

CÉLULAS DIFERENCIADAS

Objetivo general:

Estudiar las características particulares de diferentes tipos celulares especializados. Para cumplir con este objetivo se analizarán imágenes de preparados histológicos (microscopía fotónica de campo claro) y micrografías electrónicas.

Se recomienda complementar la información de esta guía y del protocolo de práctico con los siguientes recursos:

- Libro: Histología texto y atlas M.H. Ross y W. Pawlina. 7ma edición (2016).
- Recurso web: Atlas de histología vegetal y animal
<https://mmegias.webs.uvigo.es/inicio.html>

A) CÉLULAS CONJUNTIVAS

Objetivos:

- Comprender las características estructurales de las células conjuntivas y los elementos de la matriz extracelular.
- Analizar las propiedades del colágeno.

Descripción básica

Las células conjuntivas derivan del mesénquima embrionario. El mesénquima es un tejido conectivo laxo formado en etapas tempranas del desarrollo embrionario, a partir del mesodermo y la cresta neural. Los miembros de la familia de las células conjuntivas están relacionados y en algunos casos pueden ser interconvertibles. Esta familia incluye a los fibroblastos, células del cartílago y células del hueso; todas se especializan en la secreción de la matriz extracelular y se caracterizan por no presentar uniones estables entre sí. Esta familia también incluye a los adipocitos, cuya función es el almacenaje de lípidos. Las células conjuntivas juegan un papel central en el soporte y reparación de casi todo tejido y órgano, y la adaptabilidad de su carácter diferenciado es un rasgo importante para responder a diferentes tipos de daños.

La función particular de cada tejido conjuntivo depende en gran parte de las propiedades de la matriz extracelular. Los elementos proteicos (fibras, proteoglucanos y glucoproteínas adhesivas) son responsables de su resistencia a la tensión y compresión, así como de su elasticidad, y la fase acuosa es el medio a través del cual todas las sustancias nutritivas y productos de desecho deben pasar entre la sangre y los tejidos.

Preparados

- Corte de tejido adiposo, blanco o pardo
- Corte de cartílago hialino

Anexo

- Tejido conjuntivo laxo: Montaje *in toto* de tejido inflamatorio, “bola de edema”
- Corte transversal de arteria elástica
- Corte de órgano parenquimatoso (hígado, doble impregnación argéntica)

- Corte de hueso compacto seco

- **Síntesis de colágeno**

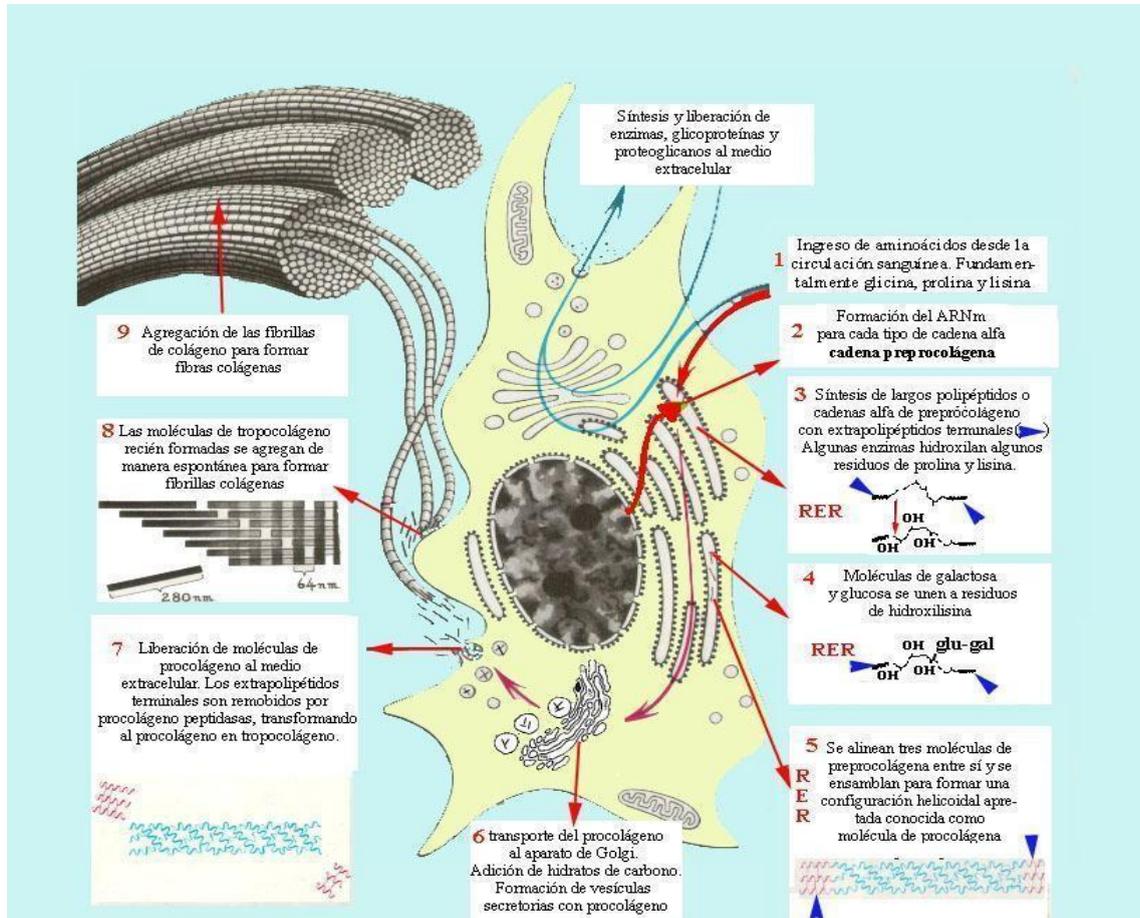


Figura 1: Representación esquemática de los fenómenos biosintéticos y la participación de diferentes organelos en la formación del colágeno. A la derecha se definen los procesos intracelulares (1-6) y a la izquierda los pasos que conducen al montaje extracelular de las fibrillas de colágeno estriadas transversalmente, que a su vez se agregan y forman las fibras (7-9).

Protocolo de actividad práctica que no se realizará en el curso 2021.

1. Obtención de colágeno solubilizado a partir de tendón de cola de rata.

Disección y observación de tendones aislados

- 1.- Seccione la piel de la cola de una rata y observe las largas fibras acintadas que transcurren longitudinalmente (paquetes de tendones).
- 2.- Seccione y aísle algunos tendones y colóquelos en buffer fosfato salino.
- 3.- Realice preparados para observación microscópica: uno sin colorear o coloreado con verde de metilo (tinción nuclear), y otro coloreado con una gota de Azul Brillante de Coomassie. Use vidrios portaobjetos y cubreobjetos limpios, se recomienda lavarlos previamente con alcohol 95%.

4.- Observe los preparados y responda: ¿cómo se disponen las fibras de colágeno en los tendones?

Solubilización del colágeno

1.- Coloque los tendones previamente seccionados en una solución de ácido acético al 0.5%, en agitación.

2.- A los 10 minutos:

a) Observe macroscópicamente. ¿Qué cambios observa en el diámetro y en el color de los tendones luego de 10 minutos de incubación en ese medio?

b) Realice un montaje entre porta y cubreobjetos, coloreando con Azul Brillante de Coomassie y observe al microscopio.

3.- Luego de 30 minutos, realice un montaje entre porta y cubreobjetos, coloreando con Azul Brillante de Coomassie, y observe al microscopio.

¿Qué cambios registra en relación a los preparados observados antes? ¿Observa algún cambio a nivel de las fibras?

2. Polimerización del colágeno

1. Antes de comenzar la polimerización del colágeno a partir de colágeno solubilizado, que será proporcionado por el docente, montar una gota de la solución (20 µL) entre porta y cubreobjetos, realizando la tinción con una gota de Azul Brillante de Coomassie. Es importante la limpieza de los vidrios portaobjetos y cubreobjetos (lavar previamente con alcohol 95% y secar al aire).

2.- A 400 µl de solución de colágeno solubilizado se le agregan en el siguiente orden: 100 µl de PBS 5X y 100 µl de buffer bicarbonato (0.08 M NaHCO₃; 0.26 N NaOH). Esto lleva a la solución de colágeno a pH y concentración salina fisiológicos.

3.- Incubar a 37°C durante 10 minutos. A continuación, realice un preparado de la muestra teñida con Azul Brillante de Coomassie.

i) ¿Observa alguna estructura en el preparado? Describa brevemente.

ii) ¿Se observan fibras?

iii) ¿Qué técnica microscópica emplearía para determinar de qué forma polimerizó el colágeno?

iv) *Observe la micrografía 19D.* ¿Cómo relaciona estas imágenes con el experimento realizado en clase?

B) CÉLULAS EPITELIALES

Objetivo:

- Comprender las características estructurales de las células epiteliales relacionándolas con sus funciones particulares.

Descripción básica

Las células epiteliales cubren la superficie externa del cuerpo y tapizan espacios y tubos dentro de él. Forman tejidos constituidos por células contiguas entre las que existe poca o ninguna matriz extracelular. La matriz extracelular de los epitelios

se denomina lámina basal y separa al epitelio del tejido conjuntivo subyacente. Las células epiteliales presentan distintos tipos de uniones entre ellas (herméticas, cinturones en banda, desmosomas y comunicantes) y entre las células y la matriz extracelular (hemidesmosomas y contactos focales). Presentan especializaciones de membrana en su superficie apical involucradas en las funciones de absorción (microvellosidades) y movimiento (cilias).

Las células epiteliales presentan polaridad a nivel estructural y funcional. Esta característica está relacionada con sus funciones vectoriales.

Los diferentes tipos celulares presentes en los epitelios diferirán según su función y la del órgano que forman. En clase analizaremos diferentes tipos celulares epiteliales especializados e identificaremos sus características ultraestructurales.

Preparados

- Corte transversal de intestino delgado
- Corte de piel
- Corte transversal de tráquea

Anexo

- Corte de páncreas