

mostrar aquellos elementos colcrados de azul intenso en medio de otros que no han atraído el color. De esta suerte se forma idea cabal de la morfología de los mismos. El manual operatorio es el del teñido de las fibras nerviosas. Supongamos que deseamos colorar las fibras musculares del intestino del conejo: se comenzará por inyectar en la aorta una solución al medio por 100 de azul de metileno de Ehrlich, se abandonarán al aire por una hora las asas intestinales, y se fijarán en molibdato amónico. Los cortes, obtenidos por endurecimiento en formol, pueden colorarse todavía con carmín de Grenacher (véase, para más detalles, el *Método de Ehrlich*, descrito en la pág. 90).

b) *Fibras musculares estriadas*. — Conviene estudiarlas en el vivo y tratarlas por diferentes reactivos: cloruro de oro, ácidos, álcalis, alcohol, bicromatos, etc., etc.

*Examen en vivo*. — A este fin son preferibles las fibras de las patas de los insectos (hidrófilo, escarabajo, cucaracha, etc.). Si operamos en el hidrófilo, debemos comenzar por arrancar una pata al animal y recoger el plasma que rezuma de la herida sobre un porta-objetos. Acto continuo se corta, á favor de tijeras finas, un pedazo del paquete muscular que aparece en el muñón, ó un trozo de los músculos interiores de las patas; se traslada la masa viva rápidamente al porta-objetos y se cubre con una laminilla, evitando ejercer sobre las fibras la menor presión. Si la maniobra se ejecuta con destreza, los haces musculares se mostrarán íntegros, sobre todo en sus porciones centrales, y no será difícil encontrar algunos recorridos por ondas de contracción. La observación se realizará de preferencia en los haces atravesados por ondas lentas ó conmovidos por débiles sacudidas.

Cabe asimismo practicar el estudio de la trama viviente del músculo en las fibras cortadas de través, procedimiento utilísimo para apreciar el valor analítico de los ácidos y de todos los agentes que revelan las redes transversales. Para ello no hay más que picar en menudos fragmentos un trozo de músculo todavía palpitante, á favor de un escalpelo bien afilado y sobre el mismo porta-objetos, lubricado por una gota de plasma. Entre los pequeños trozos que se presentarán al examen, una vez cubierta (sin presión) la preparación, hallaremos algunos situados de punta, que mostrarán elegantes reticulaciones transversales iguales á las reveladas por el oro.

c) *Preparación por los ácidos*. — Estos agentes acentúan la textura preexistente en los haces vivos, al paso que hinchan la materia miósica y determinan á menudo la segmentación en discos. El procedimiento que muchos autores recomiendan, es la maceración del tejido vivo por veinticuatro ó más horas, en una solución de ácido clorhídrico al 1 por 1000 ó por 500. El ácido fórmico al 1 por 100, y aun á mayor concentración (1 por 4), da igual resultado, teniendo la ventaja de actuar más rápidamente.

Pero el procedimiento más elegante para demostrar la trama prexis-

tente de las fibras estriadas, es el de la impregnación aúrica asociada á la acción de los ácidos. Los métodos ideados son varios; pero nosotros preferimos, por su gran constancia, el siguiente, casi idéntico al de Loewit. Trozos de músculo vivo se han abandonado por cinco á diez minutos en una solución de ácido fórmico al cuarto; luego se inmergen en cloruro de oro al 1 por 100, en donde permanecen cuarenta ó sesenta minutos, y, por último, se maceran en la obscuridad, de veinticuatro á cuarenta y ocho horas, en ácido fórmico al tercio. Los trozos de músculo adquieren, al cabo de este tiempo, color violeta oscuro, son sumamente friables y se reducen á fragmentos transversales con la mayor facilidad, ya por simple compresión, ya por insistente capolamiento, á favor de un escalpelo bien afilado, sobre un porta-objetos. El examen debe efectuarse en agua ó alcohol con un fuerte objetivo de inmersión, sobre todo si se trata de músculos de vertebrados, cuyos elementos son mucho más finos que los de los haces de los insectos. La substancia miósica aparecerá hinchada, incolora, con débil índice de refracción, pudiendo faltar por completo en los parajes más enérgicamente atacados por los ácidos. Sobre este fondo incoloro, en gran parte ocupado por el líquido reactivo, destaca la trama fibrilar del haz teñida en violeta. Los cortes transversales presentarán, con gran limpieza, las redes y los campos de Cohnheim; los longitudinales, los filamentos preexistentes y sus engrosamientos, que son las partes más enérgicamente impregnadas.

d) *Disociación de las fibrillas*. — Ya hemos visto por el texto, que las fibrillas preexistentes sólo son en parte disociables por los ácidos y álcalis y que la acción de los coagulantes las fragmenta ó por lo menos las presta una friabilidad que imposibilita aislarlas. Pero no así las fibrillas primitivas, cuya separación es facilísima con ayuda de cualquier agente coagulante: el alcohol, el ácido ósmico, el ácido pírico, crómico, bicromato de potasa, bicloruro de mercurio, etc. La simple maceración en agua común y aun la coagulación espontánea, son condiciones que pueden determinar la disociación.

Con todo, el medio más seguro y el que permite un estiramiento más fácil y por consiguiente la exhibición de mayor número de estrias en las fibrillas, es el alcohol flojo (de 33 á 50°). Los músculos frescos deberán abandonarse en este líquido por dos ó cuatro días, y serán disociados con las agujas por el procedimiento de la semidesección. La preparación se teñirá por el carmín ó la hematoxilina y se montará en glicerina.

La *disociación* de las fibrillas por las agujas es facilísima en los músculos de las alas de los insectos, donde la coagulación de la miosina es, digámoslo así, sobre todo en ciertos insectos (muscidos), instantánea. Basta disociar en agua ó en plasma un trozo de músculo torácico de mosca común para que inmediatamente aparezcan numerosas fibrillas perfectamente aisladas. La descomposición es menos fácil en otros insectos (hidrófilo, escarabajo, etc.), y todavía más dificultosa en los neurópteros,

ortópteros, etc.; pero en todo caso se logra con sólo macerar el músculo algunas horas en agua común.

El procedimiento, por decirlo así, clásico de disociación, es el del alcohol al tercio. Supongamos que se trata del hidrófilo: Con unas tijeras finas, se cortan las partes laterales del tórax, cuyo caparazón se levanta por su parte inferior, poniéndose al descubierto unas masas amarillentas, opacas, que se dirigen hacia la raíz de las alas. Mediante las tijeras, se tomará un poco de esta materia muscular y se trasladará al alcohol al tercio, donde se abandonará por dos ó tres días. La disociación se operará con las agujas y sin más líquido que el que empapa naturalmente las fibras recién extraídas del reactivo. La maniobra ofrece algunas dificultades que la práctica sólo puede vencer, pues no se trata de un simple desprendimiento de las fibras, cosa facilísima, sino del estiramiento y adherencia de las mismas al porta-objetos, á fin de que, al sufrir la influencia de los reactivos, permanezcan fijas y conserven todas las complicadas estrias reveladas por la distensión. Luego, y antes que la preparación se seque (un principio de desecación es favorable), se deposita en ella una ó dos gotas de una disolución concentrada y bien rancia de hematoxilina de Böhmer; al cabo de algunos minutos, se lava el preparado y se monta en la glicerina ó en el bálsamo. El examen con un objetivo fuerte, mostrará muchas fibras estriadas constituidas por numerosas bandas superpuestas, unas teñidas intensamente, otras casi absolutamente incoloras, (véase la fig. 121).

El procedimiento *de los cortes*, previa fijación al alcohol y teñido, bien en la hematoxilina, bien en las anilinas, será utilísimo, tanto en los músculos de los insectos como en los de los vertebrados, para darse cuenta de la forma y asociación de los haces y de la situación y número de los núcleos. El englobamiento en la parafina proporciona las más bellas preparaciones.

e) *Fibras cardíacas*. — Serán convenientes todos los procedimientos descritos anteriormente, con especialidad el del cloruro de oro. Sólo que, para obtener preparaciones bien demostrativas, se echará mano del corazón del carnero ó del buey y no de la rana ó del conejo, cuyas fibrillas preexistentes son excesivamente delicadas y alterables.

Para la disociación, se recurrirá á la potasa al 33 ó 40 por 100. Los trozos frescos de tejido cardíaco se abandonarán por media á una hora en este reactivo, y luego se disociarán en él á beneficio de las agujas. El examen, que deberá hacerse en el líquido reactivo, mostrará los elementos cardíacos sueltos ó medio desprendidos, y revelará los núcleos sumamente pálidos y homogéneos por disolución de su cromatina.

f) *Unión de las fibrillas estriadas y los tendones*. — Los cortes de preparados (fijados con alcohol ó con ácido ósmico) que contengan ambos tejidos, darán ya una idea aproximada. Los músculos preferibles son los intercostales en su punto de inserción en los cartílagos.

El procedimiento de los ácidos y cloruro de oro es también un buen recurso, pues demuestra claramente la terminación de las fibras preexistentes por dilataciones cónicas y los núcleos del sarcolema. Weisman ha recomendado la maceración de las fibrillas vivas en la potasa al 40 por 100 (por media á una hora).

Tienen estos procedimientos el inconveniente de no mostrar bien la presencia del sarcolema entre el tendón y la materia estriada. A fin de denunciar esta membrana y refutar la vieja opinión de que las fibrillas musculares se continúan con las tendinosas, Ranvier recomienda un medio singular que consiste en asfixiar una rana, sumergiéndola hasta que quede rígida, en agua á 55°. Examinadas las fibras en su unión con los tendones, se ve el extremo de la materia estriada fuertemente retraído, mientras que el sarcolema permanece en su sitio, sujeto al haz tendinoso, al que adhiere mediante una substancia muy tenaz. La potasa recomendada por Weissman, obra, según Ranvier, de la propia manera.