



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS Y FORENSES
T.S.U EN HISTOTECNOLOGÍA
INFORME MONOGRÁFICO



**IMPORTANCIA DE LA ADQUISICIÓN DE CONOCIMIENTOS SOBRE
TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS EN EL DESARROLLO ACADÉMICO Y
PROFESIONAL EN HISTOTECNOLOGÍA**

AUTORES:
MARTÍN MARÍA
NUÑEZ JOSÉ
ORDOÑEZ ANGEL
RUIZ WENDY

TUTORA:
LCDA. GREICY GUTIÉRREZ

NAGUANAGUA, MAYO 2015



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS Y FORENSES
T.S.U EN HISTOTECNOLOGÍA
INFORME MONOGRÁFICO



CONSTANCIA DE APROBACIÓN

Los suscritos miembros del jurado designado para examinar el Informe Monográfico titulado:

**IMPORTANCIA DE LA ADQUISICIÓN DE CONOCIMIENTOS SOBRE
TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS EN EL DESARROLLO ACADÉMICO Y
PROFESIONAL EN HISTOTECNOLOGÍA**

Presentado por los bachilleres:

MARTÍN MARÍA	C.I.:22.217.085
NUÑEZ JOSÉ	C.I.:22.216.648
ORDOÑEZ ANGEL	C.I.:20.293.784
RUIZ WENDY	C.I.:20.179.950

Hacemos constar que hemos examinado y aprobado el mismo, y que aunque no nos hacemos responsables de su contenido, lo encontramos correcto en su calidad y forma de presentación.

Fecha: 5 de Mayo de 2015

Profesora
Eliana López Vilorio

Profesora
Liset Requena

Profesora
Luisel Rodríguez



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS Y FORENSES
T.S.U EN HISTOTECNOLOGÍA
INFORME MONOGRÁFICO



**IMPORTANCIA DE LA ADQUISICIÓN DE CONOCIMIENTOS SOBRE
TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS EN EL DESARROLLO ACADÉMICO Y
PROFESIONAL EN HISTOTECNOLOGÍA**

AUTORES:
MARTÍN MARÍA
NUÑEZ JOSÉ
ORDOÑEZ ANGEL
RUIZ WENDY
AÑO: 2015

Resumen

Las técnicas histoquímicas son una diversidad de procedimientos basados en la participación e interacción de agentes químicos exógenos, proveniente de los materiales y sustancias químicas empleadas en las pruebas histoquímicas; y agentes químicos endógenos, o de producción tisular, los cuales serán determinados mediante dichas pruebas. La presente investigación se desarrolló, con el objetivo de mostrar la importancia de las técnicas histoquímicas, en el desarrollo académico y profesional en Histotecnología, debido al escaso conocimiento acerca del tema en cuestión. Se realizó una investigación monográfica donde se compiló información documentada a través de textos teóricos y/o prácticos de nivel universitario y se recurrió al uso de antecedentes provenientes de investigaciones científicas donde fueron aplicadas técnicas histoquímicas. El poco conocimiento acerca de lo que es la histoquímica ha logrado desvirtuar su carácter de importancia dentro de la investigación científica, evitando el reconocimiento del papel fundamental que tiene este conocimiento en los estudiantes y profesionales de la histotecnología, profesionales de las técnicas histológicas. Estas pruebas tienen una amplia gama de aplicaciones en diversas áreas, pero ha sido la de la salud la mayor beneficiada. Se llegó a la conclusión que, los conocimientos en técnicas histoquímicas y su amplia aplicación ha tenido una repercusión trascendental en el mundo científico y en el desarrollo del mismo, es por esto que para los efectos de este trabajo se consideran de importancia a nivel académico y profesional.

Palabras clave: histoquímica, histotecnología, técnicas, ciencias, sustancias.

Línea de investigación: investigación educativa.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS Y FORENSES
T.S.U EN HISTOTECNOLOGÍA
INFORME MONOGRÁFICO



**IMPORTANCE OF ACQUIRING KNOWLEDGE ABOUT HISTOCHEMICAL
TECHNIQUES IN THE ACADEMIC AND PROFESSIONAL DEVELOPMENT
IN HISTOTECHNOLOGY**

AUTHORS:
MARTÍN MARÍA
NUÑEZ JOSÉ
ORDOÑEZ ANGEL
RUIZ WENDY
YEAR: 2015

Abstract

The histochemical techniques are a variety of procedures based on the participation and interaction of exogenous chemicals, from materials and chemical substances used in the histochemical testing; and endogenous chemicals or tissue production which will be determined by these tests. This research was conducted in order to show the importance of histochemical techniques in the academic and professional development of the students in Histotechnology, due to limited knowledge of the issue at hand. A monographic research which documented information was collected through theoretical and / or practical college-level texts and resorted to using scientific research background from where they were applied histochemical techniques was conducted. The little knowledge about what histochemical is has achieved to undermine its importance in scientific research and avoids recognition of the fundamental role of this knowledge in students and professionals of the histotechnology, histological techniques' professionals. These tests have a wide range of applications in various areas, but health has been the most benefit. It came to the conclusion that knowledge in histochemical techniques and their widespread application has had an important effect in the scientific world and its development, which is why for the purpose of this work, is considered of importance to academic and professional.

Keywords: histochemical, histotechnology, techniques, science, substances

Research line: educational research.

ÍNDICE

CARTA DE APROBACIÓN	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
INTRODUCCIÓN	6
DESARROLLO:	
1. CARACTERÍSTICAS DE LAS TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS MÁS COMUNES	12
1.1.LA HISTOLOGÍA Y LA HISTOTECNOLOGÍA	12
1.2.HISTORIA DE LAS TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS	13
1.3.PRINCIPIOS DE LAS TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS	14
1.3.1.TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS PARA POLISACÁRIDOS	14
1.3.1.1. ACIDO PERYÓDICO DE SCHIFF (PAS)	14
1.3.1.2. AZUL ALCIÁN	15
1.3.2.TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS PARA ÁCIDOS NUCLEICOS	16
1.3.2.1. TÉCNICA DE FEULGEN	16
1.3.2.2. TINCIÓN CON NITRATO DE PLATA (ARGÉNTICA)	16
1.3.3.TÉCNICA HISTOQUÍMICA PARA LÍPIDOS	16
1.3.3.1. SUDAN NEGRO	16
2. CAMPOS DE APLICACIÓN DE LAS TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS	17
2.1.MEDICINA	17
2.2. BIOLOGÍA	17
2.3.BOTÁNICA	18
3. BENEFICIOS DE LA ADQUISICIÓN DE CONOCIMIENTOS EN TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS Y SU APLICACIÓN DENTRO DEL CAMPO DE LA SALUD	18
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	20
AGRADECIMIENTOS	22
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

INTRODUCCIÓN

Las técnicas histoquímicas, son un grupo de métodos histológicos cuyos principios de acción se basan en modificaciones moleculares y los productos celulares resultantes de las reacciones químicas entre la muestra de tejido biológico y los agentes químicos utilizados durante la aplicación de dichas técnicas. El fin de estas técnicas es localizar y reconocer los productos resultantes de las interacciones ya mencionadas, y además, reconocer los productos químicos propios de los tejidos, sirviendo de esta manera para estudios clínicos e investigaciones científicas, partiendo de las funciones y características determinantes de los productos.¹

Es de suma importancia considerar el conocimiento sobre técnicas histoquímicas como herramientas necesarias dentro del saber del histotecnólogo, tanto en el trabajo rutinario, aquel que desempeña día a día y trabajos especiales, donde el conocimiento acerca de estas técnicas rinden fruto y es de gran valor el poder saber de qué manera aplicarlas correctamente. El origen de dicha importancia, parte de la creciente demanda que hay en la aplicación de estas técnicas gracias a su efectividad, precisión y el papel que desempeñan dentro del campo de la salud y otras ciencias en común. Las técnicas histoquímicas permiten con gran facilidad determinar, a través de las reacciones químicas, un gran número de diferentes y variados componentes químicos que se encuentren formando parte o hayan sido generados por las células y muestras histológicas en estudio. Es decir que, cada reacción de los variados procedimientos histoquímicos aplicados, permiten descubrir y demostrar una estructura o molécula dentro del objeto de estudio, las cuales, en la gran mayoría de los casos, no pueden ser develadas por tinciones o coloraciones comunes ya que estas solo colorean o muestran la estructura general y no los elementos químicos que hacen presencia dentro de la muestra.

Se puede destacar también que estas técnicas poseen, dentro de sí mismas, áreas de estudio más amplias y específicas, que además siguen ampliándose a la par de nuevos descubrimientos médicos y científicos, cada una de ellas basándose en principios de acción distintos y es importante que todo conocimiento acerca de esta sea ofrecido, de manera detallada y profunda, al estudiantado que cursa la carrera de Histotecnología.

Ya que se ha hablado de la importancia de la adquisición de nuevos e innovadores conocimientos para el histotecnólogo, vale la pena destacar algunas de las ventajas que tendría dicho profesional al adquirir conocimientos más amplios y afianzados sobre técnicas histoquímicas, y la histoquímica propiamente dicha. Se puede señalar el beneficio que ofrece al profesional y estudiante de la histotecnología los conocimientos teóricos/prácticos para trabajar no solo en el uso de técnicas rutinarias y el montaje de muestras con principios de acción básicos si no también adquirir la competencia de trabajar con reacciones bioquímicas y químicas; los cuales crearían una base sólida para la preparación de soluciones y reactivos que, de esta manera, contribuirían para determinar científicamente ciertas sustancias, ayudándonos a demostrar componentes tisulares y celulares mediante dichas reacciones; mejorar el desempeño del histotecnólogo en el laboratorio ya que no solo se dedicaría a realizar coloraciones rutinarias si no también a la elaboración de coloraciones especiales, permitiéndole posteriormente al médico, anatomopatólogo o científico, un diagnóstico más acertado enfocándolo a una solución más certera de cualquier problema relacionado que le sea presentado. Todo esto, en conjunto, brindaría una mayor amplitud de oportunidades en el campo laboral, debido a la capacidad de desenvolverse en tareas de mayor envergadura.

En palabras de Tomasi et al (2005): ...“la formación profesional continua en histotecnología permite la asimilación de nuevas metodologías de trabajo o la profundización teórico-práctica en métodos no rutinarios”.² Si bien es cierto que el profesional en técnicas histológicas está capacitado para apegarse a labores relativamente más sencillas y con cierto nivel de eficacia, como sería la microtomía o tinciones rutinarias como la Hematoxilina y Eosina (H-E), remarcando que dicha sencillez no hace de estas partes del proceso histotecnológico y de estas técnicas menos fiables o importantes, es también conocido que el Histotecnólogo, tanto en su nivel técnico como licenciado, es un profesional altamente capaz de desempeñar múltiples tareas incluso aquellas con niveles de dificultad avanzada las cuales requieren de cierto grado de especialización y experiencia, es por esto que no se debe obviar el simple hecho de que en el mundo la tecnología avanza exponencialmente, donde muchos métodos ahora “innovadores” dejan de serlo con gran rapidez, el técnico ha de ir a la par del día a día y de la mano con tales avances para así lograr una óptima capacitación que es lo que se busca de un profesional de este tipo.

Al ser dotado con el conocimiento y herramientas necesarias, el estudiante y futuro profesional, será capaz de desempeñar un trabajo de calidad excepcional, poseerá conocimientos óptimos y apropiados acerca de las diversas técnicas histológicas, materiales y equipos a ser utilizados, podrá valerse de ese conocimiento para la toma de decisiones apropiadas a lo requerido, será capaz de argumentar, discutir y debatir, sobre la base de la experiencia y el conocimiento, con profesionales dentro de la misma carrera e incluso de distintas áreas. También se encontrará en un punto donde estará a su alcance el poder sugerir y recomendar alternativas de mayor o menor complejidad pero igual de eficaces al momento de procesar un material biológico, dispondrá de mas cabida en el mundo laboral donde estará en posición de generar una competencia sana y constructiva.

En este sentido, el área de la histoquímica y sus técnicas, las cuales se tratan dentro de este informe desde el punto de vista del conocimiento y la importancia en su aplicación, han tenido un mayor auge en los últimos años debido a la demanda de pruebas científicas más específicas y eficaces al momento de arrojar datos en el marco de una investigación, no solo en salud, sino en el mundo científico en general, siendo demostrado en la gran variedad y cantidad de investigaciones y pruebas diagnósticas en las que se emplean estos métodos por lo tanto, es de suma importancia la adquisición de dichos conocimientos para alcanzar una amplia comprensión de los mismos y poder obtener una mayor destreza al momento de desempeñar un trabajo profesional tanto en un laboratorio clínico anatomopatológico, como en áreas de investigación e incluso en el área de docencia universitaria.

De no adquirirse esta clase de conocimientos, de una manera más amplia y efectiva, el futuro profesional podría verse frustrado, debido a la poca preparación y a las repercusiones negativas que esto podría llevar dentro de la competencia del campo laboral de hoy en día.

Se hace notar a continuación que la finalidad de este trabajo monográfico es dar a conocer el profundo alcance que tienen el conocimiento acerca de las técnicas histoquímicas dentro del desarrollo académico y profesional del futuro histotecnólogo, determinando así que al adquirir dichos conocimientos se estará preparando a un

profesional que en su momento podrá desarrollar un trabajo de alta calidad al realizar procedimientos técnicos histológicos de cualquier muestra biológica en cualquier área que esta se aplique logrando así un gran desempeño . Por las razones ya antes expuesta surge la siguiente interrogativa: ¿Es realmente importante la adquisición de conocimientos acerca de las técnicas histoquímicas en el desarrollo académico y profesional de los estudiantes en la carrera de Histotecnología?

Para dar una acertada respuesta a la interrogante anteriormente presentada se procedió a realizar una investigación monográfica de tipo documental donde se recolectó información, a través de una amplia diversidad de fuentes escritas relacionadas a las técnicas histoquímicas, fuentes como artículos científicos, textos, páginas *webs* entre otros a los cuales se les realizó un análisis exhaustivo para una mejor comprensión y lograr una síntesis más apropiada. El objetivo general de la presente investigación es conocer la importancia que tiene la adquisición y aplicación de las técnicas histoquímicas en el desarrollo académico y profesional para los estudiantes en la carrera de Histotecnología y los objetivos específicos fueron; caracterizar las técnicas histoquímicas más comunes, determinar los campos de aplicación de las técnicas histoquímicas, y además, describir los beneficios de la adquisición de conocimientos en técnicas histoquímicas y su aplicación dentro del campo de la salud.

DESARROLLO

Viloria (1996)³ a través de un artículo, daba a conocer la importancia que la histoquímica y sus técnicas poseían dentro del campo de la biología y la medicina en general, ella procedió de manera metódica a explicar a través de un pequeño recuento histórico a través de lo que ha sido la “vida” de la histoquímica y además aportó conocimientos sobre los métodos y materiales empleados para aquel entonces, además de los problemas que se frecuentaban al momento de realizar un procedimiento histológico.

Para Comenzar a vislumbrar la importancia de la técnicas histoquímicas dentro la salud y el campo científico en general se presento el trabajo realizado por Rodríguez et al (2010)⁴ denominado “Caracterización de las regiones organizadoras nucleolares en las células del tumor venéreo transmisible en caninos: Estudio histoquímico” donde a un total de 30 muestras de tejido canino de diferente sexo se le aplico la técnica de “tinción con nitrato de plata (argéntica)” técnica empleada en la localización de proteínas y material genético para así poder determinar la relación entre el sexo del animal y el origen de la muestra neoplasia con la localización nuclear o nucleolar de las Organizaciones Nucleolares Argénticas (AgNOR) la cuales se encargan de la producción proteica. No se encontró una relación estadística determinante descartando así una estrecha relación, todo esto gracias a la aplicación de la y mencionada técnica histoquímica.

En el trabajo investigativo realizado por Arévalo et al (2011)⁵ denominado “Incremento de Linfocitos Intraepiteliales en pacientes con Síndrome de Intestino Irritable”, cuyo objetivo era demostrar las diferencias histopatológicas en pacientes con Síndrome de Intestino Irritable (SII) en comparación con pacientes que no demostraban dicha patología. Para dicho fin se tomo una población de 25 pacientes, de los cuales 16 demostraron criterios diagnósticos para SII y 9 no los presentaban. De esta población se tomaron 8 biopsias por paciente, 4 de colon derecho y 4 de colon izquierdo a las cuales se le aplicaron pruebas histoquímicas como tinción argéntica (de plata) y giemsa. Los resultados arrojados por estas pruebas ayudaron a demostrar que en los pacientes con SII existía la presencia de una mayor respuesta inflamatoria.

Relacionado a la variedad en cuanto a los objetos de estudios en los que se pueden aplicar técnicas histoquímicas también es el caso de la biología especialmente en el área de la botánica como se presenta en la investigación realizada por Rangel et al (2012)⁶ donde, a través de una investigación titulada Anatomía e histoquímica de la semilla del cacao (*Theobroma cacao l.*) criollo mexicano, se procedió a la aplicación de diversas técnicas histoquímicas como el rojo “O” para lípidos, fluoroglucinos para la lignina y HCL para polisacáridos insolubles, buscaron determinar y establecer una relación entre la anatomía de la semilla y los diferentes componentes químicos que en esta se encuentran.

Otro trabajo de gran relevancia debido a su objeto de estudio que es el Tumor de Krukenberg (tumor ovárico), fue el de Contreras et al (2013)⁷ denominado “Fibroma ovárico con células estromales en anillo de sello: un tumor extremadamente infrecuente. Diagnóstico diferencial del tumor de Krukenberg” para el cual se utilizaron variadas técnicas histoquímicas como lo son: PAS, PAS-diafásica, azul alcian y mucicarmin, técnicas aplicadas en espécimen fue fijado en formalina tamponada al 10%, y se tomaron cortes representativos. Se busco determinar la relevancia de diversos criterios diagnósticos para dicha afección. Llegando a la conclusión que las técnicas histoquímicas, junto a otros elementos, deben ser consideradas como elementos de gran aporte diagnóstico diferencial.

Es también el caso de González et al (2014)⁸ con su trabajo denominado “Criptococosis versus alternariosis cutánea. Presentación de un paciente” en el cual se buscó establecer una comparativa entre ambas afecciones. Para dicho fin se realizó una biopsia incisional de una lesión cutánea, a la cual se realizaron pruebas histoquímicas para la determinación de hongos como: tinción de Grocott y la de Shiff (PAS), el método de Fontana Mason y otras como el mucicarmín de Mayer y la tinción de Giemsa. Si bien el resultado de dichas pruebas fue muy variado, esto ayudo a establecer gran cantidad de diferencia entre ambas afecciones micóticas, contribuyendo a alcanzar el objetivo de dicha investigación.

Características de las Técnicas Histoquímicas Más Comunes

La Histología y la Histotecnología

La histotecnología o técnica histológica es una disciplina por medio de la cual se preparan muestras de tejido biológico, a través de una serie de procedimientos secuenciados y especializados, para su posterior análisis y estudio. La técnica histológica, o histotecnología como es conocida hoy en día en algunos países como es el caso de Venezuela,⁹ tiene sus orígenes en la histología con más de 100 años de antigüedad.³ Este conjunto de técnicas se desarrolló gracias al interés de los antiguos histólogos en buscar procedimientos que les permitieran estudiar tejidos de manera más efectivas, evitando procesos degenerativos y mejorando la calidad visual de la imagen al momento de ser observados a través de lentes de cristal, las que más adelante evolucionarían en microscopios.

Según Blandenier la técnica histológica constituye la piedra angular de la histología normal y patológica. Actualmente a la luz de los adelantos agigantados de la patología molecular, esta disciplina requiere de mayor competencia. En los inicios históricos de la anatomía patológica, y en otros campos como la histología y la biología, no siempre existió la imagen del histotecnólogo, menos en Venezuela donde, partiendo de su introducción por el Dr. José Gregorio Hernández a finales del siglo XIX, han surgido innumerables obstáculos para la profesionalización académica de dicha área.⁹

A pesar de que la histotecnología es relativamente nueva cuando se considera desde el punto de vista de su profesionalización, los profesionales en áreas como la histología y la biología siempre estuvieron y están en la incansable búsqueda de nuevos conocimientos y métodos para profundizar en sus investigaciones y así permitir a las ciencias evolucionar a pasos agigantados, es por esto que se vieron en la imperante necesidad de dedicarse al desarrollo de estas áreas técnicas e ir formando profesionales altamente capacitados con los que conjuntamente desarrollarían un mejor trabajo. Posteriormente naciendo técnicas más avanzadas como lo son las pruebas histoquímicas.

Historia de las Técnicas Histoquímicas

Analizando lo dicho por Vilorio es posible que la histoquímica haya tenido sus comienzos a mano de botánicos franceses, siendo su fundador Vincent Raspail.³ Para aquel entonces los procedimientos histoquímicos, en muestras animales, no eran muy eficaces y por lo tanto poco o nada empleados dado que estas técnicas producían la destrucción de la muestra siendo este un gran inconveniente para su estudio y el posterior desarrollo científico. Fue Lison quien, entre los años 1930-1944, desarrolló técnicas que no producían la destrucción de las muestras, pudiendo realizar estudios en pro del desarrollo científico, es por esto que a partir de 1945 las técnicas histoquímicas tuvieron su auge el cual ha ido incrementando exponencialmente.¹⁰ También fue Lison quien, en 1960, dijo que la histoquímica es una ciencia tan antigua como la histología misma.

Es debido al poco alcance que poseían las técnicas de microscopia para aquel entonces (Finales del siglo XIX) que se optó por expandir las investigaciones y aplicar los conocimientos existentes acerca de la capacidad del ojo humano para reaccionar a las diversas longitudes de onda del espectro (Colores) es por estas cualidades que se comenzó a investigar la aplicación del uso de colorantes dentro de las técnicas histológicas existentes, de dichos colorantes se esperaba una alta especificidad y que no alteraran las estructuras histológicas de las muestras. Cerca de finales del siglo XIX, Paul Ehrlich (Premio Nobel de Medicina 1908) realizó estudios dentro del campo de las coloraciones histológicas, entre ellos, el uso de la anilina (Del árabe añil, que se obtiene de la industria del amoníaco)¹¹ el cual le permitió demostrar la existencia de una barrera hematoencefálica, que es una barrera selectiva que evita el paso de sustancias tóxicas hacia el cerebro y permite el paso de oxígeno a este,¹² por lo cual impedía que el cerebro del roedor se tiñera con la anilina. Fue Ehrlich quien clasificó como basófilas, acidófilas y neutrófilas esas células que reaccionaban específicamente a colorantes básicos, ácidos y neutros, respectivamente.¹³

Fue a mediados del siglo XX donde nuevamente surge el interés científico por la histoquímica y sus métodos de estudio por parte del Dr. Ricardo Martínez quien bajo la tutela del anatomopatólogo A. Carrato y de Raymond Wegmann eminente histoquímico y gran impulsor de la misma dentro de Europa y Sudamérica.¹³ Martínez innovó con

técnicas de vanguardia en histoquímica y renovó otras ya existentes, todo esto lo llevo a la creación y posterior publicación de un tratado de histoquímica de 1000 páginas.

Principios de las Técnicas Histoquímicas

Como se mencionó en la introducción de la presente investigación, se denomina técnicas histoquímicas al conjunto de técnicas histológicas que, a diferencia de las coloraciones rutinarias, siendo la Hematoxilina y Eosina (H-E) una de las más conocidas y de uso más frecuente que destacan por poner en manifiesto y resaltar las características citológicas e histológicas estructurales debido a la afinidad de dichos colorantes a esas estructuras;¹⁴ que se fundamentan en las modificaciones moleculares y los productos celulares resultantes de las reacciones químicas entre la muestra y ciertos agentes químicos siendo así el fin de dichas técnicas el de localizar y reconocer dichos productos específicos dentro de las muestras histológicas, partiendo de su función y caracteres químicos determinantes.¹⁵ Existen diversos tipos de técnicas histoquímicas clasificadas según lo que se desea estudiar, más frecuentemente, polisacáridos, ácidos nucleicos, lípidos, enzimas, entre otros.

Técnicas Histoquímicas para Polisacáridos

Ácido Peryódico de Schiff (PAS)

Esta técnica histoquímica se fundamenta en la propiedad oxidante del ácido peryódico que, al interactuar con los glúcidos, estos se transforman en aldehídos que posteriormente pasaran a ser demostrados con el reactivo de Schiff. El PAS demostrará la presencia de hidratos de carbonos libres y conjugados en macromoléculas dentro de las muestras de tejido siendo apreciable por la aparición del color rojo-fucsia característico.

Ácido Peryódico

El ácido peryódico, también denominado periódico, es un oxidante altamente selectivo puesto que solo posee la capacidad de oxidar ciertas sustancias químicas dentro de la muestra. Dentro de la reacción de PAS, el ácido periódico, destaca por su habilidad de oxidar los enlaces de cadenas consecutivas de carbonos, convirtiendo así los grupos

hidroxilos en grupos aldehídos,¹ para finalmente poder interactuar con el reactivo de Schiff.

Reactivo de Schiff

Descubierto por Hugo Schiff en 1886,¹⁶ es un producto incoloro derivado de la fucsina básica la cual, en interacción con el ácido sulfuroso,¹ pierde el cromóforo que es la molécula encargada de dar a este su color característico. A este producto resultante también se le conoce como leuco-base o reactivo de Schiff.

Interacción Ácido Peryódico – Reactivo de Schiff

Según Pawlina et al (2013)¹⁴ la capacidad de la fucsina básica decolorada (Reactivo de Schiff) para reaccionar con los grupos aldehídos trae como consecuencia la aparición de un color rojo distintivo que es la base de las reacciones de PAS (Periodic Acid Schiff) y de Feulgen. En el momento que los grupos hidroxilos (OH) pasen a ser grupos aldehídos (-COH) gracias a la acción oxidante del ácido periódico, estos serán reconocidos por su interacción con la fucsina básica que recuperará su cromóforo obteniendo así el color rojo-fucsia característico de dicha reacción.

Azul Alcían

Es una técnica que fue introducida por Steedman en 1950.¹⁷ Esta técnica ha sido ampliamente usada en la anatomopatología para detectar la producción aberrante de mucoproteínas las cuales son una clase de polisacáridos.¹ Una de las características particulares de este tipo de colorantes es que a pesar de su comportamiento básico inicial, teniendo así apetencias por estructuras basófilas, estos no se unen a los núcleos sin una previa preparación especial de la muestra. Este tipo de colorantes presentan estabilidad en la coloración específica de la reacciones,¹⁷ es por esa razón que puede ser utilizado en conjunto con la técnica del Ácido Periódico de Schiff (PAS) sin mayor problema.

Este compuesto funciona cuando la muestra posee un pH inferior a 3, donde:

- pH = 2,5; tiñe las mayor parte de los mucopolisacáridos.¹
- pH = 1; tiñen mucopolisacáridos ácidos sulfatados.¹
- pH= 0,5; tiñen únicamente mucopolisacáridos fuertemente sulfatados.¹

Técnica Histoquímica para Ácidos Nucleicos

Técnica de Feulgen

Es una técnica basada en el reactivo de Schiff, que permite la detección de DNA en las muestras. Se fundamenta en la ruptura de los ácidos nucleicos por la previa hidrólisis a la que fue sometida la muestra,¹ quedando expuestos ciertos aldehídos que, como anteriormente se mencionó, son compatibles con el reactivo de Schiff arrojando una coloración púrpura.

Tinción con Nitrato de Plata (Argéntica)

Es una técnica histoquímica donde se emplean sales de plata, más comúnmente el nitrato de plata. Esta técnica es utilizada en la demostración de fibras reticulares, proteínas y ADN, a través de las reacciones químicas entre los compuestos de plata y ciertos tipos de células.¹⁷ Cabe destacar que esta es una impregnación ya que la plata, al reaccionar con el tejido y agentes reductores externos, formando un precipitado que se une al tejido otorgándole una apariencia negruzca.

Técnica Histoquímica para Lípidos

Los lípidos, mejor conocidos como grasas, son compuestos químicos de muy difícil metabolismo. Las grasas son altamente solubles en alcohol,¹⁸ es por eso que en el estudio de este tipo de muestras es necesario omitir muchos de los pasos rutinarios, como lo son la deshidratación, ya que este es un proceso muy agresivo que dañaría la muestra y por el contrario deben ser procesadas por congelación con una previa fijación más o menos prolongada en Formol (10 a 20%).

Sudán Negro

Este es un colorante de lípidos que fue introducido por Liso en 1934,¹⁸ cabe destacar que dicho colorante no es un colorante verdadero, ya que, los colorantes propiamente dichos son aquellos con capacidad de absorber radiaciones del espectro y luego emitir un color determinado, por el contrario este tipo de colorantes se basa en el fenómeno de solubilidad,¹⁹ por medio del cual al disolverse las grasas esta se mezcla con el colorantes adquiriendo el color del mismo.

Campos de aplicación de las Técnicas Histoquímicas

Medicina

Dentro de la medicina esta aporta una amplia visión y mejor comprensión de ciertas patologías, lo cual es propicio para un mejor diagnóstico. Además, desde el punto de vista histológico, permite adquirir una mayor comprensión acerca del funcionamiento de gran parte del cuerpo humano y también permite ampliar los conocimientos acerca de las estructuras histológicas de los diferentes órganos. Otra de las contribuciones es que ayuda a determinar la existencia de ciertos agentes químicos de producción celular y a su vez permite relacionarlos con tejidos y órganos específicos.

Conocer y revelar todas las particularidades anteriormente mencionadas han permitido determinar cuándo hay un nivel descontrolado de ciertos productos pudiendo así prevenir enfermedades o ayudar en la cura de las mismas. Con todos los aspectos dados a conocer, sería acertado entonces decir que la histoquímica contribuye con estudios clínicos en diversos grupos de patologías como lo serían, enfermedades relacionadas con la obesidad, el cáncer, entre otros.²⁰

Biología

Las técnicas histoquímicas han desempeñado un papel vital en el descubrimiento y en la comprensión del mundo celular, es decir aquellos constituyentes celulares, tales como el aparato de Golgi, estudiando sus mecanismos de secreción, entre otros, Ha impulsado el descubrimiento de sustancias de producción celular como lo son hormonas, enzimas y más. Es así como también ha ayudado a conocer mejor el funcionamiento celular contribuyendo así con el desarrollo de la fisiología.³ Siendo así la biología, en conjunto con otras ciencias, principal contribuyente de la medicina y otras áreas dentro de las ciencias de la salud.

Las técnicas histoquímicas aplicadas a la biología también han contribuido a conocer las características histoquímicas de muchas especies animales, tal es el caso de un estudio realizado en Venezuela (2010)²¹ donde se procedió a estudiar la producción de mucinas y lípidos en el aparato urinario de la baba, aplicándose técnicas de PAS, PAS-Azul alcían a pH 2,5 y 1,0; Aceite Rojo "O" y el Método de Schulz para esteroides.

Botánica

En esta, al poder determinar la existencia de ciertos productos celulares que se generan dentro de las diversas estructuras de la planta y así poder ser investigados más a fondo pudiendo encontrar su utilidad dentro de la salud, como podría ser en el caso de empleo de algunos de estos químicos como principio activo de en algún medicamento, incluso el desarrollo de nuevos fármacos, o algún tipo de terapia alternativa. Como muestra del alcance se puede considerar el caso de un estudio realizado en México donde se comparaban dos especies y sus propiedades medicinales partiendo de la existencia de ciertos productos celulares en las mismas.²²

Beneficios de la adquisición de conocimientos en Técnicas Histoquímicas y su aplicación en el Área de la Salud

Como se explicó en párrafos anteriores, los procedimientos histoquímicos son un grupo de técnicas histológicas que, mediante reacciones químicas entre tejidos y colorantes, hacen posible demostrar por medio de ellas diversidad de productos celulares que en determinadas condiciones pueden ser clara señal de alguna patología.¹⁰ Estas técnicas son empleadas por los técnicos histólogos para así contribuir con el trabajo de los médicos. Un claro ejemplo donde resalta la participación activa de las técnicas histoquímicas dentro del amplio estudio del cáncer es el estudio realizado por Avila et al (2011)²³ titulado Carcinoma Mucoepidermoide de Glándulas Salivales: Factores Pronósticos Histológicos e Inmunohistoquímicos, donde a través de la aplicación de una serie de técnicas y pruebas, entre ellos las histoquímicas (PAS, Alcian Blue y Azul de Toluidina) se busco determinar el grado histológico y potencial proliferativo como factor pronóstico del carcinoma mucoepidermoide llegando a concluir que ambos son de gran influencia al momento de un diagnostico certero.

Quizá uno de los casos más importantes debido a su incidencia en la población mundial durante los últimos años,²⁴ es el del cáncer donde este tipo de pruebas son ampliamente usadas. Podemos citar el caso de un estudio bajo el titulo de: Carcinoma sebáceo de la glándula parótida,²⁰ donde el objetivo era reportar un caso de carcinoma y los hallazgos realizados a través de una serie de pruebas, entre ellas las histoquímicas. Durante dicho

reporte se llegó a la conclusión que para este tipo de casos, donde se presumen la presencia de células tumorales y se necesita llegar a un diagnóstico específico, las técnicas histoquímicas son esenciales para dicho fin. En este estudio se llevó a cabo la prueba de *Oil Red O* (Rojo O al Aceite) la cual es una técnica específica para contenido lipídico,¹¹ lo cual permitió demostrar la presencia de infiltración lipídica en las células claras tumorales.

Otro caso del aporte benéfico que hacen los procedimientos histoquímicos dentro del área de la salud a través del uso de un variado número de técnicas, dicho ejemplo lo podemos encontrar en una investigación documental realizada por López R, en Bogotá (2014)²⁵ denominado “Aproximación al diagnóstico patológico de las enfermedades colestásicas” Donde se explicó como el estudio histopatológico es esencial para el diagnóstico certero de las enfermedades colestásicas, a su vez este estudio necesita de la aplicación de técnicas histoquímicas para una mejor identificación de dicha afección, entre las técnicas histoquímicas mencionadas podemos encontrar: azul de Prusia que identifica depósitos de hierro, o la coloración de Ziehl-Nielsen para diferenciar el pigmento de lipofuscina (tinción positiva) del biliar (tinción negativa) y además está el Tricrómico de Masson útil para la identificación de fibras de colágeno tipo 1 y en menor cantidad fibras reticulares.

Es de este modo, se puede decir que la histoquímica en conjunto con otros factores ha logrado tener impactos benéficos y de vital importancia dentro del área de la salud, ya que en algunos casos a través de las biopsias se pueden realizar diagnósticos tempranos y también se pueden corroborar o refutar diagnósticos, acertados o desacertados. Además es importante agregar que los métodos histoquímicos son parte de una gran variedad de pruebas en algunos casos muy diferentes entre ellas, y estas realizadas por otros profesionales que hacen vida en otras áreas del campo de la salud y las ciencias, pero que en conjunto, toda esta gama de estudios y pruebas, logran hacer más sencilla la vida de los médicos al momento de tratar de ofrecer la oportunidad de tener una mejor vida a muchos pacientes. Sin estas pruebas no se habría logrado impulsar y continuar con diversas investigaciones, que han dado paso a ampliar el conocimiento humano acerca de distintas patologías y este mismo conocimiento ha permitido dar a la población global una mejor calidad de vida.

CONCLUSIÓN

Como resultado del informe monográfico presentado, se puede decir que las técnicas histoquímicas son una gama especializada de interacciones químicas entre las muestras de tejido, más específicamente los productos químicos que estas contengan o generen, y los reactivos utilizados para las pruebas. Es a través de la detección de todos esos químicos, de producción celular y tisular, que las técnicas histoquímicas trabajan para producir datos útiles al momento de un estudio y de allí su gran importancia al momento de aplicarse. Por lo tanto esta serie de técnicas requieren de estudios exhaustivos, y es necesario adquirir la experiencia necesaria a través de la puesta en práctica de las mismas.

En este estudio se introdujeron las técnicas comúnmente más utilizadas dentro del campo de la histoquímica, en primer lugar la técnica de Ácido Peryódico de Schiff (PAS) o reactivo de Schiff y la técnica de Azul Alcían ambas para la demostración de polisacáridos en reacciones positivas, seguido de las técnicas de Feulgen y Nitrato de Plata (Argentica) para la demostración de ácidos nucleicos o DNA, y por ultimo la técnica de Sudan Negro que es empleada básicamente para la demostración de lípidos o grasas, recordando que cada técnica trabaja de manera específica de acuerdo a sus características demostrativas.

Toda esta amplia gama de características han hecho de las técnicas histoquímicas una herramienta de gran utilidad que abarca muchas áreas del conocimiento científico donde estas son empleadas, entre ellas podemos contar la medicina, la biología y la botánica; son dentro de estas áreas que estas técnicas pueden contribuir con el desarrollo de la humanidad desde el punto de vista de los avances intelectuales con el descubrimiento y develamiento de los secretos de la naturaleza. Es posible que muchos campos de aplicación hayan quedado sin explorar y esto debido a la escasa o inaccesible información que se dispone de los mismos por lo que se necesita de mas indagación, pero, sin duda alguna, se puede esperar que la histoquímica, poco a poco y exponencialmente, se logre expandir hacia nuevos campos emergentes de la ciencia actual y futura.

Aunque las técnicas histoquímicas no sean fiables en el 100% de los casos, se comprobó que estas han sido punta de lanza para los médicos realizar diagnósticos de enfermedades que, en otros casos, serían potencialmente mortales como lo es el cáncer. También se ha podido conocer y reconocer los diferentes mecanismos de acción y las características distintivas de una gran variedad de patologías. A través del estudio comparativo entre diversidad de otras entidades orgánicas se ha podido descubrir y mejorar muchos aspectos de la medicina y las ciencias de la salud.

Es que sin lugar a dudas, como dijo Séneca, filósofo español: “La naturaleza nos ha dado semillas de conocimiento, no el conocimiento mismo” y también, a palabras de Charles Bukowski, escritor estadounidense “El conocimiento si no se sabe aplicar es peor que la ignorancia”.

Recomendaciones

Se cree que es imperante que en próximas investigaciones, teniendo la oportunidad y los recursos adecuados, se expanda más aun lo que se ha logrado por medio de esta investigación, es decir, recolectar mayor cantidad de información a través de la obtención de más fuentes documentales en las que se ponga de manifiesto todo lo que se ha dicho, de tal forma se recomienda: La creación de nuevas y mejores redes de información a través de las cuales se puedan recolectar y así mismo asimilar los avances y nuevos estudios que vayan saliendo a la luz con el tiempo.

Incentivar la creación de un archivo de láminas histopatológicas con diferentes tipos de coloraciones histoquímicas, tanto bien preparadas como mal preparadas de modo que puedan ser utilizadas para demostrar y comparar los errores que se pudiesen encontrar al momento de la realización de las técnicas, ofreciendo al estudiantado diversas formas de estudio y asimilación de conocimientos.

También se podría agregar a esto la realización de talleres y jornadas de actualización periódicas donde se puedan ampliar y reforzar los conocimientos ya adquiridos y de igual manera obtener conocimientos de nuevos.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por habernos dado la paciencia y sabiduría para lograr completar con éxito la entrega y defensa de esta monografía, así como también por habernos guiado durante estos 3 años de estudios.

A nuestros familiares, por todo su apoyo y sacrificio para darnos una buena educación, así como por haber estado con nosotros en el desarrollo de nuestra carrera.

A nuestra tutora, Greicy Gutiérrez, por todo el conocimiento, apoyo y paciencia brindada a lo largo de este trabajo para ayudarnos a alcanzar este objetivo

Los Autores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Esteban F, Calvo A, Montuenga L. Técnicas Citoquímicas e Histoquímicas. En: Técnicas en Histología y Biología Celular. 1a ed. Barcelona: Elsevier Masson; 2009. p. 65-117.
2. Tomasi V, Traverso V, Orrea S, Salazar M. La Formación de Profesionales en Histotecnología Rev Soc Arg Histotec. 2005; 16(1): 5-7.
3. Vilorio H. Histoquímica: Su aplicación en Medicina y Biología, Venezuela: Universidad del Zulia; 1996. P. 23-31.
4. Rodríguez L, Perales R, Chavera A, Gavidia C, Díaz C. Caracterización de las regiones organizadoras nucleolares en las células del tumor venéreo transmisible en caninos: Estudio histoquímico. Rev investig vet. Lima, Perú. 2010; 21(1): 48-53.
5. Arévalo F, Aragon V, Montes P, Guzmán E, Monge E. Incremento de Linfocitos Intraepiteliales en pacientes con Síndrome de Intestino Irritable. Rev gastroenterol. Lima, Perú. Oct/Dic 2011; 31(4): 315-318.
6. Rangel M, Zavaleta H, Córdova L, López A, Delgado A, Vidales I, et al. Anatomía e histoquímica de las Semillas del Cacao (*Theobroma cacao* L) Criollo Mexicano. Rev Fitotec Mex. 2012; 35(3): 189-197.
7. Contreras L, Moreno M, Rodríguez T, Ricci P, Contreras M. Fibroma ovárico con células estromales en anillo de sello: un tumor extremadamente infrecuente. Diagnóstico diferencial del tumor de Krukenberg. Rev chil obstet ginecol. Santiago, Chile. 2013; 78(6): 460-464.
8. González T, Alfonso C, Pérez R. Criptococosis versus alenariosis cutánea. Presentación de un paciente. Act med cent. Abr/Jun 2014; 8(2): 95-110.
9. Blandenier C. Notas sobre el origen de la técnica histológica en Venezuela: con especial referencia a su desarrollo en el Instituto Anatomopatológico "Dr. José Antonio O'Daly". Caracas: Editorial Ateproca; 2009. p. 433-465.
10. Martínez R, Gragera R. Fundamentos Teóricos y Prácticos de la Histoquímica. 1ª ed. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas; 2008. p. 10.

11. Blandenier C, Montenegro E. Compendio de Coloraciones Histológicas. 1ª ed. Caracas; 2004.
12. Silverthorn D, Silverthorn A. Fisiología Humana: Un enfoque integrado. 4ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2009.
13. Acuña A, Elguero J. Historia de la Química: Histoquímica. Rev An Quim. España. 2012; 108(2): 114-118.
14. Pawlina W, Ross M. Histología: Texto y Atlas a color con Biología Celular y Molecular. 6ta ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2013.
15. Merck KGaA. Azul Alcían en solución para detección de aldehídos y mucosustancias ácidas. Alemania; 2013.
16. Blandenier C, Montenegro E. Coloraciones que se basan en el reactivo de Schiff para demostrar glucógenos y mucinas. En: Compendio de Coloraciones Histológicas. 1ª ed. Caracas; 2004. P, 103-130.
17. Blandenier C, Montenegro E. Coloraciones para demostrar mucinas y sustancias amiloides. En: Compendio de Coloraciones Histológicas. 1ª ed. Caracas; 2004. P. 131-146.
18. Blandenier C, Montenegro E. Coloraciones para demostrar lípidos. En: Compendio de Coloraciones Histológicas. 1ª ed. Caracas; 2004. p. 147-158.
19. Picado A, Álvarez M. Química I: introducción al estudio de la materia. 2ª ed. Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia; 2008.
20. Goñi I, Mariángel P, Solar A, Besa P. Carcinoma Sebáceo de la glándula parótida. Rev Chil Cir. Santiago, Chile. Dic 2012; 54(6): 560-562.
21. Francisco J, Cabrera A, Gisela C, García C. Histoquímica de Mucinas y Lípidos del Aparato Urinario de la Baba (*Caiman crocodilus crocodilus*). Rev Fac Cs Vets. Caracas, Venezuela. 2010; 51(1): 17-26.
22. Centeno L, Bruchú E, Osuna H, Laguna G, León C. Comparación Anatómica e Histoquímica de la Madera del Guayacan Medicinal Proveniente de Muestras de Mercados con la de *Guaiacum Coulteri*. Acta Botánica, México. 2013; 105: 31-44.

23. Avila R, Samar M, Fonseca I, Olmado L, Asis O, Ferraris R. Carcinoma Mucoepidermoide de las Glándulas Salivales: Factores Pronósticos Histológicos e Inmunohistoquímicos. *Int J Morphol*. 2011; 29(2): 455-462.
24. Organización Mundial de la Salud. Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles 2010 RESUMEN DE ORIENTACIÓN. OMS [On-line] 2011 [Consultado 29 de Enero 2014] disponible en: http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_summary_es.pdf
25. López R. Aproximación al diagnóstico patológico de las enfermedades colestásicas. *Rev Col Gastroenterol*. Bogotá, Colombia. 2014; 29(2):189-199.