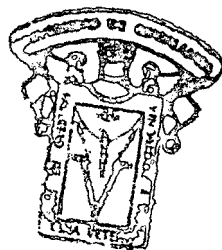


UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



REVISTA DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**MODIFICACION Y COMPARACION ENTRE EL
METODO ORIGINAL DE GOLGI Y EL DE GOLGI
MODIFICADO POR COX PARA LA VISUALIZACION
DE LAS NEURONAS Y SUS PROLONGACIONES DE
LA CORTEZA CEREBRAL Y CEREBELOSA
EN CANINOS.**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
MIGUEL ANGEL CAMPOS ACOSTA
Asesor: M.V.Z. Raúl Leonel de Cervantes Mireles
GUADALAJARA, JALISCO, 1987

A la memoria de mi madre
Ma. del Carmen Acosta Araujo.

A mi padre:
Alvaro Campos Sandoval.

Especialmente para mi hermano
Alvaro por toda la ayuda que
me prestó durante mi carrera.

A mis hermanos:

Jaime Alberto

Alejandro

Luis

Con mucho cariño por mantener
siempre una familia unida.

Mi agradecimiento a mi Asesor
y amigo:

M.V.Z. Raúl Leonel de Cervan-
tes Mireles.

Al H. Jurado con el respeto
que se merece:

M.V.Z. Alfonso Ortiz Pérez

M.V.Z. Guillermo Valtierra Alvarez

M.V.Z. Pablo Haro Haro.

M.V.Z. Palemon García Real.

M.V.Z. Rafael Berber Iniguez.

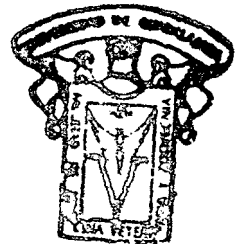
Al M.V.Z. Víctor Barragán Cano
por su gran ayuda, sus consejos
y la amistad que me brinda.

Al Departamento de Histología
y Patología por las facilida-
des para realizar el presente
trabajo.

A todos mis amigos y aquellas
personas que han estado con--
migo.

I N D I C E

	PAG.
INTRODUCCION	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
OBJETIVOS	11
MATERIAL Y METODOS	12
RESULTADOS	18
DISCUSION	30
CONCLUSIONES	34
SUMARIO	35
BIBLIOGRAFIA	37



OFICINA DE
ESTUDIOS Y ESTADÍSTICA

INTRODUCCION

El estudio de la estructura de los organismos es el objeto fundamental de las ciencias morfológicas y constituye la parte más antigua y quizás la más extensa de la Biología. Al principio, el estudio de las estructuras se hacía a simple vista, después de la disección con cuchillos (4). Luego, comenzaron a usarse lentes simples como auxiliares para distinguir detalles finos y texturas. Las lentes compuestas permitieron aumentos mucho mayores. Así, -- a principios del siglo XVIII, la morfología fue dividida en una parte macroscópica y otra microscópica. El advenimiento del microscopio abrió de esta manera el campo para el nacimiento de una multitud de disciplinas científicas, entre ellas, la histología. (4,6).

El desarrollo de la anatomía microscópica avanzó lentamente durante el siglo XVIII, el nacimiento de las técnicas de tinción empezaron a jugar su trascendente papel. Las técnicas de tinción sirvieron para descubrir la arquitectura y organización histológica de los órganos, así como algunos aspectos de su fisiología (4,6,12).

Durante algún tiempo la estructura del sistema nervioso no era muy bien comprendida; pues las técnicas de tinción no eran capaces de dar una idea muy clara sobre su real arquitectura (4). No fue sino hasta que en el año de

1873, el anatomista Italiano Camilo Golgi publicó un trabajo en donde comunicó un método histológico que hacía posible la visualización de las células nerviosas en toda su extensión y recomendó el método de impregnación argéntica para las investigaciones del sistema nervioso central (4,5,6, 12).

Al principio, el método de Golgi se consideró caprichoso y poco seguro. Sin embargo, Santiago Ramón y Cajal lo mejoró y creó otros métodos de impregnación argéntica con los cuales investigó sistemáticamente la histología del sistema nervioso (5,6). De esta manera, el método Golgi se popularizó y abrió el camino para que se crearan gran cantidad de modificaciones a su técnica y se utilizara el método de impregnación argéntica como modelo de investigación científica (3,5,6,9).

Entre las técnicas de impregnación más comúnmente usadas que se desarrollaron a partir del método de Golgi se encuentran:

- 1).- Método de Bielschowsky (modificación de Davenport).
- 2).- Método de Bodian (modificación de Rusell)
- 3).- Método de Davenport
- 4).- Método de del Río-Hortega.
- 5).- Método de Glees para axón en secciones de --
parafina.

- 6).- Método de Golgi-Cox cromato de zinc para ner
vios, células y sus prolongaciones.
- 7).- Método de Holzer para fibras gliares.
- 8).- Método de Peter proteinato de plata para fi-
bras gliares.
- 9).- Método de Ramón y Cajal cloruro de oro subli
mado.
- 10).- Método de Ranvier cloruro de oro para termi-
naciones nerviosas.
- 11).- Método Rápido de Golgi (Kemali).

Existen otro gran número de técnicas, pero no son tan usadas como las mencionadas anteriormente (3,4,5,7,9, - 10,11,13,14,16).

Los métodos de impregnación metálica no se limi-
tan a las investigaciones sobre el sistema nervioso y el uso de la plata, también se han usado para impregnar tejidos algunas sales de osmio, oro, mercurio, plomo; asimismo la impregnación metálica ha servido para evidenciar y carac
terizar algunos elementos celulares y tisulares no nervio-
sos, que son poco destacados con otras técnicas (3,5,6,7,12, 16):

Actualmente las técnicas argénticas son poco em-
pleadas por los investigadores, sólo algunos de los discipu-
los inmediatos de sus creadores las han seguido en peque--

ños grupos aislados (4).

La ventaja del método de Golgi es que se puede impregnar una neurona individualizada con sus dendritas rami-
ficadas y el axón, además que permite seguir el curso de --
sus prolongaciones durante un buen trayecto; asimismo neu-
ronas que estan adyacentes quedan sin impregnar. (5).

El método de Impregnación de plata de Golgi emplea el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) como oxidante, antes de -
la impregnación metálica para precipitar la plata en los te
jidos. Estas sales de plata son reconocibles en la sección
como un gris oscuro o como un área negra, que son coloca--
das en ciertos espacios del tejido. Se utiliza el término¹
de impregnación o reducción porque el material coloriado es
tá físicamente tomado como un precipitado o como un produc-
to de reducción, mientras que en la tinción el colorante pe
netra en el tejido (3,5,12).

La impregnación de plata es satisfactoria cuando'
esta demuestra ciertas estructuras de un tejido, mientras de
ja inafectados al resto de los otros componentes. Los mé--
todos de impregnación de plata necesitan ser efectuados con
la más exacta precisión porque una alteración leve en la --
técnica puede causar un resultado inadecuado (3,4,5,9,12).

En términos químicos, los métodos de impregnación

de plata pueden ser divididos en tres clases:

Primero, las sales de plata reaccionan con un componente de un tejido produciendo una sal insoluble de plata, y esta es reducida a plata metálica por la acción de la luz (que actúa como un agente reductor o sensibilizador), - lo que se le conoce como argentafinidad. El ejemplo es el de Fleish y Von Kossa que impregnaron esferulas y espículas calcificadas con soluciones amoniacaes de plata, sin la necesidad de añadir un agente extrínseco al componente, ya que la plata se deposita sobre el calcio. Y la luz reduce la plata haciendose visible el calcio (3,4).

Segundo, algunos tejidos tienen sustancias con fuertes propiedades reductoras. Estas sustancias pueden ser presentadas naturalmente en los tejidos, o pueden haber sido producidas por tratamiento químico antes de que la plata sea aplicada. Las sustancias biológicas que tienen esta propiedad reductora son usualmente dentro de un carácter fenólico. Algunos tejidos en producir estas sustancias son melanina, los granulos de las células de Kultschizky de la mucosa intestinal y tumores carcinoideos. La demostración de estas sustancias por impregnación de plata son a menudo referidas como argentafinidad (3).

Tercero, las sales de plata pueden reaccionar formando un depósito de plata metálica con la ayuda de un agen

te reductor extrínseco. El agente reductor en la mayoría de los métodos es la formalina, ocasionalmente la hidroquinona o el ácido pirogálico, a eso se le conoce como reacción argirófila. Esta reacción toma el sitio de depósito en dos etapas, empieza con una cantidad pequeña de plata metálica que es depositada en la sección en una estructura en particular antes de que un agente reductor sea agregado. Estas cantidades pequeñas son a menudo referidas como "núcleos" que son demasiado pequeños para ser detectados, aún con microscopio de gran poder. Cuando los agentes reductores son agregados, más plata metálica es formada; esta es depositada encima de los núcleos existentes, que aumentan de tamaño y se hacen suficientemente llamativos para ser vistos fácilmente con el microscopio. Algunos de estos métodos son usados únicamente para el cerebro, cordón espinal, nervios (3,5,8).

A continuación se mencionan los métodos originales, para que se pueda establecer una diferencia entre los métodos originales y los modificados.

Método original de Golgi.

1).- El método es propuesto para cerebros obtenidos por necropsia. Fijados por inmersión en formalina al 10% (4% HCHO). El material almacenado en formaldehído por años o décadas también puede ser usado; Si el material es para estudio de animales experimentales son preferibles fi-

jaciones por perfusión con soluciones aldehído bufferado.

2).- Cortar el cerebro en bloques (rebanadas) de no más de 5 mm. de espesor y empezar la impregnación de Golgi.

3).- Sumergir los bloques en un mordiente fresco' preparado (30g, $K_2Cr_2O_7$; 125 g. de sacarosa; 1000 ml., de agua destilada; 12.5 ml., de fomaldehído al 40%), conservar los bloques en la obscuridad a 27°C por 8-10 días.

4).- Enjuagar los bloques brevemente en agua destilada y en varios cambios de nitrato de plata acuosa al 0.75%.

5).- Conservar los bloques en la obscuridad' en una solución de nitrato de plata ($AgNO_3$) al 0.75% a 27°C de 2 a 6 días.

6).- Lavar brevemente en agua destilada. Cortar en secciones a 100 μ m., en el microtomo de congelación. Colectar las secciones en ethanol al 70%.

7).- Deshidratar rápidamente por medio de grados' seriados de ethanol, aclarar con xilol.

8).- Aplicar el cubreobjetos con un medio de mon-

taje sintético.

Resultado:

El fondo es de color amarillo pálido; y las células y sus prolongaciones son de color negro (2).

Método de Golgi modificado por Cox.

1).- Obtener cortes de cerebro en bloques delgados (rebanadas) de 2 a 5 mm. que han sido fijadas en formalina durante 2 meses a 2 años fijaciones más largas, arriba de 4 meses, son preferibles.

2).- Remojar los bloques por 2 días en 6 g, de Cromato de Zinc; 4 ml., de ácido fórmico al 90%; agua destilada hasta hacer 100 ml.

3).- Secar y dejar libre de cromato; agitar en nitrato de plata al 0.75% hasta que toda la superficie esté rojo púrpura.

4).- Introducir el tejido en una solución de nitrato de plata al 0.75% durante 48 horas, hacer cambio a una solución nueva a las 24 hrs. limpiando el cromato de plata precipitado con un pincel de pelo de camello después de cada cambio.

5).- Deshidratar con 2 cambios de alcohol de 95%

y 2, de absoluto por 15 minutos en cada uno, aclarar con xilol por 10 minutos, e infiltrar por 10 minutos en parafina.

6).- Seccionar el bloque entero en series de 90 a 100 Mm., y almacenar las secciones seriadas en alcohol de 95%.

7).- Deshidratar las secciones con varios cambios de alcohol absoluto; aclarar con alcohol-xilol y varios cambios de xilol quitando las pérdidas de cromato de plata en el proceso. Montar sobre un portaobjetos.

8).- Cubrir las secciones con varias aplicaciones de permount y dejar secar de 5 a 7 días.

9).- Humedecer la superficie de permount con tolueno, aplicar un cubreobjetos, y dejar las láminas en un lugar caliente por unas cuantas horas con pequeños pesos de plomo encima del cubreobjetos.

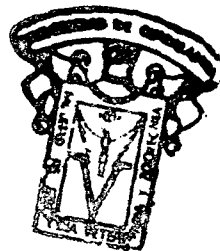
Resultado:

El fondo es de color amarillo pálido; y las células aisladas y sus prolongaciones son de color negro (11, 18, 19).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Las técnicas que se manejan en el Departamento de Histología rutinariamente sólo permiten la observación del Soma (cuerpo) y para la visualización de las neuronas y sus prolongaciones es necesario utilizar técnicas especiales a base de Impregnación Argéntica y equipo sofisticado que no se encuentra en el Departamento de Histología.

Y si para elaborar las técnicas de Impregnación - no se tiene todo el equipo necesario, debemos buscar modificaciones a las técnicas de Golgi y la de Golgi modificado - por Cox; que se han elegido para este trabajo, las cuales - nos permitan utilizar el equipo ya existente en el Laboratorio de Histología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara.



SECRETARIA DE
EDUCACION Y CIENTIFICO

OBJETIVOS.

1).- Comparar los métodos propuestos para escoger por sus características y las modificaciones hechas la técnica que mejor se acomode a los fines didácticos para la enseñanza y la mayor comprensión del sistema nervioso.

2).- Dotar al Departamento de Histología de material didáctico para mejorar el aprovechamiento de los alumnos en el estudio del sistema nervioso.

3).- Hacer acopio del Departamento de Histología de los reactivos, materiales y métodos necesarios para poder efectuar las técnicas modificadas de Golgi y la de Golgi - Cox.

4).- Capacitar al personal del Laboratorio de Histología para poder realizar las técnicas modificadas de Golgi y la de Golgi-Cox.

5).- Dejar antecedentes para que se sigan realizando técnicas a base de impregnación argéntica.

6).- Acrecentar el número de técnicas histológicas que pueden ser manejadas en el Laboratorio de Histología.

MATERIAL Y METODOS.

El presente trabajo se realizó en el Departamento de Histología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara.

Se trabajó con 30 muestras de corteza cerebral y cerebelosa de caninos que llegaron para necropsia al Departamento de Patología, con menos de 4 horas de muertos.

Modificación al método original de Golgi.

1).- Obtener cortes delgados de la corteza cerebral y cerebelosa de 2 a 5 mm. de espesor, fijados con formaldehído bufferado al 10% durante por lo menos 1 semana.

2).- Sumergir los bloques en una solución de 30g, $K_2Cr_2O_7$; 125 g., de sacarosa; 1000 ml. de agua destilada; -- 12.5 ml de formaldehído al 40%; conservar los bloques en la -- obscuridad a 27°C por 8-10 días.

3).- Enjuagar los bloques brevemente en agua destilada y en varios cambios de nitrato de plata acuoso al -- 0.75%.

4).- Conservar los bloques en la obscuridad en -- una solución de nitrato de plata ($AgNO_3$) al 0.75% a 27°C de 2-6 días.

5).- Lavar los bloques con agua destilada; deshidratar, aclarar e infiltrar de parafina en el histoquinete' de manera usual. Y bloquear en parafina (en el método original de Golgi la deshidratación y el aclarado se hace después del corte por congelación y no se utiliza la infiltración ni el histoquinete).

6).- Cortar las secciones de 100 a 120 Mm., en el microtómo para cortes en inclusión en parafina, el corte se pone en el baño de flotación a una temperatura de 46°C para desarrugar el corte y luego se coloca en un portaobjetos -- (en el método original de Golgi se usa un microtómo de congelación).

7).- Desparafinizar en la estufa a 60°C y xilol, se monta con resina sintética.

Modificación del Método de Golgi-Cox.

1).- Obtener cortes de corteza cerebral y cerebelosa de 2-5 mm. de espesor, fijados con formaldehído bufferado al 10% durante por lo menos 1 semana.

2).- Sumergir los bloques de tejido en una solución de 6 g, de cromato de zinc; 4 ml. de ácido fórmico al 90%; agua destilada hasta aforar 100 ml., durante 48 horas.

3).- Secar y dejar libre de cromato; agitar en nítrato de plata (AgNO_3) al 0.75% hasta que toda la superficie esté de color rojo púrpura.

4).- Introducir el tejido en una solución de nítrato de plata al 0.75% durante 48 horas, hacer cambio a -- una solución nueva a las 24 horas limpiando el cromato de -- plata precipitado con un pincel de pelo de camello después' de cada cambio.

5).- Deshidratar, aclarar e infiltrar en parafina en el histuquinete de manera usual. El proceso que se le da en el histuquinete es una deshidratación con alcoholes -- seriados en una forma graduada de 60°, 80°, 85°, 90°, 95°, y dos de 100° (con duración de 1.15 horas en cada uno de ellos), -- la aclaración es con benceno y xilol (con duración de 30 -- minutos en cada uno de ellos) y se infiltra con parafina -- (durante 2 horas), el tiempo del proceso dura 12 horas aproximadamente. Con esta modificación se le da un proceso en' forma graduada de deshidratación, aclaración e infiltración en parafina para llegar a una infiltración total. (El método de Golgi-Cox utiliza pra deshidratar 2 alcoholes al 95% -- y 2 al 100% (15 minutos en cada uno de ellos), se aclara -- con xilol (10 minutos), se infiltra en parafina (10 minu-- tos), quedando una infiltración superficial e incompleta).

6).- Bloquear en parafina.

7).- Hacer en el microtómo cortes seriados de 60- a 100 Mm., se pone el corte en el baño de flotación a una temperatura de 46°C para desarrugar el corte y luego se coloca en el portaobjetos.

8).- Deparafinizar en la estufa a 60°C y xilol, se monta con resina sintética.

Las observaciones de las células nerviosas y sus prolongaciones fueron hechas en un microscopio Collegiate-400, posteriormente se realizaron los dibujos en un microscopio Carl Zeiss de cámara lúcida o clara; con los aumentos X 100 y X 400.

Precauciones prácticas:

Los métodos de impregnación de plata requieren de un cuidado considerable, es esencial para este punto una absoluta pureza y una limpieza de todos los reactivos y materiales de vidrio que son usados:

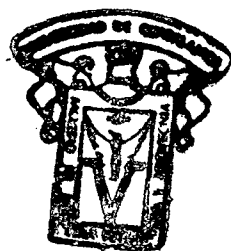
1).- La atmósfera debe estar libre de polvo.

2).- Se debe de evitar el uso de recipientes de metal.

3).- No utilizar botellas de tapón de corcho.

- 4).- Los instrumentos de metal no deben estar en contacto con la solución de plata, para esto se deben cubrir las pinzas con parafina o -- usar instrumentos de madera.
- 5).- Conservar un juego de cristalería sólo para impregnaciones de plata.
- 6).- El material de vidrio deberá enjuagarse a fondo en diversos tiempos en agua corriente' y después aclarar con 4 o 5 cambios de agua' destilada.
- 7).- Los portaobjetos deberán manejarse por los extremos.
- 8).- Preparar la solución de plata antes de usarse.
- 9).- El nitrato de plata es corrosivo, por lo tanto debe ser manejado con cuidado y conservar se lejos de la ropa y la piel.
- 10).- Si las soluciones de plata son almacenadas - deberán ser usados recipientes de plástico, - o de vidrio en este caso se le aplicará yeso adhesivo al recipiente, también se puede uti

lizar frascos de color ambar. Las soluciones se deben conservar fuera de la luz solar (3,4,5,9,14,16).



OFICINA de
DIFUSION CIENTIFICA

RESULTADOS.

Obtenidos con el método modificado de Golgi.

- A).- Las células y sus prolongaciones se ven de color negro.
- B).- El fondo es de color amarillo pálido.
- C).- Presencia de pocas células de la glia.
- D).- Presencia de pocos precipitados inespecíficos de plata.
- E).- Presencia de pocos vasos sanguíneos.
- F).- Se pudo observar los siguientes tipos de neuronas.

Corteza Cerebral.

Células horizontal de Cajal, células granulares (extrema e interna), células piramidales menores, células piramidales mayores, células estrelladas.

Corteza Cerebelosa.

Células horizontales de Cajal, células estrelladas, células de Purkinje, células en canasta, células de Golgi, células granulares.



Obtenidos con el método modificado de Golgi-Cox.

- A).- Las células y sus prolongaciones son de un café obscuro a un negro.
- B).- El fondo es de color amarillo pálido a un na ranja.
- C).- Presencia de gran número de células de la -- glia.
- D).- Presencia de gran número de precipitados ~~in-~~ inespecíficos de plata.
- E).- Presencia de gran número de vasos sanguíneos.
- F).- Se pudo observar los siguientes tipos de neu ronas.

Corteza Cerebral.

Células horizontales de Cajal, células granulares (externa e interna), células piramidales (menores y mayores), células estrelladas.

Corteza Cerebelosa.

Células horizontales de Cajal, células estrella-- das, células de Prukinje, células en canasta, células de -- Golgi, células granulares.

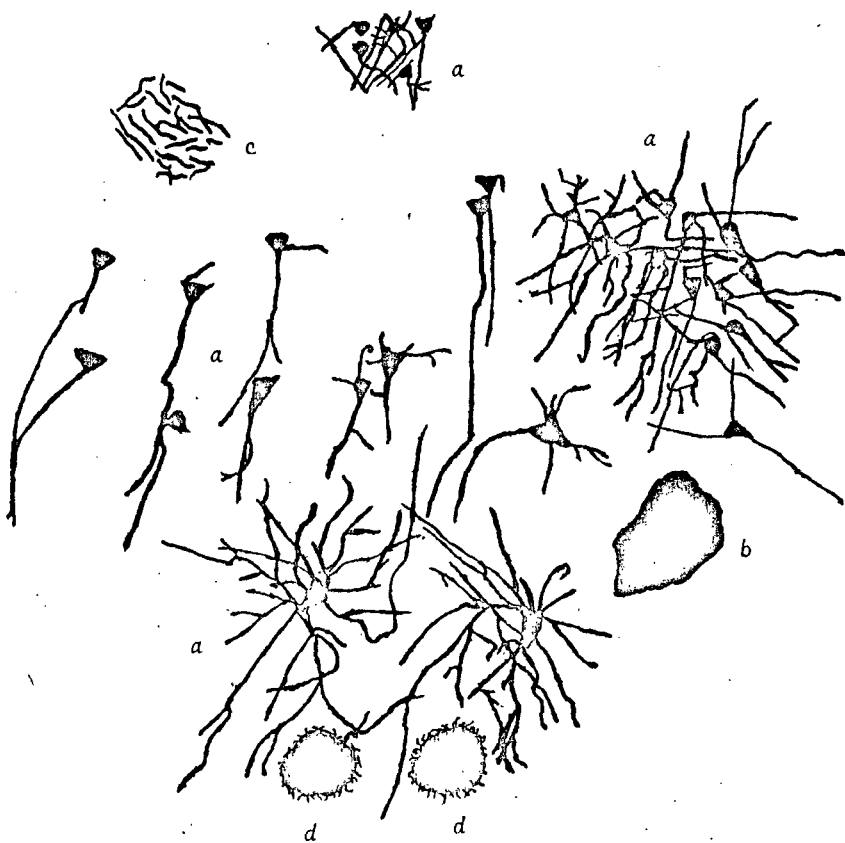


Fig. 1. Dibujo en el que se puede observar a, -w una mayor cantidad de neuronas; b, menor cantidad de precipitados inespecíficos; c, menor cantidad de vasos sanguíneos; d, menor número de células de la glia. En la corteza cerebral. Técnica modificada de Golgi (X 100).



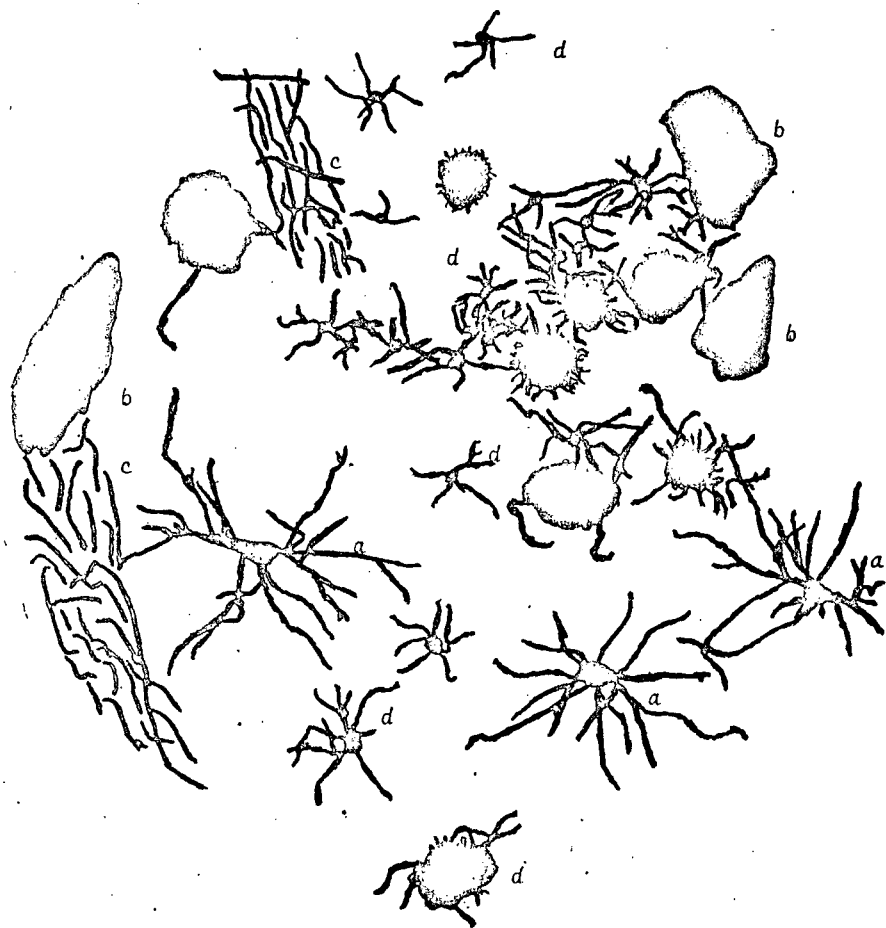


Fig. 2. Dibujo en el que se puede observar a, -- una menor cantidad de neuronas; b. mayor cantidad de precipitados inespecíficos; c, mayor cantidad de vasos sanguíneos; d, mayor número de células de la glia. En la corteza cerebral. Técnica modificada de Golgi-Cox (X 100).

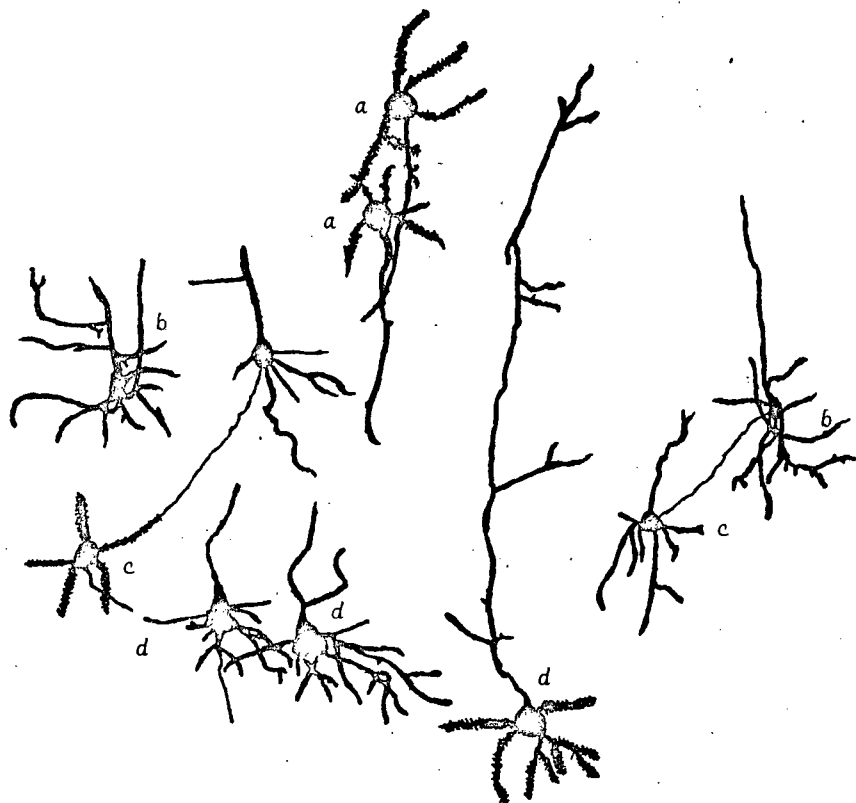


Fig. 3. Dibujo en el que se aprecian los siguientes tipos de neuronas; a, c, neuronas granulares (de la capa granular externa e interna respectivamente); b, neuronas de la capa piramidal menor; d, neuronas de la capa piramidal mayor. Corteza cerebral. Técnica modificada de Golgi - - - (X 100).

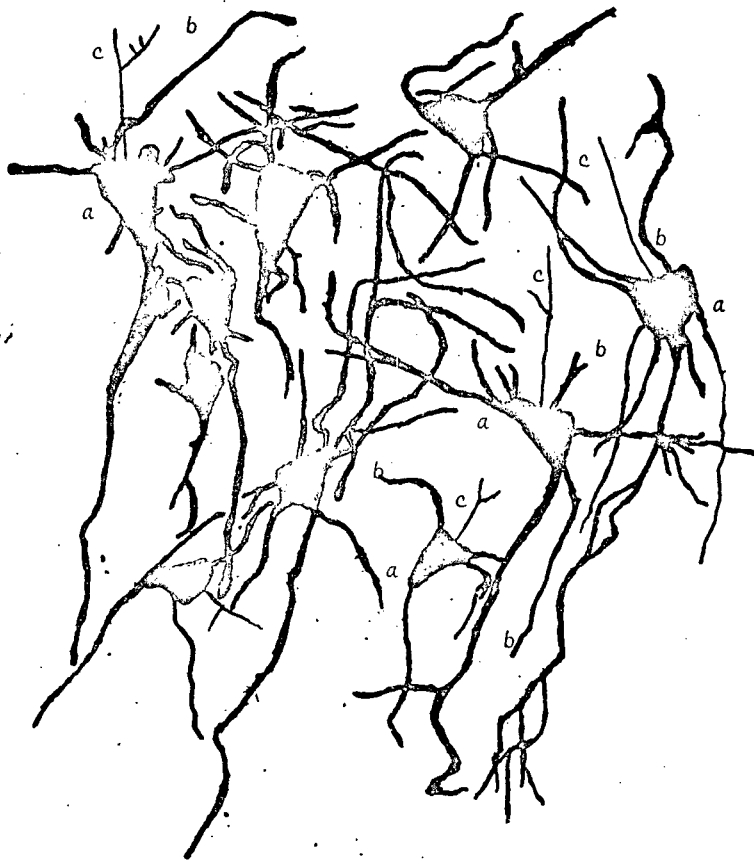


Fig. 4. Dibujo en el que se observan neuronas piramidales mayores; a, cuerpo; b, dendritas; c, axón. Corteza cerebral. Técnica modificada de Golgi (X 400)





Fig. 5. Dibujo en el que se pueden observar los siguientes tipos de neuronas; a, células horizontales de Cajal; b, células granulares (capa granular externa); c, células piramidales menores o pequeñas; d, células granulares (capa granular interna); e, neuronas piramidales mayores o internas; f, células estrelladas (capa polimórfica). Corteza Cerebral. Técnica modificada de Golgi (X 100).



Fig. 6. Dibujo en el que se pueden observar los siguientes tipos de neuronas; a, células horizontales de Cajal; b, células estrelladas; c, células en canasta; d, células de Purkinje; e, células de Golgi; f, células granulares; M, capa molecular; G, capa granular. Corteza cerebelosa. - Técnica modificada de Golgi (X 100).

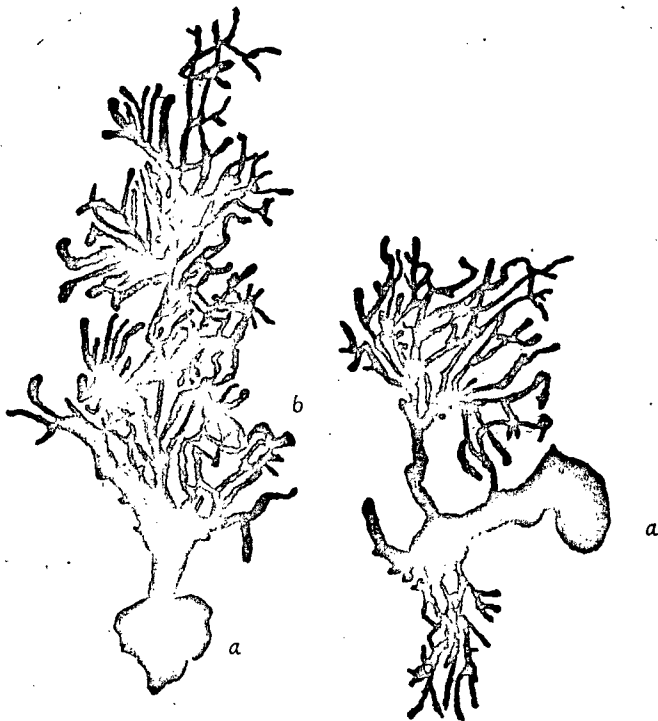
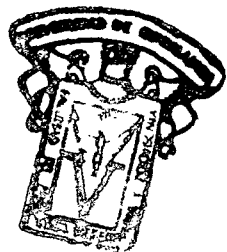


Fig. 7. Dibujo en el que se aprecian las células de Purkinje; a, cuerpo celular; b, prolongaciones dendríticas. Corteza cerebelosa. Técnica modificada de Golgi - - (X 400).



Fig. 8. Dibujo en el que se puede observar; a, -- neuronas piramidales mayores; b, astrocitos protoplasmáticos; c, oligodendrocitos. Corteza cerebral. Técnica modificada de Golgi-Cox (X 100).



OFICINA DE
DIFUSIÓN CIENTÍFICA

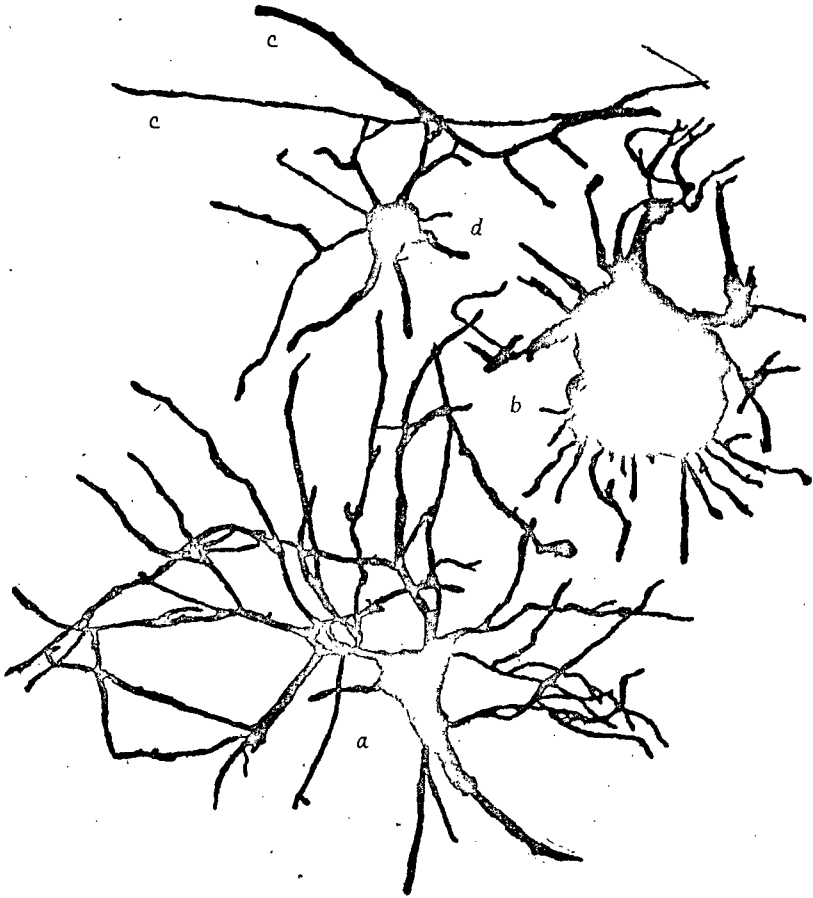


Fig. 9. Dibujo en el que se observa; a, neurona de la piramidal mayor; b, astrocito protoplasmático; c, vaso sanguíneo; d, oligodendrocito. Corteza cerebral. Técnica modificada de Golgi-Cox (X 400).

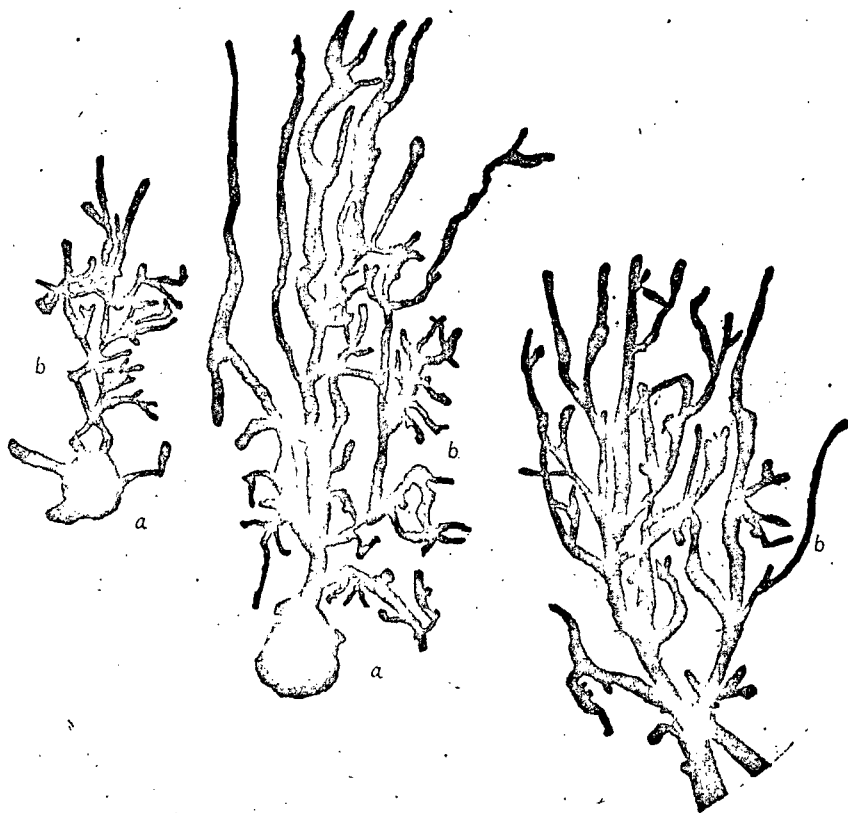
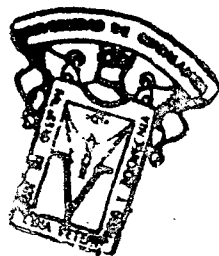


Fig. 10. Dibujo en el que se aprecian las células de Purkinje; a, cuerpo celular; b, dendritas. Corteza cerebelosa. Técnica modificada de Golgi-Cox (X 400).



INSTITUTO DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

DISCUSION.

La modificación que se le hizo al método original de Golgi consistió en que se utilizó el Histoquinete para deshidratar, aclarar e infiltrar en parafina y posteriormente cortar con el micrótopo para cortes en inclusión en parafina, y en el método original los cortes se realizan utilizando el micrótopo de congelación luego de esto se hace la deshidratación y la aclaración. Los factores para que se hicieran dichas modificaciones son que el Departamento de Histología no cuenta con micrótopo de congelación, aparte con estas modificaciones se evita el uso de equipo sofisticado, pudiéndose utilizar el ya existente en el Laboratorio de Histología.

La modificación que se le realizó al método de Golgi-Cox fue deshidratar, utilizando el aumento seriado en forma graduada de alcoholes mediante el histoquinete, utilizando 7 alcoholes (60°, 80°, 85°, 90°, 95° y dos de 100°), dos aclarantes (benceno y xilol). Además se le da mayor tiempo al proceso de deshidratación, aclaración e infiltración en parafina (12 horas). Y en el método de Golgi-Cox sólo se utiliza para deshidratar 4 alcoholes (dos de 95° y dos de 100°), un aclarante (xilol). Además se le da menor tiempo al proceso de deshidratación, aclaración e infiltración de parafina (1.20 horas).

Con la modificación hecha se le da al tejido una infiltración total en parafina, quedando éste con un espesor uniforme facilitando el corte y evitando que el tejido quede desgarrado con una forma irregular. Mientras que con el método de Golgi-Cox la infiltración del tejido en parafina es superficial e incompleta sólo para darle un cierto grado de dureza, provocando que a la hora de cortarlo gran parte del tejido se desgarre, haciendo que los cortes aparezcan irregulares en espesor y en una forma incompleta (por falta de un proceso completo de deshidratación, aclaración e infiltración en parafina).

Dado que se requieren de cortes muy gruesos (de 60-120 Mm.), en ambos métodos modificados se pueden utilizar micrótomos improvisados o hacer los cortes con una navaja, implementado de esta forma un método sencillo de fácil realización que no utilice material difícil de adquirir y de un alto costo.

Dentro de las ventajas que ofrece el método de Golgi modificado resultan mejores que las del método de Golgi-Cox modificado, pues nos ofrece una mayor cantidad de neuronas sobre un fondo más claro, es menor la cantidad de precipitados inespecíficos así como de vasos sanguíneos y además se observan menos células de la glia.

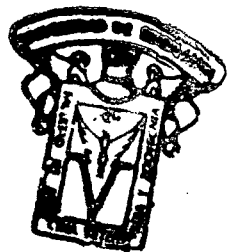
Los métodos originales recomiendan trabajar con -

tejidos de más de dos meses de fijación: y en los métodos modificados se pudieron utilizar tejidos con una semana de fijación. El método de Golgi ocupa mucho tiempo para su elaboración (15 días), en el método de Golgi-Cox se ocupa poco tiempo para su elaboración (5 días), ambos métodos no son selectivos por lo tanto no se puede predecir el porcentaje y el tipo de células que van a ser impregnadas.

Una característica distintiva de los métodos en cuestión es que sólo 1-10% de las células nerviosas existentes en el tejido es impregnada (1,11,20), y la variación de esos límites dependerá de la técnica en particular utilizada. Los factores que determinan la impregnación de este porcentaje de neuronas, células gliares e inclusive las estirpes celulares en particular, son prácticamente desconocidos. Diversos autores se han avocado al estudio de los factores bioquímicos que determinan la impregnación (1,15,21), pero hasta ahora existe poco concordancia entre los resultados obtenidos.

En la descripción de cada método están marcados los pasos esenciales, pero se debe tener en cuenta que se puede fracasar al realizar la técnica histológica aún cuando nos apeguemos a la metodología; esto se puede deber en gran parte a: El tiempo de fijación el cual varía de una región neural a otra y de una especie animal a otra, el volumen del fijador en relación al espesor del bloque,

la concentración de la solución, la naturaleza y pureza de los reactivos, la limpieza del material, la temperatura, -- la incidencia de la luz, el tiempo de impregnación además -- de ciertos eventos celulares postmortem y estados metabólicos del tejido antes de fijarlos (1,4,5,18,20).



OFICINA DE
DIVISION CIENTIFICA

CONCLUSIONES.

Con las modificaciones hechas a los métodos:

a).- *Se pudo utilizar el equipo ya existente en el laboratorio, además no se requiere de materiales y reactivos de alto costo y de difícil adquisición.*

b).- *Ambos métodos de impregnación argéntica no son selectivos para visualizar únicamente neuronas, ya que en algunas ocasiones también impregnan células de la glia.*

c).- *El método de Golgi ofrece un mayor número de neuronas sobre un fondo más claro, es menor la cantidad de precipitados inespecíficos así como de vasos sanguíneos y además se observan menos células de la glia. En el método Golgi-Cox se presenta un menor número de neuronas sobre un fondo oscuro, habiendo una mayor cantidad de precipitados inespecíficos y de vasos sanguíneos, además se observa un mayor número de células de la glia.*

d).- *Aún cuando el método original de Golgi ofrece ventajas sobre el método de Golgi-Cox para la visualización de las neuronas, no se puede seleccionar la cantidad y la estirpe de células nerviosas impregnadas.*

SUMARIO.

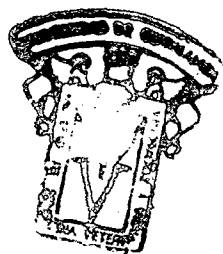
El presente trabajo se realizó en el Departamento de Histología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara.

Se utilizó la corteza cerebral y cerebelosa de 30 caninos con menos de 4 horas de muertos.

La modificación del método de Golgi consistió en que se utilizó el histoquinete para deshidratar, aclarar e infiltrar en parafina y posteriormente cortar con el micró-tomo para cortes en inclusión de parafina, pues en el método original de Golgi los cortes se realizan utilizando el micró-tomo de congelación.

La modificación del método de Golgi-Cox fue deshidratar con un aumento seriado y en forma graduada de alcoholes, aumento en el número de aclarantes y del tiempo del proceso. Ya que el método de Golgi-Cox utiliza un menor número de alcoholes, aclarantes y con menor tiempo en el proceso. Obteniendo que el tejido quede con una infiltración superficial e incompleta dando cortes desgarrados e irregulares, y con la modificación el tejido queda con una infiltración total facilitando el corte evitando que éste se desgarre y dé una forma irregular.

Como resultado se obtuvo la visualización de las células y sus prolongaciones, llegándose a considerar que es mejor el método modificado de Golgi que el de Golgi-Cox. Con estos métodos se puede utilizar el equipo existente en el Departamento de Histología.



FACULTAD DE
MEDICINA

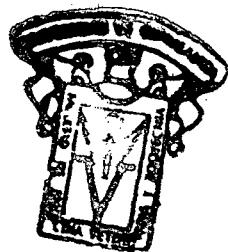
BIBLIOGRAFIA.

- 1).- Bertram, E.G., Sheppard, C., "A possible explanation for the Golgi impregnation of neurona", *Anat. Rec.* 148: 413 (1964).
- 2).- Braak Heiko, "Transparent Golgi Impregnations: -- Away to examine Both details of cellular processes and components of the nerve cell body", *Stain -- Technology*, 58 (2): 91, 92 (1983).
- 3).- Desbrey D.B., Rack G.A., "Histological laboratory methods", *Edinburgh and London, E. & S., Livingstone*, (1970), pp. 205-262.
- 4).- Estrada F.E., Peralta Z.L., Rivas M. P., "Manual de técnicas Histológicas", *Primera Edición, México, A.G.T. Editor S.A.*, (1982), pp. 9-26 105-110.
- 5).- Gray Peter, "The encyclopedia of microscopy and microtechnique". *New York, Van Nostrand Reinhold Company*, (1973), pp. 225-232, 539.
- 6).- Ham A.W., "Tratado de Histología". *Sexta Edición, México, Interamericana*, (1970), pp. 4-8, 12-14, - 476, 503.

- 7).- Hammersen Frithjof, "Histología. Atlas en color de Citología, Histología y Anatomía microscópica", Segunda Edición, México, Salvat, (1982), pp. 80, -- 81.
- 8).- Hayat M.A., "Principles and techniques of electron microscopy", Van Nostrand Reinhold Company., 8: -- 113-115, 144-148, 285-288. (1978).
- 9).- Humanson G.L., "Animals tissue technique", fourth Edition, San Francisco, W.H. Freeman and company, (1979), pp. 162-165, 175-203.
- 10).- Kemali Minela, "A modification of the rapid Golgi Method", Stain Technology, 53 (3): 169-172 (1976).
- 11).- Lille R.D. and Fulmer H.M., "Histopatologic technique and practical histochemistry", fourth Edition, United States of America, Mc, Graw, (1976), pp. -- 766-786.
- 12).- Lopez Piñero J.M., "Cajal" Primera Edición, Barcelona España, Salvat Editores, S.A., (1985) pp. -- 109-215.

- 13).- Luna Lg., "Manual of histologic staining of the -
Armed Forces Institute of Pathology", Third Edition
New York, Mc. Graw-Hill, (1968).
- 14).- Martoja R., Martoja-Pirson, "Técnicas de Histolo-
gía Animal", Primera Edición, Barcelona. Toray---
Masson, S.A. (1970), .p.p.133-152
- 15).- Morest, D.K., Morest, R.R., "perfusión-fixation -
of the brain with chrome-osmium solutions for the
rapid Golgi method", Am. J. Anatomic, 118: 811 --
832 (1966).
- 16).- Preece Ann, H.T., "A manual for histologic techni-
cians", third Edition, seventh printing, Boston,-
Little, Brown and Company; (1972), pp. 214-218.
- 17).- Ramón y Cajal, S., de Castro, F., "Elementos de -
técnica micrográfica del sistema nervioso. Segun
da Edición, Barcelona España, Salvat Editores, --
S.A., (1972), 41-75.
- 18).- Ramón-Moliner, E., "A tungstate modification of -
the Golgi-Cox method", Stain Technology, 33: 19--
29 (1958).

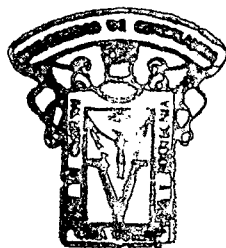
- 19).- Ramón-Moliner, E., "The Golgi-Cox technique", in "Contemporary research methods in neuroanatomy", - W.J.H. Nauta and S.O.E. Ebbesson, ed., New York - Springer-Verlag, (1970), pp. 32-52.
- 20).- Smit, G.J., Colon E.J., "Quantitative analysis -- of the cerebral cortex" "A selective of the Golgi -Cox staining technique", Brain Research, 13: --- 485-510 (1969).
- 21).- Valverde, F., "The Golgi method. A tool for comparative structural analysis", in "Contemporary - research methods in neuroanatomy", W.J.H. Nauta - and S.O.E. Ebbesson, ed., New York, Springer - - Verlag, (1970), pp. 12-31.



OFICINA DE
DIFUSIÓN CIENTÍFICA

FE DE ERRATAS

PAGINA	LINEA	DICE	DEBE DECIR
5	6	espículas	espículas
7	6	formaldehído	formaldehído



OFICINA DE
DIFUSION CIENTIFICA