



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

ESTUDIO HISTOLOGICO DE LAS FIBRAS  
ELASTICAS  
DEL OIDO EXTERNO (OREJA) DEL CANIDEO  
(Canis familiaris), SUINO (Sus scropha) Y OVINO  
(Ovis ovis) DOMESTICOS

288547

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

**MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A :

**IRIS PASTRANA AGUILAR**

DIRECTOR DE TESIS:  
M.en C., M.V.Z. JUAN OCAMPO LOPEZ

ASESOR DE TESIS:  
M.V.Z. YOLANDA ROMERO SANCHEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO DE MEX. 2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

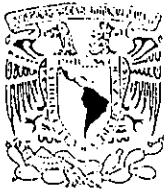


**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

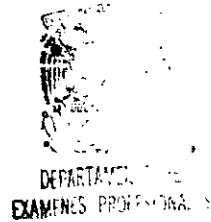
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
ASISTENTE DE ESTUDIOS APROBATORIO:  
SUPERIORES-CUAUTITLAN



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Estudio Histológico de las Fibras Elásticas del oído externo  
(oreja) del Canideo (Canis familiaris), Suino (Sus scropha) y  
Ovino (Ovis ovis) Domésticos"

que presenta la pasante: Iris Pastrana Aguilar.  
con número de cuenta: 8939736-1 para obtener el título de:  
Médica Veterinaria Zootecnista.

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 27 de Septiembre de 2000.

PRESIDENTE	MVZ. Carlos Manuel Appendini Tazzer	
VOCAL	MVZ. Alberto Chávez Enriquez	
SECRETARIO	M.C. Juan Ocampo López	
PRIMER SUPLENTE	M.C. Miguel Angel Cornejo Cortes	
SEGUNDO SUPLENTE	M.C. Crisóforo Mercado Márquez	

## DEDICATORIAS

**A MI PADRE, Lic. Rafael Pastrana Vargas.** Porque a pesar de que ya no estás conmigo se que estás orgulloso de este trabajo, te doy gracias por tus esfuerzos y las enseñanzas que me diste gracias a las cuales tuve las bases para salir adelante.

**A MI MADRE, Elba Aguilar Martinez.** Gracias por haber estado conmigo en cada momento, por tu compañía y por esas bendiciones que me dabas todos los días al salir de casa.

**A MI HERMANA, Flor Pastrana Aguilar.** Gracias por darle a mi vida comprensión, amor y sobre todo por que nunca has dejado de preocuparte por mi y tu sabes que gran parte de esta trabajo es tuyo.

**A MI SOBRINITA, Flor Michelle.**

Te agradezco que estés conmigo, que hayas traído ese entusiasmo y esas ganas de vivir que me contagiaste y me dieron nuevas energías para continuar adelante.

**A MIS AMIGOS.**

**M.V.Z. Martha Elizabeth Pérez Arias,** Gracias por el apoyo brindado, por tus consejos, paciencia, comprensión y sobre todo por tu amistad.

**M.C. Miguel Angel Cornejo Cortés,** Gracias por ser una persona ejemplar conmigo, por tu apoyo tanto profesional como personal, y por tantos buenos momentos. Por escucharme, comprenderme y por supuesto por regañarme cuando buena falta me hacía.

**A MIS NIÑAS**

**Laila, Bibi, Boni.** Porque aunque ustedes nunca lo sepan son parte importante para mi y gracias a ustedes los momentos de estudio y desvelo fueron mucho más placenteros.

## AGRADECIMIENTOS

Al director de mi tesis, **M. en C. Juan Ocampo López**, por el apoyo y dedicación brindados, por haber tenido tanta paciencia y juicio para llegar a la culminación de este trabajo.

A mi asesora **M.V.Z. Yolanda Romero Sánchez**, gracias por el apoyo para la mayoría de las tinciones de este trabajo.

Al Señor **Francisco López López**, técnico del Laboratorio de Histología de la Facultad de Medicina Veterinaria, por la realización de las tinciones de Verhoeff de las muestras de canideos y ovinos.

Al **M.V.Z. Jorge Hernández Espinosa**, por la digitalización de campos microscópicos y edición e impresión de las imágenes correspondientes.

Al Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por las facilidades brindadas para la terminación del presente trabajo.

Al **M.V.Z. Germán Garrido Fariña**, Técnico de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán para la realización de las tinciones de las muestras de canideos de 2 a 5 años de edad.

## RESUMEN

En el presente trabajo se planteó el estudio histológico de las fibras elásticas del cartilago elástico de la oreja de tres especies domésticas: canideo (*Canis familiaris*), suino (*Sus scropha*) y ovino (*Ovis ovis*).

De este modo se realizó el procesamiento histológico de muestras biológicas de oreja de las especies citadas, de diferentes edades, en número significativo ( $n = 10$ , por edad). Se realizaron cortes semiseriados de cada muestra y se tiñeron con H.E. y dos tinciones específicas para fibras elásticas: Tánzer-Unna y Verhoeff. Cada corte fue observado e interpretado en el microscopio compuesto de campo claro, y fotografiado y escaneado digitalmente para la presentación de resultados.

A partir de los resultados obtenidos se pudo concluir lo siguiente: Los **canideos** presentan un patrón dual de distribución de fibras elásticas en el cartilago auricular compuesto por fibras finas y gruesas que se distribuyen por toda la matriz cartilaginosa y llegan hasta el pericondrio condrogénico, y fibras gruesas que rodean a las lagunas cartilaginosas. Los **suinos** presentan también un patrón dual, compuesto por fibras delgadas que se distribuyen de modo tridimensional por toda la matriz y también llegan al pericondrio, y fibras gruesas que rodean a las lagunas. Los **ovinos** presentan un patrón exclusivo de fibras gruesas, tanto en la matriz como alrededor de las lagunas, excepto en las cercanías de la región condrogénica pericondrial, donde existen fibras delgadas.

## INDICE DE LA TESIS

INTRODUCCION-.....	1
OBJETIVOS .....	15
MATERIAL Y METODOS .....	16
RESULTADOS .....	25
DISCUSION-.....	58
CONCLUSIONES .....	63
BIBLIOGRAFIA-.....	65

# INTRODUCCION

## A) GENERALIDADES DEL TEJIDO CONECTIVO.

El tejido conectivo del organismo se desarrolla a partir del mesodermo embrionario ó mesénquima. El tejido conectivo se diferencia de los demás tejidos por el abundante material intercelular o matriz extracelular, la cual está formada por dos elementos: una sustancia fundamental amorfa y fibras extracelulares (39).

El tejido conectivo participa en la estructura de casi todos los órganos; une y sostiene a los otros tejidos del organismo y presenta una gran diversidad morfológica, topográfica y estructural (1, 2, 14, 41, 50). Sus funciones principales son, además de conectar o unir entre sí a otros tejidos, proporcionar un armazón de soporte al organismo mediante los cartilagos y huesos; además participa en el aislamiento térmico, en el metabolismo del agua, en los mecanismos de defensa, en la reparación tisular y en forma indirecta, en el amortiguamiento, en el moldeo del cuerpo, la nutrición del organismo, reserva energética (14, 27).

En el estudio del tejido conectivo es importante considerar 3 elementos: La población celular, la sustancia fundamental amorfa y las fibras extracelulares; estos, elementos se encuentran inmersos en líquido tisular (14).

Los **elementos celulares** controlan la formación, persistencia, y desintegración de los componentes extracelulares (60). Existen muchos elementos celulares en el tejido conectivo, algunos propios y otros que se localizan transitoriamente en un momento u otro de su desarrollo (11, 23). De este modo, las células mesenquimatosas primordiales, que se localizan alrededor de la túnica adventicia de los vasos sanguíneos, se pueden diferenciar transformándose en macrófagos, células cebadas y fibroblastocitos. (11). Los fibroblastocitos son las células más abundantes del tejido conectivo, son los responsables de las síntesis y liberación de los elementos fibrosos y de la sustancia fundamental amorfa (11). En el tejido conectivo también se encuentran células plasmáticas, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos que provienen de torrente vascular y se encuentran distribuidos en forma irregular y poco frecuente por el tejido conectivo (65, 60).



Existen además diferentes células, características de los tejidos conectivos especiales, como son los osteocitos, condrocitos y sinovicitos, que son los encargados de la formación del cartilago, hueso, y liquido sinovial respectivamente (28).

La **sustancia fundamental** ocupa los espacios entre las células y las fibras del tejido conectivo y funciona principalmente como medio para la difusión del líquido tisular que contiene sustancias nutritivas y productos de desecho entre los capilares y las células (39). Esta sustancia es una mezcla acuosa de electrolitos, proteínas, carbohidratos muy polimerizados (conocidos como mucopolisacáridos sulfatados ó glicosaminoglicanos) y lípidos (61,19). Las asociaciones entre proteínas y glicosaminoglicanos reciben el nombre de proteoglicanos (4, 14). En las preparaciones histológicas ordinarias no suelen distinguirse adecuadamente gran parte de esta sustancia, ya que desaparece, dejando espacios vacios entre células y fibras; debido a esto se emplean fijadores y técnicas histoquímicas especiales, logrando tinciones espectaculares de la sustancia fundamental (61, 65).

Las **fibras** del tejido conectivo proporcionan resistencia a la tensión y sostienen a las diversas estructuras tisulares. Existen 3 tipos de fibras: colágenas, reticulares y elásticas, que se distinguen por su aspecto y sus propiedades bioquímicas. Todas son proteínas complejas formadas por cadenas largas de aminoácidos y son comparativamente insolubles en los solventes neutros (35).

Dentro de los elementos fibrosos organizados del tejido conectivo tenemos:

- a) **Fibras colágenas:** Al microscopio óptico se observan dispuestas en haces de longitud variable con un aspecto ondulado. Los haces grandes se encuentran constituidos por haces pequeños (14). Son fibras finas sin ramificarse que se reúnen en haces de diferente grosor (fibras conjuntivas) (50). Son las más abundantes y están constituidas por una proteína fibrosa llamada colágeno (tipo I ó II), de 50 a 150 nm de diámetro. Estas fibras son flexibles y fuertes, por lo tanto son capaces de resistir el estiramiento. En consecuencia son abundantes en cualquier punto que se requiera una gran resistencia a la tracción, como en los tendones, ligamentos y cápsulas de órganos (14). Únicamente pueden ser alargadas hasta un 5% de su longitud inicial (14, 65). Constituyen la tercera parte de la proteína corporal total (60). Al microscópico óptico y

con técnicas de rutina se observan como bandas relativamente anchas, ondulantes, acidófilas, finamente fibrilares, birrefringentes, que no se ramifican y constituyen la mayor parte del tejido conectivo colágeno laxo y compacto (50, 11, 60, 14). Las fibras de colágena en fresco son blancas y en las preparaciones histológicas se tiñen con colorantes ácidos. Así, son rojas y rosadas en los cortes teñidos con H-E, rojas con el método de Van Gieson y azules ó verdes con la tinción triple de Mallory y Masson (14). Con tinciones de plata se aprecian color café oscuro y con cloruro de oro toman color morado (11, 14, 5, 60, 15).

**b) Fibras reticulares:** Constituidas por colágeno tipo III, son ramificadas y más delicadas que las anteriores; se hallan revestidas por una cubierta de proteoglicanos y miden 50 nm de diámetro. Forman una delicada trama flexible alrededor de los capilares, fibras musculares y células adiposas, nervios y hepatocitos, y actúan de armazón sustentando a las células o grupos de células en los órganos endocrinos y linfáticos; este tipo de fibra siempre se halla asociada con las llamadas células reticulares ó reticulocitos, formando el llamado tejido conjuntivo reticular (14). No son visibles en los cortes histológicos ordinarios, pero pueden teñirse selectivamente, en razón de su capacidad de adsorber plata metálica cuando se le trata con soluciones alcalinas de sales de plata metálica (19). Con el microscopio de luz, se observan más pequeñas que las de colágena y más frecuentemente ramificadas (65, 60).

**c) Fibras elásticas:** Están constituidas por una proteína denominada elastina, así como por microfibrillas y ciertos proteoglicanos. Su diámetro es variable y no pueden distinguirse de las fibras de colágeno con la coloración convencional de H. y E., salvo cuando captan más eosina éstas últimas. Las fibras colágenas y elásticas están asociadas en todas partes, sin embargo a pesar de su similitud en la composición de aminoácidos entre los dos tipos de fibras, no son de la misma familia secuencialmente (26). La histología diferencial la brindan las coloraciones que utilizan la orceína o la resorcina-fucsina, que tiñen selectivamente a las fibras elásticas (15). Este tipo de fibras forma un retículo de trama variable (11, 65). El carácter más sobresaliente de la fibra elástica es precisamente su elasticidad; en consecuencia puede estirarse hasta 2.5 veces su longitud

original con una fuerza de 20 a 30 kg/cm<sup>2</sup>; cuando se rompen sus extremos se retraen y retuercen (9, 13, 17). Por ello, las fibras elásticas predominan en los tejidos y órganos que requieren una gran elasticidad, como en los pulmones, el ligamento nucal, las arterias y el cartilago elástico (14).

El estudio de las fibras elásticas en el tejido cartilaginoso ha sido hasta hoy, relativamente limitado: se conocen elementos anatómicos, histológicos, ultraestructurales, bioquímicos y biomecánicos de las fibras elásticas del cartilago elástico de animales de laboratorio; sin embargo, también se admite que el cartilago elástico de estas especies es atípico desde el punto de vista estructural (2). En el caso de los animales domésticos, ha sido escaso el estudio de estos elementos fibrosos, siendo el gato un modelo de estudio utilizado en ocasiones (7).

Debido al interés que presentan las fibras elásticas para el desarrollo del presente trabajo, a continuación se mencionan algunos aspectos más específicos de estos elementos.

## **B) FIBRAS ELASTICAS.**

Las fibras elásticas aparecen en el microscopio óptico como estructuras muy refringentes de diversos grosores (hasta 18 nm). En el microscopio electrónico es posible reconocer en su interior fibras más finas en forma de trenza, cordón o enrejillado. Son extraordinariamente distensibles y poseen una tonalidad amarillenta a simple vista; pueden bifurcarse y combinarse para formar redes elásticas y hasta membranas permeables también del mismo estilo (4, 7).

Como se mencionó anteriormente, con la tinción de H. y E. se aprecian como cordones gruesos fuertemente refráctiles de color rosado claro y con tinciones especiales, se tiñen selectivamente; así, se utilizan técnicas especiales como la de Verhoeff, la de resorcina-fucsina de Weigert, el método del aldehído-fucsina de Halmi o bien tinciones a base de orceína, como el método de Tánzer - Unna y la técnica de Darrow (41, 11, 65, 19). La intensidad de la tinción de orceína varía en un rango de pH de 2 a 8, creyéndose que la interacción primaria entre el colorante en solución y el tejido elástico se debe a fuerzas de Van der Waals (3). Un método para la detección de la elastina en células y tejidos, lo

constituye el uso de anticuerpos solubles e insolubles contra la elastina acoplados a diversas sondas que pueden ser usadas para calcular la cantidad de esta sustancia en tejidos, suero y otros fluidos corporales, cuantificando así el inmunoprecipitado, dado por la síntesis de elastina por células y cultivos de órganos, o bien, puede ser posible determinar como está localizada la elastina en tejidos y células intactos (45).

La ultraestructura de la fibra elástica se caracteriza por estar constituida por una sustancia amorfa de variable opacidad a los electrones, con fibrillas de aproximadamente 10 nm de diámetro localizados preferentemente en la periferia de la fibra principal, se admite una distribución de las fibras al azar, en las fibras no extensibles y una orientación más paralela en las fibras extensibles (65, 14).

Las fibras elásticas presentan dos componentes: El primero es la **elastina**, proteína amorfa de tipo albuminoide, resistente a la ebullición y a la hidrólisis con ácidos o álcalis diluidos en condiciones que destruyen los otros componentes del tejido conectivo; también resiste la acción digestiva de la tripsina, pero cuando es tratada con elastasa pancreática es digerida selectivamente de los cortes de tejido, quedando intactas las células y el colágeno (4, 44, 53). El 30% de los residuos de aminoácidos son no polares; contiene poca hidroxiprolina y carece de hidroxilisina. Es relativamente rica en valina y contiene dos aminoácidos exclusivos, la desmosina y la isodesmosina, que sirven para establecer enlaces laterales entre las cadenas de polipéptidos de la proteína (40, 56). El segundo componente de las fibras elásticas está dado por unas **microfibrillas** (3, 7, 9, 17, 18, 43).

El origen de la fibra elástica no se ha comprobado plenamente, aunque se ha sugerido que proviene tanto de los fibroblastos como de los miocitos no estriados, condrocitos y células endoteliales según donde el tejido se localice (61,47). Se propone que durante el desarrollo embrionario, se depositan primero haces de microfibrillas en la inmediata vecindad de la superficie de los fibroblastocitos, las células musculares lisas y otros elementos mesenquimales. La elastina aparece más tarde y llega por último a construir la masa fundamental de la fibra, mientras que las microfibrillas forman una capa en torno a su periferia o quedan incluidas en su interior en forma de pequeños fascículos (19, 14). Se cree que una molécula precursora de la proelastina o tropoelastina, es sintetizada y liberada en la superficie celular. La enzima lisil-oxidasa cataliza extracelularmente la formación de grupos aldehídos sobre ciertas lisinas para formar la estructura anular de las desmosinas, las

cuales establecen enlaces colaterales entre las cadenas de elastina. En las células que producen fibras elásticas los eventos se inician con la expulsión de la proteína microfibrilar, de tal modo que las microfibrillas se observan unidas en la vecindad de la célula. Algunos autores las llaman fibras de oxitalán o preelásticas (59, 42). Se considera que constituyen una molécula precursora de proelastina o tropoelastina, sintetizada y liberada en la superficie celular (19). Por otra parte, se ha detectado que el comienzo de la producción de elastina en desarrollo del cartilago de la oreja ocurre más temprano que en la aorta o tejidos del ligamento (45).

Dentro de los elementos fibrosos, las fibras elásticas poseen propiedades físicas y mecánicas muy interesantes, responsables de diversos aspectos funcionales y vitales para el individuo, tales como una deglución adecuada de los alimentos, sin interesar vías aéreas; una libre vía aérea terminal durante la mecánica respiratoria (a nivel de bronquios pequeños y bronquiólos); un adecuado flujo sanguíneo arterial en respuesta al bombeo cardíaco, etc., así como otras funciones no tan evidentes, pero de interés, tales como la constitución idónea de un receptor auditivo rígido para una adecuada conducción y mayor dirección de las ondas sonoras, pero que a la vez mantenga cierta flexibilidad, para dirigir dicha estructura hacia el punto donde vienen tales estímulos auditivos y así determinar con precisión su origen (21).

De este modo, las fibras elásticas se localizan en sitios en donde es necesario un sostén rígido a la vez que una plasticidad, para que en las estructuras en las que se localizan recuperen su forma original después de llevar a cabo su función, como arteria aorta, bronquiólos, bronquios, oreja y epiglotis (3, 7, 9, 17, 18). En el caso de grandes vasos sanguíneos la necesidad de fuerza y elasticidad tensional para el flujo de sangre de las fibras elásticas juegan un papel importante, principalmente en la túnica media (arco aórtico) (62). En estos sitios las fibras elásticas constituyen membranas o láminas fenestradas que se disponen en capas múltiples concéntricas a la luz del vaso, conectadas unas con otras por lamias oblicuas. Los espacios existentes entre las láminas contienen sustancia fundamental y miocitos no estriados de perfil irregular (61, 33). En cortes histológicos es difícil diferenciar las redes fibrosas de otros órganos y de las membranas elásticas fenestradas en la pared de los vasos sanguíneos (19). También pueden encontrarse fibras elásticas pequeñas en el endotelio de los capilares fenestrados y adventicia. (32).

Las fibras elásticas están relacionadas con los miocitos no estriados, no sólo en los vasos sanguíneos, sino también en la túnica muscular de órganos huecos, donde es necesaria una elasticidad graduable; cuando la cantidad de fibras elásticas supera la de colágena se habla del tejido conectivo elástico (50).

La piel presenta fibroblastocitos que pueden ser la mayor fuente de fibras elásticas en la dermis (63). La red de fibras elásticas es parte estructural de la dermis reticular y papilar de la piel humana (7).

Estas fibras sirven también como medio de sostén de diversos órganos y estructuras corporales, conectan un tejido con otro, actúan como aislantes y sirven como reguladores de la temperatura corporal, del metabolismo del agua y del almacenamiento de nutrientes, son auxiliares en la locomoción y participan en la respiración y regeneración de tejidos (6, 9, 14, 18, 24).

### **C) CARTILAGO.**

El tejido cartilaginoso pertenece, junto con el tejido óseo, a los tejidos conectivos de sostén, se caracteriza por su consistencia rígida, aunque sin embargo puede cortarse y doblarse, mostrándose elástico a la presión y resistente al frotamiento (25, 39, 20). Deriva, como todos los tejidos conectivos, de las células mesenquimatosas, que se diferencian en condroblastocitos (4). En una zona en la que se desarrolla cartílago, las células mesenquimatosas se hacen redondas y se agrupan de manera compacta, depositando fibrillas colágenas y/o elásticas en la sustancia intercelular (16).

El cartílago es un tejido conjuntivo especializado, constituido por células incluidas en una sustancia fundamental con fibras de diversos tipos; las células del cartílago secretan varias sustancias y quedan incluidas dentro de sus propios productos de secreción, los cuales confieren una calidad firme pero elástica a la matriz del tejido (3, 7, 9, 17, 18).

El tejido cartilaginoso también carece de nervios, pero la inervación sensitiva se logra gracias a terminales situadas en la porción fibrosa del pericondrio (12, 17).

Las fibras y la sustancia fundamental del cartílago son sintetizadas por los condroblastocitos, que quedan rodeados por esta matriz extracelular, ocupando pequeños espacios llamados lagunas cartilaginosas; conforme las células se diferencian van quedando

más separadas como resultado de la elaboración de la matriz alrededor de ellas, adquiriendo la característica de condrocitos (39). Las células del cartilago vivo suelen adaptarse a la forma de las lagunas que ocupan llenandolas totalmente, pero la fijación y la deshidratación pueden separarlas de la pared de la laguna de tal manera que toman un aspecto estrellado. (19).

El cartilago es un tejido avascular; aunque pasan por él vasos sanguíneos a nivel pericondrial, no hay capilares que le aporten nutrientes en forma directa. La matriz tiene capacidad de difundir estos nutrientes, por lo tanto es un factor importante en la conservación del tejido; con la edad este mecanismo se dificulta, lo cual también es parte del proceso de sustitución ósea del tejido cartilaginoso, durante la formación y crecimiento de los huesos largos del individuo (3, 30).

Los condrocitos se encuentran en las lagunas de la matriz, son grandes, con diámetro hasta de 40  $\mu\text{m}$ . Las células jóvenes son aplanadas ó elípticas, con su eje mayor paralelo a la superficie. Hacia el interior se hacen variosde formas ovals o hipertróficas y constituyen los nidos celulares o grupos isogénicos: los condroblastos sufren varias divisiones mitóticas, después de cada división nueva sustancia fundamental intercelular separa las dos células hijas (29,10).

Ultraestructuralmente, los condrocitos presentan las siguientes características: el núcleo es ovoide con uno o dos nucleolos. Los organelos de los condrocitos son semejantes a los que se encuentran en los fibroblastocitos que también sintetizan matriz extracelular. Hay un abundante retículo endoplásmico granuloso y un notable complejo de Golgi. El citoplasma de las células cartilaginosas es basófilo y puede ser vacuolado; también hay gotitas de lípidos, glucógeno, mitocondrias y pigmentos. Las vesículas secretorias se relacionan con la región de Golgi y secretan material a la matriz circundante. Las células cartilaginosas maduras se encuentran hacia el centro de la masa cartilaginosa, presentan un retículo endoplásmico rugoso menos abundante y una región de Golgi con grandes acúmulos de glucógeno citoplasmático. En el cartilago fetal, las células son a menudo aplanadas y rara vez se observan nidos celulares. (39).

Existe otro tipo celular en el cartilago (principalmente durante el desarrollo), llamado condroclasto, que origina la remoción de la matriz

cartilaginosa y células (algunos autores la consideran como un macrófago, a pesar de que se comprobó que proviene de células condrogénicas) (10).

El cartilago no tiene células mesenquimatosas dispersas, pero es de donde procede y son las que permiten su crecimiento a partir de una estructura que lo envuelve, llamada **pericondrio** (3, 7, 31). En el embrión, el mesénquima que rodea a los esbozos cartilaginosos, se diferencia en el pericondrio, constituido por dos capas distintas: una capa fibrosa y una condrogénica. La capa fibrosa, más externa, está formada por fibras de colágeno no ordenadas y fibroblastocitos. La capa condrogénica, interna, es rica en condroblastos, los cuales segregan algunos componentes de la sustancia fundamental y las fibrillas, transformándose en condrocitos (19, 28).

La matriz del cartilago está compuesta por fibras de colágena tipo II y elastina, así como por macromoléculas de glicosaminoglicanos (28, 55). Los glucosaminoglicanos se unen químicamente a las proteínas, formando proteoglicanos de elevado peso molecular y de gran viscosidad (55, 67). Los proteoglicanos se asocian por medio de uniones químicas débiles a colágena de la matriz (55). Los proteoglicanos confieren rigidez a la matriz y en general al cartilago porque las fibras elásticas y el colágeno son flexibles (34). Los glicosaminoglicanos más abundantes son el condroitín-4-sulfato y condroitín-6-sulfato; el primero es más común en jóvenes y el último en adultos. También existen pequeñas cantidades de ácido hialurónico en algunos cartílagos. Todos los componentes de la matriz están unidos químicamente (4, 51).

El cartilago es el tejido de sostén primario del feto, las estructuras del sostén formadas por cartilago se desarrollan junto con el aparato respiratorio superior e inferior, el pabellón de la oreja y el meato auditivo externo, así como la trompa faringotimpánica (7). Estas estructuras continúan su desarrollo durante el crecimiento y persisten en la edad adulta (4).

Existen tres tipos de tejido cartilaginoso:

#### **a) Cartilago hialino:**

Es el tipo más común, ya que forma gran parte del esqueleto de los vertebrados y está presente en los discos epifisarios, los cartílagos auriculares, tráquea y otros lugares del organismo adulto (2). Su función principal de este tipo de cartilago es la resistencia de la tensión y está sujeto a la resistencia y fuerza de compresión (46).



### **b) Cartilago fibroso:**

Es un tejido conectivo colágeno compacto que contienen grupos lineales de condrocitos rodeados por una pequeña cantidad de matriz amorfa; se le encuentra en discos intervertebrales, esqueleto cardíaco y en algunos tendones cerca de la inserción al hueso, labio glenoideo de la escápula, labio acetabular del coxal. (2).

### **c) Cartilago elástico:**

Este tejido es de particular interés en el presente trabajo, por lo que será descrito con más amplitud. Es muy flexible y macroscópicamente, ligeramente amarillento (50). Se caracteriza por la presencia de redes de fibras elásticas en su sustancia fundamental, llamadas en ocasiones reticulo cartilaginoso. Las fibras elásticas forman una red mas o menos densa en las porciones mas profundas de la matriz y menos abundantes en la periferia del cartilago llegando hasta el pericondrio circundante (39). En los animales jóvenes donde no ha concluido la formación de cartilago, puede encontrarse tejido adiposo como apoyo en el centro de los cartilagos elásticos. Este tipo de cartilago se encuentra en epiglotis, oreja, trompa faringotimpánica, y en pequeñas porciones de los cartilagos cuneiforme y corniculado de la laringe (11). Este cartilago conserva su capa fibrosa del pericondrio en la edad adulta (10). Microscópicamente las fibras elásticas se demuestran débilmente con H. E., observándose de color rosa pálido, dispersas en la matriz, definiéndose a la perfección con tinciones especiales (2, 3, 11, 37).

En observaciones realizadas al microscopio electrónico se observan depresiones y salientes en la superficie del condrocito, y en un número mayor y más frecuente en los condroblastocitos. Esta disposición aumenta en la superficie de las células, facilitando los cambios con el medio extracelular, lo que es importante para la nutrición de la célula, tan alejada del torrente sanguíneo (34).

De este modo, la superficie celular se encuentra salpicada irregularmente de procesos similares a microvellosidades arreglando los procesos de las microfibrillas. Se observan pocos sitios de fusión entre la célula y la pared de la laguna, consistiendo ésta de fibras interdigitadas y conectadas a los procesos de las microvellosidades en la superficie de la célula (49).

La matriz que rodea los grupos isogénicos suele teñirse más intensamente que el resto, llamándose matriz capsular o anillo territorial, mientras que las áreas menos basófilas situadas entre los grupos celulares se llama matriz intercapsular o interterritorial (49).

Esta zona está formada por fibras elásticas arregladas en paralelo con muy pocos cruces de fibras; se observan además pequeños glóbulos de diámetro de 110 a 180 nm, en cuyo interior no se observa ninguna estructura específica (49).

En la ultraestructura de la fibra elástica se observan pequeñas protuberancias circulares, dando una apariencia fina y moteada, con 15 nm de ancho y un espacio de 120 a 190 nm, adoptando formas regulares de crestas perpendiculares, en el eje largo de la fibra a intervalos de 12 a 19 nm. Las estructuras globulares mencionadas se encuentran más o menos incorporadas dentro de las fibras o agregadas a la superficie; estos glóbulos podrían ser gránulos de la matriz, formados de agregados de proteoglicanos (49).

En cuanto a la histogénesis del cartilago elástico, éste se desarrolla primero como un tejido conjuntivo primitivo que contiene fibroblastocitos y haces fibrilares que no dan las reacciones características ni de colágena ni de elastina, las cuales más tarde adquieren las características tintoriales de la elastina (19). Durante este desarrollo los fibroblastocitos producen fibrillas indiferenciadas que más tarde se transforman en fibras elásticas, éstas son escasas alrededor del pericondrio, pero forman una densa red en el interior de la masa cartilaginosa (14).

En un estudio realizado por Bradamante y col. en 1991, acerca de la fibrogénesis temprana del cartilago elástico en la rata, se determinó la aparición de 4 componentes:

1. **Fibras de colágena** (semejantes a fibras reticulares), formando una delicada red que se aprecia en fetos de rata de 16 días de edad.
2. **Fibras de oxitalán** (preelásticas), que aparecen solitarias en embriones de 16 días y abundan como una red en fetos de 18 días.
3. **Fibras elásticas**, que son apreciables después del primer día de nacido, con un amplio desarrollo de una red; a los 12 días hay una elastogénesis completa en la oreja.
4. **Sustancia fundamental del cartilago**, apenas se ven depósitos apreciables entre los 4 y 6 días de nacidos; la condricación en la placa cartilaginosa se completa hasta las 3 semanas de edad posnatal.

## **D) CONSIDERACIONES MORFOLOGICAS ACERCA DE LA OREJA DEL CANIDEO, SUINO Y OVINO DOMESTICOS.**

Puesto que los sitios de localización más conocidos del cartilago elástico son la epiglotis y la oreja, y dado que nuestro grupo de trabajo ha presentado un estudio histológico previo sobre las fibras elásticas del cartilago de la epiglotis de tres especies domésticas (canideo, suino y ovino), en esta tesis presentaremos un estudio histológico similar, pero acerca de las fibras elásticas del cartilago de la oreja, con lo cual se completa el estudio histológico ya citado.

La función del cartilago elástico es unir, conectar o bien enlazar otras estructuras, en las cuales les proporciona resistencia, protección, e incluso algunas veces hace el papel de palanca (21).

Su localización ya fue anteriormente mencionada.

Se especula bastante acerca de las propiedades de la elastina en el cartilago de la oreja. Es probable que esta confiere la habilidad en muchas especies de dirigir el oído externo hacia el origen del sonido, para lo cual necesita un alto grado de flexibilidad, aunado a la actividad muscular extrínseca, lo que sugiere que la elastina participa indirectamente en el sistema que modifica el sonido, dada la consistencia que brinda al cartilago de la oreja, facilitando la propagación del sonido al interior del canal auditivo (36).

A continuación se mencionarán algunas consideraciones morfológicas de esta estructura:

### **a) Anatomía.**

La oreja u oído externo es un órgano musculocartilaginoso semejante a un embudo que colecciona las ondas sonoras del medio ambiente externo (10, 58, 59).

Esta formado por una lámina cartilaginosa encorvada formada en su mayor parte por tejido cartilaginoso elástico y cubierta por piel (62, 64).

Sus diversos giros permiten a los mamíferos domésticos reconocer la dirección de donde proviene el sonido sin que para ello tenga necesidad de voltear la cabeza (58).

El pabellón auricular tiene una forma característica en cada especie. Su disposición varía también en las diversas especies y razas. En este aspecto la oreja puede ser rígida y erecta o inclinada o bien gacha parcial o totalmente (58).

El pabellón auricular de los mamíferos domésticos goza de gran movilidad, está desarrollado más o menos en forma de embudo según la especie (38). Las orejas caídas de diversas razas de animales tienen esta misma forma menos en su base, no obstante presentan una entrada grande y ancha en la parte libre, es decir la abertura de la concha (58, 22).

En la porción libre hay que distinguir la **cara externa** (más o menos convexa según la especie) o dorso de la oreja, así como una **cara interna**, reverso de la externa y por lo tanto cóncava. También tenemos el **borde libre**, este último se divide en dos partes, una **medial** o nasal y otra **lateral** o caudal, las cuales se reúnen en el **vértice** de la oreja. El borde lateral forma en los carnívoros un pliegue debajo de su centro (22, 58, 59, 66).

La fosa que lleva el conducto auditivo se llama cavidad de la concha, la cual está limitada en su parte superior por la barquilla de la concha (*cymba conchae*), esta es más o menos ostensible y existe solamente en el ganado vacuno, cerdo y perro. Los bordes medial y lateral convergen en la escotadura cerca del fondo del pabellón. Un doblez de piel presente sólo en el cerdo, situado en el borde lateral cerca del fondo de la oreja, puede considerarse como lóbulo auricular. La base de la oreja es semiesférica y muy convexa, y asienta sobre el músculo temporal de la cara lateral del cráneo (22, 58).

El oído externo de los porcinos difiere en cuanto a su tamaño, posición y grosor en las diferentes razas de cerdos, es un poco curvado y relativamente ancho excepto en la base (22).

#### b) Histología.

El pabellón auricular consta de piel (con ramificaciones vasculares y nerviosas), provista de pelos cortos y de estructura similar al tegumento común; de una capa muscular incompleta; del cartilago auricular elástico y perforado por varios agujeros pequeños, y por último otra capa de piel. Esta corresponde a la cara interna, posee largos pelos que desempeñan el papel de guardapolvos y es desplazable sobre las crestas cartilaginosas. Los pelos se hacen

más finos y ralos hacia el fondo de la cavidad de la oreja, en tanto aparecen numerosas glándulas sebáceas y sudoríferas apócrinas (58, 62).

En este caso, el cartílago elástico se halla en el centro del corte dispuesto entre dos capas de piel, la cual mantiene sus características como lo son la epidermis de tejido epitelial estratificado escamoso cornificado y la dermis de tejido conectivo colágeno laxo, que incluye glándulas sebáceas y sudoríferas, folículos pilosos, músculos piloerectores, vasos sanguíneos y nervios. La hipodermis, de tejido adiposo blanco y colágeno laxo, está en contacto directo con la placa de cartílago; si bien estructuralmente este tejido es muy semejante al de epiglotis, su afinidad por los colorantes de la tinción de H. y E. es mucho menos marcada (7, 9).

## OBJETIVOS

1. Establecer la forma y distribución de las fibras elásticas en el cartílago de la oreja del canideo, suino y ovino domésticos.
2. Comparar las diferencias histológicas de las fibras elásticas referidas, con relación a la especie y la edad de los individuos estudiados.

## MATERIALES Y METODOS

Para el cumplimiento de los objetivos propuestos se procedió a lo siguiente:

- A) Recolección y procesamiento histológico de muestras biológicas.
- B) Coloración de preparaciones histológicas obtenidas.
- C) Observación e interpretación en el microscopio compuesto de campo claro.
- D) Digitalización de imágenes con microscopio (fotomicrografías) por computadora, edición e impresión.

A continuación se desglosará cada una de las actividades anteriores:

### **A) RECOLECCION Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS**

Las muestras fueron recolectadas a partir de orejas de animales obtenidos en los centros antirrábicos (canideos), ó bien a nivel rastro (suinos y ovinos).

Fue esencial que el material recolectado fuera preservado inmediatamente en fijador después del sacrificio del animal; la manipulación de los tejidos fue extremadamente cuidadosa y contuvo un área representativa del órgano a estudiar, cortada con bisturí para evitar al máximo el daño al tejido; una vez tomada la muestra, fue lavada cuidadosamente con agua corriente para eliminar el exceso de sangre del tejido, con el objetivo de mejorar la fijación (1).

Las muestras recolectadas fueron fijadas por inmersión en formol neutro al 10% (J.T. Baker) y procesadas de acuerdo al método de inclusión en parafina (8, 13).

Los parámetros de recolección fueron los siguientes:

ESPECIE	No. DE MUESTRAS	EDAD
Canideos	10	1 mes
	10	6 meses
	10	1 año
	10	2-3 años
	10	4 años ó más
Suinos	10	1 mes
	10	6 meses
Ovinos	10	1-6 meses
	10	1-2 años
	10	3 años o más

De cada bloque de parafina obtenido (correspondiente a cada muestra), se realizaron cortes seriados dividiendo al bloque en cinco niveles, para obtener de cada nivel cortes para las coloraciones empleadas. Además, del nivel central de cada bloque (nivel 3), se obtuvo un corte más para control, teñido con H. y E.

El material utilizado en esta etapa fue el siguiente:

**a) Equipo:**

- Histokinette (British American Optical CO Ltd tipo E - 7326)
- Dispensador de parafina (British American Optical)
- Rejilla de inclusión
- Micrótopo (British American Optical, Mod. 320)
- Baño de flotación de tejidos (Chicago Surgical and Electrical Co)
- Platina térmica (Clinical Scientific Equipment Co)



- Afilador de cuchillos de micrótopo (Clinical Scientific Equipment Co)
- Pinzas de disección
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Bisturí N° 4 con hoja N° 24

**b) Cristalería:**

- Vasos de precipitado de 1000 ml

**c) Reactivos:**

- Formol neutro al 10%
- Xileno
- Alcohol etílico a concentraciones porcentuales de 60 , 80 , 96 y 100 %.
- Resina sintética

## **B) COLORACION DE LAMINILLAS OBTENIDAS**

Este paso se realiza dentro del método de inclusión en parafina, pero se ha tratado por separado, ya que es parte importante de la metodología del presente estudio. Se realizaron las siguientes técnicas de coloración:

**a) Método de hematoxilina y eosina (H -E.) (7, 13, 17).**

Este método no es específico para fibras elásticas, sin embargo se incluye como punto de referencia y control para las otras técnicas. Las fibras elásticas se tiñen débilmente de rosa, la colágena de rosa más intenso y los núcleos de color morado.

La coloración de H.E. es una coloración bicrómica que usa una hematoxilina como colorante básico para las estructuras ácidas y una eosina para las estructuras básicas.

**Soluciones:***Hematoxilina de Harris*

- Cristales de hematoxilina (5.0 g)
- Alcohol al 100 % (50.0 ml)
- Sulfato de amonio y/o aluminio/potasio (100.0 g)
- Agua destilada (1000.0 ml)
- Oxido de mercurio (rojo) (2.5 g)

*Eosina alcoholica al 1% (solución stock)*

- Eosina Y, soluble en agua (1.0 g)
- Agua destilada (20.0 ml)

Se disolvió y agregó:

- Alcohol 95% (80.0 ml)

**Solución de Trabajo:**

- Solución stock de eosina (1 parte)
- Alcohol 80 % (3 partes)
- Se agregó 0.5 ml de ácido acético glacial a cada 100 ml del colorante, antes de ser usado.

**Procedimiento:**

- 1.- Se desparafinaron e hidrataron las muestras.
- 2.- Se tiñeron con hematoxilina de Harris 3 minutos
- 3.- Se lavaron con agua corriente durante 15 minutos
- 4.- Se diferenciaron en alcohol ácido por 30 segundos
- 5.- Se lavaron con agua corriente, hasta que viraron a azul
- 6.- Se enjuagaron con agua destilada
- 7.- Se tiñeron con eosina durante 1 minuto

- 8.- Se deshidrataron con etanol al 96 %, en 2 pasos, 5 minutos
- 9.- Se deshidrataron con etanol absoluto en 2 pasos, 5 minutos cada paso
- 10.- Se aclararon en xileno, en 2 pasos por 5 minutos cada pase
- 11.- Se montaron con resina sintética.

**Resultados:** Núcleos: negro - azul

Citoplasma: rosa - naranja

### **b) Método de orceína de Tänzer-Unna (5).**

#### **Preparación del colorante.**

- Orceína natural (1.0 g)
- Alcohol 70 % (100.0 ml)
- Acido clorhidrico concentrado (1.0 ml)

#### **Procedimiento:**

- 1.- Se filtró la solución de orceína se aplicó a los cortes histológicos (previamente desparafinados con xileno e hidratados en alcoholes graduales descendentes) en cajas de Koplín, y estos se introdujeron en una estufa bacteriológica a 56 – 60° C, por tiempos determinados según la especie: Canideos 90 min., suinos 1 hora y ovinos 40 min.
- 2.- Se lavaron los cortes con alcohol al 70 %, durante 10 seg.
- 3.- Se lavaron con agua destilada, para remover todo el exceso de ácido y colorante, durante 15 segundos.
- 4.-Se diferenciaron y deshidrataron en alcohol al 95%, seguido de alcohol absoluto
- 5.- Se aclararon con xileno y se montaron en resina sintética.

**Resultados:** Núcleos : azul

Colágena: Sin color

Elastina: Púrpura a marrón.

### c) Tinción de Verhoeff (Contrastada con Van Gieson)

Soluciones: 1) Solución de hematoxilina alcohólica al 10%

2) Solución de cloruro férrico al 10 %

3) Solución de yodo de Verhoeff

Yodo (2.0.gramos)

Yoduro de potasio (4.0 gramos)

Agua destilada 100 ml.

Se mezclaron los cristales de yodo y yoduro de potasio en un frasco, se agitó vigorosamente; luego agregó gradualmente el agua destilada 20 ml por vez, agitando vigorosamente entre cada aplicación.

#### Solución Colorante diario de fibras elásticas de Verhoeff

- Hematoxilina alcohólica al 10 % -----25.0 ml.
- Alcohol etílico al 100 % -----25.0 ml.
- Cloruro férrico al 10 % -----25.0 ml.

Se mezcló bien y se agregó luego solución de yodo de Verhoeff (25 ml.)

#### Solución diferencial de Cloruro Férrico al 2 %

- Cloruro férrico al 10 % -----20 ml.
- Agua destilada -----80.0 ml.

#### Solución Van Gieson

- 5 ml. de fucsina ácida al 1 % en 95 ml de solución saturada de ácido pícrico.
- Solución de tiosulfato de sodio al 15 %.

### **Procedimiento:**

- 1.- Los cortes se desparafinaron e hidrataron hasta llegar al agua destilada.
- 2.- Se tiñeron con la solución colorante diaria de fibras elásticas de Verhoeff durante 15 minutos.
- 3.- Se lavaron con agua tibia corriente durante 20 minutos.
- 4.- Se colocaron en agua destilada.
- 5.- Se diferenciaron con solución de cloruro férrico al 2 %, y se observaron en el microscopio las fibras elásticas.
- 6.- Se lavó con agua durante 5 minutos.
- 7.- Se colocan en tiosulfito de sodio durante 1 minuto (para fijar color).
- 8.- Se colocaron en agua destilada.
- 9.- Se contrarrestaron con la solución de Van Gieson durante 1 minuto.
- 10.- Se deshidrataron rápidamente a través de alcohol etílico al 95 %, alcohol absoluto y aclararon con xileno 2 veces cada uno.
- 11.- Se montaron con resina sintética.

### **Resultados.**

Fibras elásticas. --- negro

Núcleos ----- negros

Colágena ----- rojo

Otras estructuras del tejido --- amarillo.

El material necesario para la coloración de laminillas es el siguiente:

#### a) Equipo:

- Agitadores magnéticos
- Magnetos
- Báscula (Triple beam 2610 g Ohaus Scale Corporation)
- Papel filtro (Millipore 2  $\mu$ m, 1  $\mu$ m)
- Espátula

**b) Cristalería:**

- Probeta de 100 ml
- Matraz de 250 ml
- Vasos de precipitado de diversa capacidad
- Vasos de Koplín
- Cajas para tren de coloración
- Canastillas para tren de coloración
- Embudos
- Frascos ámbar y/o cristal con tapón esmerilado

**c) Reactivos:**

- Alcohol etílico (JT Baker) a concentraciones de 50, 60, 70, 80, 96 y 100% .
- Hematoxilina (cristales) (Sigma, Color index 75290)
- Eosina (cristales) (Sigma, Color index amarilla 45380, azul 45400)
- Cloruro férrico (JT Baker)
- Orceína (Sigma, Color index, natural 1242, sintética 168)
- Agua destilada

**C) OBSERVACION E INTERPRETACION EN EL MICROSCOPIO OPTICO**

Una vez obtenidas las laminillas histológicas, se procedió a su observación en el microscopio óptico para su evaluación e interpretación histológica de los resultados obtenidos. Se hicieron observaciones a 50x, 100x, 400x y 1000x.

El material necesario para este paso es el siguiente:

**a) Equipo:**

Microscopio compuesto de campo claro (Carl Zeiss Co.)

Aceite de inmersión

**D) TOMA DE FOTOMICROGRAFIA CON MICROSCOPIO.**

Se llevó a cabo mediante adaptación a cámara de vídeo estando ajustado el campo o calibrado para recibir señal al aumento real del objetivo del lente por el lente ocular. Las imágenes se salvaron en formato JPG; estas se digitalizaron de Montage a Corel (paint 9-17). Se ajustaron las correcciones de enfoque y señal de iconos de la imagen; guardando las impresiones en CD., y por último se transportaron a microsoft word.

Para lo anterior se utilizaron:

**a) Equipo:**

- Cámara de vídeo (JVC KY-F550 E)
- Computadora personal con procesador (Pentium III, 600 Mhg. 128 Mb memoria RAM).
- Programas: (software)
  - digitalizador de imágenes Montage
  - Programa Corel (paint 9 – 17).
  - Programa Microsoft Word
- Microscopio de epifluorescencia óptico con contraste de fases, campo claro y oscuro. (Leica DMLS).
- Impresora de inyección de tinta Epson 750
- CD. Grabable (Verbatim; Data life plus).

## RESULTADOS

### A. CANIDEOS.

#### a) Coloración de H.E.

Edad: 1 mes.

La oreja presenta dos superficies: dorsal y ventral. Ambas están cubiertas por piel, la cual está formada por un epitelio estratificado escamoso cornificado que constituye la epidermis, bajo la cual se localiza la dermis, constituida por tejido conectivo colágeno laxo. En la dermis encontramos folículos pilosos y glándulas sebáceas, principalmente. La epidermis de la piel de la oreja no forma crestas epidérmicas, excepto hacia la base del órgano, donde son muy pequeñas. La epidermis de la piel de la superficie dorsal es muy delgada: en su epitelio sólo son visibles los estratos basal, espinoso, córneo y descamativo, este último es abundante. El estrato granuloso no se logra apreciar. El estrato basal forma una sola capa de células columnares, y el estrato espinoso presenta una o dos capas de células poliédricas. Hacia el ápice de la oreja la epidermis se adelgaza aún más y su perfil se torna más accidentado e irregular debido a la gran cantidad de folículos pilosos que llegan a su superficie desde la dermis (Fig 1).

La epidermis de la superficie ventral es muy similar a la de la superficie dorsal, pero presenta menos cantidad de queratina que la de la superficie dorsal.

La dermis de la piel de ambas superficies está formada por dos regiones: un estrato papilar y un estrato reticular. El primero forma papilas muy pequeñas, principalmente hacia la base de la oreja, generalmente en relación estructural con los folículos pilosos. El estrato papilar está constituido por tejido conectivo colágeno laxo con fibras elásticas asociadas, en el cual se encuentra un reducido número de glándulas sebáceas pequeñas. No se observan glándulas sudoríferas. Hay un gran número de folículos pilosos individuales, más abundantes en la piel de la superficie dorsal que en la de la superficie ventral. Esto se hace



más notorio hacia la base de la oreja (en la zona del ápice prácticamente no hay diferencia). Por otra parte, se observa un número discreto de vasos sanguíneos.

El estrato reticular no presenta estructuras incluidas en él, está formado por fibras colágenas gruesas, dispuestas en forma paralela a la placa central de cartilago. De hecho, estas fibras llegan a hacer contacto con el pericondrio fibroso de dicha placa. En algunos sitios estas fibras gruesas aparecen fragmentadas. Tanto en el estrato papilar como en el estrato reticular, encontramos gran número de núcleos de fibrocitos/fibroblastocitos. La placa central de cartilago elástico presenta un pericondrio con sus dos porciones: fibrosa y condrogénica. La primera está formada por tejido conectivo colágeno denso irregular y se fusiona con la dermis reticular (Fig 2).

El estrato condrogénico presenta las características células aplanadas (condroblastocitos) y se puede delimitar con cierta facilidad de la matriz cartilaginosa. La matriz es de color violeta pálido y presenta gran cantidad de lagunas cartilaginosas en cuyo interior se encuentran condrocitos y condroblastocitos. Generalmente son células esféricas u ovoides con núcleos de cara abierta y citoplasma de color rosa pálido; la matriz cartilaginosa esta ocupada por gran cantidad de fibras elásticas de aspecto birrefringente y color rosa pálido, que la atraviesan principalmente en sentido transversal (de superficie a superficie), pero también se ramifican formando uniones entre ellas dando un aspecto ramificado general. Son fibras muy delgadas y de trayecto sinuoso.

#### **Edad: 6 meses.**

Las características histológicas son similares a las descritas en perros de 1 mes.

El pericondrio del cartilago presenta su estrato fibroso y condrogénico, ambos de un grosor relativamente delgado. Su aspecto es muy semejante a lo ya descrito para perros de un mes. La matriz cartilaginosa presenta un aspecto de "vidrio esmerilado". En ella se observan fibras elásticas que forman haces, por lo que se aprecian más gruesas que en los perros de un mes, y están agrupadas de tal forma que parecen envolver a las lagunas. También es posible observar en algunos cortes, pequeñas zonas de la matriz que presentan elastina amorfa (donde no hay lagunas). Por esta razón, la matriz presenta un color rosa pálido y de

aspecto birrefringente, homogéneo. Es importante indicar que se pueden observar algunas fibras finas en las orillas del tejido, que se dirigen hacia el pericondrio.

Los condrocitos de las lagunas se observan redondeados, con núcleo pequeño, de cara abierta, en posición central (excéntrica en algunos casos); algunos condrocitos presentan dos núcleos.(Fig. 3).

#### **Edad: 1 año.**

En la piel que recubre la oreja de estos individuos, se observa una mayor cantidad de folículos pilosos y vasos sanguíneos, especialmente en la dermis papilar, con relación a los perros de 1 y 6 meses de edad.

En estos cortes es más notorio el aspecto de "vidrio esmerilado" arriba referido. En la mayoría de las muestras las lagunas no conservan su aspecto de forma redondeada y en ocasiones es difícil distinguir su límite. Las fibras elásticas que rodean a las lagunas son más gruesas y las que atraviesan el cartilago de lado a lado son más delgadas, incluso algunas aparentan desprenderse del tejido. En ocasiones es difícil distinguir el límite estructural entre las fibras y la matriz que las rodea. Hay también mayor cantidad de elastina amorfa.(Figs. 4, 5).

#### **Edad 2 años.**

La piel que recubre la oreja de estos animales es muy similar a lo descrito anteriormente a diferentes edades. La placa de cartilago presenta el mismo aspecto esmerilado y con abundante contenido elástico especialmente rodeando a la laguna cartilaginosa además es notoria la presencia de las fibras elásticas delgadas apreciables cerca de la zona del pericondrio condrogénico al cual invaden, al parecer las fibras delgadas forman los haces gruesos que rodean a las lagunas cartilaginosas en este caso el citoplasma de los condrocitos es acidófilo y su núcleo es pequeño y de color violeta. La periferia del condrocito se observa muy irregular probablemente por efecto de la retracción. El material que rodea directamente al condrocito dentro de la laguna es de color gris.(Fig. 6).

### **Edad más de 5 años**

La piel que recubre la oreja de estos animales no presenta alguna característica notoria diferente a lo ya descrito.

La matriz del cartilago es muy semejante a lo ya descrito para perros de 2 a 3 años. En algunas zonas las fibras elásticas son muy abundantes y forman un patrón denso. La matriz cartilaginosa que no presenta fibras elásticas se observa de un color violeta claro (Fig. 7).

### **b) Coloración de Tänzer-Unna.**

#### **Edad: 1 mes.**

Los cortes teñidos con Tänzer-Unna presentan una buena definición de las estructuras cutáneas y cartilaginosas, las cuales se observan en diferentes tonalidades marrón.

El pericondrio del cartilago auricular se observa de aspecto fibroso y con algunas lagunas aplanadas. En la matriz las lagunas cartilaginosas y los condrocitos correspondientes se observan de una tonalidad muy clara, con núcleos apenas discernibles; en contraste la matriz cartilaginosa se pigmenta de una tonalidad marrón uniforme.

La matriz se aprecia de aspecto uniforme, con fibras elásticas gruesas que en muchos casos presentan un aspecto fragmentado. En los casos en que las fibras elásticas se observan completas parecen atravesar de lado a lado la matriz. Además de las fibras gruesas, es posible apreciar un patrón de fibras delgadas, las cuales parecen formar a las fibras gruesas y además se dirigen al pericondrio, invadiendolo en una capa condrogénica. En algunos casos se observan puntos pequeños color marrón que parecen ser fibras delgadas cortadas transversalmente (Fig. 8).

#### **Edad 6 meses.**

Se observa en la matriz cartilaginosa una abundante cantidad de fibras elásticas con un aspecto "esmerilado". Estas fibras elásticas pasan entre las lagunas y parecen ramificarse en

otras más delgadas hacia el pericondrio, atravesando la matriz de lado a lado. En algunos casos se observan fibras elásticas en corte tangencial con respecto a las lagunas cartilagosas, y dan la apariencia de cubrir a estas lagunas. En realidad, estas fibras rodean por completo la periferia de la laguna. Los condrocitos se observan de forma redondeada, aparentemente hay menor cantidad de lagunas que en las muestras de un mes y mayor cantidad de fibras elásticas. Además el pericondrio es un poco más grueso, especialmente en su porción fibrosa (Fig. 9).

**Edad: 1 año.**

En estos cortes se observan las lagunas cartilagosas más grandes, así como las fibras elásticas en mayor densidad. Se aprecia gran cantidad de elastina, siendo difícil observar a las fibras *per se*, excepto hacia la orilla de la placa cartilaginosa, cerca de pericondrio, donde se distinguen fibras elásticas pequeñas y cortadas transversalmente. De igual forma, en aquellas zonas de la matriz con menor densidad de material elástico, es posible observar fibras elásticas de grosor variable (Fig. 10).

**Edad: 2 años.**

En este rango, se aprecia la placa cartilaginosa de mayor tamaño y es tan abundante la cantidad de material elástico que no se logran apreciar fibras elásticas individuales, excepto en aquellas zonas de la matriz con escasez de fibras cuando se entremezclan con el estrato condrogénico del pericondrio. Se observan muchas fibras cortadas transversalmente (Fig. 11).

**Edad: 5 ó más años.**

En estas muestras se conserva el patrón descrito para las edades anteriores, aunque paradójicamente la elastina, aunque abundante, permite apreciar el patrón de fibras, muy entrecruzadas entre sí, formando una red densa. La red se observa mejor hacia la zona del pericondrio. En la matriz se puede observar un patrón de lagunas cartilagosas grandes,

rodeadas por fibras elásticas finas. En varias lagunas se puede observar una configuración de elastina más densa a su alrededor. Se observan muchas fibras cortadas transversalmente (Fig. 12).

### c) Coloración de Verhoeff, contrastada con Van Gieson.

**Edad: 1 mes.**

El contraste de esta tinción nos permite observar que en dermis hay gran cantidad de fibras de colágena que rodean a los elementos estructurales descritos previamente.

En el pericondrio se observa una gran infiltración de fibras de colágena; inclusive la porción condrogénica da una reacción ligera al colorante, si bien no se observan fibras de colágena entre los condroblastocitos de esta zona.

La matriz del cartílago presenta un aspecto grisáceo y se ve invadida por gran cantidad de fibras elásticas gruesas y agrupadas en haces que se distribuyen de la misma forma descrita con la coloración de Tánzer-Unna. Con esta coloración las fibras elásticas se aprecian de un color negro.

En aquellas zonas donde la matriz se aprecia con menos material elástico, se observan fibras finas entrecruzadas a manera de red, ocupando gran parte de la matriz.

Los condrocitos se aprecian muy débilmente teñidos aunque es posible distinguir sus núcleos prominentes y de cara abierta (Fig.13).

**Edad: 6 meses.**

En estas muestras se aprecian haces de fibras elásticas con aspecto grueso que parecen ramificarse en fibras más delgadas. Las lagunas cartilagosas que son cortadas tangencialmente, parecen estar envueltas por las fibras elásticas. De nuevo, las fibras presentan un aspecto "esmerilado". Los condrocitos en su mayor parte se retraen (Fig. 14).

**Edad: 1 año.**

En las muestras de esta edad se observa una matriz cartilaginosa con un aspecto esmerilado donde se mezclan fibras elásticas gruesas y finas a manera de red. Estas fibras, muy densas, se proyectan hacia el pericondrio, particularmente su componente fino, que se mezcla en la porción condrogénica entre las lagunas ovaladas (Fig. 15).

**Edad: 2-3 años.**

El aspecto de estas muestras es muy semejante al descrito para perros de un año.

**Edad: 5 ó más años.**

En estas muestras la placa cartilaginosa se aprecia mucho más gruesa que en las edades anteriores. Las fibras elásticas son muy finas y abundantes, forman haces delgados que se ramifican y que ocupan gran parte de la matriz formando una especie de red tridimensional densa (Fig.16).

**B) SUINOS.**

**a) Coloración de H.E.**

**Edad: 1 mes.**

La oreja del cerdo está formada por una placa de cartilago elástico, cubierta de piel, la cual se diferencia en epidermis (epitelio estratificado escamoso cornificado) y dermis. La epidermis es muy gruesa, especialmente en la superficie dorsal, mientras que en la superficie ventral es más delgada. Lo mismo ocurre con la cubierta de queratina. La dermis está formada por dos estratos (papilar y reticular), el primero constituido por tejido

conectivo colágeno laxo, el cual forma papilas que se acoplan con las crestas epidérmicas correspondientes; por su parte, el estrato reticular, de tejido conectivo colágeno compacto irregular, presenta gran cantidad de glándulas sebáceas, sudoríferas y folículos pilosos de gran tamaño así como un gran número de vasos sanguíneos. El tejido conectivo del estrato reticular se fusiona con el tejido que forma el pericondrio fibroso de la placa de cartilago de la oreja (Fig. 17).

En el pericondrio se diferencian 2 porciones, la primera es el estrato fibroso, donde se aprecian fibras de colágena; la segunda es el estrato condrogénico, donde se observan células aplanadas de núcleo ovoide, agrupadas en espacios elipsoidales que corresponden a lagunas cartilaginosas. Las células son condroblastocitos (Fig. 18).

En la placa cartilaginosa se observa una coloración basófila que corresponde a la matriz cartilaginosa, entre la cual se observan fibras elásticas finas birrefringentes, en número discreto, de un tono rosa muy pálido, son difíciles de distinguir que se localizan entre las lagunas cartilaginosas, de forma ovoide, con sus respectivos condrocitos. El núcleo de estas células se aprecia en un tono basófilo y el citoplasma es granular; en algunas lagunas los condrocitos se retraen (Fig. 19).

#### **Edad: 6 meses.**

En estos animales se observa de manera característica gran cantidad de tejido adiposo en el estrato reticular de la dermis.

Por otra parte, la matriz cartilaginosa presenta un aspecto basófilo. En las lagunas cartilaginosas los condrocitos son redondeados con su núcleo de cara abierta, con su citoplasma homogéneo y basófilo. Las fibras elásticas de la matriz son finas, se ramifican y pasan entre las lagunas cartilaginosas, aunque son más fáciles de distinguir que la edad anterior ya que son un poco más gruesas. También es posible observar que se dirigen hacia pericondrio condrogénico (Fig. 20).

## **b) Coloración de Tánzer-Unna.**

**Edad: 1 mes.**

Con esta tinción las fibras elásticas se observan abundantes, de un color marrón y son muy finas y ramificadas, atraviesan de un lado a otro de la placa cartilaginosa pasando entre las lagunas, en las cuales los condrocitos son difíciles de apreciar. En ciertas áreas las lagunas cartilaginosas fueron cortadas tangencialmente, lo que permite observar la gran cantidad de fibras elásticas finas que las recubren. Así mismo se observa como las fibras se infiltran en la porción condrogénica del pericondrio (Fig.21).

**Edad: 6 meses.**

En las muestras de esta edad se aprecia una mayor cantidad de fibras elásticas. Alrededor de las lagunas cartilaginosas; en la matriz se aprecian menos abundantes, parecen romperse y presentan un aspecto de "liga cortada". Así mismo estas fibras elásticas de la matriz. Las fibras elásticas de la matriz, se extienden hasta la parte condrogénica del pericondrio, y en muchos casos están cortadas transversalmente, dando un aspecto de "puntilleo" fino a la matriz. Una gran parte de los condrocitos se retraen y es difícil observarlos (Fig. 22).

## **C. OVINOS.**

### **a) Coloración de H.E.**

**Edad: 1 mes.**

La piel que recubre la oreja está formada por la epidermis y la dermis, la primera está constituida por un epitelio estratificado escamoso cornificado, formado por varias capas de células, que representan los estratos basal, espinoso y córneo. Esta epidermis recubre ambas



superficies del órgano (dorsal y ventral) y es más delgada en la superficie ventral, con menor cantidad de queratina. La dermis presenta 2 estratos, el papilar y el reticular; el primero es muy delgado y poco aparente. La porción reticular está formada por folículos pilosos en número abundante, vasos sanguíneos prominentes, glándulas sebáceas y sudoríferas de pared delgada y de gran tamaño incluidas en el tejido conectivo colágeno laxo que la constituye. Estas características se mantienen en todas las edades de los ovinos estudiados. Cerca del pericondrio del cartilago de la oreja, hay abundantes fibras de colágena que sin embargo, parecen no mezclarse su porción fibrosa.

El pericondrio presenta 2 porciones: fibrosa y condrogénica; la primera casi no presenta fibras de colágena, y la segunda presenta lagunas cartilaginosas aplanadas; la matriz cartilaginosa es de un color basófilo con abundantes fibras elásticas que rodean a las lagunas cartilaginosas. Sin embargo, el material cartilaginoso es relativamente escaso y la placa de cartilago es más bien delgada (Fig. 23).

**Edad: 6 meses .**

La matriz presenta una tonalidad basófila intensa, las fibras elásticas son gruesas y rodean a las lagunas cartilaginosas. En la matriz forman haces gruesos que se ramifican. Las lagunas cartilaginosas se observan aplanadas con sus condrocitos retraídos. Se aprecian fibras elásticas finas hacia la región condrogénica. Los condroblastocitos de esta región se observan aplanados, pequeños y de núcleo de cara abierta con apetencia basófila (Fig. 28).

**Edad: 1 año.**

La placa cartilaginosa presenta una matriz con tonalidad basófila pálida en la cual sus lagunas se encuentran rodeadas por fibras elásticas gruesas y ramificadas. Algunas fibras elásticas penetran a la región condrogénica (Fig. 24).

**Edad: 2 años.**

Se mantiene el mismo patrón de la matriz: hay una abundante cantidad de matriz cartilaginosa, los haces de fibras elásticas que la atraviesan son muy gruesos y dan la apariencia que "apretaran" o "comprimieran" a las lagunas, que parecen retraerse. Las fibras pasan de lado a lado la placa cartilaginosa y alcanzan a penetrar a la región condrogénica del pericondrio (Fig. 25).

**Edad: 3 años.**

Se mantiene en esta edad el patrón de la edad anterior, la matriz es más abundante, así como la cantidad de fibras elásticas y las lagunas cartilaginosas parecen retraerse por la abundancia de material elástico (Fig. 26).

**b) Coloración de Tánzer-Unna.**

**Edad: 1 mes.**

En estas muestras se observa el pericondrio con una coloración marrón pálida, mientras que la matriz cartilaginosa es marrón y posee fibras elásticas gruesas que rodean a las lagunas cartilaginosas y atraviesan de extremo a extremo la placa cartilaginosa, ramificándose hacia la porción condrogénica. Dentro de las lagunas los condrocitos presentan un citoplasma pálido con el núcleo de forma esférica, apenas visible. A mayor aumento se aprecia un puntillito que posiblemente corresponda a cortes de fibras elásticas transversales. (Figs. 27, 29, 32).

**Edad: 6 meses.**

Las fibras elásticas son muy gruesas y de tono marrón, atraviesan la matriz y algunas presentan el aspecto de "liga cortada". Las lagunas cartilaginosas presentan células pálidas con su núcleo apenas discernible. En la región condrogénica, los condroblastocitos son difíciles de distinguir. Son de forma aplanada, y en ocasiones se ven rodeados por las fibras elásticas, ramificadas y delgadas (Fig. 33).

**Edad: 1 año.**

En esta etapa las fibras elásticas se observan mucho más gruesas y no permiten apreciar con facilidad a la matriz cartilaginosa, muchas lagunas están en corte tangencial y se observa gran cantidad de fibras que las envuelven (Fig. 29).

**Edad: 2 años.**

Se aprecia un patrón similar al anterior, además se observan varias fibras elásticas gruesas con cortes transversales, dando el aspecto de "punteado" marrón oscuro (Fig. 30).

**Edad: 3 años.**

Se mantiene el patrón descrito. Hacia la porción condrogénica se aprecia mayor cantidad de fibras elásticas finas intercaladas con la porción condrogénica del pericondrio (Fig.31).

**c) Coloración de Verhoeff, contrastada con Van Gieson.**

**Edad: 1 mes.**

Con esta tinción se aprecian gran cantidad de fibras elásticas que forman haces gruesos de color negro sobre una matriz cartilaginosa de tono grisáceo. Las fibras rodean a las lagunas cartilaginosas y atraviesan de extremo a extremo la lámina cartilaginosa y al llegar a la región condrogénica del cartilago forman una red de fibras elásticas delgadas.

Los condrocitos que están dentro de la laguna cartilaginosa están retraídos y tienen un tono grisáceo con el núcleo poco visible. A nivel del pericondrio encontramos fibras de colágena, detectables por el contraste con Van Gieson.

**Edad: 6 meses.**

Las fibras elásticas forman haces por lo que se ven más gruesas y envuelven las lagunas, permitiendo apreciar poco a la matriz grisácea. Las ramificaciones presentes en estas muestras hacia la periferia del cartilago son delgadas y abundantes, también se aprecian haces gruesos que pasan de lado a lado de la placa de cartilago. Varias fibras elásticas se ven fragmentadas.

**Edad: 1 año.**

El patrón es muy similar a lo ya descrito, destacan las fibras elásticas que se observan de color negro y con el aspecto descrito de "liga cortada"; además se observa también un "punteo" negro que cubre una gran superficie de la placa, probablemente fibras elásticas en corte transversal (Fig. 34).

**Edad: 2 años.**

Se mantiene el patrón ya descrito. Las lagunas cartilaginosas están rodeadas por fibras elásticas muy gruesas en tal cantidad, que casi no permiten observar la matriz cartilaginosa. Las fibras elásticas se presentan gruesas, de color negro y ramificadas (Figs. 35, 36).

**Edad: 3 años.**

El patrón de distribución se mantiene, pero las fibras elásticas son mucho más gruesas y al parecer más abundantes. Envuelven a las lagunas y siguen su trayectoria de lado a lado de la placa de cartílago. (Figs. 37, 38).

## Figuras



Fig. 1 (Oreja, canideo H-E, 1 mes) Se aprecian los folículos pilosos (F) en la dermis; La epidermis (E) es delgada. 100x



Fig. 2 (Oreja, canideo H-E, 1 mes) Se observa el pericondrio (\*) con sus dos porciones: fibrosa (formada de tejido conectivo colágeno denso irregular) y condrogénica. Los condrocitos se delimitan con cierta facilidad de la matriz cartilaginosa. 400x

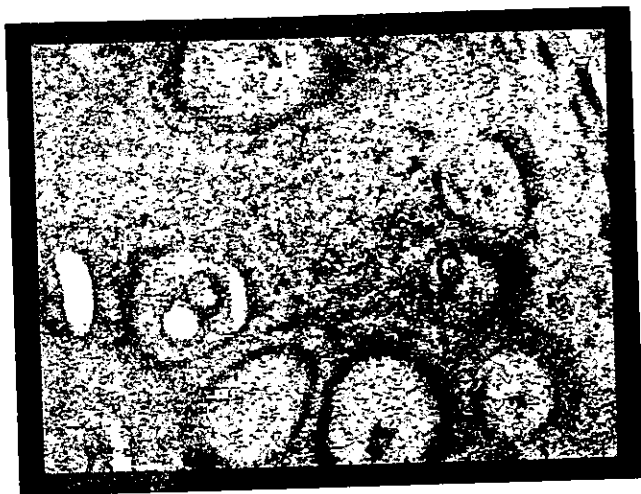


Fig. 3 (Oreja, canideo H-E, 6 meses) Los condrocitos de las lagunas (C), se aprecian redondeados, con núcleos pequeños de cara abierta y algunos binucleados. 400x

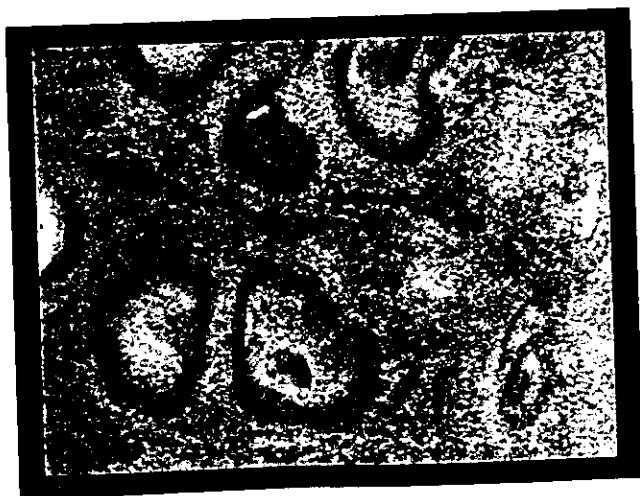


Fig. 4 (Oreja, canideo H-E, 1 año) La matriz cartilaginosa presenta un aspecto de "vidrio esmerilado" (\*). 400x

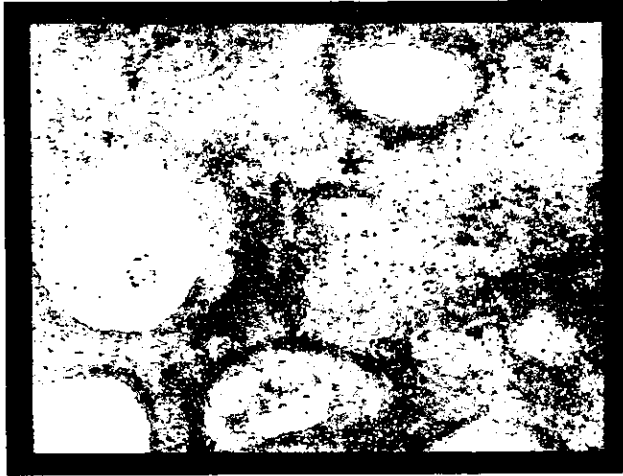


Fig. 5 (Oreja, canideo H-E, 1 año) Se aprecia mayor cantidad de elastina amorfa (\*), que dificulta distinguir el límite estructural entre las fibras. 1000x

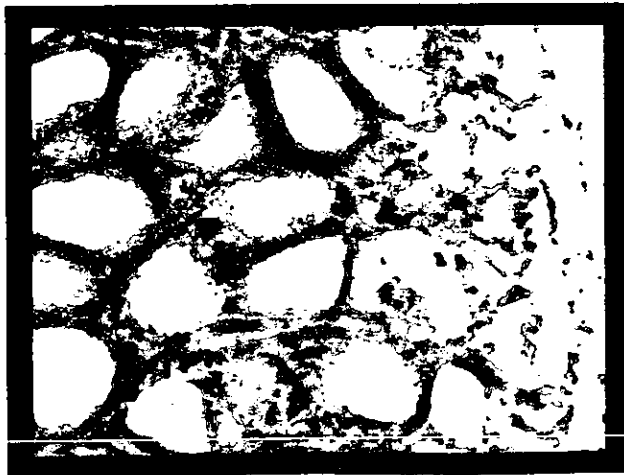


Fig. 6 (Oreja, canideo H-E, 2 años) La elastina rodea las lagunas cartilaginosas (C). Se observa el citoplasma acidófilo de los condrocitos, y su núcleo pequeño de color violeta. 400x





**Fig. 7** (Oreja, canideo H-E, 5 años) Las fibras elásticas se observan densas y acidófilas (\*). La matriz cartilaginosa es basófila. 400x



**Fig. 8** (Oreja, canideo Tänzer-Unna, 1 mes) Se aprecian las fibras elásticas (F) delgadas de color marrón. Algunas están cortadas transversalmente. 400x



Fig. 9 (Oreja, canideo, Tánzer-Unna, 6 meses) Las lagunas cartilaginosas (C) se aprecian redondeadas y con sus condrocitos poco visibles. El pericondrio (P) presenta fibras elásticas en su porción condrogénica. 400x



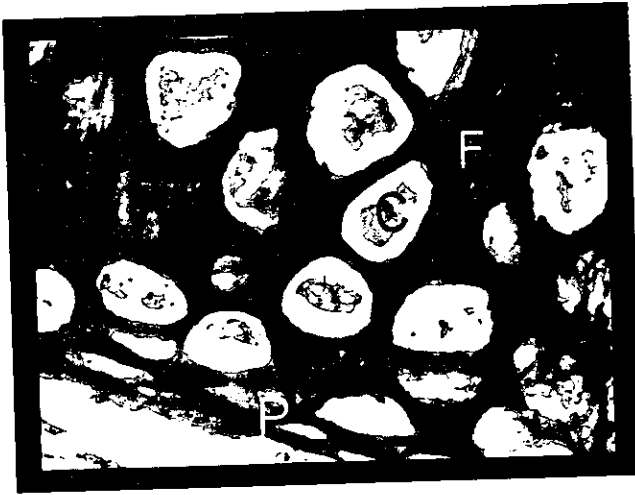
Fig. 10 (Oreja, canideo, Tánzer-Unna, 1 año) En el pericondrio (P) se observan fibras elásticas (F) pequeñas y algunas cortadas transversalmente. 400x



Fig. 11 (Oreja, canideo, Tänzer-Unna, 2 años) El material elástico es muy abundante en la matriz cartilaginosa (\*). 400x



Fig. 12 (Oreja, canideo, Tänzer-Unna, 5 años) Se aprecia en algunas lagunas (L) elastina densa a su alrededor, en la matriz se observan fibras (F) entrecruzadas y cortadas transversalmente. 400x



**Fig. 13** (Oreja, canideo, Verhoeff, 1 mes) En el pericondrio (P) se ve infiltración de fibras de colágena (de color rosa). En la matriz se observan fibras elásticas (F) finas entrecruzadas y lagunas con condrocitos (C) prominentes de cara abierta. 400x



**Fig. 14** (Oreja, canideo, Verhoeff, 6 meses) Se observa el aspecto de "vidrio esmerilado" de la matriz, las fibras gruesas se ramifican y se adelgazan (F). Los condrocitos están retraídos dentro de su laguna (C). 400x



Fig. 15 (Oreja, canideo, Verhoeff, 1 año) Las fibras elásticas (F) se proyectan hacia el pericondrio (P). 400x

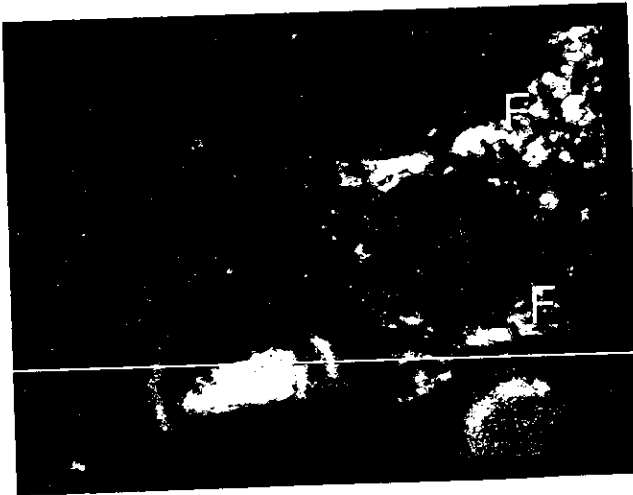


Fig. 16 (Oreja, canideo, Verhoeff, 5 años) En esta edad se observan las fibras (F) muy abundantes y forman haces delgados que se ramifican. 1000x

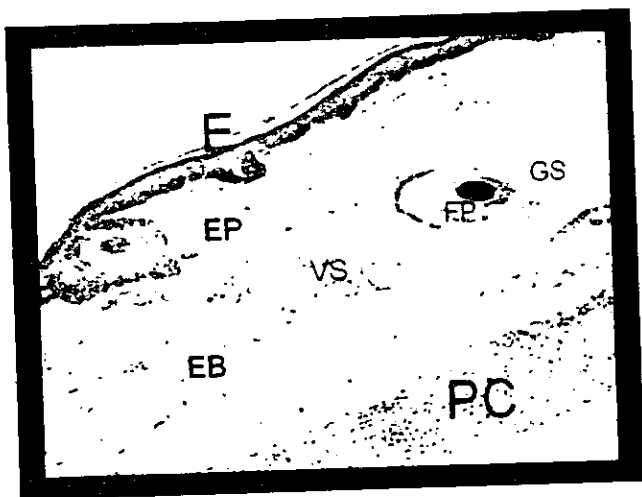


Fig. 17 (Oreja, suino, H-E, 1 mes) Estructuras presentes en el corte: Epidermis (E), dermis con sus estratos papilar (EP) y reticular (EB), en este último se observan vasos sanguíneos (VS) y glándulas sebáceas (GS). Debajo del estrato reticular se observa la placa cartilaginosa (PC). 50x



Fig. 18 (Oreja, suino, H-E, 1 mes) Se observan los dos estratos del pericondrio: estrato condrogénico (EC) y fibroso (EF) con sus respectivas estructuras. 100x

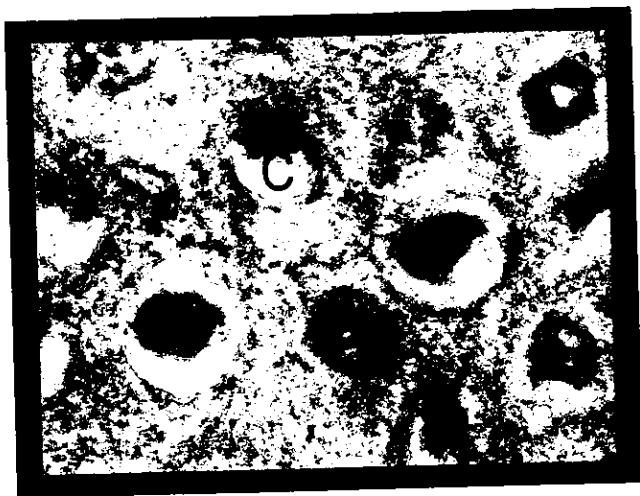


Fig. 19 (Oreja, suino, H-E, 1 mes) Las fibras elásticas (F) son birrefringentes y difíciles de apreciar. Se localizan entre las lagunas cartilaginosas (C). 400x

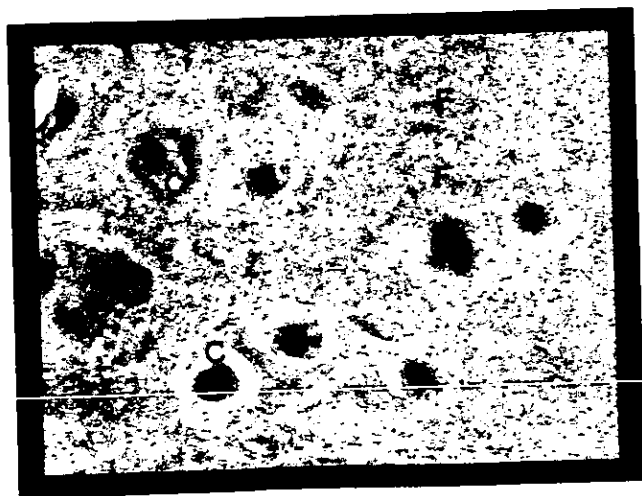


Fig. 20 (Oreja, suino, H-E, 6 meses) En las lagunas cartilaginosas se aprecian los condrocitos (C) redondeados y con núcleo de cara cerrada. Las fibras elásticas (F) son finas y se ramifican pasando entre las lagunas cartilaginosas. 400x



Fig. 21 (Oreja, suino, Tánzer-Unna, 1 mes) En este corte se aprecian abundantes fibras elásticas (\*) de color marrón, finas y ramificadas, que atraviesan de lado a lado la placa cartilaginosa, pasando entre las lagunas. Se observan algunos cortes tangenciales de fibras (F) que envuelven a las lagunas. 400x



Fig. 22 (Oreja, suino, Tánzer-Unna, 6 meses) Las fibras elásticas (F) se distribuyen formando haces finos en la matriz cartilaginosa y haces gruesos que rodean a las lagunas. 1000x



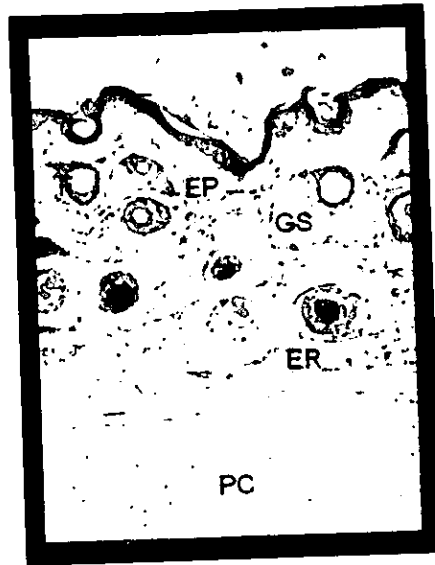


Fig. 23 (Oreja, ovino, H-E, 1 mes) Estructuras presentes en el corte: Epidermis (E), dermis con sus estratos papilar (EP) y reticular (ER), en este último se presentan folículos pilosos (F), glándulas sebáceas (GS). El material fibroso es relativamente escaso y la placa cartilaginosa es delgada (PC). 50x

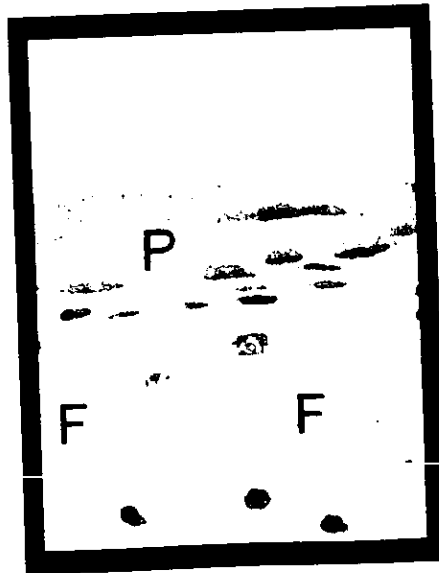


Fig. 24 (Oreja, ovino, H-E, 1 año) Las lagunas cartilagosas (poco aparentes) están rodeadas por fibras elásticas gruesas y acidófilas (F). Algunas fibras penetran a la región condrogénica (P). 100x

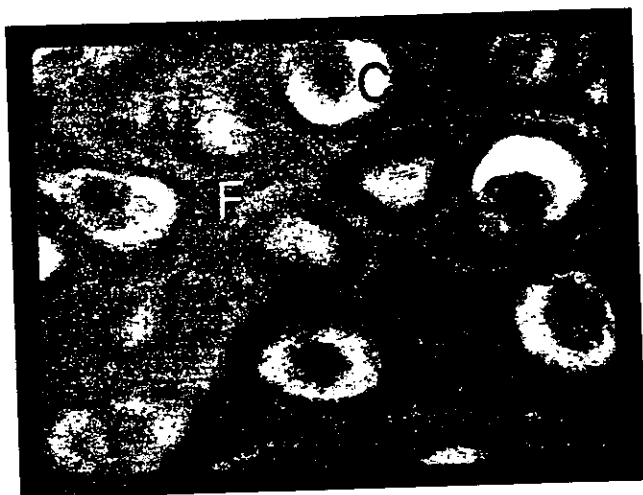


Fig. 25 (Oreja, ovino, H-E, 2 años) Las fibras elásticas (F) rodean las lagunas cartilaginosas (C). Note la intensa acidofilia de los haces gruesos de fibras. La matriz cartilaginosa se observa basófila. 400x

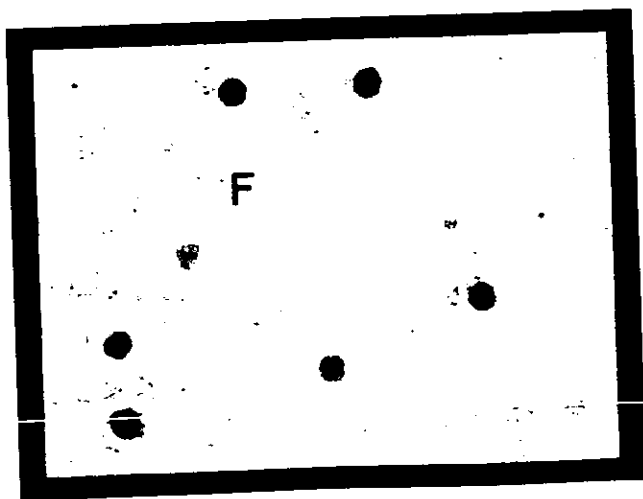


Fig. 26 (Oreja, ovino, H-E, 3 años) Las fibras elásticas (F) rodean a las lagunas cartilaginosas. Los condrocitos se retraen dentro de las lagunas. 400x



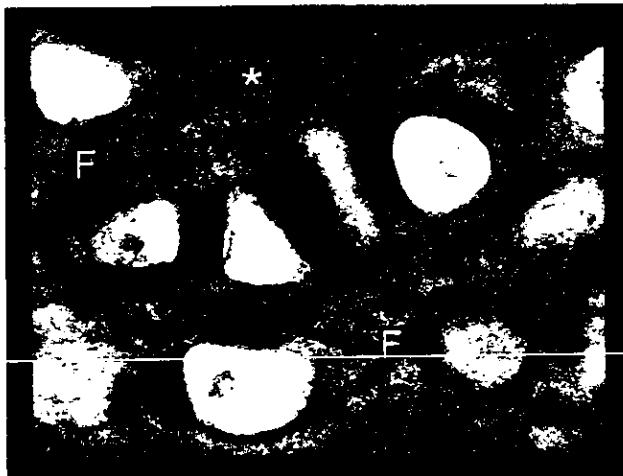
**Fig. 27** (Oreja, ovino, Tänzer-Unna, 1 mes) Se observan las fibras elásticas gruesas (F) que rodean las lagunas cartilaginosa (\*). 100x



**Fig. 28** (Oreja, ovino, H-E, 6 meses) En algunos casos las fibras elásticas tienen un aspecto de liga cortada (F). Los condrocitos (C) se observan retraídos en sus lagunas. 400x



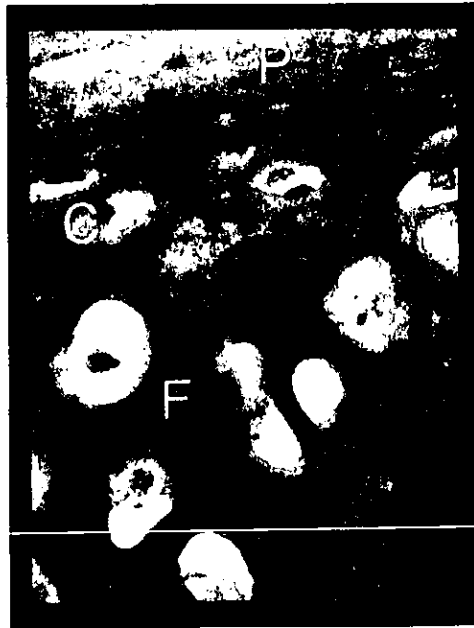
**Fig. 29** (Oreja, ovino, Tánzer-Unna, 1 año) Las fibras elásticas se tornan delgadas cerca del pericondrio (F). En cambio se observan más gruesas en la matriz y no permiten apreciarla con facilidad (\*). 400x



**Fig. 30** (Oreja, ovino, Tánzer-Unna, 2 años) En este corte se aprecian las fibras elásticas gruesas (F) y algunas con aspecto de puntillado (\*). 400x



**Fig. 31** (Oreja, ovino, Tänzer-Unna, 3 años) En este corte se aprecian dentro de la matriz cartilaginosa varias fibras elásticas ramificadas (F). 400x



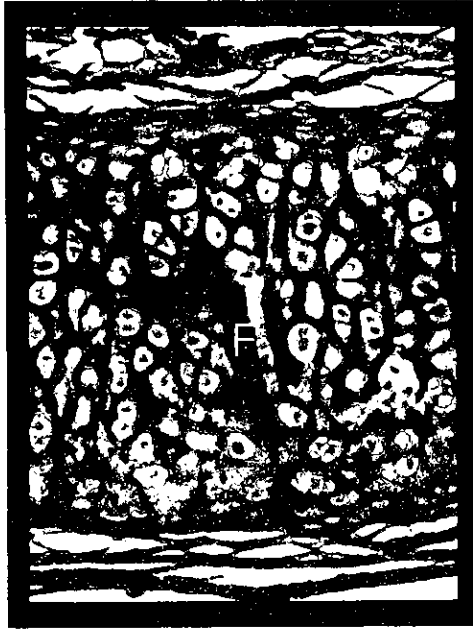
**Fig. 32** (Oreja, ovino, Tänzer-Unna, 1mes) Se observan fibras elásticas gruesas (F) color marrón en la matriz y rodeando a las lagunas cartilaginosas (C). Cerca del pericondrio (P) las fibras constituyen una red delgada. 400x



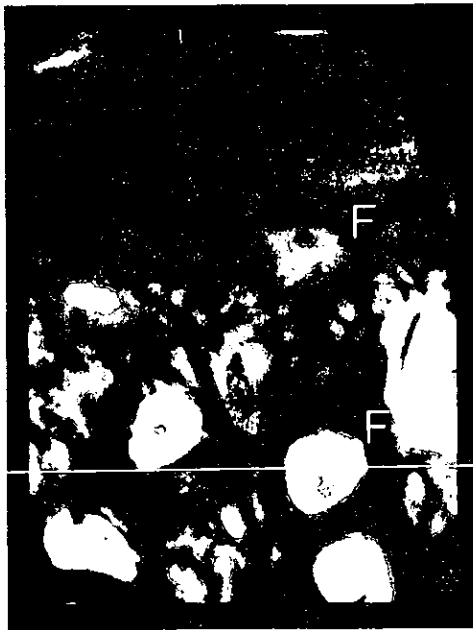
Fig. 33 (Oreja, ovino, Tänzer-Unna, 6 meses) Las fibras (F) forman haces gruesos que se ramifican y hacia la periferia son delgadas y abundantes. 400x



Fig. 34 (Oreja ovino, Verhoeff, 1 año) Las fibras elásticas (F) se observan de color negro, muy ramificadas y en algunos casos con aspecto de "liga cortada". 400x



**Fig. 35** (Oreja, ovino, Verhoeff, 2 años) Las lagunas cartilagosas están rodeadas por fibras elásticas (F) que atraviesan de lado a lado la placa de cartilago. 100x



**Fig. 36** (Oreja, ovino, Verhoeff, 2 años) Las fibras elásticas (F) se observan gruesas y con aspecto de "liga cortada". 400x



**Fig. 37 y 38** (Oreja, ovino, Verhoeff, 3 años) Las fibras elásticas (F) son mucho más gruesas y abundantes, excepto en la región del pericondrio, donde son delgadas y ramificadas. En la matriz del cartilago rodean a las lagunas cartilaginosas (C) y siguen la trayectoria de lado a lado de la placa. 400x



## DISCUSIÓN

### A. CANIDEOS.

Edad: 1 mes.

En esta edad la cantidad de fibras elásticas es ya abundante, según lo revelan las 2 tinciones específicas utilizadas, e inclusive la coloración de rutina.

Destaca: a) un patrón de fibras finas abundantes en toda la matriz, y b) un patrón de fibras gruesas que rodea a las lagunas y que en algunos casos atraviesa de lado a lado la placa de cartilago auricular.

Es importante señalar que a diferencia de lo reportado para el cartilago elástico de la epiglottis, en la misma especie, en este caso no encontramos tejido adiposo dentro de la placa de cartilago, ni tampoco vasos sanguíneos que literalmente atravesaran el pericondrio para llegar al tejido adiposo referido (2,14). En el caso del cartilago auricular, la irrigación se mantuvo en los límites pericondriales. Por otra parte, la presencia de un puntilleo fino (marrón con las técnicas Tänzer-Unna y negro con Verhoeff) en algunas zonas de la matriz parece indicar que numerosas fibras fueron cortadas transversalmente, y podemos inferir que las fibras elásticas se disponen en varias direcciones tridimensionalmente. El aspecto fragmentado de algunas fibras que se cita, es probablemente artefactual.

Con relación al número de lagunas, tal como lo cita la literatura para este tipo de cartilago (19), son muy abundantes y con gran número de grupos isógenos.

Por otra parte, es importante mencionar que en ninguna de las tres especies estudiadas a esta edad (un mes) se detectaron células con aspecto morfológico mesenquimatoso ó inmaduro, a diferencia de lo detectado en estas especies en el cartilago epiglótico (16). Esto permite suponer un desarrollo embriológico ó posnatal más rápido del cartilago auricular que del cartilago epiglótico, en las tres especies estudiadas.

**Edad: 6 meses.**

En esta edad destaca la presencia de un mayor número de fibras gruesas, lo cual posiblemente se debe a una mayor producción de elastina. Otro aspecto interesante lo constituye una manifiesta invasión de fibras finas hacia el pericondrio condrogénico. De acuerdo con lo mostrado con el contraste de Van Gieson, la elastina jamás alcanza el pericondrio fibroso, rico en colágena, pero a su vez esta proteína no está presente en la porción condrogénica, al menos estructuralmente. Considerando que la mayoría de las razas de perros que poseen orejas erectas las "levantan" entre los 4 y los 7 meses (21), es interesante considerar el papel del aumento de fibras elásticas gruesas en el cartilago para esta erección. Sin embargo, se debe considerar también el aumento gradual del grosor de la placa de cartilago, y en todo caso, un estudio destinado a aportar datos en este sentido debe ser más dirigido a las edades referidas y en razas específicas (Chihuahua, Pastor Alemán, etc.).

En otro orden de ideas, el aspecto esmerilado referido es probablemente de naturaleza artefactual.

**Edad: 1 año.**

En esta edad destaca la abundancia de material elástico, el cual en muchos casos dificulta la observación de fibras gruesas y delgadas en forma individual, de acuerdo a la información brindada por las tinciones especiales. La producción intensa de elastina puede ser inferida de esta observación, entre los 6 meses y el año de edad.

**Edad: 2-3 años.**

En estas edades no se detectaron diferencias estructurales notables con relación a los cortes de un año de edad. Sin embargo se debe señalar un aumento en el grosor de la placa de

cartilago. La interpretación de este aumento debe ser cuidadosa, ya que requiere de un estudio morfométrico cuidadoso, así como de una consideración, al menos parcial, de la raza de los animales estudiados. Aún así, con los datos que se poseen, considerando que el aumento parece ser uniforme en la totalidad de los individuos estudiados, en esta edad y especie, se puede señalar la posibilidad de que efectivamente, sea un aumento real, debido al desarrollo del individuo.

**Edad: 5 ó más años.**

En esta edad sólo es relevante la tendencia al aumento de grosor de la placa de cartilago, la cual se mantiene en esta edad. Esto pareciera apoyar la hipótesis de un aumento real en el grosor de la placa de cartilago en individuos adultos, desde el mes de edad, hasta probablemente 3 ó más años de edad.

**B. SUINOS.**

**Edad: 1 mes.**

En los suinos de un mes se observa un patrón exclusivo de fibras finas distribuidas de manera uniforme en la matriz del cartilago auricular e invadiendo parcialmente al pericondrio condrogénico. El número de lagunas cartilaginosas es abundante, de acuerdo a lo descrito por la literatura (17,63).

**Edad: 6 meses.**

Ya en animales de esta edad es posible apreciar haces más ó menos gruesos de fibras elásticas que rodean a las lagunas cartilaginosas, además del patrón de fibras finas ya señalado. Es importante mencionar que esta especie presenta un patrón de fibras muy similar al descrito en el cartilago de la epiglotis (19), al menos en esta edad. La presencia

del puntilleo de color marrón (Tinción de Verhoeff) sugiere la disposición tridimensional de las fibras elásticas en la placa de cartilago.

### **C. OVINOS.**

#### **Edad: 1 mes.**

En esta especie, ya desde esta edad, es posible apreciar un patrón de fibras gruesas que se distribuye ampliamente por la matriz cartilaginosa y alrededor de las lagunas, que también son abundantes. Fibras un poco más delgadas invaden también al pericondrio condrogénico. Es importante señalar que el patrón es parecido a lo referido para el cartilago epiglótico (2,16). Asimismo, es necesario mencionar la relativa delgadez de la placa de cartilago auricular, en esta especie y a esta edad, lo cual no limita la abundancia del material elástico.

#### **Edad: 6 meses.**

El patrón es muy semejante, destacando el mayor grosor de la placa de cartilago, la presencia de fibras elásticas aún más gruesas y la presencia de fibras en corte transversal u oblicuo (en forma de "liga cortada"), lo cual parece indicar su distribución tridimensional. Es muy probable que estos cambios se deban al desarrollo gradual de los animales en crecimiento.

#### **Edad: 1 año.**

Los cambios referidos para esta especie a los 6 meses se mantienen: si bien el aumento en el grosor de las fibras parece seguir, esto debe ser analizado morfométricamente. En cambio, el grosor de la placa de cartilago es notoriamente mayor. De este modo, es posible

inferir que la elastogénesis se mantiene muy activa para cubrir las nuevas áreas de cartilago en expansión, con una densidad igual a la de las regiones más antiguas.

**Edad: 2 años.**

El grosor de la placa de cartilago es mayor, y la densidad de fibras es tal que la matriz es difícil de apreciar y las lagunas se observan "comprimidas" entre las fibras. Es muy probable que tanto la elastogénesis como el crecimiento del cartilago se mantengan constantes.

**Edad: 3 años.**

A esta edad no se detectan cambios importantes con relación a lo ya descrito para la edad de 2 años, por lo cual es probable que el desarrollo de este tejido se detenga entre los dos y tres años de edad, conservándose una elastogénesis de manutención para la integridad tisular, ya que no se observa una disminución de la densidad de elastina en estos cortes. Mayores datos deben ser aportados por un análisis morfométrico y un estudio en animales de mayor edad.

## CONCLUSIONES

### A. CANIDEOS.

El patrón de fibras elásticas del cartilago auricular en esta especie es de dos tipos: fibras finas y gruesas a diferencia de lo encontrado en el cartilago epiglótico, en este tejido no existe tejido adiposo ni irrigación concomitante al mismo. Tampoco se detectaron poblaciones de células similares a las mesenquimatosas, lo que permite suponer que este tejido concluye su desarrollo embriológico antes que el cartilago epiglótico.

El desarrollo de las fibras elásticas en el cartilago auricular de esta especie parece ser gradual pero constante y va de la mano del crecimiento general de este tejido. Asimismo es posible hipotetizar que este desarrollo tisular se mantiene al menos hasta los 3-4 años de edad, con los datos disponibles en este trabajo.

### B. SUINOS.

En esta especie también se observa un patrón dual de distribución y tipo de fibras elásticas en el cartilago auricular: fibras delgadas que se distribuyen de modo tridimensional por toda la matriz cartilaginosa e invaden el estrato condrogénico del pericondrio, y fibras gruesas que rodean a las lagunas cartilaginosas, las cuales son muy abundantes. En esta especie este patrón de distribución es muy similar al descrito para el cartilago epiglótico, aunque tampoco se hallaron en los individuos de un mes de edad células semejantes a mesenquimatosas.

### C. OVINOS.

En los ovinos predominó un patrón de fibras gruesas que paulatinamente fueron cada vez más abundantes hasta llegar a los 3 años de edad. En estos animales la placa de cartilago mantuvo su tendencia a engrosar, por lo que se puede inferir que al menos hasta esta edad termina el desarrollo de este tejido. Por otra parte, las fibras gruesas se distribuyeron ampliamente por la matriz y alrededor de las lagunas, llegando hasta el pericondrio condrogénico. Este patrón es similar al del cartilago epiglótico en esta especie.

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- AGUILAR B., L. y col., Manual de Laboratorio de Histología Veterinaria. 1a. Ed., Sección de Ciencias Morfológicas, FES-Cuautitlán, UNAM. México 1994, pp. 8, 9, 10 y 13.
- 2.- BACHA Jr, J.W. y WOOD, M.L. Color atlas of veterinary histology. 2ª ed. Lea Febiger, E.U.A. 1991. pp 19-20, 162-165.
- 3.-BANCROFT, D.J. y STEVENS, A. Theory and practice of histological techniques. 3ª Ed. Churchill livingstone, E.U.A.1990. pp 93-105.
- 4.- BANKS, J.W. Applied veterinary histology. 2ª Ed. Williams Wilkins, E.U.A. 1986. pp 108-118.
- 5.-BOWMAN C.W. y RAND, J.M. Farmacología: bases bioquímicas y patológicas aplicaciones clínicas. 2ª Ed. Interamericana, México, 1984. pp25.1-25.3.
- 6.- BRADAMANTE, Z. y col. Differentiation of the secondary elastic cartilage in the external ear of the rat. Int. J. Dev. Biol. Vol. 35. España, 1991. pp. 311-320.
- 7.- BRAVERMAN, M.I. Elastic fiber and microvascular abnormalities in aging skin. Clinics in geriatric medicine. Vol.5 (1989) pp 69-90.
- 8.- CLARK, G. Staining Procedures. 3ª Ed. Biological Stain Commission. E.U.A. 1973. pp 62-63.
- 9.- COLOMBATTI, POLETI, CARBONE, Extracellular matrix of lymphoid tissue in the chick, The journal of Histochemistry and citochemistry, Vol.37, N° 5 pp. 757-763, 1989



- 10.- CORMACK H. D., Histología de Ham. 9a. Ed., Harla, México, 1988. pp. 191, 196-198.
- 11.- CORREA, P. STELLA, A.J. TAMAYO, P.R. y CARBONELL., M.L. Texto de patología. 2ª Ed. Prensa Médica mexicana. México., 1976. pp 814-816.
- 12.- COX-RW, PEACOCK-MA. The growth of elastic cartilage. Journal Anat. 1979 N° 128 (I) pp 207-213.
- 13.- DELI, PANTANALI F, DELI G., Oxalatan fibers in the condylar cartilage. Metodologic and experimental contribution of histologic studies conducted on dogs, rabbits and rats. Minerva Stomatol, 1997 sept. 46 (9): 471-80, Italia
- 14.- DELLMAN H. D. Y BROWN M. E., Textbook of Veterinary Histology. 1a. Ed., Lea and Febiger, E.U.A. pp. 48-49, 62-63.
- 15.- DEMPSEY, W.E. VIAL, D.J. LUCAS, V.R. y LANSING, I.A. Characterization of the reaction between orcein and the elastic fibers of the ligamentum nuchae of the horse. Anat. Rec. Vol 113 (1952) pp. 197-213.
- 16.- EGERBACHER, M. KRESTAN, R. Y BOCK, P. Morphology, histochemistry, and differentiation of the cat's epiglottic cartilage : A supporting organ composed of elastic cartilage, fibrous cartilage, mixoid tissue, and fat tissue. The Anatomical Record. Vol. 242. (1995) pp. 471-482.
- 17.- EROSCHENKO, p. Y DI FIORE. Atlas of histology with funcional correlations. 7ª De. Lea & Febiger. E:U:A: ,1993. pp.214-215.
- 18.- ESTRADA F., E. ZAMORA P, L. Y MANZANO R, P. Manual de técnicas histológicas. 1º Ed. AGT México. 1992. pp 9-25, 30-53, 93-107.

- 19.- FAWCETT W, D. Tratado de histología. 11ª Ed. Interamericana/Mc Graw Hill. España. 1987. pp136-173, 188-198.
- 20.- FRACASSINI, S.A. FIELD, M.J. y STEPHENS, S.G.W. The ultrastructure and mechanics of elastic ligaments. Journal of ultrastructure research, Vol. 58 (1977) pp 244-251.
- 21.- FRANDSON, D.R. y WHITTEN H, E. Anatomía y fisiología de los animales domésticos. 3ª Ed. Interamericana. México, 1985. pp. 6-9.
- 22.- GETTY, R. Anatomía de los animales domesticos. 5ª Ed. Salvat México. 1982. pp 138, 567-568, 1024-1025, 1419, 1716.
- 23.- GIESE, C.A. Fisiología celular y general. 5ª Ed. Interamericana, México, 1979: pp 56-67.
- 24.- GIGANTE A., SPECCHIA N., GRECO F. Age-related distribution of elastic fibers in the rabbit knee; Clin Orthop\_Deparment of Orthopaedics Catholic University of the Sacred Heart Rome, Italy, 1994 Nov. (308): 33- 42
- 25.- GRAU, H. y WALTER, P. Histología y anatomía microscópica comparada de los animales domésticos. 1ª Ed. España, 1975. pp 43-46; 193-199
- 26.- GRAY, R.W. SANDBERG, BL. y FOSTER, A.J. Molecular model of elastin estructura and function. Vol. 246 (1973) pp. 461-466.
- 27.- GUYTON ARTHUR C. Tratado de fisiología médica. Ed. Interamericana cuarta edición .pp. 861, 1971.

- 28.- HAM W, A. y CORMACK H, D. Tratado de histología. 8° Ed. Interamericana. México. 1985. pp 350.
- 29.- HAY, D.E. Cell biology of intracellular matrix. 2ª Ed. Plenum, E.U.A., 1991. pp. 350.
- 30.- HESSE, I. The occurrence of elastic system fibers in the matrix of normal articular cartilage. Cell and Tissue Reserch. Vol. 248 (1987) pp. 589-593.
- 31.- HUNTINGTON SHELDON M.D. AND ROBERT A. ROBINSON.M.D. Studies on cartilage: Electron Microscope observation on normal Rabbit ear cartilage. Biophysic and biochem cytolog. Vol. 4 N° 4 ,(1985) pp. 401-413.
- 32.- ICHIMURA, T. HASHIMOTO, H.P. Three-dimensional fine structure of elastic fibers in the perivascular space of some circumventricular organs as revealed by high-voltage electron microscopy. Journal of Ultrastructure Reserch. Vol.81 (1982) pp.172-183.
- 33.- JHOHNSON-EF, CHETTY-K, MOORE IM. The distribution and arrangement of elastic fibers in the invertebral disc of the adult human. Journal Anat. 1982 N° 135 (2 pt) pp 301-309
- 34.- JUNQUEIRA, L.C. y CARNEIRO, J. Histología básica. 3ª Ed. Salvat México, 1987. pp.172-183.
- 35.- KALIANNAN RAJU AND RASID A. ANWAR. A comparative analysis of the amino acid and cDNA sequences of bovine elastin and chick elastin Biochem cell. biol. Vol.65, 1987.pp. 842-845.

- 36.- KEITH, A.D Paz, A.M. GALLOP, M.P. y GLIMCHER, J.M. Histologic and biochemical identification and characterization of an elastin in cartilage. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. Vo. 25 (1977) pp. 1154-1162.
- 37.- KREUTZ, W. The vascularization of epiglottic cartilage, a histological investigation. Anat. Anz. Vol. 148 (5) (1980) pp.428-439.
- 38.- KRSTIC, V.R. General histology of the mammal. An atlas for students of medicine and biology. 1° Ed. Spring-Verlag Berlin Heidelberg, New York-Tokyo, Alemania, 1985. pp. 134-135, 176-179.
- 39.- LEESON, S.T. LESSON, R.C. y PAPARO, A.A. Texto atlas de histología. 6° Ed. Interamericana/ Mc Graw Hill. México, 1988. pp. 159-160, 166.
- 40.- LEUTHARDT, F. Y EDLBACHER, S. Tratado de química fisiológica. 14° Ed. Aguilar, Madrid. España. 1962. pp. 731-734.
- 41.- LUNA, G.L. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3a. Ed., McGraw- Hill, E.U.A 1968. pp. 78-80.
- 42.- MANDER, K.T.S. MANDER, N.L. y CARMICHAEL, G.G. The staining mechanism of aldehyde-fuchsin , with reference to the oxytalan fibers in the mouse. The journal of histochemistry. Vol. 16 (1968) pp 480-485.
- 43.- MARK A. GIBSON, JALIYA. The protein components of the 12- nanometer microfibrils of elastic and noelastic tissue The journal of biological chemistry, Vol 264, N° 8 , 1988. pp.4590-4598

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

- 44.- **MAYA MARTINEZ CUAUHTEMOC** ( Tesis de licenciatura) Estudio histológico comparativo de las fibras elásticas del cartílago epiglótico del canideo (*Canis familiaris*), suino (*Sus scropha*) y ovino (*Ovis ovis*) doméstico.  
UNAM, FES- Cuautitlan,  
México, 1996
- 45.- **MECHAM, P.R.** Modulation of elastin synthesis: In vitro models. Methods in enzymology. Vol. 144 (1987) pp. 232-247.
- 46.- **MILROY CM. MRC. PATH. D.M.J.** Pathology in focus Ossification of the epiglottis. The journal of laryngology and otology. feb. 1992. Vol.106 , pp 180-182.
- 47.- **MOSKALEWSKI-S.** Elastic fibers formation in molayer and organ culture of chondrocytes isolated from auricular cartilage. American Journal Anat. E.U.A. 1976 ,.Nº 146 (4) pp. 443-448.
- 48.- **NAKAMURA, H. KANAI , C. Y MIZUHIRA, V.** An electron stain for elastic fibers using orcein. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. Vol. 25 (1977) pp. 306-308.
- 49.- **NIELSEN, H.E. y BYTZER, P.** High resolution scanning electron microscopy of elastic cartilage. Journal anat. Vol. 129 (1979) pp. 823-831.
- 50.- **NUSSAHAG, W.** Compendio de anatomía y fisiología de los animales domésticos. 1ª Ed. Acribia. España, 1966. pp32-34, 38-39.
- 51.- **ORTEN M. J. Y NEUHAUS W, O.** Bioquímica humana. 10ª Ed. Médica Panamericana. México, 1990. pp 343-346, 429, 431, 435 ,511.

- 52.- PEREZ TAMAYO RUY. Patología molecular, submolecular y celular.  
Editorial Prensa Médica Mexicana 1975.
- 53.- PETRUSKA, A.J. y SANDBERG, B.L. The amino acid composition of elastin  
in its soluble and insoluble state. Biochemical and Biophysical Research  
Communications. Vol. 33 (1968) pp. 222-228.
- 54.- PUCHTLER, H. MELOAN, N.S. Orcein, collastin and pseudo-elastica: a re-  
investigation of Unna's concepts. Histochemistry. Vol. 64 (1979) pp. 119-130.
- 55.- RAWN, J.D. Bioquímica. Vol. I, 1ª Ed. Interamericana/Mc Graw Hill. México.  
1989. pp.94-98.
- 56.- ROSS, R. The elastic fiber. The journal of Histochemistry and Cytochemistry.  
Vol. 21 (1973) pp199-208.
- 57.- RUBIN, E. y FALBER, L. J. Patología. 1ª Ed. Médica Panamericana.  
México, 1988. pp. 62-68.
- 58.- SCHWARZE E. Compendio de Anatomía Veterinaria, Sistema Nervioso y  
órganos de los sentidos. Tomo IV, España, 1979. pp. 166-173.
- 59.- SHIMADA K. TAKESHIGE N., MORIYAMA H., Inmunohistochemical study of  
extracellular matrices an elastic fibers in a human sternoclavicular joint.  
Okajimas folia Anatomy Japon 1997 dec. 74 (5) : 171-9.
- 60.- SODEMAN, Jr. A. W. y SODEMAN A. W. Fisiopatología Clínica. 5ª Ed.  
Interamericana. México, 1978. pp. 398-401.