

TRABAJOS PRÁCTICOS DE HISTOLOGÍA (TPH)

TPH1 - TRABAJO PRÁCTICO Nº 1: MICROSCOPIA. TÉCNICA HISTOLÓGICA. INTERPRETACIÓN DE IMÁGENES MICROSCÓPICAS. HISTOQUÍMICA.

OBJETIVOS DEL TP

- Adquirir la habilidad del manejo del microscopio óptico
- Entender el fundamento y la utilidad de las diferentes técnicas de tinción.

A) MANEJO DE MICROSCOPIO ÓPTICO

- Reconocer los componentes ópticos y mecánicos de un microscopio óptico.
- Manejar adecuadamente un microscopio óptico binocular y monocular.
- Realizar una correcta iluminación. Enfocar correctamente con las distintas lentes objetivo.
- Explicar las diferencias entre un microscopio óptico y un microscopio electrónico de transmisión

B) TÉCNICA HISTOLÓGICA DE RUTINA E INTERPRETACIÓN DE CORTES HISTOLÓGICOS

1) Tinción de rutina: hematoxilina y eosina (H&E) – preparados de distintos órganos.

- Reconocer en base a su forma y a su afinidad tintorial: el núcleo (tipo de cromatina, presencia de nucléolo), citoplasma (distintas intensidades de tinción acidófila y basófila), matriz extracelular (distintas intensidades de tinción acidófila y basófila). Interpretar las diferentes incidencias de cortes de una estructura histológica (oblicuo, longitudinal y transversal) y reconocer la relación entre la imagen bidimensional observada en un corte histológico y su estructura tridimensional original.

C) TÉCNICAS HISTOLÓGICAS ESPECIALES

- **Tinción de H&E con PAS** - preparado fijo de intestino delgado:
Reconocer la membrana basal del epitelio, el glucocálix de especializaciones de membrana apical y el citoplasma de células de secreción mucosa. Comparar con H&E.
- **Tricrómico de Mallory** – preparado fijo de corazón de rata:
Reconocer las fibras colágenas de la matriz extracelular (celeste), el citoplasma de las fibras musculares esqueléticas cardíacas (rojo), núcleos (rojos) y los eritrocitos (naranja). Comparar con H&E.
- **Técnica de Sudán** - preparado fijo de glándula suprarrenal:
Reconocer las células de secreción esteroidea con inclusiones lipídicas.
- **Técnica de Feulgen** – preparado fijo de células de cebolla:
Reconocer la cromatina de células en interfase y en división celular.
- **Técnica de localización de actividad enzimática** – preparado fijo de riñón:
Reconocer la localización de la enzima fosfatasa alcalina en el ribete en cepillo de los túbulos contorneados.

- **Inmunohistoquímica** – preparado fijo de cerebro de rata – GFAP o S100β.
Reconocer la expresión de proteínas específicas.
- **Técnica de H&E con infusión de tinta china previa a la fijación (tinción vital)** – preparado fijo de hígado:
Reconocer los macrófagos (células de Kupffer) con partículas de tinta china fagocitadas en su citoplasma.

Fotomicrografías de MET

- 1) Reconocer en una fotomicrografía de MET la ultraestructura de los distintos componentes celulares: núcleo (membrana nuclear, heterocromatina, eucromatina, nucléolo), organelas citoplasmáticas (aparato de Golgi, RER, REL, mitocondrias), ribosomas libres, inclusiones lipídicas, vesículas endocíticas, gránulos de secreción, membrana plasmática, citoesqueleto.

APOYO TEÓRICO

Partes del microscopio óptico

1. ÓPTICA

- **Objetivos**: sistema de lentes biconvexas que proporciona una imagen real, aumentada e invertida del preparado. Pueden ser secos (si sólo hay interpuesto aire entre éste y el preparado) o de inmersión (si hay otro medio distinto al aire por ejemplo aceite), su aumento puede ser de 4 o 5 X, 10X, 40X y 100X.
- **Oculares**: están ubicados en el extremo superior del microscopio y proporcionan una imagen virtual, aumentada y derecha del preparado. Su aumento suele ser de 10X.
- **Sistema de iluminación**: los microscopios más antiguos (monoculares) presentan un espejo que es necesario moverlo para hacer incidir la luz de la lámpara de luz de la mesada de trabajo con el fin de poder iluminar la totalidad del campo. En los más modernos (binoculares) la fuente luminosa está incorporada a la base del mismo.
 - a) **Condensador**: enfoca la luz sobre el preparado proporcionando un cono de luz.
 - b) **Diafragma**: limita el haz de luz, eliminando los rayos más desviados.
 - c) **Filtros**: seleccionan las longitudes de onda de los rayos que van a incidir sobre el preparado.

2. MECÁNICA

- **Pie**
- **Columna**
- **Platina**
- **Tubo**
- **Revólver**
- **Tornillo macrométrico**
- **Tornillo micrométrico**

INDICACIONES PARA EL CORRECTO USO DEL MICROSCOPIO ÓPTICO

Iluminación: en los microscopios monoculares colocar el espejo tal que ilumine TODO el campo del preparado. La cara plana se emplea cuando la fuente luminosa es concreta (lámpara) mientras que la cara cóncava se utiliza cuando se emplea luz difusa. En los microscopios binoculares bastará con encender la luz y regular la intensidad de la iluminación. Luego usar el condensador y el diafragma para lograr una correcta incidencia y cantidad de luz.

Enfoque:

- a) Colocar el preparado en la platina con el **cubreobjetos hacia arriba**(si seco fuerte (40X) no logrará enfocar adecuadamente).
- b) Para orientarse en el preparado utilice el objetivo de menor aumento que Ud. disponga. Acerque el objetivo hasta que esté casi en contacto con el preparado, esto se realiza mirando desde **AFUERA Y NO POR LOS OCULARES**.
- c) Una vez realizado el paso (b) observe por los oculares y comience a subir lentamente con el **tornillo macrométrico** hasta que aparezca la imagen. Para lograr un mejor foco mueva el tornillo micrométrico.
- d) Luego de recorrer todo el preparado, cambie el objetivo a seco fuerte desde el revólver y **NO DESDE LOS OBJETIVOS** ya que se pueden desatornillar y perder luego el foco normal.
- e) Terminada la observación, ubicar nuevamente el objetivo de menor aumento, elevar el tubo y retirar el preparado. **NUNCA** retirar el preparado en seco fuerte (40X) porque podría romper el vidrio de la preparación.

CONSIDERACIONES IMPORTANTES

- Con el objetivo de campo, panorámico (4X o 5X) y con el objetivo seco débil (10X) usar el tornillo MACROMÉTRICO, luego de haber logrado un enfoque aceptable puede utilizar el MICROMÉTRICO para realizar el enfoque “fino” solamente.
- Con el objetivo seco fuerte (40X) use solamente el tornillo MICROMÉTRICO.
- Ajuste la silla a una posición cómoda de observación.
- No apoye los dedos o cara sobre los oculares, ya que se engrasan y no permite luego la correcta observación. De hacerlo o encontrarlo sucio, limpiarlo con una carilina.

TÉCNICA HISTOLÓGICA DE RUTINA (HEMATOXILINA Y EOSINA – H&E)

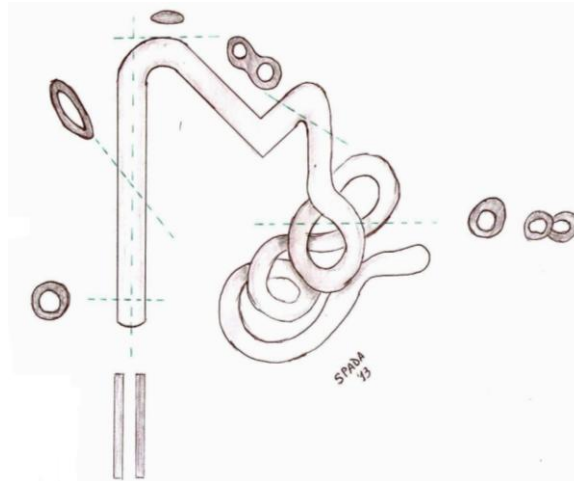
Son los pasos a seguir en el procesamiento de la muestra que permiten observar las características histológicas de la misma.

- 1) Obtención de la muestra: puede tener distintos orígenes:
 - a) biopsias
 - b) autopsias
 - c) extendidos
- 2) Fijación: Paso fundamental en la técnica que tiene por objetivo preservar la estructura y ultraestructura de los componentes tisulares de la muestra, evitando la autólisis del tejido. Los fijadores pueden ser físicos o químicos y dentro de éstos últimos podemos clasificar fijadores simples y mezclas fijadoras. El más usado es el formol al 10% (formaldehído al 4%) como fijador simple y el líquido de Bouin como mezcla fijadora. En estos casos como la muestra se sumerge en el fijador se habla de fijación por inmersión. Cuando la fijación se realiza por perfusión, ésta precede a la obtención de la muestra que luego recibe una fijación de inmersión de refuerzo.
- 3) Deshidratación: Es la completa eliminación del agua del tejido para luego poder embeberlos en medios de inclusión no hidrosolubles. Se pasa la muestra por concentraciones crecientes de alcohol (50%, 70%, 80%, 95% y 100%) para eliminar lentamente el agua y evitar la retracción del tejido.

- 4) Aclaración: Es la sustitución del deshidratante elegido por una sustancia miscible con el medio de inclusión. El aclarante o líquido intermediario más utilizado es el xilol.
- 5) Inclusión: Tiene como objeto endurecer la muestra para permitir su corte posterior. El medio de inclusión más usado en MO es la parafina. Para muestras destinadas a microscopía electrónica se utilizan resinas epoxi.
- 6) Corte: Se realiza con instrumentos especiales llamados micrótomos. Éstos varían si el corte es para microscopia óptica (secciones de micrómetros, μm , de espesor) o electrónica (secciones de nanómetros, nm , de espesor). El corte se coloca sobre un portaobjetos de vidrio (este paso suele denominarse montaje inicial)
- 7) Desparafinar: pasar la muestra por xilol para retirar la parafina.
- 8) Rehidratación: debido a que los colorantes son hidrosolubles. Se pasa la muestra por concentraciones decrecientes de alcohol (100%, 95%, 80%, 70%, 50%) y luego por agua.
- 9) Coloración: primero se colorea con hematoxilina y luego con eosina.
- 10) Montaje final: se cubre la muestra ya coloreada con un cubreobjetos de vidrio y se utiliza un medio de montaje (por ej: bálsamo de Canadá sintético)

EJERCICIOS

a. Interprete la incidencia de los diferentes cortes en la siguiente estructura



b. Defina los conceptos de poder de resolución, límite de resolución y aumento.

c. Señale en qué fotografía de un preparado histológico se pueden apreciar más detalles: LR (límite de resolución), A (aumento)

- a. LR: $0,4 \mu\text{m}$, A: 1000
- b. LR: $0,3 \mu\text{m}$, A: 1000
- c. LR: $0,4 \mu\text{m}$, A: 1500
- d. LR: $0,8 \mu\text{m}$, A: 2000

d. Señale con qué filtro se obtiene mayor resolución de imagen en un MO: rojo, azul o amarillo. Justifique su respuesta.

e. Mencione los pasos de la técnica de rutina y explique brevemente el fundamento de cada uno de éstos. Realice un cuadro comparativo sobre el procesamiento de una muestra para MO y MET.

f. Explique el fundamento de la técnica de H&E. Defina los conceptos de acidofilia y basofilia.

g. Mencione con qué técnica histoquímica identificaría cada uno de los siguientes componentes tisulares. Mencione y justifique si en alguno de estos casos debe realizarse algún cambio específico en los pasos de la técnica histológica:

- Triglicéridos de un adipocito,
- Glicoproteínas de secreción de una célula mucosa,
- Peroxidasa de los peroxisomas de un macrófago,
- ADN de células que proliferan en cultivo,
- Molécula de colágeno de la matriz extracelular.

h. Complete el siguiente cuadro:

Tinción	Fundamento de la técnica	Utilidad
H&E		
Tricrómico de Mallory		
PAS		
Sudán		
Inmunohistoquímica		
Tinción vital		
Técnica de actividad enzimática		

i. Complete el siguiente cuadro:

Características	MO	MET
Radiación empleada		
Fuente de radiación		
Longitud de onda		
Medio presente en el tubo		
Lentes		
Tipo de imagen		
Límite de resolución		
Aumento		
Tamaño del campo observado		
Profundidad de foco		
Nivel de información morfológica obtenida		
Fijador empleado		
Sustancia de inclusión empleada		
Espesor del corte		
Instrumento de corte empleado		
Obtención de contraste (colorantes empleados)		
Ventajas		
Desventajas		

TPH2 - TRABAJO PRÁCTICO Nº 2: TEJIDO EPITELIAL DE REVESTIMIENTO Y GLANDULAR EXÓCRINO

I. TEJIDO EPITELIAL DE REVESTIMIENTO

OBJETIVOS DEL TP

- Reconocer los componentes de un tejido en un preparado histológico de rutina.
- Reconocer la estructura morfológica de los distintos tipos de tejido epitelial de revestimiento: morfología nuclear, número de capas.
- Comprender el concepto de polaridad celular. Identificar el dominio apical, lateral y basal y las especializaciones de dominio apical en los preparados.
- Identificar la membrana basal mediante tinciones especiales. Describir sus componentes. Identificar el tejido conectivo subyacente.

Preparados para MO

Epitelios simples:

1) Preparado de riñón - H&E:

- **Epitelio plano simple:** capa parietal cápsula de Bowman. Reconocer una única capa de células epiteliales en contacto con una luz; identificar los núcleos aplanados en corte longitudinal o esféricos en corte transversal.
- **Epitelio cúbico simple:** túbulo contorneado distal y túbulo colector. Reconocer una única capa de células epiteliales en contacto con una luz, con núcleos esféricos en corte transversal y longitudinal.
- **Epitelio cúbico simple con ribete en cepillo:** túbulo contorneado proximal. Reconocer una única capa de células epiteliales en contacto con una luz, con núcleos esféricos en corte transversal y longitudinal. Identificar las especializaciones de membrana apical.

2) Preparado de intestino delgado - H&E:

- **Epitelio cilíndrico simple con chapa estriada y células caliciformes:** epitelio luminal del órgano. Reconocer una única capa de células en contacto con la luz y con núcleos ovalados en corte longitudinal. Identificar la chapa estriada intensamente acidófila y refringente (microvellosidades). Identificar las células caliciformes con su citoplasma apical con tinción negativa.

3) Preparado fijo de yeyuno-íleon - H&E con PAS:

- **Membrana basal, glucocálix de especializaciones de membrana apical, célula caliciforme.** Reconocer las diferentes estructuras histológicas en las cuales predominan los hidratos de carbono (PAS+). Reconocer la membrana basal y el glucocálix de la membrana apical del epitelio cilíndrico simple. Reconocer el citoplasma apical de las células caliciformes.

4) Preparado de tráquea - H&E:

- **Epitelio cilíndrico pseudoestratificado ciliado con células caliciformes:** epitelio luminal del órgano. Observar dos tipos de morfología nuclear: núcleos esféricos basales y núcleos ovalados más apicales. Reconocer las cilias. Reconocer las células caliciformes.

Epitelios estratificados:

5) Preparado de piel - H&E:

- **Epitelio plano estratificado queratinizado:** epitelio superficial del órgano. Observar como va cambiando la morfología de los núcleos en los distintos estratos e identificar las células planas en el estrato más superficial. Identificar la queratina acidófila en la superficie luminal.

6) Preparado de vejiga - H&E:

- **Epitelio polimorfo, de transición o urotelio:** epitelio luminal del órgano. Reconocer los distintos estratos de células y la morfología variable de las células más superficiales de acuerdo al grado de distensión del órgano.

Fotomicrografías de MET

1) Reconocer en una fotomicrografía de epitelio de revestimiento la ultraestructura de:

- los distintos tipos de especializaciones de membrana de dominio lateral (zónula ocludens o uniones herméticas, zónula adherens o uniones de anclaje, mácula adherens o desmosomas), basal (hemidesmosomas; placas de adhesión);
- los distintos tipos de especialización de membrana apical (microvellosidades y cilias) en cortes longitudinal y transversal;
- el glucocálix;
- la membrana basal.

EJERCICIOS

- a. Describa cuáles características del tejido epitelial de revestimiento puedan ser observadas al MO y cuáles al MET.
- b. Explique el concepto de polaridad celular. Describa los componentes de los dominios apical, basolateral.
- c. Describa los tipos de uniones celulares según su localización en los diferentes dominios, componentes proteicos y función. Relacione la presencia de dichas uniones con su función en el órgano donde predominen.
- d. Explique qué especialización de membrana participa en la determinación de los dominios de membrana apical y basolateral de un epitelio cilíndrico.
- e. Describa y esquematice la estructura de una microvellosidad y de una cilia.
- f. ¿Con qué tipo de microscopio es posible observar la membrana basal y la lámina basal? ¿Con qué técnicas de tinción especiales es posible evidenciar la membrana basal? Fundamente su respuesta.

g. Complete el siguiente cuadro:

Clasificación epitelio	Dibujo al MO	Ejemplos y localización	Función
Simple plano			
Simple cubico			
Simple cilíndrico			
Pseudoestratificado			
Estratificado plano			
Estratificado cúbico			
Polimorfo			

II. TEJIDO EPITELIAL GLANDULAR EXÓCRINO

OBJETIVOS DEL TP

- Reconocer la estructura morfológica de los distintos tipos de glándulas exócrinas: diferenciar conducto excretor y adenómero, morfología del adenómero. Interpretar si la glándula posee adenómero no ramificado o ramificada y si el conducto excretor es simple o compuesto.
- Reconocer la estructura y la ultraestructura de los diferentes tipos de células glandulares. Correlacionar las afinidades tintoriales y la ultraestructura con sus funciones y productos de secreción.

Preparado para MO.

1) Preparado de intestino delgado - H&E:

- **Glándula tubular simple:** criptade Lieberkühn. Reconocer la glándula con morfología tubular formada principalmente por células cilíndricas y células caliciformes.

2) Preparado de piel - H&E:

- **Glándula tubuloglomerular:** glándula sudorípara.
Reconocer en la dermis múltiples cortes de túbulos en distintas incidencias (principalmente transversal). Identificar adenómero y conducto excretor: diferenciarlos según, capas del epitelio, tamaño de la luz y tinción del citoplasma.
- **Glándula sacular:** glándula sebácea.
Reconocer en relación a un folículo piloso una estructura de morfología sacular la cual corresponde al adenómero. Diferenciar: a) células basales más pequeñas, b) células citoplasma de aspecto esponjoso con tinción negativa (inclusiones lipídicas) y núcleo central y, c) hacia el centro de la glándula, células con tinción negativa y núcleo picnótico. Reconocer las ramificaciones del adenómero y el conducto excretor pequeño.

3) Preparado de glándula submaxilar - H&E:

- **Glándula túbuloacinar compuesta de secreción mucosa, serosa y mixta.**
Identificar los tres tipos de adenómeros de morfología acinar (acinos mucosos, serosos y mixtos) según la morfología de sus células y la tinción de su producto de secreción. Identificar los diferentes conductos excretores en base a su localización y tamaño (intralobulillares –intercalares y estriados- e interlobulillares).

Fotomicrografía de MET

- 1) Reconocer la ultraestructura de una célula caliciforme.
- 2) Reconocer la ultraestructura de una célula de secreción sebácea, de secreción mucosa y de secreción serosa.

EJERCICIOS

- a. Realizar un cuadro sinóptico teniendo en cuenta los criterios de clasificación de las glándulas exócrinas (cantidad de células, número y morfología del adenómero, conductos excretores).
- b. Realizar un esquema al MO de: i) un acino seroso, ii) un acino mucoso, iii) una glándula sebácea, iv) una glándula sudorípara, v) una glándula tubular.
- c. Relacionar la afinidad tintorial de una célula de acino seroso con su actividad biosintética.
- d. Relacionar la afinidad tintorial de un conducto excretor estriado de una glándula submaxilar y de un conducto excretor de una glándula sudorípara con la función de estas células.
- e. Explique los diferentes mecanismos de secreción.

TPH3 - TRABAJO PRÁCTICO Nº 3: TEJIDO CONECTIVO NO ESPECIALIZADO y TEJIDO ADIPOSEO

I. TEJIDO CONECTIVO NO ESPECIALIZADO

OBJETIVOS DEL TP

- Describir y reconocer las características morfológicas del Tejido Conectivo No Especializado (TCNE).
- Reconocer los componentes celulares y de la matriz extracelular (fibras de colágenos, reticulares y elásticas). Observar la abundancia relativa de cada uno de estos componentes en cada tipo de TCNE.
- Clasificar los distintos tipos del TCNE.
- Entender la organización estructural de los distintos tipos de TCNE según sus componentes predominantes. Correlacionar su morfología estructural con su función y localización.

Preparados para MO

- 1) Preparado de piel - H&E:
 - **TC colágeno laxo (TCCL):** dermis papilar.
 - **TC colágeno denso no modelado (TCCDNM):** dermis reticular.
Diferenciar el TCCL del TCCDNM en base a la proporción y organización de las fibras de colágeno y en base a la densidad celular. Diferenciar fibrocito y fibroblasto en base a su morfología nuclear y grado de compactación de la cromatina.

2) Preparado de ojo - H&E:

- **TC colágeno denso modelado laminar (TCCDML):** estroma de la córnea.

Observar el predominio de la matriz extracelular, la disposición ordenada de los componentes fibrilares y los núcleos de cromatina densa de los queratocitos en distintas incidencias de corte. Diferenciar el TCCDNM del TCCDML.

3) Preparado de tendón - H&E:

- **TC colágeno denso modelado tendinoso (TCCDMT)**

Observar el predominio de la matriz extracelular, la disposición ordenada de los componentes fibrilares y la disposición ordenada de los núcleos de los tendinocitos en corte longitudinal. Diferenciar el TCCDNM del TCCDMT.

4) Preparado fijo de aorta - H&E:

- **Fibras elásticas:** túnica media del vaso.

Identificar la luz del órgano tubular y el epitelio plano simple (endotelio) que lo recubre. Por debajo de este epitelio reconocer la túnica media y observar las láminas de fibras elásticas festoneadas entre los núcleos de músculo liso. Para una mejor apreciación de las láminas elásticas cerrar levemente el diafragma y mover el condensador, así las fibras se verán refringentes.

5) Preparado de aorta - Resorcina-fucsina:

- **Fibras elásticas:** túnica media del vaso.

Identificar las láminas de fibras elásticas.

6) Preparado de pulmón - Resorcina-fucsina:

- **TC elástico:** tabique alveolar.

Identificar con seco fuerte el tejido conectivo elástico en los tabiques alveolares evidenciado por las fibras elásticas de color violeta.

7) Preparado fijo de riñón o hígado - Impregnación argéntica:

- **TC reticular:** estroma del órgano.

Observar la morfología y disposición de las fibras reticulares formando una red entre los hepatocitos o los túbulos renales.

8) Preparado de cordón umbilical - H&E:

- **TC mucoso:** estroma del cordón umbilical.

Observar el tejido entre los grandes vasos. Identificar las células mesenquimáticas con sus prolongaciones citoplasmáticas (más acidófilas que la matriz extracelular). Observar la abundancia relativa de sustancia fundamental y fibras colágenas. Comparar la matriz extracelular del TCCL con la del TC mucoso en base a la abundancia de sustancia fundamental y fibras colágenas.

Fotomicrografías de MET

1) Observar la ultraestructura de las fibras de colágeno.

2) Reconocer las diferencias ultraestructurales entre un fibroblasto y un fibrocito.

APOYO TEÓRICO

Técnicas para visualizar las distintas fibras que conforman al tejido conectivoFibras colágenas

- **Eosina**
- **Tricrómico de Masson:** utiliza solución de Bouin, hematoxilina férrica, escarlata de Biebrich, fucsina ácida, ácido fosfotungstico o fosfomolibdico, verde luz o azul de anilina y solución diferenciadora acuosa de ácido acético glacial. Resultados: núcleos (azul negruzco), colágeno (azul o verde), citoplasmas, queratina, fibras musculares y eritrocitos (rojo)
- **Tricrómico de Mallory:** utiliza fucsina ácida, ácido fosfomolibdico y solución de Mallory (azul de anilina, naranja G, ácido oxálico y agua destilada).
Resultados: núcleos (rojo), citoplasma, eritrocitos, fibras musculares estriadas (naranja rojizo), músculo liso (violáceo) y tejido conectivo (azul claro).
- **Tricrómico de Van Gieson:** utiliza hematoxilina férrica, ácido pícrico y fucsina ácida
Resultados: núcleos (azul negruzco), citoplasma (amarillo) y colágeno (rojo intenso).

Fibras reticulares

- **Retículo de Gomori (impregnación argéntica):** utiliza permanganato potásico, metabisulfito potásico, alumbre férrico, plata amoniaca, formol 10%, hiposulfito sódico. Resultados: fibras reticulares (negro), fibras colágenas (amarillas). Es específica para fibras reticulares e inespecíficamente tiñe también las fibras de colágeno.
- **PAS:** ver TP 1 técnica histológica para su fundamento. Resultados: fibras reticulares (rojo oscuro a magenta)

Fibras elásticas

- **Eosina:** apenas teñidas. Mucha refringencia.
- **Orceína:** utiliza orceína, alcohol etílico 70%, ácido clorhídrico y solución de picro-carmin de índigo. Resultados: fibras elásticas (pardo negruzco), citoplasmas y demás estructuras (verde amarillento)
- **Resorcina-fucsina:** utiliza solución de resorcina fucsina, cloruro férrico, alcohol 95%, ácido clorhídrico. Resultados: fibras elásticas (azul negruzco), núcleos (azul pálido), fibras colágenas (rosa o rojo). Ésta técnica es específica para fibras elásticas e inespecíficamente tiñe fibras colágenas.

EJERCICIOS

- a. Esquematice al MO de una sección de: i) TCCL, ii) TCCDNM, iii) TCCDM laminar, iv) TCCDM tendinoso, v) TC mucoso.
- b. Realice un cuadro sinóptico de los tipos de TCNE, en base a los criterios de clasificación, tinciones especiales para visualizarlos, funciones que cumplen y localización.
- c. Explique los fundamentos de cada una de las técnicas de tinción especiales para visualizar los componentes fibrilares del TC.
- d. Mencione los tipos celulares del TCNE y describa sus funciones.

- e. Realice un esquema ultraestructural de un fibrocito y un fibroblasto. Relacione su ultraestructura con su actividad biosintética.
- f. Realice un esquema ultraestructural de una fibra de colágeno. Enumere los pasos de la síntesis de colágeno.
- g. Explique cómo participa el citoesqueleto en la migración de un fibroblasto hacia una zona de cicatrización.

II. TEJIDO CONECTIVO ESPECIALIZADO: TEJIDO ADIPOSO

OBJETIVOS DEL TP

- Explicar y reconocer las diferencias entre el TCNE y el TC especializado.
- Reconocer al tejido adiposo como un TC especializado.
- Describir las técnicas especiales de procesamiento y tinción para poder visualizar los componentes lipídicos.

Preparados para MO

1) Preparado de piel - H&E:

- **Tejido adiposo unilocular:** hipodermis.

Identificar el epitelio, el TC no especializado subyacente y el tejido adiposo. Observar a seco fuerte los adipocitos con morfología poliédrica, con escaso citoplasma coloreado desplazado por un espacio negativo central correspondiente a una gran inclusión lipídica que fue eliminada con la técnica de rutina. Observar el núcleo también desplazado por la inclusión lipídica.

2) Fotomicrografía de MET

Reconocer las diferencias ultraestructurales de un adipocito unilocular y multilocular. Observar la ausencia de membrana alrededor de las inclusiones lipídicas

EJERCICIOS

- a) Realice un esquema ultraestructural de un adipocito unilocular y uno multilocular.
- b) Explique por qué no se pueden observar los componentes lipídicos de un tejido con la técnica de rutina. ¿Qué procesamiento y técnicas de tinción especiales habría que utilizar?

d) Complete el siguiente cuadro comparativo:

	Tejido adiposo unilocular	Tejido adiposo multilocular
Esquema de un adipocito al MO		
Densidad de mitocondrias		
Vascularización		
Localización		
Función		

3) Explique qué diferencia molecular presentan las mitocondrias de las células adiposas pardas para producir calor.

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 pericondrio condrógeno. 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 extraxcelular del cartílago hialino y del fibrocartilago.

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 axiles y coroneles, matriz territorial y extraterritorial.
- c. Realice un esquema estructural de una sección de fibrocartilago.
- 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.

2) 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 axiales.
 - 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

Diferenciar la ultraestructura de un osteoblasto (reconocer abundante RER), un osteocito, y un osteoclasto (reconocer numerosos núcleos, abundantes mitocondrias y Golgi desarrollado, vacuolas absortivas, 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. Decalcifica 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

- a. Explique el fundamento del procesamiento del hueso por descalcificación y explique su utilidad.
- b. 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.
- c. 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.
- d. Explique 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		

- g. 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.

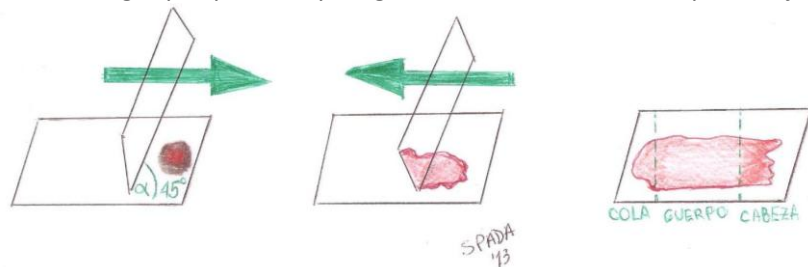
Fotomicrografía de MET

- 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							

- 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.
- 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).

- 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 cercanos 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	Eritroblasto 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.	Basofilia grisaceo- 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, gránulos azurófilos inespecíficos.	Rosa-azulado, gránulos específicos y menor cantidad de gránulos inespecíficos.	Abundante, rosado, escasos gránulos inespecíficos y abundantes gránulos neutrófilos, eosinófilos o basófilos según 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 exéntrico, 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	12 μm	7-10 μm	5-8 μm
morfología nuclear	Central o algo exéntrico, redondo, 1-2 nucléolos	indentado, no se obs. nucléolos.	indentado, no se obs. nucléolos.
citoplasma	Basófilo, 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.

TPH5 - TRABAJO PRÁCTICO Nº 5: TEJIDO MUSCULAR Y TEJIDO NERVIOSO

I. TEJIDO MUSCULAR

OBJETIVOS DEL TP

- Reconocer los componentes del tejido muscular.
- Diagnosticar el tejido muscular al MO.
- Establecer el diagnóstico diferencial entre los distintos tipos de tejidos musculares en base a sus características histológicas.
- Comprender la ultraestructura de un sarcómero y de un disco intercalar.

Preparados para MO

1) Preparado de lengua - H&E:

- **Tejido muscular estriado esquelético:** fascículos musculares del órgano.

Identificar fibras musculares en distintas incidencias de corte (corte longitudinal y transversal) y diferenciarlas del TC circundante. Diferenciar los núcleos de fibrocitos del TC que rodea a las fibras musculares (correspondiente al endomisio y perimisio) de los núcleos de la fibra muscular. En un corte longitudinal de la fibra muscular observar la morfología celular y la ubicación periférica de los núcleos, reconocer las estriaciones transversales (cerrar levemente el diafragma y mover el condensador) observando la banda I clara y banda A oscura. En un corte transversal de una fibra muscular observar la disposición periférica de sus núcleos.

2) Preparado de corazón - H&E:

▪ **Tejido muscular estriado cardíaco:** miocardio.

Identificar fibras musculares en distintas incidencias de corte. En un corte longitudinal reconocer las estriaciones transversales (cerrar levemente el diafragma y mover el condensador), observar la morfología nuclear y su posición en la fibra muscular, observar el halo de glucógeno perinuclear. Reconocer en un corte transversal de las fibras musculares la posición del núcleo, el halo perinuclear de glucógeno y apreciar el diámetro de la fibra comparado con una fibra muscular estriada esquelética y lisa. Identificar los discos intercalares.

3) Preparado de intestino delgado - H&E:

▪ **Tejido muscular liso:** túnica muscular del órgano.

Identificar fibras musculares en distintas incidencias de corte. En un corte longitudinal reconocer la morfología celular (fusiforme), la morfología nuclear y su ubicación central, la ausencia de estriaciones y de discos intercalares. En un corte transversal reconocer la forma circular de las fibras y el tamaño variable de las mismas dependiendo de la zona de corte en las distintas fibras, y la posición central del núcleo.

Fotomicrografía de MET

- 1) Reconocer la ultraestructura de una fibra muscular estriada esquelética: identificar los componentes del sarcómero (banda I, A y H, línea M y Z) y tríadas. Reconocer la ultraestructura de una unión neuromuscular.
- 2) Reconocer la ultraestructura de una fibra muscular estriada cardíaca: identificar disco intercalar (diferenciar fascias adherens, desmosomas y uniones nexos); sarcómero y díadas.
- 3) Reconocer la ultraestructura de una fibra muscular lisa: identificar filamentos, cuerpos densos y uniones nexos.

EJERCICIOS

- a. Realizar un dibujo de la estructura de los tres tipos de fibras musculares en cortes longitudinal y transversal.
- b. Realizar un esquema ultraestructural de un sarcómero. Indicando sus componentes.
- c. Complete el siguiente cuadro comparativo:

	Músculo estriado esquelético	Músculo estriado cardíaco	Músculo liso
Esquema al MO			
Morfología celular			
Morfología nuclear / condensación de cromatina			
Longitud / diámetro celular			
Estriaciones			
Retículo sarcoplasmático			
Uniones intercelulares			
Características específicas			
Localización			
Función			

- d. Explique brevemente los procesos de contracción en el músculo estriado esquelético y músculo liso.
- e. Explique qué es una proteína motora y mencione qué proteína de este tipo participa en la contracción muscular.
- f. Explique qué rol cumplen los filamentos intermedios en la fibra muscular. Mencione un ejemplo.
- g. Justifique qué componente del sistema de endomembranas se encuentra altamente desarrollado en el músculo estriado y qué función importante cumple durante la contracción muscular.

II. TEJIDO NERVIOSO

OBJETIVOS DEL TP

- Reconocer los componentes celulares del tejido nervioso: neuronas, células de la glía (astrocitos, oligodendrocitos, microglía, células ependimarias).
- Identificar la sustancia gris (SG) y blanca (SB).
- Describir las características estructurales y ultraestructurales de las neuronas. Describir las diferencias estructurales, ultraestructurales y funcionales entre una dendrita y un axón.
- Conocer la clasificación de las neuronas según su morfología (pseudomonopolares, bipolares, multipolares) y según el largo del axón (Golgi tipo I y II).
- Conocer el fundamento de las técnicas de Nissl (basofilia), Cajal y Golgi. Reconocer los preparados coloreados con estas técnicas.

Preparados para MO

- 1) Preparado de cerebro de rata- Técnica de Nissl:
 - **Tejido nervioso**: Identificar la piamadre (TCCD con fibrocitos) en contacto con la superficie del órgano. Diferenciar SG (periférica) y SB en base a su afinidad tintorial y la disposición de los somas y glía. En SG identificar somas neuronales con corpúsculos de Nissl en su citoplasma, las primeras porciones de sus dendritas y núcleo de cromatina laxa y nucléolo evidente. Identificar distintas morfologías neuronales (estrellada, piramidal, fusiforme). En la SB observar la tinción basófila pálida, identificar las células gliales (astrocitos, oligodendrocitos y microglia) y endoteliales según su morfología nuclear y grado de condensación de la cromatina. Identificar los endimocitos revistiendo los ventrículos y los plexos coroideos.
- 2) Preparado de cerebelo de rata - H&E:
 - **Tejido nervioso**: Identificar la piamadre (TCCL con fibrocitos) en contacto con la superficie del órgano. Diferenciar SG (periférica) de organización laminar y SB en base a su afinidad

tintorial y la disposición de los somas y glía. En SG identificar somas neuronales de las células de Purkinje, de morfología piriforme, con corpúsculos de Nissl en su citoplasma, la primera porción de su dendrita primaria y núcleo de cromatina laxa y nucléolo evidente. Identificar distintas morfologías neuronales. En la SB observar la tinción acidófila, más intensa que en la SG. En la SG y SB identificar las células gliales (astrocitos, oligodendrocitos y microglia) y endoteliales según su morfología nuclear y grado de condensación de la cromatina. Reconocer las diferencias de tinción en el tejido nervioso entre H&E y Nissl.

- 3) Preparado de cerebelo de rata - Impregnación argéntica - Cajal:
 - **Tejido nervioso:** Diferenciar SG y SB en base a la abundancia de neurofibrillas en la SB. Reconocer las neuronas de Purkinje y sus prolongaciones. Reconocer las diferencias tintoriales entre la técnica de Cajal y la de Nissl.
- 4) Preparado fijo de cerebelo - Impregnación argéntica - Golgi:
 - Observar la morfología de una neurona completa, con su soma, árbol dendrítico y axón. Diferenciar axones de dendritas. Observar las células gliales con sus prolongaciones citoplasmáticas.
- 5) Preparado fijo de cerebelo - Oro sublimado de Cajal: técnica especial para astrocitos.
 - Observar astrocitos con sus prolongaciones citoplasmáticas y la pared de los capilares sanguíneos delimitadas por los pies chupadores de los astrocitos.
- 6) Preparado fijo de **Nervio** con H&E:
 - Identificar en un corte transversal de un nervio el TC que rodea (epineuro) un paquete de axones en corte transversal. Dentro del nervio identificar los axones como “puntos” acidófilos correspondiente al citoplasma axonal, rodeados por un anillo negativo correspondiente a la vaina de mielina, y ésta rodeada por TC correspondiente al endoneuro que rodea a los axones con sus vainas. Entre los fascículos de axones evidenciar el TC correspondiente al perineuro.
- 7) Preparado fijo de médula espinal – Técnica de Weigert: técnica especial para mielina.
 - **Axones mielínicos:** identificar la SB periférica y observar cortes transversales y longitudinales de axones con su vaina de mielina teñida de azul oscuro.
- 8) Preparado fijo de médula espinal – Técnica de Klüver Barrera: técnica especial para mielina combinada con basofilia.
 - Identificar somas neuronales y núcleos gliales basófilos. Identificar la vaina de mielina con tinción azul.
- 9) Preparado fijo de nervio – Técnica de tetróxido de ósmio: mielina.
 - **Nervio mielínico:** observar la vaina de mielina con un centro negativo correspondiente al axón.

Fotomicrografía de MET

- 1) Neurona: reconocer el soma neuronal (abundante RER y ribosomas libres, REL, Golgi, mitocondrias) con su núcleo; axones y dendritas (neurofilamentos, neurotúbulos, mitocondrias). Diferenciar segmento inicial de dendritas y axón.

- 2) Reconocer una espina dendrítica.
- 3) Diferenciar los componentes ultraestructurales de un axón mielínico y amielínicos.
- 4) Reconocer en un corte longitudinal de un nervio mielínico: la vaina de mielina, los nódulos de Ranvier, el axón con los neurofilamentos y neurotúbulos longitudinales y mitocondrias.
- 5) Reconocer en un corte transversal un axón mielínico. Señalar el axón, las líneas densas (fusión de cara citosólica de las membranas plasmáticas) e intraperiódicas (fusión de la cara extracelular de las membranas plasmáticas) y los mesos externo e interno.
- 6) Reconocer los componentes ultraestructurales de una sinapsis química: presinápsis (vesículas sinápticas y membrana presináptica), hendidura sináptica y postsinapsis.

EJERCICIOS

- a. Realice un esquema ultraestructural de una sinapsis química.
- b. Explique las diferencias en el proceso de mielinización en el sistema nervioso periférico y en el sistema nervioso central.
- c. Explique los fundamentos de las técnicas especiales para estudiar el tejido nervioso.
- d. Esquematice la barrera hematoencefálica. Indique sus componentes. Ejemplifique la importancia funcional de la misma.
- e. Explique qué características fisicoquímicas debe tener una droga que penetra y actúa en el SNC.
- f. Explique qué proteínas motoras llevan a cabo el transporte anterógrado y retrógrado de vesículas y organelas a lo largo de los axones.
- g. Explique qué componente del sistema de endomembranas participa en el recambio de membrana en el terminal presináptico.
- h. Justifique en qué etapa del ciclo celular se encuentran las neuronas.

TPH6 - TRABAJO PRÁCTICO Nº 6: SISTEMA CARDIOVASCULAR Y ÓRGANOS LINFÁTICOS

I. SISTEMA CARDIOVASCULAR

OBJETIVOS DEL TP

- Identificar los órganos que componen el sistema cardiovascular
- Reconocer los componentes tisulares del corazón
- Identificar los diferentes tipos de arterias, venas y capilares al MO

Preparados para MO

1) Preparado de **corazón** - H&E:

- Endocardio: endotelio, subendotelio (TCCL/D), subendocardio (TCCL, células de Purkinje);
- Miocardio: músculo estriado cardíaco;
- Epicardio o pericárdio visceral: TCCL, vasos, nervios y tejido adiposo, mesotelio.

2) Preparado fijo corazón - Tricrómico de Mallory.

- Observar la distribución de las fibras de colágeno entre las fibras de músculo estriado. Diferenciar el subendotelio y el subendocardio.

3) Preparado de **aorta y vena cava** - H&E:

Arteria elástica	Intima	endotelio (núcleos transversales), subendotelio (TCCL), membrana elástica interna (gruesa).
	Media	50-70 láminas elásticas gruesas alternado con capas músculo liso corte longitudinal
	Adventicia	TCCL con vasos, nervios y adipocitos.
Vena grande	Intima	endotelio (núcleos longitudinales), subendotelio (TCCL con fibras musculares lisas longitudinales de mayor espesor que la aorta).
	Media	fibras musculares lisas escasas en disposición circular (hasta 10 capas).
	Adventicia	TCCL (muy desarrollada, con abundantes fascículos de fibras musculares lisas longitudinales). <i>No confundir con túnica media!</i> .

4) Preparado de **lengua** - H&E:

Arteria Muscular	Intima	Endotelio (núcleos transversales) Subendotelio (TCCL) Lámina elástica interna (gruesa, festoneada)
	Media	10-40 capas músculo liso
	Adventicia	TCCL
Arteriola	Intima	Endotelio (núcleos transversales) Subendotelio (TCCL escaso) Lámina elástica interna delgada (ausente en pequeño calibre)
	Media	1-10 capas músculo liso
	Adventicia	TCCL (delgada)
Metarteriola	Intima	Endotelio (2-4 núcleos transversales / corte)
	Media	1-2 células músculo liso / corte
	Adventicia	TCCL (escaso)
Capilar	Intima	Endotelio (1-2 núcleo/corte)
Vénula pericítica	Intima	Endotelio (2-10 núcleos longitudinales/corte)
	Media	1-2 pericitos
Vénula muscular	Intima	Endotelio (2-4 núcleos transversales / corte)
	Media	1-2 células músculo liso/corte
	Adventicia	TCCL escaso

Fotomicrografía de MET

- 1) Reconocer la ultraestructura de los distintos tipos de capilares: continuos, fenestrados y discontinuos. Identificar uniones intercelulares, vesículas de pinocitosis, fenestraciones, membrana basal.

EJERCICIOS

a. Completar el siguiente cuadro de diagnóstico diferencial de capilares:

	Capilar continuo	Capilar fenestrado	sinusoide discontinuo	Capilar linfático
Dibujo al MET				
Localización				
Continuidad del endotelio				
Fenestraciones (diámetro)				
Diámetro del lumen				
Membrana basal				
Espacio intercelular				
Uniones intercelulares				
Pericitos				

		Arteria elástica	Arteria muscular	Arteriola	Meta-arteriola	Vénula pericitica	Vénula muscular	Vena	Grandes venas
Túnica íntima	Diámetro	0,5 - 3cm	200µm - 1cm	20µm - 200µm	10µm - 20 µm	10 - 50µm	50 – 200µm	200µm – 1cm	1cm
	Endotelio	Continuo	Continuo	Continuo	Continuo 2-4 núcleos/corte	Continuo	Continuo	Continuo	Continuo
	Sub endotelio	TC + músculo liso longitudinal	TC + músculo liso longitudinal en bifurcaciones	TC escaso	Ausente	Ausente	Ausente	TC	TC de espesor considerable
Túnica media	Lámina elástica interna	Presente	Prominente	Delgada, fenestrada en arteriolas de 50 µm, ausente en las pequeñas	Ausente	Ausente	Ausente	Delgada, formada x algunas fibras elásticas	presente
	Capas musculares	Capas de fibras musculares alternadas con láminas elásticas	10 – 40 capas fibras musculares lisas	1 – 10 capas fibras musculares lisas.	1 – 2 fibras musculares lisas	Ausente	1-4 capas fibras musculares lisas	5-10 capas fibras musculares lisas	Más de 10 capas de fibras musculares lisas
	Láminas elásticas	50 – 70 láminas gruesas, concéntricas	Presente en grandes arterias. Ausente en pequeñas.	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
	Lámina elástica externa	No se diferencia.	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Adventicia	TC	TC relativamente delgado en espesor	TC, fibras musculares lisas longitudinales	TC escaso	TC	Pericitos	TC	TC	Abundantes fibras musculares lisas longitudinales y TC
	Vasa vasorum	Adventicia y túnica media externa	Adventicia	Adventicia	Ausente	Ausente	Ausente	Adventicia	Adventicia
	Nervios	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes	Ausentes	Presentes	Presentes	presentes

II. ÓRGANOS LINFÁTICOS

OBJETIVOS DEL TP

- Identificar los órganos que componen el sistema linfático
- Reconocer los componentes tisulares y celulares del timo, ganglio linfático y bazo

Preparados para MO

1) Preparado de **timo** - H&E:

- Reconocer a seco débil la organización del órgano en pseudo-lobulillos y su tinción general. Identificar: cápsula, corteza y médula de cada pseudo-lobulillo. Diferenciar corteza y médula según su tinción, densidad celular y presencia de los corpúsculos de Hassall.
- Identificar las células epitelio-reticulares con sus prolongaciones citoplasmáticas.

2) Preparado de **ganglio linfático** - H&E:

- Identificar la cápsula del órgano
- Reconocer la organización del órgano en corteza y médula.
- Corteza: folículos linfáticos primarios y secundarios, diferenciar citológicamente centro germinativo y casquete linfocitario periférico. Diferenciar paracorteza.
- Médula: cordones y senos medulares.
- Identificar vasos linfáticos subcapsular y trabecular y senos medulares. Identificar las células reticulares.
- Identificar vénulas de endotelio alto

3) Preparado de **bazo**- H&E:

- Reconocer la organización del órgano en cápsula, pulpa roja y pulpa blanca. Observar su tinción general.
- Cápsula: TCCDNM con fibras musculares lisas. Comparar con la cápsula del ganglio linfático.
- Pulpa blanca: reconocer los corpúsculos de Malpighi (arteriola central, vaina linfática periarteriolar, folículo secundario con centro germinativo, zona marginal)
- Pulpa roja: sinusoides esplénicos separados por los cordones esplénicos.

Fotomicrografía de MET

1) Bazo: observar los sinusoides esplénicos en la pulpa roja.

2) Ganglio linfático: observar los senos linfáticos.

EJERCICIOS

Complete el siguiente cuadro de diagnóstico diferencial al MO:

	Ganglio linfático	Bazo	Timo
Esquema topográfico			
Dividido en lobulillos			
Corteza y médula			
Nódulos linfáticos			
Corpúsculo de Hassall			
Pulpa roja y blanca			
Senos linfáticos			
Cel. epitelioreticulares o reticulares			

TPH7 - TRABAJO PRÁCTICO Nº7: APARATO RESPIRATORIO Y APARATO URINARIO

I. APARATO RESPIRATORIO

OBJETIVOS DEL TP

- Identificar los órganos que componen el aparato respiratorio.
- Reconocer los componentes tisulares y celulares que componen cada órgano y estructura.
- Identificar bronquios, bronquíolos y alvéolos.

Preparados para MO

1) Preparado de **Tráquea** - H&E:

- Reconocer a seco débil la organización histológica del órgano.
- Reconocer a seco fuerte todos los tejidos que componen el órgano.

Mucosa	Epitelio cilíndrico pseudoestratificado ciliado con células caliciformes
	Lámina propia: TCCL
Submucosa	TCCL/D con glándulas mixtas submucosas.
Muscular-cartilaginosa	Músculo traqueal: músculo liso longitudinal Cartílago hialino con su pericondrio en forma de herradura
Adventicia	TCCL con vasos, nervios y células adiposas

2) Preparado de **Pulmón** de rata- H&E:

- Identificar a seco débil la organización histológica del órgano: diferentes tipos de conductos aéreos de diversos tamaños rodeados por alvéolos.
- Identificar y realizar el diagnóstico diferencial de los distintos tipos de conductos aéreos: bronquios intrapulmonar, bronquíolos propiamente dichos, bronquíolos terminales y bronquíolos respiratorios. Identificarlos teniendo en cuenta los criterios diagnósticos (diámetro, presencia o no de cartílago, presencia de luz lisa o festoneada, luz continua o discontinua). Luego, a seco fuerte, identificar los distintos conductos aéreos teniendo en cuenta los criterios diagnósticos (epitelio, el espesor de las tunicas que presenten, la presencia de células de Clara).
- Identificar la hoja visceral de la pleura.

Bronquio intrapulmonar (≈ tráquea)	Mucosa: Epitelio cilíndrico pseudoestratificado ciliado con células caliciformes, MB, lámina propia (TCCL)
	Submucosa: TCCL/D con glándulas mixtas submucosas.
	Músculo de Reissenssen, cartílago hialino
	Adventicia
Bronquíolo propiamentedicho (luz festoneada)	Mucosa: Epitelio cilíndrico simple ciliado con pocas células caliciformes, lámina propia (escasa)
	Músculo de Reissenssen y placas de cartílago hialino (sólo en rata)
	Adventicia (poco desarrollada)
Bronquíolo terminal (luz lisa)	Mucosa: epitelio cilíndrico bajo-cúbico simple ciliado con células de Clara, lámina propia (escasa)
	Músculo de Reissenssen

Bronquíolo respiratorio (luz discontinua)	Mucosa: epitelio cubico simple, con menor número de células. de Clara, lámina propia (muy delgada)
	Músculo de Reissenssen (muy delgado)
Conducto alveolar	
Pared alveolar	Epitelio plano simple, capilares sanguíneos y muy escaso TC. Diferenciar neumonocitos tipo I y tipo II

Fotomicrografía de MET

- 1) Observar la ultraestructura del epitelio respiratorio: reconocer los tipos celulares.
- 2) Observar la ultraestructura de las células de Clara y de los neumonocitos tipo II. Reconocer los cuerpos lamelares.
- 3) Observar la ultraestructura de la pared alveolar: reconocer todos sus componentes.
- 4) Observar la ultraestructura de la barrera hemato-alveolar: reconocer sus componentes.

EJERCICIOS

Complete el siguiente cuadro comparativo sobre la organización histológica de los conductos aéreos:

	Tráquea	Bronquio	Bronquíolo ppiamente dicho	Bronquíolo terminal	Bronquíolo respiratorio	Alvéolo
Dibujo estructural al MO						
Diámetro relativo						
Número de conductos por corte						
Luz lisa o festoneada						
Luz continua o discontinua						
Cartílago disposición						
Epitelio						
Tipos celulares						
Cantidad relativa de cel. Ciliadas						
Cantidad relativa de cel. Caliciformes.						
Células de Clara						
Cantidad relativa de músculo liso						
Glándulas						

II. APARATO URINARIO

OBJETIVOS DEL TP

- Identificar los órganos que componen el aparato urinario
- Reconocer los componentes tisulares y celulares que componen cada órgano y estructura

Preparados para MO

1) Preparado de **riñón** - H&E:

- Identificar con seco débil la organización general del órgano: cápsula, corteza y médula.
- Corteza: reconocer los corpúsculo de Malpighi (glomérulos, cápsula de Bowman hoja parietal y visceral, espacio urinario, arteriolas en el polo vascular), túbulo contorneado proximal (TCP) y distal (TCD), y túbulos colectores (TC). Reconocer una mácula densa en el polo vascular.
- Médula: identificar las asas gruesas de Henle (túbulos recto proximal y túbulos recto distal), las asas delgadas de Henle (diferenciarla de los capilares sanguíneos) y los TC. Identificar los rayos medulares.

2) Preparado de **uréter** - H&E:

- Reconocer a seco débil la organización estructural del órgano en túnicas (túnica mucosa, muscular y adventicia).
- A seco fuerte identificar el tipo de epitelio (urotelio o polimorfo).

3) Preparado de **vejiga** - H&E:

- Reconocer a seco débil la organización estructural del órgano en túnicas (túnica mucosa, muscular y serosa).
- A seco fuerte identificar el tipo de epitelio (urotelio o polimorfo).

Fotomicrografía de MET

- 1) Reconocer los componentes ultraestructurales de la barrera de filtración glomerular: espacio capsular, pedicelos de los podocitos, ranura de filtración, lámina rara externa, lámina densa, lámina rara interna, citoplasma de las células endoteliales, fenestraciones del endotelio con diafragma, luz del capilar.
- 2) Reconocer la ultraestructura de un TCP, un TCD, un asa delgada de Henle y un TC: diferenciarlos por presencia de microvellosidades, cantidad y disposición de mitocondrias, vesículas endocíticas.

EJERCICIOS

- a. Realizar un esquema ultraestructural de la barrera de ultrafiltración glomerular.
- b. Realizar un esquema de la nefrona.

- c. Completar el siguiente cuadro comparativo de diagnóstico diferencial al MO de los distintos tipos de túbulos y capilar sanguíneo:

	TCP	Túbulo recto proximal	Asa delgada de Henle	Túbulo recto distal	TCD	Túbulo colector	Capilar sanguíneo
Dibujo al MO							
Localización							
Diámetro							
Tipo de epitelio							
Nº núcleos/corte							
Disposición de los núcleos							
Tinción del citoplasma							
Cantidad relativa de microvellosidades							

TPH8 - TRABAJO PRÁCTICO Nº8: TUBO DIGESTIVO Y GLÁNDULAS ANEXAS I

I. TUBO DIGESTIVO

OBJETIVOS DEL TP

- Identificar los órganos que componen el tubo digestivo
- Reconocer los componentes tisulares y celulares que componen cada órgano y estructura

Preparados para MO

1) Preparado de **esófago** - H&E.

- Identificar a seco débil las tunicas (mucosa, submucosa, muscular y adventicia).
- Identificar a seco fuerte el epitelio plano estratificado no queratinizado, el tejido conectivo por debajo y la muscular de la mucosa (capa longitudinales: paquetes aislados de músculo

liso corte transversal), las glándulas de tipo mucoso en la submucosa, las capas de tejido muscular liso y/o estriado esquelético y la adventicia.

2) Preparado de estómago - H&E

- Identificar a seco débil las cuatro tunicas (mucosa, submucosa, muscular y serosa).
- Identificar a seco fuerte la mucosa (epitelio cilíndrico simple, criptas gástricas y glándulas fúndicas: observar las características morfológicas, tintoriales y de distribución de los distintos tipo celulares); la muscular (observar el espesor) y el mesotelio peritoneal (epitelio plano simple).

3) Preparado de duodeno - H&E

- Identificar a seco débil las cuatro tunicas (mucosa, submucosa, muscular y serosa).
- Identificar a seco fuerte la mucosa (epitelio cilíndrico simple con células caliciformes y chapa estriada), la submucosa (glándulas de Brunner: glándulastubuloalveolares ramificadas), muscular y serosa.

4) Preparado de yeyuno-ileon - H&E

- Identificar a seco débil las cuatro tunicas (mucosa, submucosa, muscular y serosa).
- Identificar a seco fuerte la mucosa (vellosidades intestinales: epitelio cilíndrico simple con células caliciformes y chapa estriada, glándulas de Lieberkhun, lámina propia con músculo de Brucke y vaso linfático quilífero, muscular de la mucosa), submucosa (observar acúmulos linfáticos, plexos nerviosos de Meissner); muscular (plexos nerviosos de Auerbach) y serosa.

5) Preparado de intestino grueso - H&E

- Identificar a seco débil las cuatro tunicas (mucosa, submucosa, muscular y serosa).
- Identificar a seco fuerte la mucosa (epitelio cilíndrico simple con chapa estriada y abundantes células caliciformes, lámina propia de TCCL), submucosa (observar los abundantes acúmulos linfáticos), muscular.

6) Preparado fijo de placas de Peyer - H&E

7) Preparado fijo de Cripta de Lieberkhun con células de Paneth - H&E

EJERCICIOS

Completar el siguiente cuadro de diagnóstico diferencial al MO:

Órgano	ESÓFAGO		ESTÓMAGO			INTESTINO DELGADO			INTESTINO GRUESO
	superior	inferior	cardias	fundus	píloro	duodeno	yeyuno	íleon	colon
Esquema topográfico									
Función									
Epitelio									
Lámina propia									
Muscular de la mucosa									
Submucosa									
Muscular									
Adventicia/serosa									

II. GLÁNDULAS ANEXAS I

OBJETIVOS DEL TP

Reconocer los componentes tisulares y celulares que componen cada órgano y estructura

Preparados para MO

1) Preparado de **glándula salival submaxilar** - H&E:

- Identificar a seco débil la estructura histológica de la glándula: lobulillos y conductos interlobulillares. Observar la proporción relativa de acinos serosos/mucosos.
- Identificar a seco fuerte: acinos serosos, mucosos y mixtos; conductos intercalares, intralobulillares e interlobulillares.

2) Preparado de **vesícula biliar** - H&E

- Identificar a seco débil la organización del órgano en túnica mucosa (epitelio cilíndrico alto simple y lámina propia), muscular, adventicia o serosa (peritoneo visceral). (Ausencia de muscular de la mucosa y submucosa)
- Identificar a seco fuerte el epitelio de revestimiento.

Fotomicrografía de MET

- 1) **Glándula salival:** reconocer la ultraestructura de un acino seroso (identificar en la región basal de la célula serosa un RER y Golgi muy desarrollado y ribosomas libres y en la región apical los gránulos de zimógeno electrondenso), mucoso (identificar en la región apical de la célula mucosa Golgi bien desarrollado y gránulos de mucinógeno apicales) y mixtos. Reconocer un conducto estriado o intralobulillar (reconocer las mitocondrias basales en disposición perpendicular a la MB)

EJERCICIOS

- a. Realizar un cuadro comparativo con las principales características de cada órgano (epitelio, células, glándulas, estructuras, etc.) que le permita hacer un diagnóstico diferencial al MO.
- b. Realizar un esquema de una vellosidad intestinal señalando los tejidos que la componen

TPH9 - TRABAJO PRÁCTICO Nº9: GLÁNDULAS ANEXAS DEL TUBO DIGESTIVO II Y SISTEMA ENDÓCRINO**I. GLÁNDULAS ANEXAS DEL TUBO DIGESTIVO II****OBJETIVOS DEL TP**

- Reconocer los componentes tisulares y celulares que componen cada órgano y estructura

Preparados para MO**1) Preparado de hígado- H&E**

- Reconocer a seco débil la organización estructural del órgano: cápsula, lobulillos hepáticos delimitados por TC, vena centrolobulillar y los espacios porta con sus componentes.
- Reconocer a seco fuerte la cápsula de Glisson (TCCD)
- Reconocer a seco fuerte las trabéculas de hepatocitos y entre éstos, los sinusoides que desembocan en la vena centrolobulillar. Observar la morfología y las características tintoriales de un hepatocito. Reconocer los espacios porta o de Kiernan y sus componentes: vénula (rama de la vena porta), arteriola (rama de la arteria hepática) y conducto biliar.

2) Preparado de páncreas- H&E

- Reconocer a seco débil la organización estructural del órgano (acinos pancreáticos, conductos excretores e islotes de Langerhans).
- Reconocer a seco fuerte la porción exócrina: identificar los acinos de tipo seroso (observar su tinción), las células centro acinares y los conductos excretores rodeados de TC.
- Reconocer a seco fuerte la porción endócrina: islotes de Langerhans formado por cordones celulares anastomosados entre sí y capilares sinusoides.

II. SISTEMA ENDÓCRINO**OBJETIVOS DEL TP**

- Identificar los órganos que componen el sistema endócrino
- Reconocer los componentes tisulares y celulares que componen cada órgano y estructura

Preparados para MO**1) Preparado de hipófisis - Tricrómico de Mallory**

- Identificar a seco débil la adenohipófisis (pars distalis, pars intermedia y pars tuberalis) y la neurohipófisis (pars nervosa) y diferenciarlas según su coloración y características estructurales.
- Adenohipófisis: identificar a seco fuerte las células cromófilas “basófilas” y “acidófilas” y cromóforas. Reconocer cordones celulares con disposición de tipo acinar, el TC y los capilares sinusoides que se dispone entre estos cordones.
- Pars intermedia: reconocer las células basófilas y vesículas con contenido coloide (Quistes de Rathke).
- Neurohipófisis: reconocer a seco fuerte el aspecto fibroso y las escasas células. Identificar los pituiticos (forma fusiforme y cromatina relativamente laxa) y los cuerpos de Herring.

2) Preparado de **tiróides**- H&E

- Identificar a seco débil la estructura de la glándula: reconocer los folículos tiroideos revestidos por una capa de células foliculares.
- Identificar a seco fuerte el epitelio glandular plano-cúbico-cilíndrico simple (dependiendo del grado de actividad de la glándula) que contiene el coloide tiroideo (contenido amorfo, homogéneo y eosinófilo), los delgados tabiques de TCCL (TC parafolicular) con gran cantidad de vasos.
- Si se observa, reconocer las células parafoliculares (citoplasma claro, núcleo central) dispuestas aisladas o en grupos entre las células foliculares, dentro de la membrana basal pero sin contactar con la luz.

3) Preparado de **paratiroides** - H&E

- Reconocer a seco débil un parénquima glandular dispuesto en cordones anastomosados y capilares sanguíneos.
- Reconocer a seco fuerte las células principales (núcleo central esférico y citoplasma eosinófilo claro) y las células oxífilas (citoplasma eosinófilo).

4) Preparado de **glándula suprarrenal** - H&E

- Reconocer a seco débil la organización estructural de la glándula: identificar cápsula, corteza y médula. Observar las afinidades tintoriales de corteza y médula.
- Reconocer a seco fuerte la cápsula: TCCD con nervios y vasos que envía tabiques de TC hacia el interior de la glándula.
- Reconocer a seco fuerte las diferentes regiones que forman la corteza:
 - Corteza glomerular: observar células pequeñas agrupadas en forma de glomérulos, citoplasma ligeramente acidófilo, núcleo central de cromatina grumosa.
 - Corteza fascicular: observar cordones radiales celulares separados por sinusoides. Identificar células con citoplasma “vacuolado” (espongiocitos).
 - Corteza reticular: observar las pequeñas células acidófilas dispuestas en forma de red.
- Reconocer a seco fuerte la médula (ligeramente basófila): observar células poliédricas con citoplasma basófilo y núcleo grande y vesiculoso (células cromafines).

EJERCICIOS

- a. Realice un dibujo al MO de un lobulillo hepático con la triada portal
- b. Realice un dibujo al MO de un acino pancreático con la célula centroacinar, y un conducto intercalar e interlobulillar.

- c. Realice un esquema topográfico de la hipófisis. Realice un detalle al MO de una sección de la adenohipófisis y de la neurohipófisis.
- d. Realice un esquema topográfico de una glándula suprarrenal. Realice un detalle al MO de una sección de la corteza glomerular, fascicular y reticular y de la médula.
- e. Realice un detalle al MO de un folículo tiroideo.

TPH10 - TRABAJO PRÁCTICO Nº10: APARATO GENITAL FEMENINO

OBJETIVOS DEL TP

- Identificar los órganos que componen el aparato genital femenino
Reconocer los componentes tisulares y celulares que componen cada órgano y estructura

Preparados para MO

- 1) Preparado de **ovario** de gato- H&E:
 - Reconocer a seco débil la organización estructural: cápsula (epitelio cúbico simple), corteza (presencia de folículos ováricos), médula (TCCL + vasos sanguíneos), hilio.
 - Reconocer a seco fuerte:
 - Folículo primordial: oocito + MB + capa unilaminar de células foliculares planas.
 - Folículo primario: oocito + membrana pelúcida + una o más capas de células de la granulosa cúbicas.
 - Folículo secundariopreantral: oocito + membrana pelúcida + varias capas de células de la granulosa + antro en formación + teca interna + teca externa.
 - Folículo secundarioantral: oocito + membrana pelúcida + células de la granulosa organizadas en corona radiata y cúmulo ooforo + varias capas de células de la granulosa + antro completo + teca interna + teca externa.
 - Folículos atrésicos
 - Cuerpo lúteo
- 2) Preparado de **trompa de Falopio** - H&E:
 - Reconocer a seco débil la organización histológica en tunicas: mucosa con pliegues ramificados, muscular y serosa
 - Reconocer en seco fuerte la mucosa (epitelio cilíndrico simple ciliado + TCCL), muscular (capa circular interna y longitudinal externa), serosa.
- 3) Preparado de **útero** humano - H&E:
 - Reconocer a seco débil la organización histológica: endometrio, miometrio. El perimetrio no se observa en estos preparados.
 - Reconocer a seco fuerte el endometrio: epitelio cilíndrico ciliado, glándulas uterinas y lámina propia con TCCL y vasos sanguíneos.
 - Reconocer a seco fuerte el miometrio: músculo liso con TC
- 4) Preparado fijo de **cuello uterino** de humano – H&E:
 - Observar a seco débil la organización histológica: endocérnix, exocérnix
 - Observar a seco fuerte el endocérnix (mucosa con epitelio cilíndrico simple y glándulas cervicales tubuloalveolares) y el exocérnix (mucosa con epitelio plano estratificado).

Observar el TC y músculo liso por debajo del epitelio. Observar los quistes de Naboth y los folículos linfáticos.

- 5) Preparado de **extendido vaginal** de humano- Papanicolaou:
- Reconocer células basales, parabasales, intermedias, cianófilas superficiales y eosinófilas superficiales, elementos no vaginales (eritrocitos, leucocitos, bacilos, mucus).
 - Reconocer si el extendido corresponde a una mujer en edad fértil o menopáusica. Determinar en el caso de extendidos de mujer en edad fértil en qué etapa del ciclo se encuentra.
- 6) Preparado de **glándula mamaria** H&E:
- Glándula en reposo: reconocer las glándulas **túbulo-alveolares ramificadas**, los conductos excretores y las células mioepiteliales. Reconocer los gruesos tabiques interlobulillares de TCCD y el abundante estroma intralobulillar de TCCL
 - Glándula en actividad: establecer el diagnóstico diferencial con la glándula en reposo: observar el aumento en el número de alvéolos (con producto de secreción), el adelgazamiento de los tabiques interlobulillares y del estroma intralobulillar. Reconocer las células mioepiteliales. Reconocer el conducto galactóforo.

Fotomicrografía de MET

- 1) Observar la ultraestructura de los componentes de un folículo secundario.
- 2) Observar la ultraestructura de un cuerpo lúteo. Diferenciar las células tecoluteínicas de las granuloluteínicas.

EJERCICIOS

Complete el siguiente cuadro sobre los distintos folículos ováricos:

Folículo	Primordial	Primario	Secundario	Secundario maduro
Capas de células foliculares				
Morfología cél. foliculares				
Membrana pelúcida				
Tecas				
Líquido folicular				
Cúmulus ooforus				

ANEXO: COLPOCITOLOGÍA

Extendido vaginal: el material debe ser extraído de la pared externa del fondo de saco lateral de la vagina, aspirándolo con una pipeta o arrastrándolo con una espátula. Luego de ser depositado sobre un portaobjeto, es fijado y coloreado. Entre las técnicas de tinción más comunes tenemos la de Shorr y la de Papanicolaou.

Elementos del colpocitograma:

Normales: células vaginales, células cervicales, células de la sangre, gérmenes de la flora vaginal.

Anormales: células inflamatorias, células neoplásicas, tricomonas, hongos, gérmenes patógenos.

Técnica de tinción:

Técnica tinción	Shorr	Papanicolau
Colorante nuclear	Biebrich escarlata	Hematoxilina de Harris
Colorante citoplasmático	Verde rápido / Naranja G	Naranja G / Eosina / Ligthgreen
Células eosinófilas	rojas	Rojo-naranja
Células cianófilas	Verde azulado	Azul
Nucleospicnóticos	Rojo	Púrpura
Núcleos no picnóticos	azul	Azul-violeta
Ventajas	Técnica simple y rápida	excelente detalle nuclear y transparencia
Desventajas	Se observa poco detalle nuclear y citoplasma no transparente. Los eritrocitos se observan retraídos	El contraste entre las células cianófilas y eosinófilas a veces no es nítido.

Tipos celulares de las diferentes capas del epitelio vaginal en un colpocitograma:

Estrato	Basal	Intermedio	Superficial	
Zona	Profunda y parabasal		Profunda	funcional
Dibujo al MO				
Células	Cilíndricas en empalizada, forma redondeada u oval	Forma oval y poligonal	Poliédricas aplanadas, con granulaciones	Poliédricas, grandes y aplanadas
Tamaño (µm)	12 -25	20-30	35-60	35-60
Núcleo	6-8µm, vesiculoso, no picnótico.	6-9µm, comienza a tener características picnóticas	Picnótico	picnótico
Células extendido	Cianófilas profundas	Cianófilas intermedias	Cianófilas superficiales	Eosinófilas superficiales

Fases del ciclo sexual normal y correlación con el colpocitograma

Una vez comenzados los ciclos ovulatorios se destacan en el colpocitograma modificaciones citológicas que pueden ser clasificadas en fases o períodos:

Período	Día del ciclo	Elementos vaginales	Índice picnótico	Elementos no vaginales
menstrual	1-5	Predominan las células cianófilas intermedias. Las células están agrupadas y presentan pliegues.	11-14 %	Eritrocitos y leucocitos. Macrófagos y células endometriales.
Post-menstrual	5-10	Predominan las células cianófilas intermedias, las células están separadas y poco plegadas.	14-23 %	Abundante mucus. Prácticamente desaparecen los eritrocitos y leucocitos.
Pre-ovulatorio	10-13	Predominan las células superficiales. Células aisladas, desaparecen las agrupaciones.	27-47 %	Poco mucus. Ausencia de eritrocitos y leucocitos
ovulatorio	13-15	Predominan las células eosinófilas superficiales. Células planas y bien coloreadas.	47-67 %	Ausencia de elementos (extendido limpio).
Post-ovulatorio	15-17	Disminuyen las células eosinófilas y aumentan las cianófilas superficiales. Pocas intermedias. Hay algunas células plegadas.	55-38 %	Mucus grumoso. Presencia de algunos leucocitos.
luteínico	17-25	Disminuyen aún más las células eosinófilas, predominan las células intermedias, hallándose algunas naviculares. Las células están agrupadas, se observa degeneración celular y reducción de tamaño.	38-15 %	Mucus espeso y abundante. Presencia de algunos leucocitos
Pre-menstrual	25-28	Predominio de células intermedias, algunas naviculares. Pocas células	11-15 %	Abundantes leucocitos. Pueden aparecer algunos

		eosinófilas. Disminuye la agrupación celular.		eritrocitos.
--	--	---	--	--------------

Bibliografía: Leoncini, L.F. Colpocitograma. Ed. Panamericana.

TPH11 - TRABAJO PRÁCTICO Nº11: APARATO GENITAL MASCULINO Y PIEL

I. APARATO GENITAL MASCULINO

OBJETIVOS DEL TP

- Identificar los órganos que componen el aparato genital masculino
- Reconocer los componentes tisulares y celulares que componen cada órgano y estructura

Preparados para MO

- 1) Preparado de **testículo y epidídimo** - H&E + PAS:
 - Reconocer a seco débil la cápsula (túnica albugínea con su túnica vascular), los cortes transversales de los túbulos seminíferos y de los túbulos epididimarios.
 - Túbulo seminífero: reconocer a seco fuerte los componentes celulares del epitelio seminífero estratificado. Identificar las células germinales (espermatogonias A clara y oscura, espermatogonias B, espermatocito I, espermátides tempranas y tardías) y las células de Sertoli, en base a su posición en el epitelio, la morfología y tamaño nuclear, la cromatina. Reconocer la lámina propia donde apoya el epitelio seminífero. Reconocer el intersticio de TC con vasos y células de Leydig.
 - Epidídimo: reconocer a seco fuerte el epitelio pseudoestratificado cilíndrico con células basales bajas y células principales altas con estereocilias, los espermatozoides en su lumen y la capa de músculo liso que rodea al túbulo. Reconocer el intersticio de TCCL y músculo liso rodeando los túbulos.
- 2) Preparado de **conducto deferente** - H&E:
 - Reconocer a seco débil las túnicas mucosa, muscular y adventicia.
 - Reconocer a seco fuerte la mucosa (epitelio cilíndrico pseudoestratificado con estereocilias, lámina propia), músculo liso (MLI, MCM, MLE), adventicia (TCCL con vasos y nervios).
- 3) Preparado de **próstata: glándula tubuloalveolar** - H&E:
 - Reconocer a seco fuerte los alvéolos glandulares con epitelio cúbico a cilíndrico simple, el estroma de TC con fibras musculares lisas.
- 4) Preparado fijo de **vesícula seminal** - H&E
 - Observar a seco débil la mucosa con numerosos pliegues anastomosados, la muscular y la adventicia.
 - Observar a seco fuerte el epitelio pseudoestratificado cilíndrico, lámina propia de TCCL, la muscular y la adventicia.

Fotomicrografía de MET

- 1) Observar la ultraestructura del epitelio seminífero.
- 2) Observar la ultraestructura de un espermatozoide
- 3) Observar la ultraestructura de una célula de Leydig.

EJERCICIOS

Realice un dibujo al MO de una sección del epitelio seminífero con una célula de Sertoli, una espermatogonia A clara, A oscura y B, un espermatocito I, una espermátida temprana y tardía, la MB y el intersticio con una célula de Leydig.

II. PIEL**OBJETIVOS DEL TP**

Reconocer los componentes tisulares y celulares que componen la piel y sus anexos

Preparados para MO**1) Preparado de piel fina - H&E:**

- Identificar a seco débil las capas de la piel: epidermis, dermis e hipodermis.
- Reconocer a seco fuerte la epidermis (epitelio plano estratificado queratinizado) e identificar los diferentes estratos celulares por sus características tintoriales y la morfología de las células que lo componen (estrato basal, espinoso, granuloso y córneo). Identificar células basales, queratinocitos, gránulos de queratohialina, melanina.
- Reconocer a seco fuerte la dermis papilar (TCCL) y la dermis reticular (TCCDNM). Reconocer a seco fuerte las glándulas sudoríparas (diferenciar adenómero y conducto excretor) y sebáceas. Identificar un folículo piloso.

2) Preparado de piel gruesa - H&E:

- Identificar a seco débil las capas de la piel (epidermis, dermis e hipodermis)
- Reconocer a seco fuerte la epidermis (epitelio plano estratificado queratinizado) e identificar los diferentes estratos celulares por sus características tintoriales y la morfología de las células que lo componen (estrato basal, espinoso, granuloso, lúcido y corneo). Identificar células basales, queratinocitos, gránulos de queratohialina. Notar la ausencia de melanina. Observar la diferencia en el espesor del epitelio con la piel fina.
- Reconocer a seco débil la dermis papilar (TCCL) y la dermis reticular (TCCDNM). Reconocer a seco fuerte la presencia de glándulas sudoríparas y notar la ausencia de glándulas sebáceas y folículos pilosos.

Fotomicrografía de MET

- 1) Observar la ultraestructura de un queratinocito en el estrato espinoso: identificar los desmosomas entre las celular.
- 2) Observar la ultraestructura de un queratinocito en el estrato granuloso: identificar los gránulos de queratohialina, los cuerpos laminares y las uniones desmosomas entre las células.
- 3) Observar la ultraestructura de una célula de Merkel.

- 4) Observar la ultraestructura de un melanocito: identificar las prolongaciones citoplasmáticas entre los queratinocitos y los gránulos de melanina.

TPH12 - TRABAJO PRÁCTICO Nº12: SISTEMA NERVIOSO Y ÓRGANOS DE LOS SENTIDOS

I. SISTEMA NERVIOSO

OBJETIVOS DEL TP

- Identificar los órganos que componen el sistema nervioso
Reconocer los componentes tisulares y celulares que componen cada órgano y estructura

Preparados para MO

1) Preparado de **cerebelo** - basofilia:

- Reconocer a seco débil la sustancia gris cubierta por la piamadre (cubierta meníngea) y la sustancia blanca central. Reconocer en la SB los oligodendrocitos, astrocitos y microglía.
- Reconocer a seco fuerte los núcleos de los fibrocitos de la piamadre
- Reconocer a seco fuerte la organización de la corteza cerebelar en tres láminas:
Molecular: neuronas estrelladas, en cesto y células gliales,
Purkinje: neuronas de Purkinje con sus raíces dendríticas primarias,
Granular: neuronas grano, Golgi y células gliales. Reconocer lo espacios libre de somas que corresponderían a la ubicación de un glomérulo cerebeloso.

2) Preparado de **cerebelo** - Cajal:

- Reconocer a seco débil la SG y SB.
- Reconocer a seco fuerte las 3 láminas de la corteza cerebelosa.
Molecular: identificar las dendritas de las neuronas grano (fibras paralelas), el árbol dendrítico de las células de Purkinje
Purkinje: identificar los axones de las células en cesto rodeando el soma de las células de Purkinje,
Granular: reconocer las condensaciones de neurofibrillas como un glomérulo cerebeloso.

3) Preparado de **cerebro** de rata - Técnica de Nissl:

- Reconocer a seco débil la SG y SB, la organización en láminas de la corteza cerebral, los ventrículos y los plexos coroideos.
- Reconocer a seco fuerte los fibrocitos de las meninges.
- Reconocer a seco fuerte la organización de la corteza cerebral en seis láminas:
 - molecular: pocas neuronas pequeñas.
 - granulosa externa: pequeñas neuronas piramidales y estrelladas.
 - piramidal externa: pequeñas neuronas piramidales.
 - granulosa interna: neuronas estrelladas.
 - piramidal interna: neuronas piramidales grandes.
 - de células fusiformes: neuronas fusiformes.
- Reconocer a seco fuerte la sustancia blanca central y las células gliales.
- Reconocer a seco fuerte los ventrículos, el epitelio ependimario que lo recubre y los plexos coroideos con abundantes capilares sanguíneos.

- Realzar un diagnóstico diferencial entre la corteza cerebral y la cerebelosa con basofilia.

4) Preparado de médula espinal - Cajal:

- Reconocer a seco débil la organización histológica: SG y SB, astas anteriores y posteriores, raíces nerviosas anteriores y posteriores, surcos medio anterior y posterior, conducto endimario, cubiertas meníngas y nervios periféricos.
- Reconocer a seco fuerte las motoneuronas, la organización del neuropilo, las incidencias de corte de los axones según su trayectoria en la médula espinal y los nervios periféricos.

5) Preparado de ganglio raquídeo - H&E, Cajal

- Reconocer a seco débil la organización histológica: neuronas agrupadas en la zona periférica y fibras distribuidas en la región central.
- Reconocer a seco fuerte las neuronas pseudomonopolares. Se pueden observar células satélites (anficitos).

6) Preparado de ganglio simpático del SNA - H&E:

- Reconocer a seco débil la organización histológica: neuronas esparcidas homogéneamente en el órgano.
- Reconocer a seco fuerte las neuronas posganglionares con morfología estrellada. Se pueden observar células satélites.

7) Preparado fijo de ganglio parasimpático del SNA - H&E:

- Reconocer a seco débil la organización histológica: neuronas ubicadas periféricamente en el órgano.
- Reconocer a seco fuerte las neuronas posganglionares con morfología estrellada. Se pueden observar células satélites.

EJERCICIOS

a. Realice un dibujo topográfico al MO de la médula espinal.

b. Complete el siguiente cuadro de los componentes de la corteza cerebelar:

Capa	Somas (neuronas y glía)	Dendritas	Axones aferentes	Axones eferentes
Molecular				
Purkinje				
Granulosa				

c. Complete el siguiente esquema de los componentes de la corteza cerebral:

Capa	Somas (Neuronas y glía)	Dendritas	Axones aferentes	Axones eferentes
I				
II				
III				
IV				
V				
VI				

I. OJO

OBJETIVOS DEL TP

- Describir la anatomía del ojo y su organización histológica
- Reconocer los componentes tisulares y celulares que componen cada estructura

Preparados para MO

1) Preparado de **ojo** - H&E:

- Reconocer a seco débil la organización histológica del ojo.
- Reconocer a seco fuerte las distintas estructuras histológicas que lo componen:
 - Córnea: epitelio anterior (plano estratificado no queratinizado), membrana basal de Bowman, lámina propia (TCCDML avascular), membrana basal de Descemet y epitelio posterior (plano simple).
 - Cristalino: lente biconvexa rodeada por una cápsula de fibras colágenas y proteoglicanos. En su cara anterior se observa un epitelio cúbico simple, sus células a nivel del ecuador se transforman en fibras.
 - Esclerótica: TCCDNM vascular con fibroblastos y melanocitos.
 - Iris: tejido conectivo laxo vascularizado tapizado por una doble capa epitelial. Músculo dilatador y esfínter de la pupila.
 - Cuerpos ciliares: constituido por tejido conectivo rico en fibras elásticas y vasos y revestido por una doble capa de células epiteliales
 - Coroides: estructura vascular que se encuentra entre la esclerótica por fuera y la retina por dentro. Constituida por vasos de pequeño calibre y capilares.
 - Retina: formada por varias capas:
 - epitelio pigmentario
 - conos y bastones,
 - limitante externa
 - granulosa externa: somas de conos y bastones,
 - plexiforme externa: sinapsis entre fotorreceptores, bipolares, y amácrinas,

- VI. granulosa interna: somas de células bipolares, horizontales, amácrinas y de Müller
- VII. plexiforme interna: sinapsis entre bipolares, amacrinas y ganglionares
- VIII. ganglionar: somas de células ganglionares
- IX. fibras del nervio óptico: axones de las células ganglionares
- X. limitante interna.

Nervio óptico

Fotomicrografía de MET

Reconocer la ultraestructura de un cono y un bastón.

EJERCICIOS

- a. Realice un esquema topográfico del ojo, indicando sus túnicas.
- b. Realice un esquema al MO de las capas de la retina.

