

CAPITULO VIII

APARATO DE LA AUDICIÓN

§ 1. — OÍDO EXTERNO

El oído externo presenta para su estudio el pabellón y el conducto auditivo externo.

1.º Pabellón. — El pabellón comprende: la piel, el cartilago, los ligamentos y los músculos.

La *piel* tiene la misma estructura que en el resto del tegumento cutáneo. Contiene cierto número de pelos de vello, glándulas sudoríparas y sebáceas.

El *cartilago* pertenece á la variedad elástica ó reticulada.

Los *ligamentos* están formados por tejido fibroso fasciculado.

Los *músculos* están constituídos por fibras estriadas.

2.º Conducto auditivo externo. — Desde el punto de vista histológico el conducto auditivo externo no presenta para el estudio más que un revestimiento cutáneo. Este no ofrece caracteres especiales; en él se encuentran glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas.

Las glándulas sudoríparas presentan, sin embargo, una disposición especial que las ha valido el nombre de *glándulas ceruminosas*. Son muy voluminosas y forman una capa casi continua, siendo idénticas, en cuanto á su forma, á las glándulas sudoríparas ordinarias.

El tubo *secretor*, apelonado en glomérulo, presenta un calibre mucho más considerable que el de las glándulas sudoríparas ordinarias, pues puede llegar á alcanzar 150 μ de diámetro. Su estructura ha sido indicada cuando hemos hecho el estudio de la porción correspondiente de las glándulas sudoríparas; únicamente es necesario añadir que las células secretoras se hallan rellenas de granulaciones amarillentas ó pardas.

El tubo *excretor* mide de 60 á 80 μ de diámetro y no difiere, por lo demás, de la porción correspondiente de las glándulas sudoríparas ordinarias.

§ 2. — OÍDO MEDIO

El oído medio presenta para su estudio la membrana del tímpano y la mucosa.

I. **Membrana del tímpano.** — La membrana del tímpano comprende tres capas, que son, de fuera adentro: la piel, la membrana fibrosa y una capa mucosa que forma parte de la de la caja.

1.º La piel no presenta nada de particular.

2.º La membrana fibrosa, que constituye el armazón de la membrana del tímpano, está formada por dos planos de fibras conjuntivas.

a. Un *plano externo* formado por fibras que convergen desde la circunferencia hacia el centro fijándose en el mango del martillo.

b. Un *plano interno* de fibras circulares, poco aparentes en el centro de la membrana, pero muy desarrolladas en su periferia (1).

3.º La *membrana mucosa* se estudiará más adelante.

II. **Mucosa de la caja del tímpano.** — La mucosa de la caja del tímpano es una membrana delgada de color rosado y adherente al periostio. Tapiza todas las paredes de la caja así como todos los órganos que en ella se contienen (huesecillos, tendones, etc.). Se prolonga por la trompa de Eustaquio y por las células mastoideas. Alcanza el máximo de espesor á nivel de la trompa de Eustaquio y se reduce á su mínimo á nivel de la membrana del tímpano y sobre los huesecillos.

Presenta para su estudio: un epitelio, un dermis y glándulas.

1.º *Epitelio.* — El epitelio varía según la región en que se considere.

a. En la *membrana del tímpano*, en los *huesecillos* y en el *promontorio*, está formado por una *sola hilera de células pavimentosas*, de contornos poligonales, que presentan mucha semejanza con las células endoteliales de las membranas serosas.

b. En el resto de la mucosa, las células son *cilíndricas vibrátiles*. Forman una sola capa, pero entre sus pies se hallan células generatrices ó basales. En algunos puntos se puede observar, entre las células vibrátiles, algunos elementos caliciformes.

2.º *Dermis.* — El dermis presenta algunas papilas á nivel de la porción periférica de la membrana del tímpano. Está formado por fibras conjuntivas muy finas entrecruzadas en todas direcciones y mezcladas con algunas fibras elásticas.

3.º *Glándulas.* — La existencia de glándulas en la mucosa de la caja del tímpano ha sido muy discutida. Los autores más modernos piensan que existen glándulas únicamente en la porción circuntubárica de la mucosa timpánica.

§ 3. — CONFIGURACIÓN DEL OÍDO INTERNO

El oído interno se compone de sacos membranosos y de tubos rellenos de líquido y que pueden dividirse en tres aparatos: el vestíbulo, los conductos semicirculares y el caracol.

1.º **Vestíbulo.** — El vestíbulo se compone de dos dilataciones: el *utrículo* y el *sáculo*.

El utrículo, situado en el laberinto óseo por encima del sáculo, tiene

(1) Además de estas fibras, GUBER ha señalado, en la membrana del tímpano, otras ramificadas que designa con el nombre de *fibras dendríticas*.

la forma de una pequeña vesícula alargada de delante hacia atrás. Cuando se le abre para examinar su superficie interior, se observa en su *porción interna* una pequeña cresta ovoidea, blanca, que mide 3 milímetros de largo por 2 de alto. Es la *mácula acústica* del utrículo á la cual se dirigen los filetes del nervio utricular.

En esta misma cara interior se observan cinco orificios que son los de los conductos semicirculares.

El sáculo, situado debajo del utrículo, es redondeado regularmente y más pequeño. Presenta también una *mácula acústica* que mide 2 milímetros y que recibe los filetes del nervio sacular.

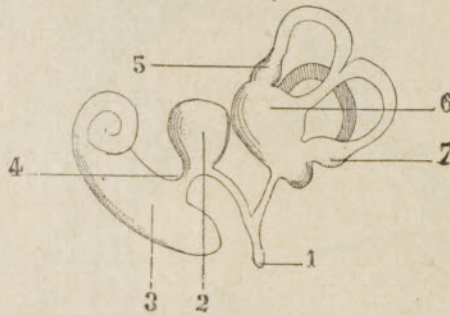


Fig. 410. — Esquema que sirve para demostrar la disposición de los conductos semicirculares

1, acueducto del vestíbulo.—2, sáculo.—3, caracol.—4, conducto de comunicación de HENSEN
5, ampolla de los conductos semicirculares.—6, utrículo

El utrículo y el sáculo se comunican entre sí mediante un conducto conocido con el nombre de *conducto endolinfático*.

2.º Conductos semicirculares. — Los conductos semicirculares son tres: uno horizontal y los otros dos verticales. El primero es el conducto semicircular externo; los otros han recibido el nombre de conducto semicircular superior ó anterior y conducto semicircular posterior.

Presentan dos extremidades, una de las cuales tiene el diámetro del conducto mientras que la otra se halla ensanchada. Esta última constituye la extremidad ampular, y la otra la no ampular.

Estos conductos se abren en el utrículo por cinco orificios: tres de ellos corresponden á las extremidades ampulares, dos únicamente á las no ampulares, pues el conducto semicircular anterior se une al posterior en el momento de abrirse en el sáculo.

Si se abre la porción ampular de los conductos semicirculares, se encuentra una cresta dispuesta perpendicularmente al eje de la ampolla destacando de las partes vecinas por su coloración amarillenta; es la *cresta acústica*.

3.º Aparato del caracol (1). — El caracol está constituido por un tubo

(1) El caracol óseo, en el que se halla colocado el membranoso, se compone de tres partes: el eje ó núcleo del caracol, la lámina de contornos y la lámina espiral.

a) *Eje*. — El eje ocupa la porción central del caracol y tiene la forma de un cono. Está atravesado desde su cima hasta su base por un conducto (*conducto de Rosenthal*), en

membranoso que comienza en el vestíbulo por una extremidad cerrada en fondo de saco. Comunica, á este nivel, con el sáculo por el conductillo de HENSEN, después se introduce en el caracol óseo, sigue las tres vueltas de espira que describe este conducto y termina en fondo de saco.

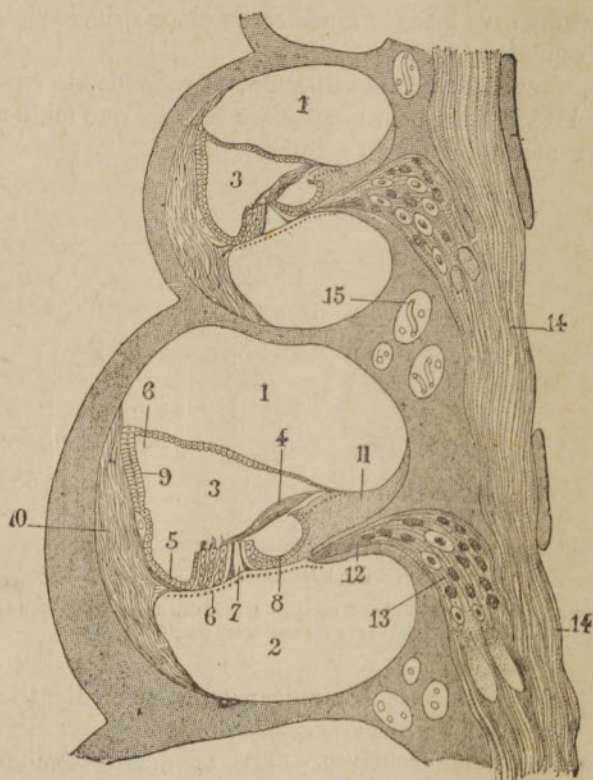


Fig. 411. — Corte del caracol siguiendo el eje de la columnilla (según KLEIN)

1, rampa vestibular.—2, rampa timpánica.—3, conducto coclear.—4, membrana de CORTI.—5, células de CLAUDIUS.—6, ángulo externo del conducto coclear.—7, arco de CORTI.—8, epitelio del surco espiral.—9, epitelio que tapiza el ligamento espiral.—10, ligamento espiral.—11, cresta auditiva.—12, fibras nerviosas.—13, ganglios de ROSENTHAL.—14, fibras nerviosas en el conducto espiral.

En este trayecto está situado en la extremidad de la lámina espiral y se extiende desde la extremidad de esta lámina hasta la pared externa del cara-

torno del que se observan una serie de conductos más estrechos que dibujan una línea espiral conocida con el nombre de *lámina cribosa espiroidea*.

b) *Lámina de contornos*.—La lámina de contornos es un tubo cilíndrico que se arrolla en torno del eje desde la base hasta la cima, describiendo tres vueltas de espira.

c) *Lámina espiral*.—La lámina espiral es una laminilla ósea que se desprende de la pared interna de la lámina de contornos y se extiende en la cavidad del caracol sin llegar á la pared externa. Divide, pues, el canal óseo en dos rampas. De estas dos rampas la que se halla situada hacia atrás de la lámina espiral corresponde por abajo á la ventana oval que conduce á la caja del tímpano; por este motivo se la conoce con el nombre de rampa timpánica. La que está situada hacia delante comunica con el vestíbulo y por tanto se llama rampa vestibular.

col óseo, de tal modo que completa la división comenzada por la lámina espiral é intercepta toda comunicación entre la rampa timpánica y la vestibular.

En un corte transversal, el caracol membranoso, que designaremos con el nombre de *conducto coclear*, tiene una forma triangular y presenta por consiguiente tres paredes: una anterior, otra posterior y otra externa.

1.º *Pared anterior*. — La pared anterior separa el conducto coclear de la rampa vestibular. Está formada por la membrana de REISSNER, y se inserta por dentro en el borde de la lámina espiral y por fuera en la pared externa del caracol óseo.

2.º *Pared externa*. — La pared externa está formada por la pared ósea del conducto coclear reforzada por el periostio. Este último presenta en toda su pared externa, tanto en la rampa timpánica como en la vestibular, un engrosamiento designado con el nombre de *ligamento espiral*. Este ligamento presenta tres crestas separadas por dos surcos:

a. Una *cresta anterior* á la que se fija la membrana de REISSNER.

b. Una *cresta media*, redondeada y blanda, que es el reborde del ligamento espiral.

c. Una *cresta posterior*, que sirve de atadero á la pared posterior del conducto coclear.

El surco que separa el reborde de la cresta posterior se le conoce con el nombre de *surco espiral externo*.

3.º *Pared posterior*. — La pared posterior comprende tres partes que estudiaremos atendiendo á su complejidad cuando nos ocupemos de la estructura del oído interno. Estas tres partes son:

a. Por dentro, la *banda acanalada* que tapiza la cara anterior de la lámina espiral.

b. Por fuera, la *membrana basilar* que se inserta en el borde de la lámina espiral y en la cresta posterior del ligamento espiral.

c. Finalmente, el *aparato del caracol* colocado encima de la membrana basilar.

§ 4. — ESTRUCTURA DEL VESTÍBULO MEMBRANOSO

El sáculo, el utrículo y los conductos semicirculares tienen una estructura idéntica. Están formados por dos capas: una conjuntiva externa y otra epitelial interna.

A. *Capa conjuntiva*. — La capa conjuntiva presenta tres zonas de aspecto diferente: una profunda, otra media y otra superficial.

1. ZONA PROFUNDA. — La zona profunda está formada por *fascículos conjuntivos* entrecruzados en todas direcciones, por *fibras elásticas* y por *células estrelladas* rellenas de *granulaciones pigmentarias*.

2. ZONA MEDIA. — La zona media está constituida por fibras conjuntivas muy finas dispuestas en capas comparables á las del tejido corneal y presentando hileras de núcleos pertenecientes á células conjuntivas situadas con regularidad entre estas capas.

3. ZONA SUPERFICIAL. — La zona superficial, situada por debajo del

epitelio, se halla representada por una *membrana basal hialina*, completamente desprovista de estructura.

B. Capa epitelial. — La capa epitelial difiere según que se la estudie en la porción indiferente del laberinto ó en la superficie de las crestas acústicas.

1. *Porción indiferente.* — La porción indiferente está tapizada por una sola hilera de células epiteliales cuya anchura es mayor que su altura que no alcanza más que 3 ó 4 μ .

2. *Crestas acústicas.* — A nivel de las manchas y de las crestas acústicas, el epitelio se modifica y presenta tres variedades celulares: las *células basales*, las de *sostén* y las *acústicas*.

a. Las *células basales* se hallan situadas inmediatamente por encima de la membrana basal, entre las prolongaciones centrales de las otras dos variedades celulares.

b. Las *células de sostén* están representadas por elementos cilíndricos, que ofrecen hacia la mitad de su altura un grueso núcleo redondeado. Estas células dan nacimiento á dos prolongaciones: una *central*, que pasa entre las células basales, para terminarse á nivel de la membrana basal, y otra *periférica* que termina á nivel de una cutícula que forma en la porción superficial del epitelio una membrana comparable á la limitante interna de la retina.

c. Las *células acústicas* están representadas por elementos fusiformes situados entre las células de sostén. Tienen dos prolongaciones: la periférica atraviesa la cutícula de que hemos hablado anteriormente y termina en una gruesa pestaña; la central se dirige hacia las células basales y se pierde en un plexo nervioso que estudiaremos más adelante.

§ 5.—CONDUCTO COCLEAR

Debemos estudiar la estructura de las cuatro paredes de este conducto.

1.º *PARED ANTERIOR.* — La membrana de REISSNER está formada por laminillas conjuntivas que presentan un revestimiento epitelial distinto según que se considere su cara timpánica ó su cara coclear: el revestimiento de la cara timpánica está constituido por una hilera de células endoteliales; el de la cara coclear está formado por una sola capa de células poligonales bajas.

2.º *PARED EXTERNA.* (Ligamento espiral.) — El ligamento espiral presenta para su estudio dos capas: una profunda y otra superficial.

a. La *capa profunda* presenta la estructura del periostio, del cual no es más que una dependencia.

b. La *capa superficial* es notable por su gran vascularización, lo cual le ha valido el nombre de *banda vascular*. Presenta dos zonas: una conjuntiva y otra epitelial.

La *capa conjuntiva* está formada por fascículos, por fibras elásticas, por células conectivas y por gran número de vasos.

La *capa epitelial* está constituida por una sola hilera de células epite-

liales poligonales bajas que contienen numerosas granulaciones pigmentarias. Este epitelio es notable por una disposición que no se encuentra en ningún otro revestimiento epitelial. Contiene una *red capilar* cuyas ramas forman una red entre las mismas células epiteliales. Por este hecho se ha pensado que este epitelio desempeña el papel de un epitelio glandular y parece destinado á la elaboración de la *endolinfa*.

3.º PARED POSTERIOR. — La pared posterior presenta: la *banda acanalada*, la *membrana basilar* y el *órgano de Corti*.

1.º *Banda acanalada*. — La banda acanalada está situada á nivel del borde externo de la lámina espiral. En un corte transversal tiene la forma de un triángulo, pudiendo, pues, estudiarse en ella tres caras:

La *cara posterior* descansa en la lámina espiral á la que se adhiere íntimamente.

La *cara anterior* presenta numerosas crestas dispuestas en series lineales

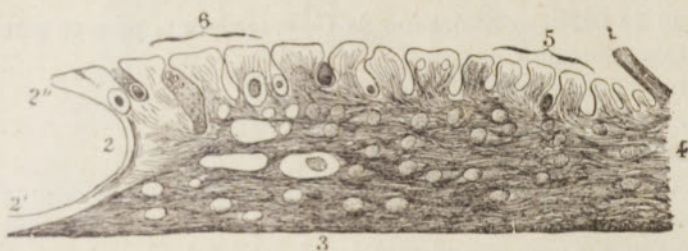


Fig. 412. — Corte transversal de la banda acanalada

1, origen de la membrana de REISSNER. — 2, surco espiral. — 2', labio timpánico. — 2'', labio vestibular
3, 4, fascículos conjuntivos de la banda. — 5, 6, dientes auditivos

les y cuya forma se ha comparado á la de los dientes, y de aquí el nombre de *dientes auditivos* con que se les designa. El número de estos dientes es considerable, pues alcanza á la cifra de cerca de 2,500; su longitud es por término medio de 30 μ .

La *cara externa* es cóncava hacia fuera, de tal modo que forma un canal conocido con el nombre de *surco espiral interno*. Presenta dos labios: el anterior, delgado y cortante, está formado por la primera fila de los dientes auditivos; el posterior se continúa con la membrana basilar. En ella se observa, cerca del punto donde se fusionan las dos membranas, numerosos orificios destinados al paso de las fibras del nervio auditivo.

La banda acanalada está formada por *fascículos conjuntivos*, *fibras elásticas* y *células conectivas*. Está tapizada por *células epiteliales poligonales* bajas que recubren los dientes auditivos y los surcos que los separan. Por debajo del epitelio, y separándole de la porción conjuntiva, se encuentra una membrana hialina refringente desprovista por completo de estructura.

4.º MEMBRANA BASILAR. — La membrana basilar se extiende desde el labio posterior de la banda acanalada hasta la porción posterior del ligamento espiral. Comprende dos partes: una interna, la *zona lisa*, y otra externa, la *zona estriada* ó pectinada.

Zona lisa. — La zona lisa contiene en su espesor un vaso voluminoso (vaso espiral) y sostiene al órgano de CORTI.

Zona estriada. — La zona estriada, más gruesa que la precedente, presenta gran número de estrias transversales, de una finura y regularidad notables. Han sido consideradas por algunos autores como cuerdas paralelas tendidas entre el órgano de CORTI y el ligamento espiral (NUEL).

Considerada desde el punto de vista de su estructura, la membrana basilar presenta: el tejido propio de la membrana y dos capas epiteliales.

1. *Tejido propio.* — El tejido propio está constituido por *fibras recias paralelas entre sí* sumergidas en una *substancia hialina*. Estas fibras corresponden á las cuerdas de NUEL y de HENSEN.

2. *Capas epiteliales.* — Existen en la membrana basilar dos revestimientos epiteliales.

a. El revestimiento epitelial de la cara posterior está formado por una hilera de células endoteliales.

b. El revestimiento de la cara anterior ó coclear se estudiará con el órgano de CORTI.

Organo de Corti. — El órgano de CORTI presenta para su estudio:

1.º Los arcos de CORTI.

2.º Las células epiteliales.

3.º La membrana reticular.

4.º La membrana de CORTI.

1.º **ARCOS DE CORTI.** — Los arcos de CORTI están constituidos por el adosamiento de dos elementos celulares, los pilares de CORTI, que estudiaremos *aisladamente* y en sus *mutuas relaciones*.

Pilares de Corti aislados. — Los pilares de CORTI aislados se componen de una porción media (cuerpo del pilar) y de dos extremidades (la cabeza y la base). Estas diferentes regiones difieren según que se considere el pilar externo ó el interno.

a. *Pilar interno.* — El pilar interno, más corto que el externo, presenta un *cuerpo* aplanado que ofrece el aspecto de una lámina rectangular delgada. La *cabeza*, ensanchada, se presenta en forma de una masa cuboidea excavada hacia fuera por una faceta cóncava destinada á alojar la cabeza del pilar externo; el borde superior de esta cavidad se prolonga hacia fuera en forma de una lámina rectangular, la *placa del pilar interno*. Su base, ensanchada en forma de pie, descansa sobre la porción más interna de la membrana basilar, inmediatamente hacia fuera de la porción perforada de esta membrana. A nivel de su porción externa esta base presenta una pequeña masa de *protoplasma granuloso*, en el centro de la que se halla un *núcleo*.

b. *Pilar externo.* — El pilar externo es más largo que el interno. El *cuerpo* de este pilar es delgado y cilíndrico: la *cabeza* tiene la forma de una masa ovoidea, cuya porción interna, redondeada, se aloja en la concavidad del pilar interno, y de su parte superior se desprende una placa que se dirige hacia fuera: es la *placa del pilar interno*; la *base* descansa sobre la membrana basilar á nivel de donde comienza la zona pectinada. Presenta esta base por dentro una pequeña masa de *protoplasma granuloso* en la que se presenta un *núcleo redondeado*.

Los pilares cuyas diferentes partes acabamos de estudiar, representan elementos celulares modificados para una función especial, y el protoplasma

que se encuentra en su base debe ser considerado como un resto de la célula generatriz que no ha sufrido modificaciones.

Conexiones y relaciones de los pilares. — Los pilares se unen entre sí del siguiente modo: la cabeza de los pilares externos se encaja en la cara cóncava del pilar interno, mientras que la placa de este último se aplica á la apófisis del pilar externo. De esta unión, que se verifica por simple yuxtaposición, resulta la formación de un arco, el *arco de Corti* (1).

Hay, pues, así gran número de arcos que se suceden, sin interrupción,

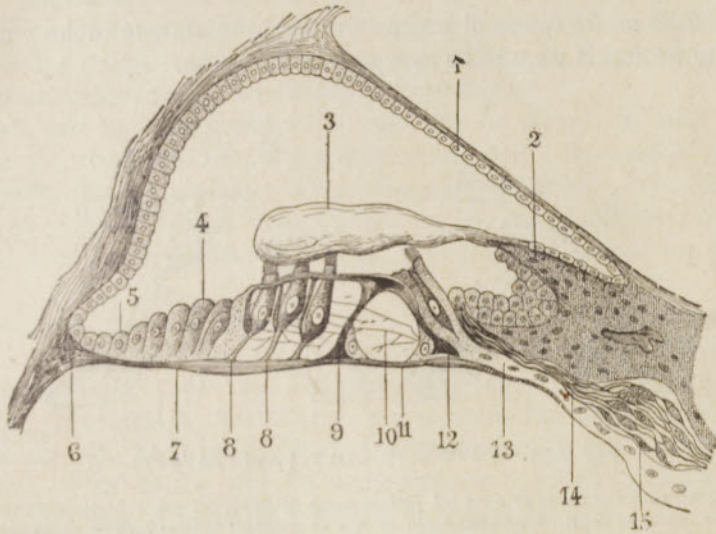


Fig. 413.—Corte del conducto coclear (según LAWDOWSKI) (semiesquemático)

1. membrana de REISSNER. — 2, cresta auditiva. — 3, membrana de CORTI. — 4, células de sostén. — 5, células de CLAUDIUS. — 6, ligamento espiral. — 7, membrana basilar (zona estriada). — 8, 8, células externas. — 9, pilar externo de CORTI. — 10, filetes nerviosos. — 11, membrana basilar (zona pectinada). — 12, pilar interno de CORTI. — 13, membrana basilar (zona perforada). — 14, fibras nerviosas. — 15, ganglio de ROSENTHAL.

en toda la longitud del caracol y que limitan un túnel de forma triangular, el *túnel de Corti*.

Si estudiamos las relaciones de cada arco con el que le precede y con el que le sigue, veremos que estas relaciones difieren según se consideren los pilares externos ó los internos.

a. Los pilares internos están en contacto por su cabeza y por su base. A nivel de su cuerpo están separados por estrechas fisuras.

b. Los pilares externos están igualmente en contacto por su cabeza y por su base. A nivel de sus cuerpos, que son cilíndricos y delgados, se hallan separados por espacios mucho más anchos.

2.º CÉLULAS EPITELIALES. — Las células epiteliales presentan tres distintas variedades: las *células ciliadas*, las *de sostén* y las *de Claudius*.

(1) Los pilares internos son más numerosos que los externos. Existen en el órgano de CORTI 6,000 pilares internos y 4,500 externos.

A. *Células ciliadas*.— Las células ciliadas se consideran como elementos *sensoriales ó auditivos*. Tienen la forma de un dedal invertido (RANVIER) y presentan dos extremidades y una porción media.

La *extremidad libre ó superficial* llega á nivel de los arcos de CORTI y presenta una chapa cuticular en la que se hallan implantadas pestañas (*pestañas auditivas*) dispuestas en cada célula en forma de herradura.

La *extremidad profunda ó basilar* da nacimiento á una prolongación que se dirige hacia la membrana basilar. Para gran número de anatómicos esta prolongación se continúa con una fibra nerviosa del nervio auditivo.

La *porción media* forma el cuerpo celular propiamente dicho y presenta en su parte profunda un núcleo grueso y redondeado.

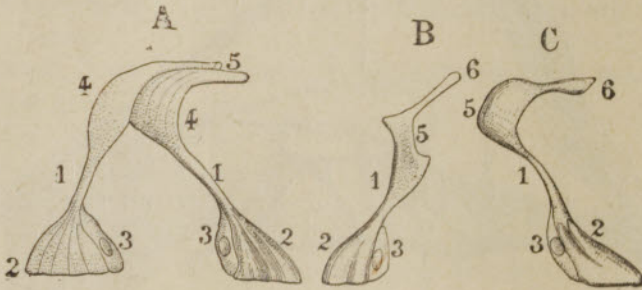


Fig. 414. — Pilares de CORTI (según SAPPEY)

A, pilares de CORTI unidos en forma de arco: 1, 1, porción media del pilar. — 2, pie. — 3, célula contigua. — 4, cabezas de los pilares de CORTI. — 5, prolongaciones de esta extremidad; B, pilar interno. — 1, cuerpo del pilar. — 2, base. — 3, célula contigua. — 5, faceta articular cóncava. — 6, prolongación de la cabeza del pilar. — C, pilar externo: 1, 2, 3, 6, las mismas indicaciones que para la figura B. — 5, superficie convexa articular.

Las células ciliadas consideradas en sus relaciones con los pilares de CORTI deben distinguirse en *células ciliadas externas é internas*.

a. Las *células ciliadas internas* se disponen en una sola hilera en el lado interno de los arcos de CORTI.

b. Las *células ciliadas externas* forman tres ó cuatro hileras en el lado externo de dichos arcos.

B. *Células de sostén*.— Las células de sostén ó de DEITERS tienen la forma de un huso y presentan una porción media y dos prolongaciones.

La *porción media* muy ensanchada está constituida por un protoplasma granuloso y contiene un grueso núcleo redondeado.

La *prolongación periférica* se fija en la membrana reticular; la *prolongación central* se dirige hacia la membrana basilar en la que se pierde (1).

Las células de sostén están dispuestas, como las ciliadas, en tres ó cuatro hileras, pero todas ellas se hallan situadas por fuera de los arcos de CORTI. Entre cada dos filas de células ciliadas existen una de las de sostén. Si se trata de establecer las relaciones entre las células ciliadas y las de sostén, se ve que «el cuerpo de cada célula de sostén está ensanchado

(1) Estas prolongaciones son homogéneas y refringentes como los pilares de CORTI.

y rechazado hacia dentro; se amolda perfectamente á la célula auditiva que se halla situada en su lado interno. Esta última se encuentra sentada sobre su célula de sostén como una persona en una silla» (RANVIER).

C. *Células de Claudius*. — Las células de CLAUDIUS son elementos epiteliales cilíndricos indiferentes, que forman el revestimiento de la membrana basilar por fuera de las células ciliadas externas y por dentro de las internas. Estas células disminuyen insensiblemente de altura, á medida que se alejan del órgano de CORTI, y se continúan finalmente con el epitelio del conducto coclear.

3.º MEMBRANA RETICULAR. — La membrana reticular es una delgada lámina que se desprende de la placa del pilar interno. Se dirige hacia fuera y recubre las células ciliadas externas, las células de sostén que las separan y las primeras filas de las células de CLAUDIUS.

Vista por su cara anterior, se presenta en forma de una red muy elegante. Se observan admirablemente dibujadas y dispuestas en hileras figuras redondeadas ó *anillos* y otras alargadas de dentro hacia fuera, estrechas en su porción media, ensanchadas en sus extremidades y recuerdan bastante bien la forma de una *falange*, y de aquí el nombre con que se las designa.

Estas dos clases de figuras están dispuestas de la siguiente manera: inmediatamente por fuera de los pilares se halla una primera fila de anillos, estando separado cada uno de ellos del que le precede ó del que le sigue por una falange. En el hombre, se halla, por fuera de esta primera fila, una segunda, luego una tercera constituídas de la misma manera, pero dispuestas de tal modo, que los redondeles de la primera fila alternan con los de la segunda, y los de ésta con los de la tercera.

Si se examina la membrana reticular en su situación normal se ve que los anillos corresponden á las *extremidades libres de las células ciliadas*. Las pestañas de estas células atraviesan los anillos y resaltan en la superficie de la membrana reticular. Las *falanges*, por el contrario, corresponden á las prolongaciones periféricas de las *células de sostén*, cuyos contornos dibujan (1).

Hacia fuera de las células ciliadas, la membrana reticular se prolonga sobre las células de CLAUDIUS, las cuales dibujan sobre esta membrana, por fuera de la tercera fila de anillos, una serie de cuadriláteros que marcan el límite externo de la membrana reticular. A esta parte es á la que DEITERS ha dado el nombre de *cuadro terminal*.

4.º MEMBRANA DE CORTI. — La membrana de CORTI ó *tectoria* es una formación cuticular que nace en la parte interna de la *banda acanalada*. Se dirige hacia fuera, situándose por delante del órgano de CORTI, al que recubre, y termina mediante un borde libre á nivel de la primera hilera de las células de CLAUDIUS. Esta membrana, que desempeña en cierto modo el papel de un *apagador de sonido*, está formada por una substancia hialina y refringente.

(1) Las falanges de la primera fila no corresponden á las prolongaciones de las células de sostén de la primera hilera, sino á la inserción de las apófisis de los pilares externos de CORTI.

§ 6. — TERMINACIONES DEL NERVIIO AUDITIVO

Este nervio se divide en el conducto auditivo en dos ramas: la *rama coclear* destinada al conducto coclear y la *rama vestibular* destinada á los órganos del vestíbulo (*sáculo, utrículo y porción ampular de los conductos semicirculares*).

A estas ramas están anexos *ganglios nerviosos* (1).

Debemos, pues, estudiar los *filetes nerviosos* del nervio auditivo, los ganglios anexos y la *terminación* de los nervios en el oído interno.

Los filetes nerviosos están formados por fibras miélnicas de pequeño volumen y que no difieren en su estructura de los nervios periféricos.

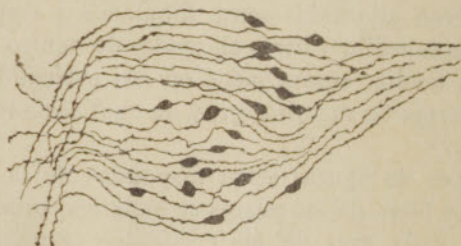


Fig. 415. — Células del ganglio acústico impregnadas por el método de GOLGI

Los ganglios están constituidos por acúmulos de *células nerviosas bipolares* que difieren según el animal en que se estudien.

1.º En los *peces*, y particularmente en el *sollo*, las células bipolares ocupan el centro de un segmento interanular, y se hallan rodeadas por mielina como el tubo nervioso al que pertenecen. La célula parece formada por una especie de ensanchamiento del tubo nervioso aferente que se reforma en el otro polo para constituir el tubo nervioso eferente. De fuera á dentro se hallan las siguientes capas:

- a. La vaina de SCHWAN dilatada para formar la cubierta de la célula;
- b. Una capa de mielina;
- c. Una corteza fibrilar constituída por la disociación de las fibrillas del axón;

(1) a. *Rama vestibular*. — La rama vestibular presenta un engrosamiento ganglionar conocido con el nombre de *ganglio de Scarpa*. Más allá del ganglio, se divide en tres ramúsculas que se distinguen en anterior, inferior y posterior.

La ramita anterior forma los nervios *utrículo, ampular superior y ampular externo*.

La ramita inferior constituye el *nervio sacular*.

La ramita posterior forma el *nervio ampular posterior*.

b. *Rama coclear*. — La rama coclear, después de atravesar los orificios de la criba espiral, penetra en el eje del caracol que sigue durante algún trayecto, para introducirse en seguida en el conducto espiral de ROSENTHAL, donde se pone en relación con el *ganglio* que ocupa el conducto. Desde aquí los filetes nerviosos se introducen en la lámina espiral, después atraviesan los *foramen* y alcanzan así los pilares internos de CORTI.

d. El globo ganglionar formado por protoplasma granuloso que contiene un *grueso núcleo*.

2.º En los *mamíferos* las células nerviosas bipolares ocupan igualmente el centro del segmento interanular. Se parecen á las de los peces, pero la capa de mielina del tubo nervioso aferente no continúa sobre la célula nerviosa, sino que se detiene á nivel de cada uno de sus polos; no hay, pues, capa mielínica por debajo de la cubierta celular (RANVIER).

Lo importante en estos elementos es que cada una de tales células posee dos prolongaciones:

- 1.º Una prolongación central que se dirige al bulbo;
- 2.º Una prolongación periférica que marcha al oído interno.

FIBRAS TERMINALES.—Las fibras que forman las *terminaciones auditivas* del oído interno, están todas constituidas por las *prolongaciones periféricas* de las células bipolares que acabamos de estudiar. El trayecto que siguen para llegar al epitelio sensorial del oído interno debe estudiarse en el caracol y en el vestíbulo.

1.º Estas fibras, llegadas á las paredes del sáculo, del utrículo y á la porción ampular de los conductos semicirculares, atraviesan la membrana basal y forman, por debajo de las células basales, un plexo (*basal de Ranvier*) del cual parten las fibras que se ponen en relación con las células auditivas. Más adelante veremos cuál es la naturaleza de estas relaciones.

2.º Las fibras destinadas al caracol emergen, como ya hemos visto, de los *foramen*, pierden su mielina y adquieren los caracteres de fibras pálidas. Es difícil seguir estas fibras en la región que separa los *foramen* del pilar y de la célula ciliada interna, pero puede afirmarse que forman, á este nivel, un plexo apretado del que se desprenden fibras que se ponen en relación con las células ciliadas internas. Es el *plexo espiral interno* de RANVIER. De este plexo parten otras fibras que atraviesan el túnel de CORTI nadando, por decirlo así, en la endolinfa que rellena este túnel, pasan entre los pilares externos y van á formar entre cada hilera de células sensoriales un *plexo espiral externo* del que parten fibrillas destinadas á ponerse en relación con las células auditivas. Hay, pues, tres plexos entre las células auditivas externas: el primero espiral externo, está situado entre el pilar externo y la primera célula de sostén; el segundo espiral externo entre la primera y la segunda célula de sostén; finalmente, el tercero espiral externo se sitúa entre la segunda y la tercera (RANVIER).



Fig. 416. — Terminaciones nerviosas en la cresta auditiva de los conductos semicirculares (según CAJAL).

A, conducto semicircular. — B, cresta auditiva. — N, fiete nervioso. — C, célula epitelial bipolar.

¿Cuáles son las relaciones de las células auditivas con las fibras del nervio acústico? Existen dos opiniones.

Primera opinión. — Las fibras nerviosas terminales se *continúan directamente* con la *prolongación central* de las células auditivas. Esta opinión fué admitida por el mayor número de anatómicos y aun hoy se acepta en algunas obras clásicas.

Segunda opinión. — En estos últimos años, RETZIUS, y después de él CAJAL, aplicando al estudio de las terminaciones auditivas el método de

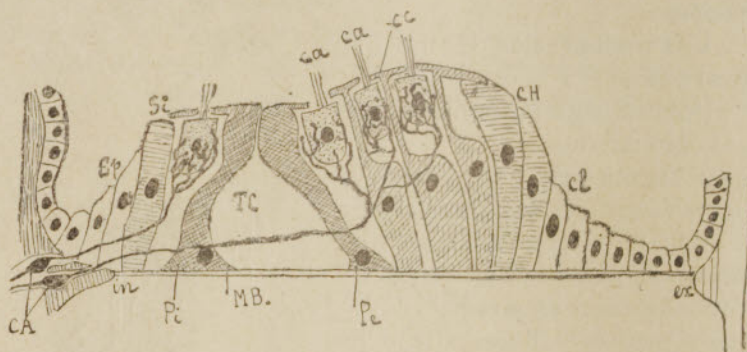


Fig. 417. — Terminaciones nerviosas en el órgano de CORTI

MB, membrana basilar. — PC, pilar de CORTI. — CA, células del ganglio acústico. — Ep, epitelio interno
CH, células de HENSEN. — CL, células de CLAUDIUS. — es, ligamento espiral

GOLGI, modificado por el histólogo español, describen un modo de terminación completamente distinto del precedente.

Para estos autores, las *células acústicas* representan elementos comparables á los *conos* y *bastones* de la retina, y su prolongación central *no se continúa con una fibra nerviosa, sino que termina por un engrosamiento*.

La fibra nerviosa periférica de las células bipolares, llegada debajo del epitelio sensorial, penetra entre las células y se divide á nivel de su base en un penacho de ramas varicosas que envuelven á la célula auditiva entre sus ramificaciones. Estas ramas terminan no lejos de la superficie epitelial por engrosamientos varicosos.

Si tratamos de explicar la manera de producirse las impresiones auditivas, hemos de admitir que las células acústicas reciben una excitación que transmiten por contacto á las ramas nerviosas que las envuelven. Estas la conducen á través de la prolongación periférica á las células bipolares, las cuales por su prolongación central la encaminan al centro de la audición.

APÉNDICE

RESUMEN DE TÉCNICA HISTOLÓGICA

POR

C. CALLEJA

CAPÍTULO PRIMERO

GENERALIDADES

INSTRUMENTOS DE OBSERVACIÓN

Se da el nombre de Técnica histológica al conjunto de métodos y procedimientos que se emplean para la observación de los tejidos. Se divide en *general* y *especial*; estudia la primera los métodos y procedimientos aplicables á todos los tejidos, mientras que la segunda se ocupa de los procedimientos y métodos aplicables á cada tejido en particular.

Para realizar los diversos métodos que en la Técnica se estudian, se necesita de la concurrencia de dos factores: 1.º de los instrumentos de que se vale el histólogo para la observación de los tejidos y para su preparación, y 2.º de los reactivos que sirven para modificar las condiciones de los tejidos, haciendo resaltar caracteres que desaparecerían bajo la máscara de lo amorfo ó serían imposibles de discernir sin las precisas modificaciones físicas y químicas que tales reactivos producen.

De lo anteriormente expuesto se deduce la materia que debe comprender la técnica histológica. Dividida ésta en general y especial, en la primera debe comprenderse el estudio de los instrumentos, de los reactivos y de los métodos, mientras que en la segunda no deben estudiarse más que los métodos especiales de aplicación á cada tejido en particular, puesto que los instrumentos y la mayor parte de los reactivos, conocidos ya en la parte general, son los mismos que en cada uno de los casos especiales se aplican.

Para que se comprenda mejor la división de la técnica histológica, podemos resumir las ideas antes expuestas en el siguiente cuadro sinóptico:

TÉCNICA HISTOLÓGICA.	}	General.	}	Instrumentos.
				Reactivos.
				Métodos generales.
		Especial.		Métodos especiales.

INSTRUMENTOS

Los instrumentos de que se vale el histólogo pueden ser de dos clases: unos que sirven para la observación de los tejidos y otros que se emplean para realizar los diversos métodos que modifican los tejidos y los colocan en condiciones de ser observados con provecho. Para designar estos últimos de alguna manera puede dárseles el nombre de *instrumentos de preparación*.

Instrumentos de observación

Los instrumentos de observación son: el microscopio y sus accesorios.

El microscopio es un aparato de óptica que amplificando el tamaño de los objetos permite ver en ellos detalles que no pueden observarse á simple vista.

El microscopio consta de dos partes distintas: una mecánica y otra óptica. La primera no tiene otro objeto que el de sostener y dar firmeza y estabilidad á la segunda.

Parte mecánica. — La parte mecánica del microscopio se compone del pie, la columna de sostén, la platina, la pinza portadora del aparato óptico, el mecanismo para el movimiento rápido y el mecanismo para el movimiento lento (1).

Pie. — El pie del microscopio debe ser muy pesado para dar estabilidad al aparato y afecta diversas formas según los diversos modelos contruídos hasta el día (herradura, circulares, etc.).

Columna. — Está situada generalmente en la parte más posterior del pie; puede ser única ó doble, articulada con la pinza portadora del aparato óptico para que éste pueda inclinarse en ángulos diversos, ó formar un todo rígido con dicha pinza.

Platina. — Es una lámina rectangular ó circular que presenta dos caras y que puede hallarse contruída de diversas substancias (vidrio, ebonita, metal ennegrecido, etc., etc.). En la cara superior y en la porción más posterior de esta lámina suelen hallarse dos resortes que sirven para sujetar las preparaciones microscópicas. En su parte central presenta un orificio que sirve para dar paso á la luz reflejada por un espejo que se fija generalmente en la columna de sostén. En dicho orificio pueden adaptarse diversos aparatos destinados á concentrar y reglar la luz que refleja el espejo.

Pinza portadora del aparato óptico. — De la parte más posterior de la platina sale una columna vertical que en su parte más superior se continúa en ángulo recto con otra, que termina en un tubo, en el cual entra á frote dulce el aparato óptico del microscopio. En tal columna es donde se hallan los dos mecanismos para el movimiento del aparato óptico: el rápido y el

(1) En la descripción del microscopio, tanto en su parte mecánica como en la óptica, nos referimos á un modelo esquemático y no al de una determinada casa constructora.

lento. El primero consiste en una cremallera que engrana con una rueda dentada mediante la cual el tubo del microscopio puede ascender ó descender, es decir, aproximarse ó alejarse de la platina. El movimiento lento se efectúa por el intermedio de un tornillo de paso de rosca muy estrecho que comprime un resorte helicoidal contenido dentro de la columna vertical de la pinza.

Parte óptica.—La parte óptica del microscopio se compone del espejo, los oculares y los objetivos.

Espejo.—El espejo se halla situado por debajo de la platina, articulándose con el pie ó con la columna de tal modo que pueda moverse en todas direcciones. Generalmente el espejo es doble, por una cara plano y por otra cóncavo, para obtener de este modo iluminaciones de intensidad variable, pues con el primero los rayos al reflejarse saldrán paralelos y en el segundo serán convergentes.

Oculares.—En el tubo que sirve de soporte al aparato óptico y en su parte superior, entra á frote dulce otro tubo corto que es el ocular y que se compone de dos lentes plano-convexas separadas por un diafragma y cuya planicie se dirige hacia el ojo del observador. La lente superior se llama *frontal* y la inferior *rector* ó *lente del campo*. Estos oculares, que son los de uso más frecuente, se les designa con el nombre de oculares de HUYGENS, pero existen otros, cuyo empleo se halla más limitado y que se conocen con las denominaciones de *oculares de Ramsden*, *ortoscópicos*, *compensadores*, de *proyección* é *indicadores*.

Los *oculares de Ramsden* se componen también de dos lentes plano-convexas, pero en éstas las convexidades se hallan dirigidas hacia el centro del ocular. Se emplean para las mediciones microscópicas, pues no deforman los extremos de la imagen como lo hacen los ordinarios ó de HUYGENS.

Los *oculares ortoscópicos*, que no se emplean más que en microfotografía, se componen de una lente frontal acromática, cóncavo-convexa, y otra *del campo*, biconvexa.

Los *oculares compensadores*, ideados por ABBE, se componen de una lente plano-convexa y de otra biconvexa que casi se tocan y no se hallan separados por ningún diafragma, encontrándose éstos en número variable situados por debajo de la lente biconvexa. Los oculares compensadores se emplean para corregir los defectos de la imagen que proyectan los objetivos apocromáticos.

Los *oculares de proyección*, cuyo empleo en la microfotografía es tan útil, se componen de una lente biconvexa acromática y de otra plano-convexa cuya convexidad se dirige hacia el objetivo. La lente superior puede apartarse más ó menos de la inferior y lleva un diafragma que limita el campo de la imagen.

Los *oculares indicadores* ideados por BOURGUET, llevan un pequeño índice, que moviéndose desde fuera del ocular y situado encima del diafragma entre las dos lentes, sirve para señalar los puntos que convengan en la imagen de las preparaciones, siendo su empleo de gran utilidad para la demostración en cátedra.

Objetivos.—Es la parte más importante del microscopio, que se atór-



nilla en la parte inferior del tubo y consta de sistemas de lentes (variables en número) cada uno de los cuales se compone de una lente biconvexa y otra plano-cóncava, unidas mediante el bálsamo del Canadá. Todos estos sistemas están corregidos para las aberraciones cromática y de esfericidad. Existen diversas clases de objetivos, siendo los principales los *ordinarios*, los de *corrección*, los de *inmersión*, los *apocromáticos* y los de *gran ángulo de abertura*.

Los *objetivos ordinarios*, á seco ó de montura fija son aquellos cuyos sistemas de lentes se hallan fijos á una distancia determinada é invariable.

Los de *corrección* presentan las dos lentes superiores en posición invariable entre sí, pero pudiéndose apartar ó aproximar de la lente ó lentes inferiores mediante un tornillo en forma de collar que se conoce con el nombre de *collarín de corrección*. Se emplean estos objetivos para evitar las deformaciones que sufre la imagen cuando los rayos lumínicos atraviesan cubreobjetos de espesor variable y corrigen por lo tanto la aberración de esfericidad.

Los objetivos de *inmersión* se caracterizan porque entre la lente inferior ó frontal y la preparación se interpone un líquido que puede ser el agua ó el aceite de cedro. Estos objetivos dan una imagen más clara, más detallada y más luminosa que los objetivos á seco.

En los objetivos *apocromáticos* se ha buscado la realización de dos condiciones ópticas importantes. La primera consiste en la convergencia en el mismo punto del eje óptico de tres rayos diferentes del espectro, es decir, en la supresión del espectro llamado secundario que siempre se presenta en los sistemas acromáticos construídos hasta el día. La segunda condición consiste en la corrección de la aberración de esfericidad para dos rayos de colores diferentes.

Los objetivos de *gran ángulo de abertura* tienen por objeto aprovechar los rayos más extremos que salen de la preparación y aumentar de este modo el poder de resolución del microscopio.

Como complemento de la porción óptica del microscopio debemos señalar aquí ciertos aparatos que situados debajo de la platina sirven para reglar la luz antes que ésta llegue á iluminar la preparación. Tales aparatos son los diafragmas y concentradores.

Los *diafragmas* son piezas circulares de cobre ennegrecido con una abertura central de mayor ó menor diámetro que sirven para eliminar los rayos periféricos. Actualmente todos los diafragmas se hallan substituídos por el que se conoce con el nombre de *diafragma iris* en el que mediante un ingenioso mecanismo puede variarse á voluntad el diámetro de la abertura central.

El *condensador* es un sistema de lentes, que colocado entre el espejo y la platina proyecta sobre el objeto que se examina un cono luminoso en el que entran muchos más rayos que los reflejados directamente por el espejo. El condensador más usado es el construído según las indicaciones del profesor ABBE y consta de dos lentes: una superior plano-convexa, pero cuya convexidad es tan acentuada que puede decirse que esta lente es casi una esfera á la que no le falta más que un casquete, y otra inferior biconvexa.

Propiedades de los objetivos. — Las cualidades que debe reunir un buen objetivo se reducen á tres: poder definidor, poder penetrante y poder de resolución.

El *poder definidor* de un objetivo es la propiedad que éste tiene de dar las imágenes con los contornos claros é incoloros. Este doble resultado se obtiene cuando las lentes que constituyen el objetivo se hallan bien corregidas de las dos aberraciones cromática y esférica.

El *poder penetrante* de un objetivo es la propiedad que éste tiene de presentar en un solo plano los distintos que pueden hallarse en una preparación.

El *poder de resolución* es la propiedad que tienen ciertos objetivos de separar bien las diversas partes de un objeto de modo que puedan verse sus más finos detalles. La penetración y la resolución son dos cualidades que se excluyen, al menos en sus términos extremos, puesto que corresponden á dos disposiciones inversas de uno de los dos factores que entran en la composición de los objetivos: este factor es el *ángulo de abertura*, que es el formado por los rayos lumínicos más divergentes que puede utilizar el objetivo para la formación de la imagen. El ángulo de abertura varía según la disposición de las lentes y también según el medio en el cual trabaja la lente inferior ó frontal, habiéndose substituído en la actualidad la indicación del ángulo de abertura por la de la *abertura numérica*, que es el producto del índice de refracción del medio en el cual trabaja el objetivo por el seno de la mitad del ángulo de abertura.

Imagen microscópica. — El microscopio puede decirse que es un compuesto de dos aparatos ópticos: uno de proyección, que es el objetivo, y otro representado por el ocular que recoge y modifica la imagen proyectada por el objetivo. En efecto, el objetivo forma una imagen real invertida y mayor que el objeto, mientras que el ocular al recoger la imagen proyectada por el objetivo, amplificándola todavía más, la transforma en virtual y recta con relación á la imagen proyectada, pero invertida con relación al objeto. Por consiguiente, los dos aparatos ópticos que constituyen el microscopio (ocular y objetivo) dan en conjunto una imagen virtual invertida y mayor que el objeto.

Manejo del microscopio. — Para realizar una observación microscópica se procede de la siguiente manera: colocada la preparación sobre la platina, se lleva á cabo su iluminación con el espejo moviendo éste en diversas direcciones hasta que el campo observado, mirando por el ocular, presente el máximum de intensidad lumínica; una vez conseguido esto, se va aproximando el objetivo á la preparación valiéndose del mecanismo del movimiento rápido hasta que se perciba confusamente la imagen del objeto, perfeccionándose entonces el enfoque mediante el mecanismo de movimiento lento hasta que se perciban los más finos detalles de la preparación. Cuando el objetivo empleado es de mucho aumento y por lo tanto la distancia que separa la lente inferior de la preparación muy corta (*distancia frontal*), corriendo riesgo de estropearse el objetivo ó romperse la preparación, puede procederse al enfoque, colocando directamente en contacto la lente frontal del objetivo con la preparación y haciendo ascender poco á poco el tubo del microscopio hasta que se vislumbre confusamente

la imagen, perfeccionándose entonces dicho enfoque del modo antes expuesto.

ACCESORIOS DEL MICROSCOPIO

Cámaras claras. — Estos aparatos se emplean para la reproducción por el dibujo de las imágenes microscópicas. Entre todas las construídas la más práctica y quizá la de más fácil manejo es la de ABBE. Consta de un espejo y de un prisma. Los rayos que proceden del papel donde se dibuja, sufren una primera reflexión en el espejo, marchan hacia el prisma que es un cubo seccionado en sentido de uno de sus planos diagonales y con la superficie de sección transformada en espejo, sufren allí una segunda reflexión y ascienden hacia el ojo del observador. Los rayos que proceden de la preparación ascienden sin sufrir ninguna desviación hacia el ojo del observador, pues el prisma, que se coloca encima del ocular, presenta en la superficie metálica una abertura circular. De este modo se perciben las dos imágenes á la vez: la del papel y la de la preparación.

Micrómetros. — Sirven para determinar el tamaño de los objetos microscópicos y el aumento del microscopio. Los micrómetros son de dos clases: oculares y objetivos. Los *micrómetros objetivos*, que son los que se emplean para determinar el aumento de los juegos de lentes, consisten en unas láminas rectangulares de vidrio, que se colocan como una preparación sobre la platina y que llevan en su centro grabadas una colección de rayas, que en totalidad representan el valor de un milímetro lineal dividido en 50, 100 ó 500 partes. Los *micrómetros oculares*, que se usan para la determinación del tamaño de los objetos microscópicos, consisten en un ocular ordinario, entre cuyas dos lentes se halla una lámina de vidrio en la que se encuentra grabado un centímetro dividido en 10, 20, 50 ó 100 partes (1).

Microespectroscopio. — Este instrumento se compone de un tubo que contiene una serie de prismas superpuestos situados encima de un ocular ordinario, pero acromático, cuyas lentes son susceptibles de aproximarse ó separarse. Entre estas lentes se halla un diafragma con una hendidura que puede aumentarse ó disminuirse á voluntad mediante un tornillo que se halla en la parte exterior del tubo. Situado en la parte lateral de la hendidura y por fuera se halla un pequeño prisma que sirve para proyectar el espectro de una luz colocada lateralmente y reflejada por un espejo. De este modo el ojo del observador percibe dos espectros á la vez: el normal y el del objeto que se estudia. Este instrumento tiene utilidad para el examen de la sangre y de otros tejidos que contengan materias colorantes propias, pudiéndose llegar á observar el espectro de un solo elemento.

Polarizador. — El aparato de polarización que se aplica al microscopio consta de dos partes: una que se coloca debajo de la platina que consiste en un tubo en cuyo interior se encuentra un prisma de espato de Islandia y

(1) Dada la concisión que nos hemos impuesto al redactar este resumen es imposible que entremos aquí en detalles respecto á la determinación del aumento del microscopio y del tamaño de los objetos. El lector puede consultar, con provecho, para este y otros asuntos de técnica, las obras de van HEURCK, VIALLETON, CAJAL, DEL RÍO, LÓPEZ GARCÍA, GARCÍA SOLÁ, etc., etc.

que se conoce con el nombre de *polarizador*, y otra que se sitúa, ó bien encima del objetivo ó bien por encima del ocular, y se conoce con el nombre de *analizador*. Este último puede girar describiendo una circunferencia completa en torno del eje óptico del microscopio.

Revólver. — Es una pieza que se atornilla en la parte inferior del tubo del microscopio y que sirve para cambiar rápidamente los objetivos. Se construye para dos, tres, cuatro y más objetivos. Con objeto de evitar el tiempo que se pierde en atornillar y desatornillar los objetivos y para substituir al revólver en ciertos casos se han ideado unas piezas intermedias que se conocen con el nombre de *adaptadores* y cuya descripción detallada puede verse en cualquier catálogo de los publicados por las casas constructoras de microscopios.

CAPITULO II

INSTRUMENTOS DE PREPARACIÓN

Comprendemos bajo este epígrafe todos aquellos instrumentos que el histólogo emplea para preparar los tejidos y elementos que han de ser observados con el microscopio. Estos instrumentos son numerosos y variados, pudiéndose comprender entre ellos los siguientes: micrótomos, instrumentos de disección, aparatos de inyección, porta y cubreobjetos, cámaras húmedas de coloración y observación, platinas y cámaras calientes y aparatos numeradores de los elementos anatómicos.

Entre todos estos instrumentos hay unos cuya aplicación es general y de ellos nos ocuparemos en este capítulo, mientras que otros no son aplicables más que á un solo tejido ó á un corto número de ellos y por tanto deberán estudiarse en la técnica especial.

Micrótomos. — Los micrótomos son unos aparatos destinados á practicar cortes finos en los tejidos, previamente indurados si son blandos, ó reblandecidos si es que son duros. Estos aparatos se pueden dividir en micrótomos de mano, semiautomáticos y automáticos.

El tipo de los micrótomos de mano es el ideado por RANVIER. Consiste en un cilindro hueco que lleva en su extremidad superior una platina circular de superficie perfectamente plana y horadada en su centro. La extremidad inferior presenta un tornillo micrométrico cuyo movimiento hace ascender un cilindro macizo contenido en el conducto central del instrumento. El tejido que se ha de seccionar se introduce dentro de este conducto. Cada vuelta del tornillo hace ascender el tejido en una extensión determinada presentando una porción que sobresale de la platina y la cual

puede ser cortada al pasar la navaja, una de cuyas caras se apoya en dicha platina.

Uno de los mejores micrótomos semiautomáticos es el de THOMA-JUNG, que se compone esencialmente de un sólido pie metálico macizo, en el que descansan dos canales de deslizamiento paralelos. Uno de ellos, que es donde se mueve la navaja, es horizontal y en él desliza un bloque metálico, cortado en forma de prisma triangular sobre el que se fija aquélla mediante un tornillo de presión. El otro canal es inclinado, y asciende de derecha á izquierda; recibe la pinza porta-objetos, la cual se halla montada como el porta-navajas sobre un bloque metálico macizo que sube por el plano inclinado gracias á un tornillo micrométrico, que se fija al canal mediante un tornillo de presión.

En los micrótomos completamente automáticos, cuyo tipo es el ideado por MINOR, la navaja se halla fija por sus dos extremidades con objeto de disminuir las vibraciones y es inmóvil, mientras que la pinza porta-objetos se halla montada sobre una pieza movible de arriba hacia abajo, y que se adelanta en cada movimiento de ascenso una cantidad reglable á voluntad.

Para practicar los cortes en los micrótomos se emplean navajas especiales que en lugar de presentar sus dos caras cóncavas ofrecen una plana y la otra cóncava. Es preciso cuidarlas con esmero y antes de servirse de ellas pasarlas cada vez por el cuero de repasar, con objeto de mantener el filo en constante buen estado.

Instrumentos de disección. — Entre ellos conviene que el histólogo posea un surtido bastante completo de pinzas, tijeras, escalpelos, sierra, martillo, etc. Cuando se emplean ciertos líquidos que contienen en disolución sales metálicas no deben emplearse los instrumentos ordinarios, puesto que aparte de ser éstos atacados por el líquido, alterarían la constitución de éste dando origen á un precipitado, por lo cual es preferible el empleo de las pinzas con puntas de marfil, cuerno ó celuloide.

Conviene incluir entre los instrumentos de disección las espátulas y agujas enmangadas. Las primeras se usan para recoger los cortes finos, existiendo diversos modelos (rectas, curvas, dobladas en ángulo recto). Las segundas son indispensables en histología, para verificar las disociaciones; además se utilizan para recoger cortes, ordenarlos, extenderlos sobre el portaobjeto, etc., etc.; en suma, parece ser una prolongación de la mano del histólogo.

Porta y cubreobjetos. — Los portaobjetos son láminas de vidrio perfectamente incoloro sobre las que se colocan las preparaciones histológicas, que tienen forma rectangular y cuyas dimensiones varían, siendo, sin embargo, el tamaño más usado el llamado francés que mide 76 por 26 milímetros.

Los cubreobjetos son unas laminillas también de vidrio, muy delgadas, que sirven para cubrir las preparaciones y que pueden tener forma rectangular, circular ó cuadrada y cuyas dimensiones son variables. Los más usados son los cubreobjetos cuadrados ó circulares que miden de 18 á 22 milímetros de lado ó diámetro.

Cámaras húmedas. — Son de dos clases: de coloración y de observación.

Las cámaras de coloración tienen por objeto evitar la evaporación de los reactivos líquidos mientras se hallan en contacto con las preparaciones. Consisten en una campana de cristal que se introduce dentro de un cristizador en el interior del cual se coloca una gradería metálica para sostener los portaobjetos. En el fondo del cristizador se coloca un poco de agua, de modo que la atmósfera limitada por la campana se halle completamente saturada de humedad.

Las cámaras de observación consisten en láminas rectangulares de vidrio grueso, en cuyo centro se encuentra un canal circular profundo que circunscribe un círculo, cuya superficie se halla una décima de milímetro más baja que la superficie general de la lámina: de este modo, cuando se cubre el círculo central con un cubreobjetos queda siempre un espacio ocupado en el canal circular por aire saturado de humedad.

Platinas calientes. — La más sencilla y á la vez más práctica de todas es la ideada por RANVIER, que consiste en una caja rectangular de latón, la cual puede contener agua. Presenta una hendidura horizontal por la que se introduce la preparación. El centro de la platina se halla atravesado por una abertura cilíndrica, la cual por su parte inferior deja pasar los rayos lumínicos procedentes del espejo y en su parte superior recibe al objetivo con el que se hace la observación. En la cara anterior de la caja existen dos tubuluras que sirven para establecer la circulación del agua caliente, y en la posterior otra por la que se introduce un termómetro. El agua puede calentarse ó bien en un recipiente cualquiera ó bien en una estufa de temperatura constante, lo cual facilita mucho el manejo de este instrumento. Se utiliza esta platina para observar en sus condiciones normales de temperatura los elementos anatómicos de los animales de sangre caliente.

Aparatos de inyección. — Para practicar las inyecciones histológicas pueden emplearse ó bien las jeringas de mano ó los aparatos especiales para inyectar de LATTEUX, GILLET DE GRAMMONT, etc., cuya descripción detallada puede verse en los tratados de técnica. Es mucho más práctico el empleo de las jeringas de mano, que pueden ser de dos clases: las destinadas á la práctica de inyecciones intersticiales y las que se emplean para las vasculares. Las primeras son las mismas que se usan para las inyecciones hipodérmicas, mientras que las segundas son de mayor tamaño, debiendo contener por lo menos unos 250 centímetros cúbicos de la materia que ha de ser inyectada.

CAPITULO III

REACTIVOS

Se designa con el nombre de *reactivo* en histología toda substancia que modificando más ó menos profundamente los elementos y tejidos permite distinguir en ellos con el microscopio detalles que no se observarían

en el estado natural. De esta definición se deduce que la inmensa mayoría de los reactivos empleados en histología son sustancias químicas; sin embargo, algún agente físico, como, por ejemplo, el calor, puede ser también considerado como un verdadero reactivo.

Es asunto muy difícil la clasificación de los reactivos empleados en histología por su diferente naturaleza química y la diversidad de acciones que desarrollan en contacto con los tejidos.

Pueden clasificarse los reactivos, según la manera que tienen de obrar, en indurantes, fijadores, etc., etc.; pero esta clasificación tiene el gran inconveniente de que poseyendo un solo reactivo diversas propiedades, necesariamente ha de ser incluido en distintos grupos, dando lugar á repeticiones enojosas.

Es indudablemente el mejor sistema para clasificar los reactivos el ordenarlos según su naturaleza química, dividiéndolos en materias neutras, ácidos, bases, sales, sustancias colorantes y materias diversas. Ajustándonos á este esbozo de clasificación, á continuación enumeramos los principales reactivos indicando en cada uno de ellos sus principales caracteres, su acción y las fórmulas en cuya composición entran.

Materias neutras. — En este grupo comprendemos todas aquellas sustancias que presentan reacción neutra y que los químicos comprenden en su mayor parte con la designación de *disolventes neutros*.

Agua. — El agua se usa en histología como disolvente de la mayor parte de reactivos sólidos. Su acción sobre los tejidos es opacante, es decir, que disminuye el índice de refracción de diversos elementos. Debe emplearse destilada. Algunas veces se usa el agua oxigenada como decolorante.

Alcohol. — El que se emplea en histología es el ordinario ó etílico, usándose en diferentes graduaciones desde el absoluto hasta el de 40°. El alcohol tiene multitud de acciones: es fijador, indurante, conservador, se emplea como disolvente de otros reactivos; mezclado con el agua, en la proporción de una parte de alcohol por dos de agua, constituye un excelente líquido disociador (alcohol al tercio de RANVIER).

Glicerina. — Es un líquido siruposo, neutro, y que debe estar exento de sales de plomo. Se usa como reactivo conservador y aislador. A veces se emplea mezclada con ácido fórmico ó ácido pícrico, cuando se usan ciertos métodos especiales de coloración.

Eter sulfúrico. — Mezclado en partes iguales con el alcohol absoluto constituye un buen reactivo fijador y esta mezcla se emplea en las inclusiones como disolvente de la celoidina. El éter solo, es un reactivo opacante y puede usarse además como disolvente de la parafina.

Acetona. — Sustancia líquida, muy movible y de olor penetrante que recientemente se usa en histología como indurante rapidísimo para la inclusión con parafina. Esta sustancia debe ser completamente anhidra.

Cloroformo. — Se usa como anestésico para realizar operaciones en los animales y además como disolvente de la parafina.

Alcohol metílico. — Puede substituir en algunos casos al ordinario, como reactivo fijador, empleándolo en la siguiente fórmula:

Alcohol metílico	10 c. c.
Agua de mar	90 —

En lugar del agua de mar puede usarse:

Agua destilada	80 c. c.
Cloruro de sodio	6 gramos

Esencias. — En histología se emplean como reactivos aclaradores y como agentes disolventes de algunas de las materias de inclusión. Las esencias más usadas son la de clavo, la de bergamota, la de orégano y la de espliego.

Formol. — El formol ó aldehído fórmico que se emplea en histología es la disolución que presenta el comercio. Es un reactivo fijador de los mejores por la rapidez de su acción; pero tiene el grave inconveniente de dificultar mucho las coloraciones ulteriores. Se emplea en las siguientes fórmulas debidas á LAVDOWSKY, como fijador de los núcleos:

1.º Agua destilada	20
Alcohol de 95º	10
Formol	3
Ácido acético cristalizabile	0'5
2.º Agua destilada	30
Alcohol de 95º	15
Formol	5
Acido acético cristalizabile	1

Xilol. — Se usa como aclarador y como disolvente de la parafina. Tiene el inconveniente de que retrae mucho los cortes, pero en cambio presenta la ventaja de que no disuelve alguna de las substancias colorantes que disuelven las esencias.

Yodo. — Es un reactivo que se usa en disolución como colorante, fijador, disociador, etc. Es además indurante y penetra con rapidez en los tejidos. Ordinariamente se emplea según la fórmula de LUGOL:

Yodo	4 gramos
Yoduro de potasio	6 —
Agua destilada	100 —

Creosota. — Es una substancia que aclara muy bien los cortes, y que tiene la ventaja de no disolver los colorantes y no necesitar una deshidratación completa, como ocurre con el xilol. Se usa en técnica histológica la creosota de haya. La creosota se aplica también para disolver ciertos pigmentos que presentan los tejidos de algunos animales.

Aceite de anilina. — También es un excelente aclarador, sobre todo para los cortes incluidos en celoidina. Mezclado con el alcohol absoluto, á partes iguales, se usa como decolorante y deshidratante para los cortes teñidos con colorantes derivados de la misma anilina.

Ácidos. — Los reactivos incluidos en este grupo tienen múltiples aplicaciones, siendo muy usados en técnica tanto los inorgánicos como los orgánicos.

Acido sulfúrico. — En caliente y muy concentrado se usa este reactivo como disociador de las células córneas. Se emplea además mezclado con el agua en la proporción de una parte de ácido por tres de agua como deco-

lorante. Para disociar las fibras del cristalino se emplea la siguiente fórmula debida á SCHULTZE:

Acido sulfúrico concentrado	V gotas
Agua destilada	30 c. c.

Acido nítrico. — Es un buen decalcificante, y además se puede emplear como indurador, fijador y decolorante.

Como decalcificador se emplea diluído en agua en disoluciones del 1 al 10 por 100.

Como fijador se puede emplear en la siguiente fórmula debida á FOL:

Acido nítrico	3
Alcohol de 70°	97

Acido clorhídrico. — Es también un reactivo decalcificador y se usa en distintas fórmulas. Una de ellas es la siguiente:

Acido clorhídrico	3
Cloruro de sodio	15
Agua destilada	100

WALDEYER aconseja la siguiente mezcla:

Acido clorhídrico	10
Cloruro de paladio	0,1
Agua destilada	100

Mezclado con el alcohol de 70° en la proporción de 1 por 100 constituye un reactivo que, á la par que disuelve el carmín en los tejidos excesivamente coloreados por esta substancia, fija é insolubiliza dicho colorante sobre la cromatina nuclear.

Acido ósmico. — Es uno de los fijadores más rápidos y de los que pueden obtenerse mejores resultados. En realidad no es un ácido sino el tetraóxido de osmio. Es un cuerpo muy volátil y sus disoluciones, puesto que se trata de un cuerpo sólido y cristalizado, se reducen rápidamente en contacto con las substancias orgánicas. Se emplea en disoluciones al 1 por 100 que deben manejarse con precaución, pues sus vapores son muy irritantes y provocan catarros muy molestos con cefalalgias intensas.

Acido crómico. — Es un cuerpo sólido cristalizado de color rojo muy delicuescente y que se reduce fácilmente en contacto de las substancias orgánicas pasando á sesquióxido de cromo. Es un buen fijador, puede emplearse como indurador, como decalcificante y como disociador. Tiene, sin embargo, el inconveniente de que penetra con mucha dificultad en los tejidos y además precipita algunos albuminoides en forma de filamentos ó redes, lo cual es causa de muchos errores de observación.

Entre las fórmulas en las que entra el ácido crómico como fijador pueden citarse las siguientes:

Acido crómico	12
Alcohol de 40°	100
Agua destilada	200

Esta fórmula, muy empleada por KLEIN, da resultados muy brillantes en las fijaciones citológicas.

FLEMMING ha ideado la siguiente mezcla modificando la propuesta por FLESCH:

Acido crómico	0,25
Acido ósmico.	0,1
Acido acético.	0,1
Agua destilada	100,00

Esta fórmula debe prepararse al tiempo de ser usada, pues si no, se altera con relativa facilidad.

Mucho más estable que la anterior es la ideada por PERENYI y que se compone de:

Disolución de ácido crómico al 1 por 100	3 partes
Disolución de ácido nítrico al 20 por 100	3 —
Alcohol absoluto	4 —

MERKEL emplea el ácido crómico como fijador unido al cloruro platínico en las siguientes proporciones:

Disolución de ácido crómico al 1 por 100	1 parte
Disolución de cloruro platínico al 1 por 100.	1 —
Agua destilada.	6 partes

Como disociador el ácido crómico se emplea en disoluciones al 0,02 por 100.

Como decalcificante se usa en diversas fórmulas; pero la que nos ha dado mejor resultado es la de MARCH:

Acido crómico	1 gramo
Acido nítrico	2 gramos
Agua destilada	225 —

Puede usarse además para obtener decalcificaciones lentas en disoluciones al 0,1 por 100 que deben irse concentrando poco á poco hasta llegar al 1 por 100.

Acido acético. — El que se emplea en técnica histológica es el que se conoce con el nombre de *glacial* ó *crystalizable*. Es un buen fijador de los núcleos y tiene además la propiedad de insolubilizar ciertas substancias colorantes en contacto con la cromatina nuclear. Se emplea en disoluciones del 0,2 al 1 por 100.

Se debe á CARNOY la siguiente fórmula:

Acido acético crystalizable	1 parte
Alcohol absoluto	6 partes
Cloroformo	3 —

Acido fórmico. — Tiene las mismas propiedades que el acético, empleándose además como un buen agente reductor en las impregnaciones con las sales de oro.

Acido oxálico. — Es un cuerpo sólido cristalizado de color blanco, poco usado en histología á no ser como disociador en disoluciones concentradas para el estudio de las terminaciones nerviosas.

Acido tánico. — Puede usarse como reactivo conservador en la siguiente fórmula:

Tanino en polvo	5 centigr.
Agua.	100 gramos

Acido pícrico. — Es sólido cristalizado, de color de amarillo de canario y se puede emplear en disolución como fijador, decalcificante y colorante. Como fijador entra en la composición de las siguientes fórmulas:

1.º Fórmula de MAYER.

Acido nítrico	5 partes
Agua destilada	100 —
Acido pícrico	hasta saturación

2.º Del mismo autor.

Agua destilada	100 partes
Acido clorhídrico	8 —
Acido pícrico	hasta saturación

3.º Líquido de KLEINENBERG.

Acido sulfúrico concentrado	2 partes
Agua destilada	100 —
Acido pícrico	hasta saturación

Como colorante se emplea en disoluciones acuosas ó alcohólicas saturadas.

Se emplea también en la misma concentración como decalcificante.

Bases. — Las que se usan en histología son en muy corto número, pudiendo decirse que quedan reducidas á los tres álcalis potasa, sosa y amoníaco.

Potasa. — La principal propiedad que posee este álcali es la de ser un enérgico disociador. Se emplea en disoluciones algo concentradas del 33 al 40 ó 50 por 100. Algunas veces se suele usar en disoluciones más débiles, como, por ejemplo, cuando se trata de aislar los elementos córneos de los pelos y de las uñas, debiendo en este caso proceder en caliente.

Sosa. — Goza de las mismas propiedades y tiene las mismas aplicaciones que la potasa.

Amoníaco. — Únicamente se usa como disolvente de alguna substancia colorante como el carmín.

Sales. — Las que se manejan en histología son poco numerosas y en su mayoría del grupo de las inorgánicas.

Bicloruro de mercurio. — Sus disoluciones son fijadoras, en cierto modo colorantes por impregnación y conservadoras.

Como fijador puede usarse el sublimado corrosivo á saturación en el agua, pero además se han propuesto diversas fórmulas entre las que merecen conocerse las siguientes:

1.º Líquido de LANG.

Alumbre.	5 centigr.
Bicloruro de mercurio.	10 gramos
Acido acético	8 —
Cloruro de sodio	10 —
Agua destilada.	100 —

2.º Líquidos de CARNOY.

(Alcalino) Bicloruro de mercurio.	5 gramos
Cloruro de sodio	3 —
Agua destilada.	100 —
(Acido) Bicloruro de mercurio.	5 gramos
Acido acético	5 —
Agua destilada	100 —

3.º Líquido de GILSON.

Bicloruro de mercurio	95 gramos
Acido nítrico de 46º B.	78 cent. cúb.
Acido acético	22 —
Alcohol de 60º	500 —
Agua destilada.	4400 —

4.º Líquido de MANN.

Bicloruro de mercurio.	15 gramos
Acido pícrico	4 —
Tanino	8 —
Alcohol absoluto	100 —

Como conservador se emplea en disoluciones al 1 por 200 ó por 300, adicionando á estas disoluciones pequeñas cantidades de cloruro de sodio ó ácido acético. GILSON emplea el siguiente líquido:

Bicloruro de mercurio.	15 centigr.
Dilución de ácido acético al 15 por 100	2 cent. cúb.
Glicerina	30 gramos
Alcohol de 60º.	60 —
Agua destilada.	30 —

Cloruro de oro. — Es una sal que se emplea en histología como reactivo colorante impregnador. Las disoluciones que se usan son al 1 por 100.

Cloruro de platino. — Es una sal muy delicuescente que se emplea en disoluciones del 1 al 10 por 100. Es un fijador del que se ha servido RABL para el estudio de la kariokinesis en disoluciones al 1 por 300. HERMANN emplea esta sal en la siguiente fórmula, modificación de la de FLEMMING:

Cloruro platínico al 1 por 100	25 partes
Acido ósmico al 1 por 100	10 —
Acido acético al 1 por 100	10 —
Agua destilada.	55 —

Cloruro de paladio. — Se emplea como fijador en disoluciones al 1 por 300, al 1 por 600 y al 1 por 100. Puede usarse también en la siguiente fórmula:

Acido oxálico. — Es un cuerpo sólido cristalizado de color blanco, poco usado en histología á no ser como disociador en disoluciones concentradas para el estudio de las terminaciones nerviosas.

Acido tánico. — Puede usarse como reactivo conservador en la siguiente fórmula:

Tanino en polvo	5 centigr.
Agua.	100 gramos

Acido picrico. — Es sólido cristalizado, de color de amarillo de canario y se puede emplear en disolución como fijador, decalcificante y colorante. Como fijador entra en la composición de las siguientes fórmulas:

1.º Fórmula de MAYER.

Acido nítrico	5 partes
Agua destilada	100 —
Acido pícrico	hasta saturación

2.º Del mismo autor.

Agua destilada	100 partes
Acido clorhídrico	8 —
Acido pícrico	hasta saturación

3.º Líquido de KLEINENBERG.

Acido sulfúrico concentrado	2 partes
Agua destilada	100 —
Acido pícrico	hasta saturación

Como colorante se emplea en disoluciones acuosas ó alcohólicas saturadas.

Se emplea también en la misma concentración como decalcificante.

Bases. — Las que se usan en histología son en muy corto número, pudiendo decirse que quedan reducidas á los tres álcalis potasa, sosa y amoníaco.

Potasa. — La principal propiedad que posee este álcali es la de ser un enérgico disociador. Se emplea en disoluciones algo concentradas del 33 al 40 ó 50 por 100. Algunas veces se suele usar en disoluciones más débiles, como, por ejemplo, cuando se trata de aislar los elementos córneos de los pelos y de las uñas, debiendo en este caso proceder en caliente.

Sosa. — Goza de las mismas propiedades y tiene las mismas aplicaciones que la potasa.

Amontaco. — Únicamente se usa como disolvente de alguna substancia colorante como el carmín.

Sales. — Las que se manejan en histología son poco numerosas y en su mayoría del grupo de las inorgánicas.

Bicloruro de mercurio. — Sus disoluciones son fijadoras, en cierto modo colorantes por impregnación y conservadoras.

Como fijador puede usarse el sublimado corrosivo á saturación en el agua, pero además se han propuesto diversas fórmulas entre las que merecen conocerse las siguientes:

1.º Líquido de LANG.

Alumbre.	5 centigr.
Bicloruro de mercurio.	10 gramos
Acido acético	8 —
Cloruro de sodio	10 —
Agua destilada.	100 —

2.º Líquidos de CARNOY.

(Alcalino) Bicloruro de mercurio.	5 gramos
Cloruro de sodio	3 —
Agua destilada.	100 —
(Acido) Bicloruro de mercurio.	5 gramos
Acido acético	5 —
Agua destilada.	100 —

3.º Líquido de GILSON.

Bicloruro de mercurio	95 gramos
Acido nítrico de 46º B.	78 cent. cúb.
Acido acético	22 —
Alcohol de 60º	500 —
Agua destilada.	4400 —

4.º Líquido de MANN.

Bicloruro de mercurio.	15 gramos
Acido pícrico	4 —
Tanino	8 —
Alcohol absoluto	100 —

Como conservador se emplea en disoluciones al 1 por 200 ó por 300, adicionando á estas disoluciones pequeñas cantidades de cloruro de sodio ó ácido acético. GILSON emplea el siguiente líquido:

Bicloruro de mercurio.	15 centigr.
Dilución de ácido acético al 15 por 100	2 cent. cúb.
Glicerina	30 gramos
Alcohol de 60º.	60 —
Agua destilada.	30 —

Cloruro de oro. — Es una sal que se emplea en histología como reactivo colorante impregnador. Las disoluciones que se usan son al 1 por 100.

Cloruro de platino. — Es una sal muy delicuescente que se emplea en disoluciones del 1 al 10 por 100. Es un fijador del que se ha servido RABL para el estudio de la kariokinesis en disoluciones al 1 por 300. HERMANN emplea esta sal en la siguiente fórmula, modificación de la de FLEMMING:

Cloruro platínico al 1 por 100	25 partes
Acido ósmico al 1 por 100	10 —
Acido acético al 1 por 100	10 —
Agua destilada.	55 —

Cloruro de paladio. — Se emplea como fijador en disoluciones al 1 por 300, al 1 por 600 y al 1 por 100. Puede usarse también en la siguiente fórmula:

Cloruro de paladio	10 gramos
Agua destilada.	1 litro
Acido clorhídrico	IV á VI gotas

Sales de cromo. — Las principales sales de cromo que se emplean en la técnica histológica son los bicromatos, amónico y potásico, y los cromatos neutros potásico y amónico. Todos ellos tienen las mismas propiedades, pero el más empleado es el bicromato potásico, cuyas disoluciones son fijadoras é indurantes. Tiene el inconveniente esta sal de que penetra con mucha lentitud en el interior de los tejidos.

El bicromato potásico entra en la composición de las siguientes mezclas:

1.º Líquido de MÜLLER.

Bicromato potásico	2 gramos
Sulfato sódico	1 gramo
Agua destilada	100 gramos

2.º Líquido de ERLICKI.

Bicromato potásico.	2 gr. 05
Sulfato de cobre	1 gramo
Agua.	100 gramos

3.º Líquido de JOHNSON.

Disolución de bicromato al 2,5 por 100	70 partes
Disolución de ácido ósmico al 1 por 100	10 —
Disolución de cloruro platínico al 1 por 100	15 —
Acido acético	5 —

El bicromato en las anteriores fórmulas obra más como indurante que como fijador. Algunas veces se suele usar como disociador en disoluciones al 0,2 por 100.

Nitrato de plata.—Es una sal cuyas aplicaciones se reducen á la obtención de coloraciones por impregnación, usándose en disoluciones que varían desde el 0,75 por 100 al 1 por 100.

Alumbre.—En técnica histológica se usan tres alumbres: el ordinario ó sulfato doble de alúmina y potasa, el de amoníaco y el de hierro. Los dos últimos de uso mucho más restringido que el ordinario, se emplean en disoluciones del 1 al 2 por 100. El alumbre ordinario es un fijador muy poco enérgico; en cambio da buenos resultados como mordiente para el tratamiento ulterior de ciertas coloraciones.

Sulfato de cobre.—Sus disoluciones tienen una acción indurante muy enérgica; sin embargo, no se emplea solo, sino que se asocia á otras substancias, como ocurre en el líquido de ERLICKI.

Molibdato amónico.—En disolución acuosa tiene la propiedad de indurar ligeramente los tejidos é insolubilizar ciertas materias colorantes tal como el azul de metileno.

Permanganato potásico.—Es un reactivo disociador muy enérgico, tanto que ROLLETT lo recomienda solo ó mezclado con el alumbre para disociar las fibras de la córnea. Es, además, un buen mordiente para las coloraciones que se efectúan con ciertas substancias derivadas de la anilina.

Materias colorantes. — Las sustancias incluídas en este grupo tienen la propiedad de teñir los elementos y tejidos de diversa manera y en distintas tonalidades. Hay unas sustancias que colorean uniformemente toda clase de células sin distinción de especies celulares ni de partes constituyentes del elemento anatómico; á estas materias se las conoce con el nombre de *sustancias colorantes por imbibición ó difusas*: otras tiñen unos elementos y otros no, y aun se fijan de preferencia en ciertas partes de los primeros; á estas materias se las llama *sustancias colorantes por selección*; y, finalmente, existen otras que tiñen porque en contacto de los tejidos se descomponen y depositan encima de ciertos elementos un polvo finamente dividido que en la mayoría de los casos es producto de la reducción de un metal; se conocen estas materias con el nombre de *sustancias colorantes por impregnación*. Pudiera añadirse aún un cuarto grupo en el cual se incluyeran ciertas materias que, al combinarse con cuerpos extraños ó propios del tejido, forman un cuerpo insoluble que se deposita de preferencia en ciertos elementos; tal ocurre, por ejemplo, con la laca insoluble que forma la hematoxilina con las sales de cromo que se fija sobre las fibras nerviosas mielínicas, y como también ocurre con el azul de metileno, que absorbido por las células nerviosas se transforma en insoluble exclusivamente dentro de ellas después de la acción del molibdato amónico.

No hemos de volver á insistir sobre los colorantes por impregnación, ya que de ellos nos hemos ocupado al tratar de ciertas sales metálicas como el cloruro de oro, el nitrato de plata, etc.

El resto de las materias colorantes son compuestos orgánicos obtenidos unos de animales ó vegetales y otros producto de derivación de la anilina, del antraceno y de la naftalina.

Nos parece el procedimiento más sencillo para estudiar sucesivamente las materias colorantes, agruparlas según la tonalidad de sus disoluciones y siguiendo la gama espectral.

COLORANTES ROJOS. — En este grupo se encuentran las siguientes sustancias (de las que no describiremos más que las de uso más frecuente): carmín, orceína, safranina, rojo neutro, fucsina alcalina, fucsina ácida, croseína, punzó P.R., Burdeos R., rojo del Congo, benzopurpurina, eosina, rojo de Magdala, etc.

Carmín. — Es una sustancia que se obtiene de un hemíptero, el *coccus cacti*, y que se presenta en forma de un polvo de color rojo oscuro insoluble en el agua, pero soluble en los líquidos alcalinos, tales como el agua amoniacal, las disoluciones de alumbre, cal, etc. El carmín, según LIEBERMANN, sería un compuesto proteico de ácido carmínico unido á la alúmina y á la cal.

El ácido carmínico se puede emplear solo y se presenta en forma de un polvo higroscópico de color pardo púrpura y soluble en el agua y en el alcohol.

Es un buen colorante nuclear y puede emplearse tanto la cochinilla, que es el insecto donde se extrae el carmín, como el carmín en sustancia ó el ácido carmínico.

La cochinilla se emplea en la siguiente fórmula:

Cochinilla pulverizada	1 gramo
Alumbre ordinario	5 gramos
Agua destilada,	100 —

Hiérvase, déjese enfriar, fíltrese y añádase un poco de ácido salicílico, ó un terroncito de alcanfor para evitar el desarrollo de mohos.

MAYER ha recomendado, en substitución de la anterior, la siguiente fórmula:

Cochinilla	5 gramos
Cloruro de calcio	5 —
Cloruro de aluminio	5 centigr.
Acido nítrico	VIII gotas
Alcohol de 50°	100 cent. cúb.

Para preparar este reactivo, se pulveriza primeramente la cochinilla y después se la mezcla con las sales, se agrega el alcohol y el ácido, se calienta hasta la ebullición, se deja enfriar y después de varios días se filtra.

El carmín en substancia se emplea en distintas fórmulas. Las principales son las siguientes:

1.º Carmín aluminoso de GRENACHER.

Carmín	1 gramo
Alumbre ordinario	2 gramos
Agua destilada.	100 —

Hiérvase, déjese enfriar, fíltrese y agréguese un cristal de timol, un poco de ácido salicílico ó un terroncito de alcanfor.

2.º Carmín litinado de ORTH.

Carmín	2 gramos
Disolución saturada de carbonato de litina	100 —

Fíltrese.

3.º Carmín alcohólico de MAYER.

Carmín	4 gramos
Alcohol de 80°.	100 cent. cúb.
Acido clorhídrico	XXV gotas

Hiérvase en baño de maría durante media hora, neutralícese con amoníaco y fíltrese.

Puede usarse el carmín unido al ácido pítrico para obtener dobles coloraciones, constituyendo la substancia que se conoce con el nombre de *picrocarminato de amoníaco*. Se han dado una porción de fórmulas para preparar este reactivo, pero indudablemente la más práctica de todas es la propuesta por LÖWENTHAL:

Sosa cáustica	5 centigr.
Carmín	4 —
Agua destilada	100 gramos

Hiérvase por espacio de quince minutos, dilúyase en 200 centímetros cúbicos de agua y agréguese poco á poco una disolución de ácido pítrico al 1 por 100 hasta que deje de disolverse el precipitado que se forma; fíltrese dos ó tres veces y consérvase en frascos bien tapados.

El ácido carmínico, cuyo uso es más reciente que el del carmín en substancia y el de la cochinilla, se emplea de preferencia para los teñidos en masa, pues tiene la propiedad de no sobrecolorar nunca los tejidos. Las fórmulas con las que se obtienen mejores resultados son las siguientes:

1.º Ácido carmínico aluminoso de MAYER.

Acido carmínico	1 gramo
Alumbre	10 gramos
Agua destilada.	200 cent. cúb.

Disuélvase en caliente, fíltrese y agréguese timol, alcanfor ó ácido salicílico.

2.º Paracarmín de MAYER.

Acido carmínico	1 gramo
Cloruro de aluminio	5 centigr.
Cloruro de calcio	4 —
Alcohol de 70º	100 cent. cúb.

Déjese en reposo y fíltrese.

Fucsina. — Se conocen dos clases: la alcalina y la ácida. La primera se emplea en disoluciones alcohólicas concentradas, acuosas y acuoso-alcohólicas, y usándose además disuelta en agua fenicada y en agua saturada de aceite de anilina. Un ejemplo de las fórmulas en las que entra la fucsina es la recomendada por ZIEHL:

Fucsina	1 gramo
Acido fénico cristalizado.	5 gramos
Alcohol.	10 —
Agua destilada.	100 —

La fucsina ácida se usa en disolución acuosa al 0,5 por 100 ó bien unida al ácido pícrico en la mezcla siguiente:

Fucsina ácida (rubina)	1 centigr.
Disolución saturada de ácido pícrico	100 cent. cúb.

Safranina. — Es un excelente colorante nuclear, empleándose en la fórmula propuesta por PFITZNER.

Safranina	1 gramo
Alcohol absoluto	100 cent. cúb.
Agua destilada	200 —

Eosina. — Es una substancia soluble en agua ó en alcohol y se conocen una porción de variedades que difieren más que en otra cosa en su distinto grado de solubilidad, y que en su constitución química y propiedades histológicas son muy poco diferentes. Es un colorante plasmático que tiñe con mucha intensidad, por lo que se usa casi siempre en disoluciones muy diluídas.

Las demás substancias colorantes de este grupo se usan menos que las precedentes, siendo su solubilidad distinta para cada una de ellas. Así, por ejemplo, el *rojo neutro*, el *punzó* y el *Burdeos R.*, el *rojo del Congo* y la *benzopurpurina* se disuelven en agua; el *rojo de Magdala* en agua caliente y en alcohol.