

NOTA SOBRE CÉLULAS CEBADAS EN LA MÉDULA ROJA DE TERNERA

por el

R. P. JAIME PUJÚLA, J. S.

En un trabajo, publicado en el *Archiv für mikroskopische Anatomie* 83. Band (1913), combate A. Maximow la opinión de varios autores que han querido negar la especificidad de las células (leucocitos) cebadas en la sangre y, consiguientemente, de mielocitos cebados en la médula roja, órgano hematopoyético. Algunos de estos autores muestran la tendencia a considerar los leucocitos *cebados* como linfocitos o leucocitos uninucleados, cuyo cuerpo celular ha degenerado, dando productos mucosos en forma grumosa e irregular que se teñirían como los gránulos de las células cebadas: todo lo más, tendríamos, en este caso, *pseudo-leucocitos cebados*; lo cual equivale a negar su categoría como granulocitos *basófilos* específicos, comparables a los otros granulocitos *eosinófilos* y *neutrófilos*.

Maximow da la voz de alerta, para que la doctrina de los granulocitos en cuestión no tome, en la ciencia, un sesgo torcido. A este fin, opone él sus numerosas investigaciones, referentes al hombre, al conejo, al conejito de indias, a la rata, al perro, al erizo, al gato y al ratoncito. Maximow defiende la especificidad de los leucocitos cebados hematógenos y su derivación de mielocitos cebados, mostrando a la vez la razón del por qué ciertos autores han podido dar en la idea

de que eran células degeneradas. Las granulaciones basófilas de dichos leucocitos son, efectivamente, muy sensibles al agua, que los disuelve. De aquí la necesidad de aplicar, para su investigación, una técnica apropiada, que no sólo evite los lavados en agua, sino también los tratamientos por líquidos o reactivos acuosos. El no haber tenido presente esta circunstancia en los procedimientos de investigación, habrá sido causa de que muchas de sus granulaciones se disolviesen, apareciendo los leucocitos cebados a los ojos de ciertos autores como células degeneradas, negándoles, en su consecuencia, la categoría de granulocitos específicos. Por el contrario, aplicando la técnica de Maximow, que deja intactas las granulaciones, se ve claro que no existe razón alguna para negarles su especificidad y el puesto que les corresponde, al lado de los granulocitos eosinófilos y neutrófilos.

La técnica de Maximow es, por demás, sencilla y se reduce a fijar los frotos de sangre y de médula roja en alcohol absoluto y a teñirlos con tiónina alcohólica. He aquí compendiado el proceso:

1.º Preparado el frote en el cubre y húmedo aún, lo fija en alcohol absoluto, procurando que la parte impregnada del cubre mire hacia arriba en la cápsula o recipiente que contiene el alcohol. Aquí deja el cubre hasta el tiempo de la tinción: no daña el que esté varios días.

2.º Tiñe luego el frote durante 10-20 minutos con tiónina alcohólica alcalinizada, que prepara así: hace una solución saturada de esta anilina en alcohol de 75°; y a ella agrega, por cada 10 c. c. de solución, 2 c. c. de carbonato de sodio al 2 %. Deja en reposo la mezcla 24 horas, durante las cuales se forma un precipitado. Después de estas 24 horas, ya se puede usar el colorante, filtrándolo debidamente antes de su uso. Se mantiene en buen estado de dos a tres semanas.

3.º La diferenciación se hace en alcohol absoluto, sigue el xilol y el bálsamo del Canadá.

Nosotros hemos ensayado esta técnica, aplicándola a frotos de sangre humana y de médula roja de ternera con buen éxito, sobre todo en el último material, dando con las células cebadas que buscábamos. Muy bien se distinguen dichas células con sus granulaciones basófilas, teñidas metacrómicamente de pardo-violeta en la forma que representa la figura *b* (lámina), donde no se vé razón para considerarlas degeneradas. Tenemos, pues, desde luego una confirmación de lo hallado por Maximow, en la sangre del hombre; y, además, la aplicación de su método a la investigación a la médula roja de un nuevo animal, la ternera, donde igualmente encontramos las células cebadas, sin rastro de degeneración, siendo por ello nuestros datos un apoyo más de la opinión de Maximow.

Nò contentos con estos resultados positivos, quisimos probar de dar un paso más en el método, intentando teñir en una misma preparación así las granulaciones *basófilas* como las *oxífilas*, las cuales abundan muchísimo en la médula roja de ternera. A este fin, ensayamos una segunda tinción con la eosina, disuelta, no en agua ni en algún alcohol de baja graduación, sino en alcohol de 95º (y aún se podría disolver en el absoluto), siempre con el fin de evitar la disolución de los gránulos basófilos. La tinción se hace en el mismo porta-objetos, después de teñida la preparación por la tionina y su debida diferenciación. El ensayo se practicó en frotos, tanto de sangre humana como en médula roja de ternera. En la sangre, nada pudimos conseguir: desaparece completamente la tinción tionínica y los mismos leucocitos presentan sus núcleos colorados en rojo, como si allí hubiese tenido lugar cierta inversión del poder colorante: la eosina lo

invade todo y hace desaparecer los efectos de la tionina. En cambio, aplicando el método a la médula roja de ternera, ha dado excelente resultado: porque, por un lado, las células cebadas muestran, con la misma claridad que antes, sus granulaciones basófilas, bien que tomando éstas por ventura un color pardo, algo más pronunciado, que con la simple tionina; y, por otro, las células o leucocitos con granulaciones eosinófilas se tiñen admirablemente, como puede verse en la figura *c* (lámina). De aquí resulta, cuando menos, un ahorro de tiempo y una simplificación de método para la investigación de entrambas clases de granulocitos. Más aún, creemos que será fácil llegar a distinguir en una misma preparación hasta los leucocitos con granulaciones *neutrófilas*, siquiera sea por el carácter negativo de no teñirse sus granulaciones, ni por el colorante básico ni por el ácido. Claro que la carencia de tinción los hace poco visibles: así y todo, con un poco de cuidado y graduando convenientemente la luz, se harán visibles. Por tales reputamos al principio las células *d* (lámina); pues nos pareció descubrir en ellas granulaciones. Después, con todo, dudamos; porque, examinando la preparación con inmersión homogénea, sólo una vez pudimos ver con claridad una célula con granulaciones que no se habían teñido, ni por la tionina ni por la eosina (figura *e*, lámina); por lo cual nos creemos autorizados para creer que dichas granulaciones son neutrófilas. No podemos decir otro tanto de las otras células *d* (lámina), cuyas granulaciones son más bien sospechadas que vistas con seguridad.

Sobre un punto nos parece llamar la atención acerca de la modificación o ampliación, introducida por nosotros, en el método de Maximow, y es la coloración algo distinta que presenta la cromatina. Con el simple método de Maximow del alcohol-tionina, los núcleos se tiñen de azul (figuras *a* y *f*

lámina); si se colorea secundariamente el frote de la médula roja, mediante la eosina alcohólica, la cromatina del núcleo no es azul, sino más bien rojizo-vinosa: su aspecto recuerda en seguida la tinción momentánea de núcleos por la hematoxilina de Delafield o de Hansen (figuras *b, c, d, e*, lámina): con dificultad se distinguiría una tinción de otra.

Finalmente, ya que de células cebadas hablamos y de sus granulaciones basófilas, no será por demás traer a la memoria, que por el método metapolicrómico de Gallego (1) las células cebadas se coloran en violeta-oscuro, al paso que los núcleos de las células son más bien violeta-rojizos. El método de Gallego supone fijación en formol, o en alcohol, primero, y después en formol. Nuestros ensayos han demostrado que el resultado es el mismo con otros fijadores, el sublimado corrosivo y el Boule C (2). El sublimado lo hemos comprobado en frotos de médula roja de ternera. Y con ocasión de ensayar el método de Maximow para la investigación de células cebadas en la sangre y médula roja, quisimos comparar, en esta parte, el resultado de entrambos métodos. Con el método de Gallego, modificado por nosotros, cuanto al fijador, sólo una vez pudimos descubrir una célula con granulaciones basófilas, siendo así que por el método del *alcohol-tionina* o *alcohol-tionina-eosina*, son muchas las células con dichas granulaciones. Este diverso resultado, sólo se puede explicar, teniendo en cuenta la sensibilidad de las granulaciones en cuestión, al agua que las disuelve, como dijimos. Ahora bien; como el método de Gallego exige el tratamiento del material por líquidos acuosos, se disolverán por precisión muchos gránulos en su paso por ellos. Quizás se deberá

(1) Véase el *Any tercer de la Societat de Biologia de Barcelona* (1915).

(2) Véase nuestra *Citología*, Parte práctica: Técnica y Observación, números 30 y 31 (1918).

a la misma causa el que las células cebadas *histógenas* que, según Maximow y otros, constituyen clase distinta, teniendo, no obstante, de común con las *hematógenas* las granulaciones basófilas, se presenten en los cortes histológicos de la lengua de la rata, donde abundan notablemente, bajo la forma de masas grumosas que encierran el núcleo; masas grumosas, todas del mismo color: probable es que los gránulos, desprendidos de la masa, se hayan disuelto.

Para terminar, mencionaremos que en los frotos de médula roja de ternera, tratados por alcohol-tionina, se tiñe de pardo-rojizo el protoplasma de ciertas células que recuerdan las células *plásmicas* (fig. f, lámina). Como quiera que la tinción se parezca algo a la de las granulaciones basófilas, se nos ofrece, si por ventura tendríamos en ellas algún estadio previo de células cebadas. No hemos estudiado aún ni su origen ni su futura suerte: por esto nos contentamos con señalar aquí el hecho de su peculiar tinción, reservando, en todo caso, para más tarde descifrar, si podemos, lo que sean.

LABORATORIO BIOLÓGICO DE SARRIÀ.

EXPLICACIÓN DE LAS FIGURAS

LÁMINA CELULAR DE LA MÉDULA ROJA DE TERNERA

- a) *leucocito cebado* (alcohol-tionina).
- b) *leucocitos cebados* (alcohol-tionina-eosina).
- c) *leucocitos eosinófilos* (alcohol-tionina-eosina).
- d) *leucocitos neutrófilos?* (alcohol-tionina-eosina).
- e) *leucocito neutrófilo* (alcohol-tionina-eosina).
- f) *células plásmicas?* o *estadios jóvenes de células cebadas?* (alcohol-tionina).

