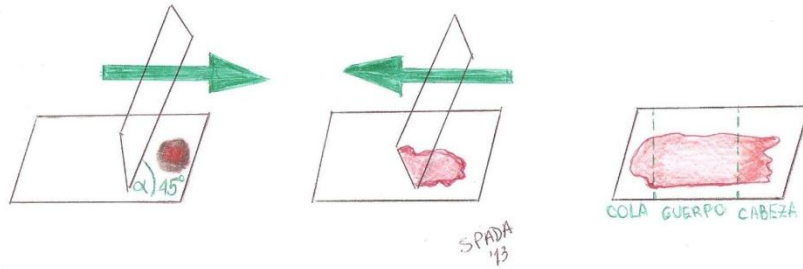
Fotomicrografía de MET

- 1) Reconocer la ultraestructura de los elementos formes de la sangre.

APOYO TEÓRICO

Frotis o extendido de sangre (May-Grünwald-Giemsa)

Se extrae una gota de sangre por punción y luego se la extiende sobre un portaobjetos.



Se deposita una gota de sangre sobre un portaobjetos, luego, con otro portaobjeto posicionado a 45° se toca la gota y se arrastra hacia el otro extremo. Se flamea el portaobjetos con un mechero para lograr una fijación por calor y luego se colorea con May-Grünwald y Giemsa. El frotis presenta tres zonas: 1) la cabeza, que es donde se depositó la gota inicialmente, es excesivamente gruesa y se observan superpuestos los elementos formes; 2) el cuerpo es la zona del medio y es la zona ideal para observar el frotis ya que los elementos formes se encuentran homogéneamente distribuidos y 3) la cola, que es la zona donde los elementos formes se agrupan en cordones.

Tinción de May-Grünwald-Giemsa

Combina dos soluciones colorantes: May-Grünwald y Giemsa. Cada una de ellas posee colorantes ácidos y básicos.

- Solución de May-Grünwald: eosina y azul de metileno ambos disueltos en metanol
- Solución de Giemsa: eosina, azul de metileno y una serie de productos de la oxidación de este último tales como azur A, azur B, violeta de metilo y azul de metilo.

Primero se cubre el extendido con la solución de May-Grünwald permitiendo que el metanol actúe como fijador químico. Luego se agrega igual volumen de agua destilada, permitiendo que la solución coloree. Se descarta el líquido y se cubre con la solución de Giemsa. Se lava con agua corriente y se deja secar al aire.

EJERCICIOS

- Explique el fundamento de la técnica de May-Grünwald-Giemsa. Fundamente por qué no se utiliza H&E para su tinción.
- Esquematice los elementos figurados de la sangre coloreados con May-Grünwald-Giemsa. Dibuje el tamaño de los elementos en función al tamaño del eritrocito.
- Complete el siguiente cuadro comparativo:

	Eritrocito	linfocito	monocito	neutrófilo	eosinófilo	basófilo	plaquetas
Esquema							
Tamaño							
morfología celular							
morfología nuclear							
Cromatina							

Citoplasma							
Contenido de gránulos inespecíficos							
Contenido de gránulos específicos							
Función							

- d. Explique mediante qué mecanismos moleculares los neutrófilos reconocen las células endoteliales de los capilares de los órganos en los cuales hay procesos inflamatorios y hacia cuyo TC deben migrar.
- e. Defina los conceptos de fórmula leucocitaria relativa y fórmula leucocitaria absoluta. ¿Cuál es su importancia en la práctica médica?

IV. TEJIDO HEMATOPOYÉTICO - MÉDULA ÓSEA

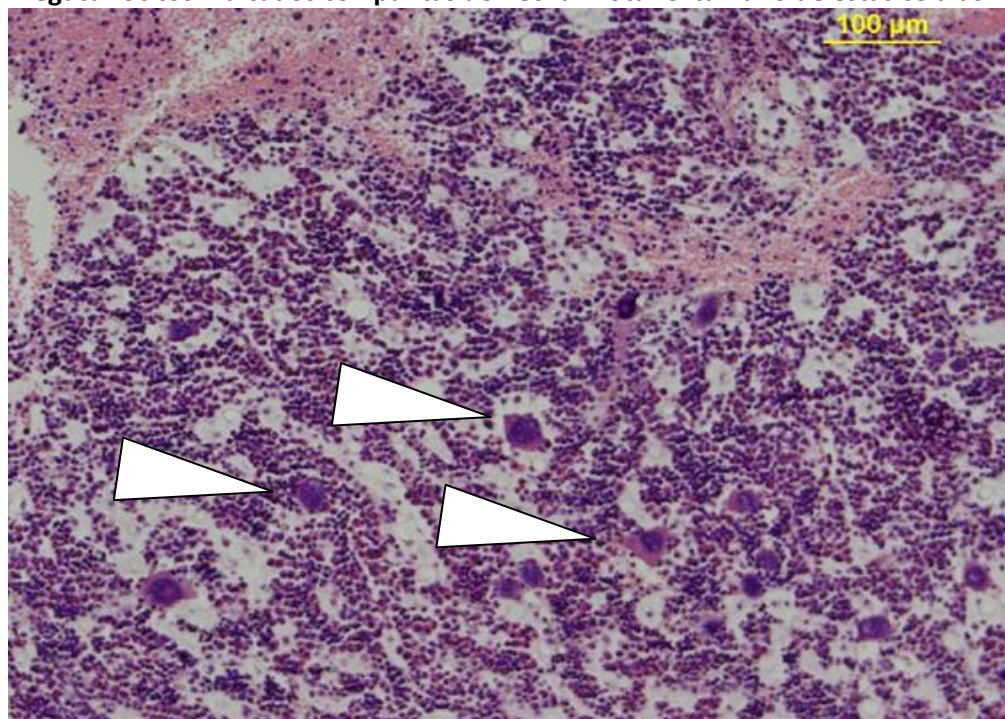
Preparados para MO

- 1) Preparado de **médula ósea** - corte histológico, H&E:

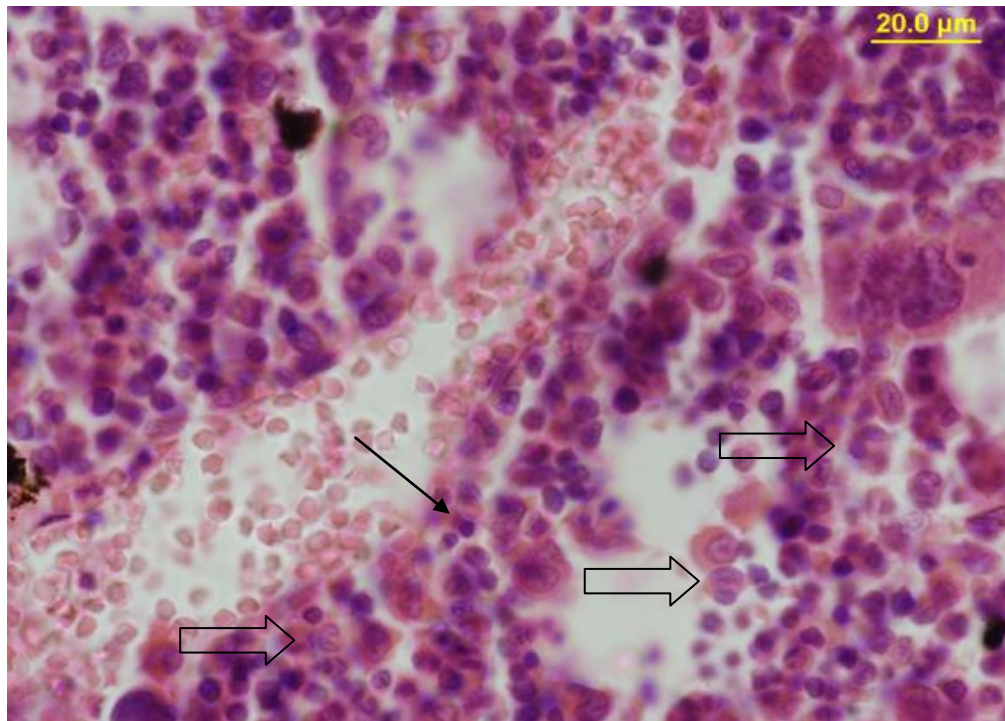
Reconocer la médula ósea como órgano. Reconocer el compartimiento vascular (pared de sinusoides) y diferenciarlos de los adipocitos.

Reconocer el compartimiento hemopoyético: megacariocitos, nidos blancos (formas inmaduras de la serie blanca) y nidos rojos (formas inmaduras de la serie roja).

Megacariocitos indicados con puntas de flecha. Notar el tamaño de estas células



Las flechas gruesas marcan los metamielocitos que son típicos de los nidos blancos y las flechas delgadas marcan eritroblastos ortocromáticos (normoblastos)



- 2) Preparado fijo de **frotis de médula ósea** de humano - extendido, May-Grünwald-Giemsa:
Reconocer las diferencias entre un extendido de tejido hematopoyético y un corte histológico de médula ósea. Observar células inmaduras y maduras de las tres progenies sanguíneas, adipocitos, plasmocitos. Reconocer las diferencias entre un extendido de sangre periférica y de médula ósea.

EJERCICIOS

- Explique el diagnóstico diferencial entre un megacariocito y un osteoclasto.
- Explique por qué los nidos rojos están en cercanía a los sinusoides de la médula ósea.
- Defina el concepto de célula madre y célula progenitora hematopoyética.
- Explique en qué fase del ciclo celular se encuentran los eosinófilos y en qué fase/s pueden encontrarse las células madre hematopoyéticas.
- Ante una hemorragia, ¿cómo variará en el extendido de sangre la cantidad de reticulocitos?

ANEXO

SERIE ERITOBLÁSTICA

	Pro-eritroblasto	Eritrobalsto basófilo	Eritroblastopolicromatófilo	Eritroblasto ortocromático o normoblasto	Reticulocito	Eritrocito
Dibujo al MO						
Tamaño	14-19µm	15-17 µm	12-15 µm	8-10 µm	7-8 µm	6-8µm
morfología nuclear	Central, grande, esférico, cromatina laxa, 1-2 nucléolos evidentes.	Central, cromatina gruesa granular No se observa nucléolo.	Central, pequeño. Aumenta el grado de condensación de la cromatina.	Excéntrico. Aumenta la condensación de la cromatina (degeneración picnótica).	No tiene.	No tiene.
citoplasma	Escaso, basófilo	Basófilo. Abundantes polirribosomas.	Basofiliagrisaceo- rojiza Escasos puntos rojos cerca del núcleo. Poca hemoglobina.	Acidófilo. Abundante hemoglobina.	Teñido con Azul Brillante de Cresilo (polirribosomas) Abundante hemoglobina.	Naranja con Azul Brillante de Cresilo. Abundante hemoglobina.

SERIE GRANULOCÍTICA

	Mieloblasto	Promielocito	Mielocito	Metamielocito
Dibujo al MO				
localización	MO	MO	MO	MO
Tamaño	10-18 µm	18-20 µm	12-18 µm	10-16 µm
morfología nuclear	Central o algo excéntrico, redondo, cromatina en red fina. Nucléolos evidentes.	Central o algo excéntrico, arriñonado, cromatina en fina red.	Excéntrico, indentado, cromatina que se va haciendo cada vez más gruesa. Nucléolo pequeño.	Excéntrico, en forma de herradura, cromatina gruesa.
citoplasma	Escaso, basófilo.	Moderado, azul-celeste o grisáceo, gránulosazurófilos inespecíficos.	Rosa-azulado, gránulos específicos y menor cantidad de gránulos inespecíficos.	Abundante, rosado, escasos gránulos inespecíficos y abundantes gránulos neutrófilos, eosinófilos o basófilos segun el tipo celular.

SERIE GRANULOCÍTICA

	Célula en cayado.	PMN Neutrófilo	PMN Eosinófilo	PMN Basófilo.
Dibujo al MO				
localización	MO y sangre periférica	MO y sangre periférica	MO y sangre periférica	MO y sangre periférica
Tamaño	10-15 μm	10-12 μm	10-15 μm	12-15 μm
morfología nuclear	Excéntrico, en forma de bastón, cromatina en gránulos gruesos.	Excéntrico, con 2 a 5 lóbulos con cromatina bastante gruesa. No se observa nucléolo.	Núcleo excéntrico y bilobulado, cromatina muy gruesa.	Grande y bilobulado con puente de cromatina gruesa
citoplasma	Abundante, gránulos específicos de cada tipo celular. Escasos gránulos inespecíficos.	Rosa pálido, escasos gránulos inespecíficos y gránulos finos rosa violáceos.	Rosa azulado, gránulos específicos gruesos grandes de tamaño uniforme	Grandes gránulos específicos de forma y tamaño irregular. Gránulos son metacromáticos.

SERIE MEGACARIOCÍTICA

	Megacarioblasto	Promegacariocito	Megacariocito	Plaquetas
Dibujo al MO				
localización	MO	MO	MO	MO y sangre periférica
Tamaño	30 μm	30-45 μm	50-70 μm	1-4 μm
morfología nuclear	Central o algo excéntrico, redondo, cromatina laxa, 1-2 nucléolos	Excéntrico, redondo e indentado, cromatina en grandes acumulos muy densos, no se obs. nucléolos.	Central de forma anular, multilobulado en forma irregular, cromatina densa	No tiene
citoplasma	Basófilo, abundantes polirribosomas	Escaso, gránulos azurófilos dispersos	Abundante, levemente basófilo, gránulos azurófilos finos.	Levemente basófilo, gránulos diversos.

SERIE LINFOBLÁSTICA

	Linfoblasto	Prolinfocito	Linfocito
Dibujo al MO			
localización	MO	MO	MO y sangre periférica
Tamaño	12µm	7-10 µm	5-8µm
morfología nuclear	Central o algo exéntrico, redondo, 1-2 nucléolos	indentado, no se obs. nucléolos.	indentado, no se obs. nucléolos.
citoplasma	Basofilo, sin gránulos.		levemente basófilo, no posee gránulos

SERIE MONOCÍTICA

	Monoblasto	Promonocito	Monocito
Dibujo al MO			
localización	MO	MO	MO y sangre periférica
Tamaño			12-20 µm
morfología nuclear			Central, grande con indentaciones. Cromatina laxa y densa. No se observan nucléolos.
citoplasma			Basofilia leve, granulos inespecíficos.