

NOTAS SOBRE LA HISTORIA DE LA TÉCNICA HISTOLÓGICA

El francés F.X. Bichat es el fundador de la histología. Vivió durante los años de la Revolución Francesa su más importante etapa como investigador. En 1802 publicó su Anatomía General donde desarrolló su concepto de tejido. Él iba buscando los componentes elementales anatómicos últimos de la materia viva, igual que los elementos químicos son los componentes de la química. Definió el tejido como la unidad morfológica y fisiológica del ser vivo, y los órganos como combinaciones de cierto número de tejidos elementales aislados. Fisiológicamente la función de cada órgano será el resultado de la combinación de las actividades vitales de los tejidos que lo componen. Cada tejido se caracteriza por la homogeneidad y constancia de las apariencias sensoriales cualesquiera que sean las condiciones a las que se somete y de los órganos de que procede. No existía el microtomo ni las tinciones, y el microscopio, desde Leeuwenhoek a principios del s. XVII no se había desarrollado y no pasaba de 200 aumentos.

El utilizaba métodos físicos tales como la ebullición, cocción, maceración, desecación, putrefacción, y químicos como la acción de los ácidos y álcalis. Distinguió 21 tipos de tejido: celular subcutáneo, nervioso de la vida ^{animal}, central y periférico, de la vida autonómica o vegetativa, arterial, venoso, linfático, óseo, medular, tendinoso, fibrotendinoso, seroso, sinovial, muscular estriado y liso, mucoso, glandular, dérmico, conjuntivo y piloso.

Esta clasificación tiene implicaciones clínicas y no solo anatómicas, es decir, que puesto que las enfermedades son alteraciones de las propiedades vitales, y cada tejido difiere de los demás en estas propiedades, debe haber diferencias entre las enfermedades. Y si éstas manifiestan de forma inmediata las propiedades vitales de los tejidos, las diferencias tisulares modificarán los síntomas y la duración de la enfermedad. De ahí la importancia de la nosotaxia para un diagnóstico más preciso según su localización anatómica, es decir que, p.ej. la inflamación del apéndice se llamará apendicitis, la de las glándulas, adenitis, la del riñón, nefritis, la del hígado, hepatitis etc., una nosología que se incorpora al acervo médico.

El desarrollo del microscopio

Leeuwenhoek inventó el microscopio en la primera mitad del s. XVII, pero no pasaba de los 200 aumentos y no estaba comercializado. Los ingleses descubrieron y fabricaron a principios del s. XVIII, es decir un siglo más tarde el llamado "flint glass" para las lentes ópticas.

verentes a base de silicato de Pb y K, y el "crown glass" para las converentes a base de silicato de K y Ca, pero mantuvieron el secreto de su fabricación mucho tiempo, hasta que en 1830 aparecieron en Alemania los primeros microscopios acromáticos fabricados por Zeiss en Jena y en Viena por Plössl. El Estado prusiano regaló a Purkinje, que era Profesor de Anatomía en Breslau, un microscopio Plössl, y con él descubrió las células del cerebelo que llevan su nombre. A partir de entonces creció mucho el interés por la microscopía, y el uso del microscopio en las Facultades de Medicina alemanas se generalizó rápidamente. Abbe, que fué director de la casa Zeiss publicó en 1873 un trabajo sobre los principios fundamentales de la microscopía óptica, introdujo el condensador y desarrolló los objetivos apocromáticos que corrigen la aberración cromática residual, a base de P y B.

El desarrollo del microtomo

Los primeros microtomos aparecieron hacia 1830; eran microtomos manuales que tenían una plataforma la cual subía más o menos con un picillo central para colocar el espécimen. El corte era manual. Hubo modelos con un tornillo para sujetarlo al banco de trabajo. La inclusión se hacía generalmente con médula de sauco endureciendo el espécimen con alcohol al mismo tiempo que se hincha la médula de sauco. En 1871 apareció en Inglaterra el primer microtomo de congelación con un baño de hielo con agua y sal al 0,75%. El medio congelante evolucionó en 1876 con el eter como congelante pulverizado mediante un vaporizador. Más tarde se utilizó el cloruro de etilo, y, por fin, en 1901 se propuso en Inglaterra el dióxido de carbono líquido y luego sólido. A par de estas fechas a principios del s. XX la manufactura de microtomos la monopolizaron los alemanes. Pero el microtomo de congelación alternaba su uso con el manual, con o sin sujeción del espécimen mediante una abrazadera para facilitar el deslizamiento de la cuchilla manualmente. Diferentes modelos se comercializaron entre 1850 y 1870. Ranvier en Paris utilizaba en 1870 un microtomo manual simple y sujetaba el espécimen con un corcho partido por la mitad encaja en una plataforma rectangular que se controlaba mediante un tornillo micrométrico. Henle y Hiss en 1866 utilizaban en Alemania un estativo de microscopio al que adaptaban el soporte del bloque del espécimen deslizando la cuchilla entre la plataforma y el soporte del bloque con el tejido incluido en la médula de sauco. Hacia 1882 aparecen los primeros microtomos con sujetador mecánico para la cuchilla, bien móvil en posición horizontal con deslizamiento sobre carriles horizontales, el llamado microtomo de deslizamiento, o con cuchilla fija y movimiento del bloque del espécimen en sentido vertical de arriba abajo sobre

la cuchilla. Es el tipo Minot, que aparece en 1886 y luego mejorado en 1892. Reichert, en Viena, desarrolla una importante innovación en 18 que termina imponiéndose en todos los modelos, tanto de deslizamiento como del tipo Minot: es el micrtomo automático, que consiste en una elevación automática del espécimen programada mediante un sistema de engranaje, que se activa en cada recorrido de retroceso de la cuchilla y que permite un nuevo corte a la ida del frosos prefijado.

Fijadores. Malpighi utilizó la ebullición y la compresión del tejido entre dos cristales, utilizando el escalpelo, y describió los Glomérulos del Riñón que llevan su nombre en 1666. Bowman en 1842 y Hassal en 1849 utilizaban la compresión del tejido en medio hidro-acético y así descubrió Bowman la cápsula Glomerular que lleva su nombre y Hassal los corpúsculos del timo. Pero los avances del microscopio incitaron a los histólogos a buscar líquidos preservantes o fijadores de los tejidos. En 1833 Jacobson propuso el ácidocrómico y Muller en Berlin el trióxido de cromo, que también utilizó Corti en sus trabajos sobre el oído interno en 1851. En 1846 se introdujo el bicloruro de Hg, que Zenker, años más tarde, en 1894 incorporó a su famosa fórmula con bicromato potásico, sulfato sódico y ácido acético que añadía en el momento de su aplicación. En 1851 empezaron a utilizarse mezclas aceto-alcohólicas que Carnoy en Francia perfeccionó añadiendo cloroformo, fórmula que se sigue utilizando hoy día para la tinción nuclear y como preservante del Glucógeno, en 1887. El ácido ósmico se introdujo en 1844. Y en 1875 Ranvier utilizaba el ácido pícrico como fijador. Bouin en su tesis doctoral en Francia propuso la fórmula definitiva utilizada hoy día añadiendo el ácido pícrico ácido acético y formol, en 1897. Pero éste, el formol, como fijador y endurecedor no se descubrió hasta 1893 y fué de manera accidental en Alemania cuando Blum se dejó un ratón infectado de carbunco toda la noche en formol diluido, y al día siguiente estaba fijado y endurecido.

Inclusión. Los métodos de confección y de inclusión en médula de sauco (junco cuya médula se hincha añadiendo alcohol) siguieron utilizándose durante buena parte del s. XIX, hasta que Butschli en Alemania empleó la parafina líquida y el aclaramiento con cloroformo en 1881. El medio de montaje de los cortes a base de bálsamo del Canadá o similares no llegó hasta 1885, y como aclarante del corte montado en bálsamo el benzol en 1869. Y hacia 1885 la inclusión en parafina y las tinciones diferenciales estaban ya prácticamente aceptadas universalmente en la técnica histológica.

Tinciones

Leewenhoek utilizaba safranina a principios del s.XVII, pero el carmin fué el primer colorante utilizado generalmente a partir de 1854 y Gerlach en Alemania lo perfeccionó mordentando primero con bicromato potásico y tiñendo luego con carmín amoniacal. Ranvier en Paris utilizaba el picrocarmín por los años 1870. En 1856 Perkin en Inglaterra introdujo los colorantes de anilina, siendo el primero el que llamó moveina, pero hasta 1862 no se utilizó en Alemania. Luego aparecieron en el mercado la fuchina, el azul de anilina y el azul de metileno en 1877 y fué Ehrlich quien primero los clasificó en ácidos y básicos en 1885. La hematoxilina es un colorante vegetal procedente del palo campeche, pero necesita el alumbre de amonio, alumbre férrico o de cromo para que tiña. Además tiene que someterse a un periodo de maduración o envejecimiento, es decir, de oxidación para que la hematoxilina se convierta en hemateina. Mayer y Unna descubrieron este proceso de maduración de la hematoxilina en 1891 y 1892 respectivamente. Mayer añadía 0,2 gr. de yodato potásico por gramo de hematoxilina para oxidarla artificialmente. Böhmmer fué el primero que utilizó la hematoxilina mordentada con alumbre de amonio en 1864, aunque desconocía el proceso de maduración a hematina. La doble tinción con eosina se publicó en 1876 por Wissowski en Alemania.

Los colorantes metálicos a base de NO_3Ag se empezaron a utilizar por His en 1856, pero fué von Recklinghausen quien los popularizó a partir de 1880, aunque Ranvier ya lo utilizaba en 1868. Golgi publicó su famoso método de dicromato potásico con NO_3Ag en 1873, modificado en 1879 y 1886. Es un método de tinción de todo el bloque de tejido y tarda por lo menos 1 semana. Descubrió las células de neuroglía, aunque la neuroglía ya había sido descrita por Virchow, y le dieron el premio Nobel. Descubrió el complejo de Golgi que lleva su nombre. Cajal empleó su método de la doble impregnación argéntica en 1887 y el de la plata reducida en 1903 y descubrió que las neuronas contactan entre si mediante sinapsis de los cilindros. Compartió el premio Nobel con Golgi en 1906.

La hemateina con el ion aluminico forma un pigmento que engloba los ácidos nucleicos. Es lo que se llama una laca.

1880 W. Flemming: ^{o filamentos} fisuras/cromáticas y acromáticas de la división nuclear. En 1888 Waldeyer los llamo cromosomas (a los filamentos cromáticos).

G.F.C. Deiters: en 1865: descripción de la célula nerviosa con cilindro y expansión protoplásmica. Waldeyer la llamó: neurona. en 1891.

Experiencia personal

Internado en Conn., USA. Residencia en Iowa., Médico adjunto en Aarau (ArEovie), Suiza.

"Técnica es tan buena como su diagnóstico". Técnica buena: buen diagnóstico. Mala: mal diagnóstico.

En Suiza Uso más racional de los fijadores, p.ej Carnoy para preservar el Glucógeno. Y también mayor interés en la patología de autopsias que es una patología médica, mientras que la de las biopsias es una patología quirúrgica.

El La Fé durante los últimos 10 años hice investigación sobre los fijadores y publiqué mi Tesis Doctoral descubriendo un fijador nuevo aplicado ya en la industria de curtidos. Es un fijador derivado de un compuesto heterocíclico que tiene un anillo pentagonal oxazólico (los compuestos cíclicos solo llevan carbono en los eslabones de la cadena, pero los heterocíclicos llevan otros átomos como el N, O, ó S) El oxazol lleva N y O, y los derivados del mismo son las oxazolidinas que yo adapté a la fijación de los tejidos.

También publiqué en la revista Applied Pathology un colorante nuevo utilizado en la industria textil. Es un colorante reactivo que se une al sustrato mediante enlaces covalentes que no pueden desteñirse, ya que los colorantes de anilina y los azoicos o los ácidos utilizados en histología se unen mediante enlaces iónicos, que pueden desteñirse.

En cuanto a la descalcificación trabajé con huesos fósiles que me mandaba el Prof. Reverte de la Complutense de Madrid. Los descalcificaba con soluciones ácidas en medio acuoso aumentando la densidad, bien con sales como el SO_3Na_2 o con Glicerina. P. ej. $(\text{ClH} + \text{SO}_4\text{Na}_2 = \text{ClNa} + \text{SO}_2\text{H}_2)$ Y este ácido sulfúrrico producido in situ en medio denso descalcifica mediante un principio físico-químico que es la ósmosis.

Pero hay que medir la densidad con un areómetro de los que utilizan en la industria textil, ^{o de curtidos} con escala en Grados Beaumé., y no se puede pasar de 7 Grados Beaumé. También la Glicerina con ácido nítrico es un buen descalcificante.

La ósmosis es un fenómeno físico: turescencia y plasmolisis en peces: un pez de agua dulce en el mar se deshidrata = plasmolisis, mientras que un pez de agua salada en un río se hincha: turescencia. Para la queratina de las uñas hay que utilizar reductores como el sulfhidrato o hidrosulfito en medio alcalino con KOH ó NaOH para romper los puentes disulfuro de la cistina.

Muchas Gracias.