



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
Unidad Xochimilco

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE  
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

INFORME DE CONCLUSION  
POR ACTIVIDADES RELACIONADAS CON LA PROFESIÓN  
“colaboración en el procesamiento de muestras de músculo para microscopia electrónica  
para apoyo al diagnóstico de enfermedades  
neuromusculares”

QUE PRESENTA EL ALUMNO (A):

**MALDONADO ESPINOSA DE LOS MONTEROS FERNANDA SAHAD**

2152030087

M. en C. Soto Castor Ruth  
Laboratorio de Ecología Microbiana  
Departamento el Hombre y su Ambiente  
(U.A.M. Xochimilco)  
No. Econ. 24789

Lic. en Biol. Francisca Fernández  
Valverde  
Departamento de  
Neuropatología Experimental  
Ced. Pr

## **INTRODUCCION**

El Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “ Manuel Velasco Suárez”, con dirección en Av. Insurgentes Sur 3877, La Fama, Tlalpan, 14269 Ciudad de México, CDMX.

## **MARCO INSTITUCIONAL**

El Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez” (INNNMVS), fue creado mediante Decreto del Ejecutivo Federal el 27 de febrero de 1952, su organización y funcionamiento están regulados por la Ley de los Institutos Nacionales de Salud, publicada en el Diario Oficial de la Federación del 26 de mayo de 2000.

En la actualidad, el Instituto es un Organismo Descentralizado Autónomo de la Administración Pública Federal, con personalidad jurídica y patrimonio propio, que se rige por el reglamento de la Ley General de los Institutos Nacionales de Salud vigente desde el 26 de mayo de 2000.

## **MISION**

Contribuir al bienestar y la equidad social en cumplimiento con el derecho de protección a la salud a través de la innovación científica, la excelencia académica y, la calidad y seguridad de los servicios de salud en el ámbito de las ciencias neurológicas.

## **VISION**

Ser la Institución Pública de Salud líder a nivel nacional y en América Latina, en investigación y difusión científica, en la formación de capital humano y en la promoción de hábitos saludables y atención médica integral en el campo de las enfermedades del sistema nervioso.

## **COMPROMISO SOCIAL**

El Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, no sólo se destinará al estudio y atención de las enfermedades neurológicas, sino al tratamiento e investigación neuroquirúrgica, así como también al mejor conocimiento de los desórdenes mentales agudos. Como centro de enseñanza e investigación pura y aplicada esperamos que llegue a superar mucho de lo existente... está dedicado cariñosamente al pueblo todo y abre sus puertas para los que, sabiendo que aún nadie termina la carrera de Medicina, se consagren al estudio en progreso y debida atención a los enfermos del sistema nervioso y mentales.

## **OBJETIVO**

El objetivo principal el de dar a conocer los factores histopatológicos pronosticos en relación con probable conducta biológica y no solo proporcionar un diagnostico especifico. Sin embargo, existen algunos elementos histopatológicos que no permiten en ocasiones, la precisión diagnostica morfológica, por lo tanto el diagnostico final deberán hacerse de manera interdisciplinaria.

Descripción específica de las actividades desarrolladas.

procesamiento en frío: es una serie de métodos y técnicas utilizados para poder estudiar las características morfológicas y moleculares de los tejidos.

El proceso histológico comienza con la obtención del tejido, en este caso se tomaban muestras a través de una biopsia de musculo, ya sea del brazo o de la pierna del paciente, una vez obtenido este tejido o muestra se procede a fijarla, fijar un tejido significa mantener las estructuras moleculares y celulares sin alteración alguna para los siguientes procesos, la fijación a la que se procedió fue a la congelación rápida. . La fijación por congelación se emplea cuando la fijación química o los procesos histológicos posteriores alteran las características de la muestra que queremos estudiar, por ejemplo una molécula sensible a dichos tratamientos. Tras la fijación es habitual **incluir el tejido** para posteriormente obtener secciones. También se puede conseguir el mismo efecto mediante **congelación** rápida. Cortes más gruesos de 40  $\mu\text{m}$  se pueden cortar sin necesidad de inclusión usando el microtomos de congelación. Los medios de inclusión no son normalmente hidrosolubles por lo que tendremos que sustituir el agua de los tejidos por solventes orgánicos liposolubles y posteriormente sustituirlos por el medio de inclusión.

corte;

Tras la inclusión o la congelación se procede a **cortar los tejidos**, es decir, obtener secciones. Existen diferentes aparatos de corte que permiten conseguir secciones de distinto grosor: ultrafinas (del orden de nm), semifinas (de 0.5 a 2  $\mu\text{m}$ ), finas (entre unas 3 y 10  $\mu\text{m}$ ) y gruesas (mayores a 10  $\mu\text{m}$ ). Habitualmente las secciones se procesan para poder observarlas y estudiarlas, aunque ciertos tipos de microscopía, por ejemplo con contraste de fase, permiten observar secciones de tejidos sin procesar. Normalmente **las secciones se tiñen** con colorantes que son hidrosolubles, por lo que hay que eliminar el medio de inclusión para que los colorantes pueden unirse al tejido. Las secciones ultrafinas (observadas con el microscopio electrónico) o semifinas (observadas con el microscopio óptico) se pueden contrastar con metales pesados o con colorantes, respectivamente, sin necesidad de eliminar el medio de inclusión. Las secciones obtenidas a partir de muestras congeladas se pueden procesar u observar una vez llevadas a temperatura ambiente.

## HISTOLOGIA DE RUTINA

Tinciones generales. Aquellas que usan sustancias coloreadas que se unen a componentes tisulares por afinidad electro-química. En algunas sustancias coloreadas pueden observarse también con el microscopio de fluorescencia y, a veces, se emplean sustancias que tiñen a la mayoría o a todas las células (se unen al ADN) que sólo se observan con el microscopio de fluorescencia (Berk, A., Kaiser, C.A., Lodish, H., Amon, A., Ploegh, H., Bretscher, A., Krieger, M., Martin, K.C. 2016).

## H y E (HEMATOXILINA Y EOSINA)

;

La hematoxilina tiñe de violeta azulado intenso los ribosomas, la cromatina (material genético) dentro del núcleo y otras estructuras. La eosina tiñe de rosa anaranjado o rosado el citoplasma, el colágeno, el tejido conjuntivo y otras estructuras que rodean y sostienen la célula. La tinción con hematoxilina y eosina ayuda a identificar diferentes tipos de células y tejidos, y a obtener información importante sobre las características, la forma y la estructura celular de una muestra de tejido. Se usa para el diagnóstico de enfermedades como el cáncer. También se llama coloración de hematoxilina y eosina y tinción H y E.

## **AZUL DE TOLUIDINA**

El azul de toluidina (C.I. 52040) es un colorante catiónico que se puede usar en tinciones generales. Se emplea para teñir matrix extracelular, sobre todo en cartílago, pues pone de manifiesto proteoglicanos y glicosaminoglicanos, también para estudiar osteoblastos, mastocitos, botones gustativos, cromosomas y otros. Presenta metacromasia. Esta metacromasia es útil en los tejidos vegetales puesto que distingue las paredes celulares primarias de las secundarias. Molecularmente es una tiazina Pollard, T.D., Earnshaw, W.C., Lippincott-Schwartz, J., Johnson G. 2017).

## **TRICRÓMICO DE GOMORI (modificado)**

Esta tinción se usa para destacar el tejido muscular y el tejido conectivo propiamente dicho. Partimos de muestras que han sido fijadas en formol o Bouin e incluidas en parafina. Estas muestras se han cortado en secciones de unas 8  $\mu\text{m}$  y adheridas a portaobjetos recubiertos con gelatina. El resultado de estas tinciones a través del microscopio se ve con los siguientes colores; Colágeno: verde oscuro-celeste, Músculo: rojo, Citoplasma: rosado, Núcleos: negro (Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. 2015).

## **ROJO OLIOSO**

Esta tinción se utiliza para la detección de grasas neutras o gránulos de polietileno, el resultado de esta tinción en microscopio se ve; nucleos celulares en azul y lípidos rojo luminoso (Bio, 2002).

## **REACCIONES EZIMATICAS**

### **COX**

La ciclooxigenasa (COX) es la enzima clave en la síntesis de las prostaglandinas, a través de la oxidación del ácido araquidónico. Las prostaglandinas realizan tanto funciones relacionadas con la homeostasis de diversos órganos como con el dolor, la inflamación y el desarrollo de neoplasias (Crofford LJ, 1997).

Esta técnica tiene como ventaja de realizarse sobre cortes de tejido, a demás te permite visualizar de forma directa en que células ocurre la expresión de la enzima, por lo que puede determinarse si esta ocurre en las células neoplásicas, en células reactivas o inflamatorias (Dore 2011).

### **NADH**

La histoquímica, o más precisamente, la histo-enzimología de los músculos esqueléticos ha sido utilizada con éxito en la diferenciación de grupos de fibras funcionalmente distintas. Esto se debe a la gran concentración de enzimas oxirreductasas en los tejidos musculares, principalmente las de tipo diaforasa, como la nicotinamida adenina dinucleótida tetra-zolium reductasa (NADH-TR) (Dubowitz & Brooke, 1973).

La aplicación del método de la NADH-TR al estudio del tejido muscular esquelético, permitió la diferenciación de varios tipos de fibras metabólicamente distintas. En la práctica, el análisis de la morfología, histoquímica,

morfometría y la distribución de las fibras, han proporcionado una valiosa colaboración para el diagnóstico de numerosas miopatías. Con esta reacción, las fibras musculares pueden ser clasificadas en tipo I, reacción oxidativa fuerte, y tipo II, reacción oxidativa débil (Dubowitz *et al.*, 1985).

El laboratorio es uno de los elementos importantes que nos impartieron en esta institución, así como lo interdisciplinario, en este tiempo de realización de mi trabajo social, he aprendido técnicas en laboratorio, así como usos y reglas en laboratorio, uso de microscopios así como investigaciones interdisciplinarias, ya que a parte de hacer, apoyos al diagnósticos de pacientes, también se hicieron colaboraciones en investigaciones de médicos en ratas, así como proporcionar elementos para publicaciones, las cuales son un conglomerado de varias técnicas he investigación que les lleva meses o años para generar una buena investigación.

Aprendí mas sobre las células y las formas metabólicas en como se genera los diferentes tipos de respiraciones celulares, así como morfología y composición química, como también marcadores químicos usados en el momento para la detección de enfermedades, las cuales son las eficientes y que ayudan mucho al tratamiento y evitar el sufrimiento y el dolor a pacientes.

## BIOGRAFIA

Dore M. 2011. Cyclooxygenase-2 Expression in animal cancer. *Veterinary Pathology* 48, 254-265.

Dubowitz, V. & Brooke, M. H. *Muscle biopsy: a modern approach*. London-UK, Saunders, 1973.

Dubowitz, V.; Sewry, C. A. & Fitzsimons, R. B. *Muscle Biopsy: A Practical Approach*. 2<sup>th</sup> ed. London-UK, Baillière Tindall, 1985.

. *Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine*, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. 2015. *Molecular biology of the cell*. Garland Science (6<sup>a</sup> edición). New York. ([NCBI: 4<sup>a</sup> edición. 2002](#))

Pollard, T.D., Earnshaw, W.C., Lippincott-Schwartz, J., Johnson G. 2017. *Cell biology*. Saunders, Elsevier (3<sup>a</sup> Edición). Philadelphia. ([Internet archive: 2<sup>a</sup> edición. 2001.](#))

Berk, A., Kaiser, C.A., Lodish, H., Amon, A., Ploegh, H., Bretscher, A., Krieger, M., Martin, K.C. 2016 . *Molecular Cell Biology*. Editorial W.H. Freeman (8<sup>a</sup> Edición).