

CAPÍTULO VII

B. — REACTIVOS

Definición y clasificación de los reactivos.

Reactivos indurantes, fijadores, aclaradores, opacantes, aisladores y alterantes.

En histología califican de *reactivos* todas las sustancias capaces de imprimir en los tejidos modificaciones físicas ó químicas por cuya virtud pueda venirse en conocimiento de la estructura y relaciones de los elementos anatómicos.

La importancia de los reactivos histológicos se echa de ver considerando que no basta el microscopio para que el observador pueda apreciar la morfología y demás propiedades de las células. Existen tejidos, tales como el conectivo, el corneal, el nervioso, el endotelial, etc., cuyos elementos, ora por su total ausencia de color, ora por el escaso contraste de los índices de refracción de sus partes integrantes, preséntanse al micrógrafo bajo la máscara de una homogeneidad que oculta texturas complicadas, solamente denunciadas por la virtud reveladora de los reactivos colorantes.

Este singular poder revelador de los reactivos manifiéstase de una de las tres siguientes maneras : 1.<sup>a</sup>, cambiando la relación de los índices de refracción de células y sustancias intercelulares ; 2.<sup>a</sup>, fijando en ciertas partes de los tejidos un color que rechazan las demás ; 3.<sup>a</sup>, destruyendo determinadas materias para dar resalte á otras que se manifiestan refractarias.

**Clasificación de los reactivos.** — Para clasificar los reactivos, no debe adoptarse una base *puramente química*, pues que nada nos ilustraría tocante al modo de acción de los mismos ; es mucho más ventajoso distribuir los reactivos atendiendo á la *modificación que engendran* en las masas orgánicas, y por cuya vir-

tud son útiles en las indagaciones citológicas é histológicas. Caso que un reactivo provoque dos ó más acciones, se incluirá en el grupo correspondiente á su virtud predominante.

Hé aquí la clasificación:

Los reactivos obran:	Coagulando los al- buminoides de los tejidos.....	indurantes .....	alcohol, bicromato de po- tasa, formol, etc.
		fijadores .....	bicoloruro de mercurio, etc. mezcla de Flemming.
	Cambiando los índi- ces de refracción..	aclarantes.....	esencias, bálsamos.
		opacantes .....	agua, alcohol, éter, etc.
	Disolviendo ciertas partes de los te- jidos.....	aisladores .....	alcohol al tercio. potasa al 40 por 100. ácido nítrico al cuarto, etc.
		alterantes ó ablan- dantes .....	ácido hidrocloórico al cuarto
			ácido pírico á saturación. ácido nítrico, etc.
	Colorando ciertos elementos.....	colorantes sin des- composición....	carmin. hematoxilina. colores de anilina, etc.
		colorantes con des- composición....	cloruro de oro. nitrato de plata. ácido ósmico. cromato argéntico, etc.
	Conservando inalte- rables los elemen- tos.....	inofensivos.....	solución salina débil. humor ácuo, plasma, etc. guineo.
conservadores.....		glicerina. bálsamo del Canadá, etc.	

REACTIVOS INDURANTES

Los reactivos indurantes son los agentes de que se sirve el micrógrafo para acrecentar la consistencia de los tejidos destinados á ser reducidos á finos cortes microtómicos.

El mecanismo más general de acción de tales sustancias es la coagulación de las materias protéicas intra ó extracelulares ; no deja de intervenir también la sustracción del agua (acción del alcohol) y la formación, en presencia del reactivo, de compuestos sólidos, cuya consistencia se añade á la del tejido. Los reactivos

UNIVERSIDAD DE NUEVO LEON  
 BIBLIOTECA UNIVERSITARIA  
 "ALFONSO R. YLES"  
 Apto. 1625 MONTERREY, MEXICO

más útiles de este grupo son : el alcohol, el bicloruro de mercurio, el bicromato de potasa, etc.

**Alcohol.** — Elíjase, al objeto de indurar, el alcohol absoluto ó, por lo menos, de 40° (Cartier). Las piezas deben ser de pequeño tamaño, y permanecerán de dos á tres días en el líquido, el cual será abundante y se renovará dos ó tres veces.

**Bicromato de potasa.** — Las soluciones de bicromato de potasa al 3 ó 4 por 100, renovadas tres ó cuatro veces durante un mes ó dos, induran perfectamente los centros nerviosos. La induración se termina por inmersión de las piezas durante algunos días en alcohol fuerte.

Úsanse mucho también el líquido de Müller y el de Erlicki:

<i>Líquido de Müller</i> ..	{ Agua destilada .....	100
	{ Bicromato de potasa .....	2,5
	{ Sulfato de sosa .....	1
<i>Líquido de Erlicki</i> ..	{ Bicromato de potasa .....	2,5
	{ Sulfato de cobre .....	0,5
	{ Agua .....	100

**Acido crómico.**—Ha caído algo en desuso como indurante ante el favor creciente del bicromato de potasa. Su acción es muy enérgica, por lo que debe comenzarse por soluciones al 1 por 500 para terminar, al cabo de cuatro ó cinco semanas, y después de renovar el líquido varias veces, por soluciones al 1 por 100.

Tiene este reactivo la desventaja de rebajar notablemente la afinidad que, para con determinadas substancias colorantes, posee la cromatina nuclear.

El ácido ósmico, el bicloruro de mercurio, el cloruro de paladio, el bicloruro de platino, gozan asimismo de propiedades indurantes.

**Formol.** — Hoyer, Doring, Lachi, Dell Isola, etc., han recomendado para la induración de tejidos, y particularmente del nervioso, una solución acuosa de formol ó formalina al 10 por 100. Tiene el formol la ventaja de endurecer bien y de no mermar la afinidad de los núcleos para las materias tintóreas.

## FIJADORES

Así se designan los agentes que fijan y conservan la forma y estructura de las células vivas. Los reactivos más usados de este grupo son : el ácido ósmico, el alcohol absoluto, el bicloruro de mercurio, la mezcla de Flemming, etc.

**Acido ósmico al 1 por 100.** — En este líquido deben permanecer las piezas, según su espesor, desde algunos minutos á varias horas. Los elementos más alterables, tales como los glóbulos sanguíneos y tubos nerviosos, conservan fielmente su forma una vez tratados en vivo por dicho reactivo.

**Reactivo de Kleinenberg.** — Solución acuosa concentrada de

Ácido pícrico .....	100
— sulfúrico .....	2

Para usar este líquido, conviene diluirlo en dos ó tres veces su peso de agua.

**Licor de Flemming.**

Agua destilada .....	100
Ácido crómico .....	0,25
— ósmico .....	0,1
— acético .....	0,1

**Mezcla de Fol.** — Es un líquido de Flemming más débil, y en ocasiones más conveniente, por cuanto respeta mejor las afinidades tintóreas de las células.

Ácido crómico al 1 por 100 .....	25
— ósmico al 1 por 100 .....	2
— acético al 2 por 100 .....	5
Agua .....	68

En la mezcla de Flemming y de Fol, permanecerán las piezas de dos á veinticuatro horas, según el volumen; luego se lavarán en agua, y concluirán de indurarse en alcohol. Estos fijadores son excelentes para el estudio de la kariokinesis.

**Bicloruro de mercurio.**—Se usa disuelto á saturación en agua destilada. Las piezas frescas se abandonan en el reactivo durante veinticuatro horas; después se lavan en mucha agua y se

llevan al alcohol, desde el cual pueden pasar á la celoidina ó parafina, á menos que no se quiera teñir en masa antes de la inclusión. Este reactivo es también indurante. Fija bien las figuras kariokinéticas.

#### Licor de Perény.

Ácido nítrico al 10 por 100.....	40 cents. cúbs.
Alcohol absoluto.....	30 » »
Ácido crómico al 0,5 por 100.....	30 » »

Este líquido fija los objetos pequeños en cinco ó seis minutos. Prolongando la acción de doce á veinticuatro horas, se obtiene además una induración bastante notable, que puede exagerarse todavía en el alcohol. Una vez extraído el objeto del fijador, se sumerge en alcohol al 70 por 100 (por veinticuatro horas), luego en alcohol al 90 por 100, y por último, en alcohol absoluto.

La coloración puede hacerse en los carmines, hematoxilinas, anilinas, etc.

Se ha recomendado el líquido de Perény para el estudio de las células y fibras nerviosas, que fija perfectamente.

#### Acido cromo-fórmico (Rabl).

Ácido crómico al 3 por 100.....	200
— fórmico concentrado.....	5

Debe actuar sobre las partes, cuyos núcleos deseemos impregnar, de doce á veinticuatro horas. Antes de proceder á la coloración, para la que se preferirá la hematoxilina ó safranina, se lavarán por algunas horas las piezas en agua destilada y se indurarán en alcoholes de progresiva concentración.

#### Alcohol acético (Carnoy, van Beneden).

Alcohol absoluto.....	300
Ácido acético.....	100

Este líquido se aconseja para fijar el ovario del *ascaris megaloccephala*. Tiempo de acción, de diez á quince minutos. Induración subsiguiente en alcohol absoluto.

#### Mezcla cromo-formólica (During, etc.).

Bicromato de potasa.....	3
Agua.....	100
Formalina.....	3

Sirve para indurar y fijar rápidamente el tejido nervioso.

#### REACTIVOS ACLARADORES Y OPACANTES

Reactivos *aclaradores* son los que obran borrando ó moderando el contraste de los índices de refracción de las partes constitutivas de los tejidos. Cuanto más diferencia de índice exista entre las células y el medio orgánico en que yacen, más oscuras aparecerán las preparaciones y más difícil resultará la apreciación de los elementos colocados en el espesor de éstas.

Las materias capaces de atenuar dichos contrastes, y que, por ende, prestan á los cortes histológicos una gran transparencia, son las esencias (esencia de clavos, la de bergamota, la de orégano, el xilol, la creosota, etc.), y las soluciones de bálsamo del Canadá ó de resina d'Amarr en xilol.

Reactivos *opacantes* son los que, por gozar de un índice de refracción muy bajo, obran en sentido contrario, es decir, oscureciendo el contorno de las células y robando transparencia á la preparación. Este efecto, que en los cortes suele ser dañoso, resulta muy beneficioso cuando se examinan células sueltas, ténues filamentos libres, diatómeas, en fin, todas aquellas partes cuyas superficies exhiben rayas ó expansiones de gran delicadeza. Entre los agentes opacantes deben contarse: el aire, el alcohol, el éter y el agua común.

Las materias de un índice muy elevado, mucho más alto que el de los tejidos, tales como el *stirax*, el *liquidambar*, el *ioduro de metilo*, tienen también una acción opacante, puesto que prestan á la preparación, aunque en sentido opuesto, el mismo contraste engendrado por los líquidos de bajo índice. El *stirax* es, sobre todo, muy usado por los diatomistas, á fin de dar realce á las finas rayas del *amphipleura pellucida* y del *pleurosigma angulatum*.

#### REACTIVOS AISLADORES

Son los que, atacando las materias intercelulares, dejan en libertad las células, ó facilitan, por lo menos, las maniobras de la disociación mecánica.

**Alcohol al tercio**, es decir, dos partes de agua por una de alcohol de 36°. Este reactivo, que fué preconizado por Ranvier, aísla fácilmente, mediante una maceración de veinticuatro á cuarenta y ocho horas, las células de los epitelios cilíndricos y pavimentosos, así como las fibras musculares lisas.

**Acido nítrico al 25 por 100.** — Si se macera en este licor, por uno á tres días, tejido de fibra lisa ó el músculo cardíaco, se logra disociar cómodamente las fibras musculares.

El **ácido sulfúrico** concentrado sirve para disociar las células epiteliales córneas, y diluído al 5 por 100, aísla fácilmente los prismas del cristalino.

El **bicromato de potasa**, diluído al 1 por 300, es de gran provecho para lograr el aislamiento de las células neuróglícas y nerviosas de la médula espinal. El tiempo de acción debe prolongarse de dos á cinco días.

#### ABLANDANTES Ó ALTERANTES

Se usan para rebajar la consistencia de sustancias excesivamente duras, como el hueso y el cartílago en vías de osificación. Los ablandantes más generalmente usados son: el ácido crómico, el pícrico, el nítrico, el hidroc্লórico, todos en soluciones más ó menos diluídas, excepto el pícrico, que se aplica á saturación.

He aquí algunas fórmulas:

##### Líquido de Fol:

Ácido crómico al 1 por 100.....	70
— nítrico.....	3
Agua.....	200

##### Líquido de Waldeyer:

Cloruro de paladio.....	0,01
Ácido clorhídrico al 1 por 100.....	1000

##### Líquido de Ebner:

Ácido clorhídrico.....	2,5
Alcohol.....	500
Cloruro sódico.....	2,5
Agua destilada.....	100

##### Líquido de Haug á la floroglucina:

Floroglucina.....	1
Ácido nítrico.....	10

Caliéntese hasta disolución y añádase:

Agua destilada.....	100
---------------------	-----

**Observaciones.**—La cantidad de líquido con relación á las piezas debe ser considerable, para que la decalcificación sea rápida.

Antes de decalcificar toda pieza, deberá ser fijada y endurecida en alcohol ó líquido de Müller.

Extraídas las piezas del líquido decalcificante, se lavarán, por veinticuatro ó cuarenta y ocho horas, en agua destilada; después volverán al alcohol, donde se deshidratarán, esperando la inclusión definitiva.

La mejor materia de inclusión es la celoidina; la parafina producirá excesiva consistencia. Los cortes se teñirán con zafranina, carmines, hematoxilina, etc.