



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO  
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD  
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

Tinciones aplicadas en fibras colágenas y elásticas del tejido conjuntivo humano

**Trabajo de Titulación para optar al título de Licenciado en  
Laboratorio Clínico**

**Autor:**

Guamán Coro, Julieth Mishel  
Paucar Chisaquina, Jenny Magally

**Tutor:**

Dra. Morella Lucia Guillen Ferraro. PhD.

**Riobamba, Ecuador. 2024**

## DECLARATORIA DE AUTORÍA

Nosotros, Guaman Coro Julieth Mishel, con cédula de ciudadanía 0605460922 y Paucar Chisaquina Jenny Magally con cédula de ciudadanía 1805500236, autores del trabajo de investigación titulado: Tinciones aplicadas en fibras colágenas y elásticas del tejido conjuntivo humano, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de mí exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor (a) de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 08 de mayo de 2024



Julieth Mishel Guaman Coro

C.I:0605460922



Jenny Magally Paucar Chisaquina

C.I: 1805500236

## DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR

Quien suscribe, PhD. Morella Lucia Guillen Ferraro catedrático adscrito a la Facultad de Ciencias de la Salud, por medio del presente documento certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación titulado: Tinciones aplicadas en fibras colágenas y elásticas del tejido conjuntivo humano, bajo la autoría de Guaman Coro Julieth Mishel y Paucar Chisaquina Jenny Magally; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a los días 01 del mes de mayo de 2024



---

PhD. Morella Lucia Guillen Ferraro

C.I: 175687759

## CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación Tinciones aplicadas en fibras colágenas y elásticas del tejido conjuntivo humano, presentado por Guamán Coro Julieth Mishel, con cédula de ciudadanía 0605460922 y Paucar Chisaquina Jenny Magally con cédula de ciudadanía 1805500236, bajo la tutoría de PhD. Morella Lucia Guillen Ferraro; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 28 de mayo de 2024.

Mgs. Ximena del Rocío Robalino Flores  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO**



---

Mgs. Eliana Elizabeth Martínez Durán  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO**



---

Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO**



---



# CERTIFICACIÓN

Nosotros, **GUAMAN CORO JULIETH MISHEL** con CC: **0605460922** y **PAUCAR CHISAQUINGA JENNY MAGALLY** con CC: **1805500236**, estudiante de la Carrera **NOMBRE CARRERA**, Facultad de **CIENCIAS DE LA SALUD** ; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado "**TINCIONES APLICADAS EN FIBRAS COLÁGENAS Y ELÁSTICAS DEL TEJIDO CONJUNTIVO HUMANO**", cumple con el 8 %, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio **TURNITIN**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 01 día de mayo de 2024

PhD. Morella Lucia Guillen Ferraro  
**TUTOR(A)**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo investigativo está dedicado principalmente a Dios por permitirme llegar a alcanzar esta meta. A mis padres quienes han sido el pilar fundamental durante mi trayecto universitario quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir un sueño más. A mi hermana por su cariño y apoyo incondicional, durante este proceso. A toda mi familia porque con sus consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra manera me acompañaron en mis sueños y metas.

*Guaman Coro Julieth Mishel*

La presente investigación está dedicada a Dios, por las bendiciones que recibo en cada minuto de mi vida. A mis padres, Rosa y Alejandro, que este logro sea una luz que nos guíe siempre en el camino de la superación y el progreso, a mis queridos hermanos, por su apoyo y amor incondicional, a mi querida tía, que desde el cielo siempre estuvo velando por mí y en vida me brindó todo su apoyo, a mis amigos que se han convertido en mi familia en todo este trayecto.

*Paucar Chisaquinga Jenny Magally*

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, le doy las gracias, Dios por haberme dado fuerzas y valor para culminar esta etapa de mi vida. Agradezco a la confianza y apoyo brindado por parte de mis padres, hermana y de toda mi familia. De igual manera las agradezco infinitamente a mi docente tutora por su gran dedicación, disposición y su conocimiento impartido sin egoísmo alguno A la Universidad Nacional de Chimborazo, a sus autoridades docentes, por abrir sus puertas y darme la confianza necesaria para triunfar en la vida y transmitir sabiduría para mi formación profesional.

*Guaman Coro Julieth Mishel*

Agradezco a Dios por las bendiciones constantes en mi vida. A mis padres, por su amor y apoyo incondicional en cada paso que doy. A mis queridos hermanos, por su constante aliento y complicidad. A mi universidad, por brindarme las herramientas y oportunidades para crecer académicamente. Y a mi tutor de tesis, por su guía experta y dedicación incansable en este camino hacia el conocimiento. Sin ustedes, este logro no sería posible. ¡Gracias!

*Paucar Chisaquina Jenny Magally*

## ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	12
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	17
Tejido conectivo.....	17
Estructura .....	17
Fibras.....	17
Fibras colágenas.....	17
Fibras elásticas.....	18
Colorantes.....	19
Tinciones.....	19
Métodos de tinción.....	19
Tinciones para fibras colágenas y elásticas.....	20
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	26
Tipo de Investigación.....	26
Técnicas de recolección de Datos.....	26
Población de estudio y tamaño de muestra.....	27
Método de estudio.....	27
Variables de estudio.....	27
Proceso de recolección de información.....	28
Criterios de inclusión y exclusión.....	28
Técnicas e instrumentos.....	29
Proceso de registro.....	29
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	48
BIBLIOGRAFÍA.....	49
ANEXOS.....	58

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tinciones para fibras colágenas.....	32
Tabla 2. Tinciones para fibras elásticas según varios autores. ....	39
Tabla 3. Ventajas y desventajas de las tinciones para fibras colágenas. ....	42
Tabla 4. Ventajas y desventajas de las tinciones para fibras elásticas. ....	46

## RESUMEN

El tejido conectivo es uno de los tipos de tejido fundamental del cuerpo humano, se destaca por su abundancia y diversidad. El objetivo de este trabajo fue investigar las tinciones utilizadas en Histotecnología para la observación y estudio de las fibras (colágenas, elásticas) presentes en el tejido conjuntivo humano, mediante la investigación bibliográfica en base a datos científicos del área de la salud. Este análisis adopto un enfoque descriptivo, diseño documental - no experimental, con un corte transversal retrospectivo. La población de estudio comprendió 70 artículos científicos, con una muestra de 41 resaltando los criterios de exclusión e inclusión. La búsqueda se llevó a cabo en bases de datos científicas como PubMed, ResearchGate, ScienceDirect, Taylor & Francis Online, Frontiers in Medicine, Scielo, Elsevier, Actualidad médica, Asocolderma y Odovtos. Se determinó que las tinciones especiales son las más adecuadas para el análisis detallado de las fibras. Estos incluyen los métodos tricrómicos (Masson, Mallory y Gomori), la coloración Rojo de picrosirius y la técnica de pentacromo de Movat-Russell para examinar fibras colágenas, así como las técnicas de Van Gieson-Verhoeff y orceína para observar las fibras elásticas. Mediante la evaluación y debate de los hallazgos se concluyó que el método más adecuado para la visualización del colágeno es el Rojo de picrosirius, debido a su capacidad para teñir fibras delgadas y distinguir entre el tipo I y III. Por otro lado, para fibras elásticas la técnica de Van Gieson-Verhoeff es la más utilizada, ya que es rápida y proporciona una coloración intensa.

**Palabras claves:** tinciones, tejido conectivo, coloración de fibras elásticas/colágenas.

## ABSTRACT

Connective tissue is one of the fundamental tissue types in the human body, notable for its abundance and diversity. This study aimed to investigate the staining techniques used in Histotechnology to observe and study fibers (collagen, elastic) present in human connective tissue through bibliographic research based on scientific data in the health area. This analysis adopted a descriptive approach, documentary design - non-experimental, with a retrospective cross-sectional cut. The study population comprised 70 scientific articles, with a sample 41 highlighting exclusion and inclusion criteria. The search was conducted in scientific databases such as PubMed, ResearchGate, ScienceDirect, Taylor & Francis Online, Frontiers in Medicine, Scielo, Elsevier, Actualidad médica, Asocolderma, and Odovtos. It was determined that special stains are most suitable for detailed fiber analysis. These include trichrome methods (Masson, Mallory, and Gomori), Picrosirius Red staining, and the Movat-Russell pentachrome technique for examining collagen fibers, as well as the Van Gieson-Verhoeff and Orcein techniques for observing elastic fibers. Through the evaluation and discussion of the findings, it was concluded that the most suitable method for visualizing collagen is Picrosirius Red due to its ability to stain thin fibers and distinguish between types I and III. On the other hand, the Van Gieson-Verhoeff technique is the most commonly used for elastic fibers, as it is quick and provides intense staining.

**Keywords:** stains, connective tissue, staining of elastic/collagen fibers.



Reviewed by:  
Mgs. Maria Fernanda Ponce  
**ENGLISH PROFESSOR**  
C.C. 0603818188

## **CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN**

El tejido conjuntivo o conectivo es uno de los componentes más ampliamente distribuidos en el organismo. Está constituido por su matriz extracelular, que comprende una sustancia fundamental y fibras inmersas en ella, como las elásticas, colágenas y reticulares. Se beneficia de la misma para sus funciones vitales, destacando especialmente su aptitud para resistir fuerzas de compresión. Además, muestra una notable habilidad para soportar fuerzas de tracción, lo que contribuye significativamente a su integridad estructural. Las fibras de colágeno aportan resistencia a la tracción y al soporte del tejido, mientras que las elásticas son clave en la elasticidad al tener la capacidad de estirarse para luego regresar a su longitud original <sup>1,2</sup>.

Las técnicas histotecnológicas comprenden un conjunto de procesos sistemáticos y organizados destinados a preparar los tejidos para su análisis microscópico, debido a que son incoloros y difíciles de visualizar se requiere la aplicación de colorantes. Estos procedimientos tienen como objetivo preservar su estructura, composición y resaltar las características de las células que los componen <sup>3,4</sup>.

La fase de preparación de los tejidos inicia con su fijación, deshidratación, aclaramiento y posterior incrustación en parafina líquida, seguido por la orientación del tejido y formación del bloque de parafina. Luego, se realizan los cortes de 3 a 5 micras. Finalmente, se lleva a cabo la pesca, desparafinación, seguida de la tinción y el montaje en el microscopio para su observación <sup>5,6</sup>.

En este estudio bibliográfico se persigue la identificación de las tinciones específicas más frecuentemente empleadas en la observación y discernimiento de las fibras colágenas y elásticas en el tejido conjuntivo humano, así como sus variaciones que faciliten la detección de potenciales irregularidades patológicas.

Los trastornos del tejido conectivo son condiciones extraordinariamente poco comunes en lo que es la población en general. Es importante mencionar que entre estas afecciones se encuentra el síndrome de Marfan, el cual es reconocido como uno de los más destacados. A nivel mundial, se estima que esta enfermedad tiene una prevalencia de aproximadamente el 0.15 % <sup>7</sup>.

En Asia, precisamente Hong Kong se identificó 525 pacientes con este síndrome en el año 2016, su población se situó alrededor de los 6,9 millones dando lugar a la una prevalencia de 7,6 por 100.000 personas, siendo esta menor a la que tiene china de 17,2 por 100.000 descrita por Sun y mucho inferior que la de EE. UU, de 1 por 5.000. En Taiwán en el 2014 se diagnosticaron 2,329 casos de síndrome de Marfan, con una mayoría del 58% siendo hombres. La prevalencia de este síndrome fue de aproximadamente 1 por cada 9,804 personas en la población general. Además, se notó que por edad el pico más alto era de 15 a 19 años, seguido por los rangos 10 a 14 y de 20 a 24 años <sup>8,9</sup>.

En países europeos como Dinamarca en el año 2015, se llevó a cabo una reevaluación de la frecuencia del síndrome de Marfan mediante un registro nacional y el sistema de salud, utilizando los criterios de Gante II. En este estudio se identificó un total de 412 pacientes en la población que lo padecen, lo que indica una prevalencia estimada de 6.5 por cada 100,000 individuos <sup>10</sup>.

En el artículo titulado “Síndrome de Marfan” mencionan que en investigaciones realizadas en América y considerando su población, alrededor de 1 de cada 5,000 habitantes se ve afectado por el síndrome de Marfan, con respecto a la incidencia, se ha identificado que varía entre 1 en 3,000 y 1 en 20,000 personas, aunque ahora se reconoce que al menos 1 de cada 9,800 nacimientos al año se ven afectados <sup>11</sup>.

En Canadá y Estados Unidos, alrededor de 1 de cada 3000 a 5000 individuos presenta síndrome de Marfan, abarcando tanto hombres como mujeres de diversas razas y grupos étnicos. Aproximadamente 3 de cada 4, o el 75% de las personas lo heredan de uno de sus padres, mientras que 1 de cada 4 personas la adquiere de manera espontánea, lo que indica que son los primeros en su familia en tener el síndrome <sup>12</sup>.

En, Latinoamérica en un estudio realizado en Cuba durante el 2021 se notó una incidencia del síndrome de Marfan, aproximadamente 3 casos por cada 10,000 individuos, lo que indica que es una de las más comunes dentro de la categoría conocida como Enfermedades Raras. Por otro lado, en Colombia en el mismo año, según el artículo de Alejandro Sánchez, se ha observado una baja del síndrome del 1.78% <sup>13,14</sup>.

En Ecuador durante el período comprendido entre los años 2013 y 2018, se confirmó la existencia de un solo caso de esta patología altamente infrecuente, el cual fue debidamente registrado en la región de Cotopaxi. Sin embargo, en lo que respecta a la provincia de Chimborazo, no se han encontrado registros precisos sobre esta alteración según lo reportado en fuentes confiables <sup>7</sup>.

Los agentes colorantes constituyen los elementos esenciales de las tinciones, se caracterizan por contener uno o más grupos atómicos responsables del color (cromóforos) y mostrar afinidad química hacia los sustratos coloreables (auxocromos). Hay diferentes tipos de técnicas dependiendo de la cantidad de colorantes utilizados, las simples se caracterizan porque usan uno solo mientras que las múltiples son aquellas que emplean dos o más para diferenciar estructuras o componentes específicos en una muestra <sup>15,16</sup>.

El estudio de las fibras es crucial para el análisis de su morfología celular y la detección de patrones anormales que pueden ayudar al diagnóstico de una amplia gama de afecciones, trastornos y enfermedades. Estos problemas representan un desafío significativo para los sistemas de salud en todo el mundo, ya que afectan a varios tejidos y órganos dando lugar a diversas alteraciones tanto en su estructura y función impactando negativamente en la calidad de vida de los pacientes <sup>17</sup>.

La inadecuada tinción de las fibras elásticas y colágenas del tejido conectivo constituye un desafío de gran relevancia para los patólogos en el campo de la histología. Algunas de las causas más frecuentes que contribuyen a esta dificultad incluye la aplicación de colorantes que inadecuados de acuerdo con la insolubilidad de estas estructuras, su filtración errónea, la mala calidad y la decoloración excesiva de las muestras.

Entre las principales consecuencias de no usar las tinciones adecuadas para fibras, se incluyen el precipitado de los colorantes, áreas no teñidas, tinción incompleta lo que obstaculiza su visualización con el microscopio y el resultado de la calidad del análisis, omitiendo algunas descripciones que puede dar lugar a un diagnóstico erróneo afectando de forma directa al manejo del paciente <sup>18</sup>.

El Instituto Nacional de las Cualificaciones en el 2015 ha establecido dentro de la unidad de competencia 3 de las realizaciones profesionales y criterios, menciona que se debe teñir las preparaciones para el diagnóstico rutinario y las tinciones especiales requeridas por el tipo muestra y/o la orientación diagnóstica se debe realizar siguiendo los protocolos establecidos y cumpliendo la normativa específica <sup>19</sup>.

Considerando que las técnicas de tinción han sido fundamentales durante mucho tiempo, es esencial adquirir un conocimiento completo de estos procedimientos ya que su falta de comprensión causa un efecto negativo en la histotecnología. Este trabajo muestra que una adecuada tinción es esencial para resaltar los diversos componentes y estructuras del tejido conectivo debido a que proporciona información para el diagnóstico preciso y temprano de sus alteraciones <sup>20</sup>.

Por esta razón, es importante evaluar los diferentes métodos de tinción utilizados para visualizar y analizar las fibras (colágenas, elásticas) para establecer comparaciones entre las distintas técnicas y determinar la más adecuada en términos de sensibilidad y especificidad, de manera que permita mejorar la visibilidad mediante la amplificación del contraste, aprovechando así la sensibilidad del ojo humano. Esto implica el uso de colorantes tanto para células como para orgánulos celulares, con especial atención a la búsqueda de aquellas específicas que no afecten la integridad estructural del tejido <sup>20</sup>.

Por lo expuesto anteriormente surge la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuáles son las tinciones específicas usadas para estudiar la estructura y organización de las fibras colágenas y elásticas del tejido conjuntivo humano, que permitan identificar posibles anomalías que puedan ser indicativas de una patología?

El objetivo principal propuesto es Investigar las tinciones utilizadas en Histotecnología para la observación y estudio de las fibras colágenas y elásticas presentes en el tejido conjuntivo humano, mediante la investigación bibliográfica en base a datos científicos del área de la salud. Se describe la temática en tres acápites:

- Distinguir las diversas tinciones utilizadas para destacar la estructura del tejido conjuntivo humano, que permitan facilitar la visualización e identificación de las fibras colágenas mediante una búsqueda bibliográfica.
- Demostrar mediante revisión bibliográfica, cuáles son las técnicas de tinción más eficaces para la observación detallada de las características morfológicas de las fibras elásticas.
- Analizar las diferentes técnicas de tinción aplicadas a las fibras de colágeno y elásticas, para el establecimiento de las ventajas y desventajas de cada una de ellas, mediante revisión bibliográfica.

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

### **Tejido conectivo**

Constituye uno de los cuatro tipos fundamentales de tejidos en el cuerpo, su denominación se debe a su función de conexión y mantenimiento de la cohesión entre los distintos tejidos al vincularlos entre sí, la expresión "tejido conectivo" engloba diversos tipos de tejidos presentes en todo el cuerpo, provenientes del mesodermo. Participa en diversas actividades fisiológicas del cuerpo englobando el soporte, la provisión, la alimentación, el transporte de metabolitos, el almacenamiento de sustancias y la defensa del organismo <sup>21,22</sup>.

### **Estructura**

Consta de células y una matriz extracelular que se describe como un entorno macromolecular que envuelve las células, compuesto por una diversidad extensa de proteínas, glicoproteínas y glicosaminoglicanos. Dentro de los elementos constituyentes se encuentran las fibras proteínicas (de colágeno, elásticas y reticulares) y la sustancia fundamental que adopta formas de gel o sol que envuelve las fibras para facilitar la difusión del líquido extracelular a través de ellas <sup>23</sup>.

### **Fibras**

Desempeñan una función esencial en la capacidad de resistencia a la tracción y la elasticidad del tejido, clasificándose en dos tipos: colágenas y elásticas. Las cuales exhiben diferencias en sus propiedades físicas, químicas y estructurales <sup>23</sup>.

### **Fibras colágenas**

Conocidas también como fibras blancas, compuestas por una glicoproteína dura e inelástica conocida como colágeno, representan alrededor de un tercio de todas las proteínas presentes en el cuerpo. Estas fibras se forman a partir de la organización de las moléculas de tropocolágeno, las cuales consisten en tres cadenas  $\alpha$  polipeptídicas, agrupadas en una estructura helicoidal. En base a su organización a nivel microscópico, se ha observado que estas fibras se forman por unidades más pequeñas llamadas fibrillas, compuestas por microfibrillas visibles en el microscopio electrónico, que exhiben una periodicidad axial con estriaciones transversales, la alineación de las fibrillas de colágeno y los haces de fibras está determinada por los fibroblastos a nivel de la membrana plasmática <sup>22,24</sup>.

Diferentes tipos de colágenas forman diversas fibras, como la Tipo I, abundante en tejido óseo y dermis de la piel, la Tipo II presente en la matriz cartilaginosa, la Tipo III, también conocida como fibras reticulares que se hallan en regiones donde el tejido conectivo interactúa con vasos sanguíneos y capilares, fibras musculares y nerviosas, láminas basales, así como en el retículo de órganos hematopoyéticos y el estroma de glándulas endocrinas y por último la del tipo IV, la cual crea mallas y se distingue por estar presente en las membranas o láminas basales que sirven de soporte a los epitelios <sup>21</sup>.

En los procesos de tinción, las fibras de colágeno tipo I muestran una intensa coloración con tintes ácidos, ya que existe una afinidad entre los grupos catiónicos de las proteínas y los grupos reactivos aniónicos presentes en los tintes. Para demostrar de manera más selectiva su presencia, se emplean soluciones compuestas de colorantes ácidos, como las combinaciones secuenciales: el tricrómico de Masson <sup>25</sup>.

### **Fibras elásticas**

Son estructuras muy ramificadas responsables de la elasticidad fisiológica, compuestas de elastina, glicoproteína que contiene abundantes residuos de glicina, lisina, alanina, valina, prolina y desmosina rodeada de fibrilina. Se disponen de manera variada en conformidad con el tejido, dando origen a fibras largas, delgadas y semejantes a gusanos, láminas fenestradas (como la túnica media de las arterias elásticas grandes y la lámina elástica interna de las arterias pequeñas) o haces más gruesos en la dermis y el cartílago elástico <sup>22</sup>.

En su estado fresco, las fibras elásticas presentan un matiz ligeramente amarillo, razón por la cual también se les conoce como fibras amarillas. En vasos de mayor calibre, como la aorta, forman extensas láminas, adoptan formas de cilindros o cintillas aplanadas con diámetro variable y exhiben mayor refringencia (brillo) en comparación con las fibras colágenas, lo que facilita su identificación mediante microscopio. Se destacan por ser uno de los componentes más resistentes del organismo, soportando la ebullición y la acción de ácidos y alcoholes débiles <sup>21</sup>.

## **Colorantes**

En el campo de la Histología los colorantes son compuestos que proporcionan color y lo trasladan a la estructura a la que se aplican, facilitando la identificación de detalles estructurales que son difíciles de percibir o invisibles bajo el microscopio. En función de su procedencia, se clasifican en naturales, derivadas de organismos vegetales y animales, como la orceína; y sintéticos, que son generados a partir de los naturales <sup>26,27</sup>.

Uno de los tintes más utilizados a nivel global en las coloraciones rutinarias y en algunas específicas en los laboratorios de histopatología es la hematoxilina, se clasifica como progresiva o regresiva. Dentro de sus múltiples variantes, las más reconocidas son la de Harris, Carazzi, Mayer y Weigert <sup>10,22</sup>.

## **Tinciones**

Van Leeuwenhoek ejecutó la primera coloración en 1714 al querer visualizar especímenes por medio de una solución de azafrán en vino después de este suceso surgieron diversos colorantes como el carmín y la hematoxilina. En 1863 Waldeyer incorporó la hematoxilina a las técnicas histológicas, empleándola particularmente para la coloración de fibras nerviosas <sup>28</sup>.

La tinción es el procedimiento que pone en manifiesto las diferencias anatómicas, topográficas y estructurales de los tejidos, su aplicación permite mejorar su contraste en la observación microscópica. Se fundamentan en la capacidad inherente de todos los tejidos para absorber sustancias coloreadas y en su preferencia específica por una sustancia como es el colorante <sup>26,28</sup>.

## **Métodos de tinción**

Dentro de la Histotecnología existe varios métodos de tinción; las generales se enfocan en la coloración intensa de los núcleos y la débil el citoplasma, o la marcada coloración de ambas partes con colores diferentes. Por otro lado, las especiales se emplean para examinar estructuras histológicas específicas aprovechando la tinción selectiva y casi exclusiva de ciertos colorantes en determinadas estructuras <sup>29,30</sup>.

## **Tinciones para fibras colágenas y elásticas**

En el análisis de las fibras elásticas y colágenas del tejido conectivo, se han empleado diversas técnicas de tinción, por lo que la elección depende de los objetivos de estudio, algunas de estas técnicas incluyen los métodos tricrómicos (Masson, Mallory y Gomori), Rojo de Picrosirius y Pentacromo de Movat-Russell para las fibras colágenas, así como Van Gieson-Verhoeff y la Orceína para las fibras elásticas. Algunas de las patologías que ayudan a identificar son: la fibrosis, alteraciones orales, glándulas salivales (sialadenitis y sialadenitis) lesiones cutáneas, enfermedades neuromusculares, lesiones glomerulares a nivel renal, síndrome de Marfan, arteritis entre otras <sup>17</sup>.

### **Tinción Tricrómica de Masson**

Creada en 1929 por Pierre Masson como una tinción especial destinada para la observación y diferenciación de las fibras colágenas. Se basa en la utilización de al menos dos colorantes ácidos y un poliácido, con el fin de distinguir dos componentes básicos mediante la aplicación de colores contrastantes para evidenciar la presencia de colágeno <sup>31,32</sup>.

Hace uso de tres colorantes: hematoxilina férrica de Wiegert, fucsina ácida y azul de anilina o *fast green*. La tinción nuclear se realiza con la hematoxilina férrica como la de Weigert, debido a que resiste la eliminación por ácidos, luego, se emplea el primer colorante ácido Fucsina ácida-escarlata de Biebrich, de color rojo para la tinción del citoplasma incluso eritrocitos, músculo y colágeno. En el siguiente paso se añade el poliácido, comúnmente ácido fosfomolibdico que va a desplazar la mancha de plasma del colágeno y por último, se aplica el segundo colorante ácido, el azul de anilina que va a teñir profundamente el colágeno, sin reemplazar la tinción roja de otros componentes <sup>33,34</sup>.

Su aplicación permite la distinción entre el colágeno y el músculo liso en neoplasias, en la evaluación de lesiones glomerulares a nivel renal y en biopsias médicas de hígado para la valoración del grado de fibrosis. Las soluciones de los tintes empleados se formulan con un pH reducido, generalmente entre 1,5 y 3,0, con el fin de conseguir una coloración apropiada y uniforme de las fibras del tejido conectivo <sup>31,35</sup>.

## **Limitaciones**

- Muestras tienen tendencia a perder gradualmente su coloración con el tiempo, perjudicando la capacidad de observarlas y analizarlas adecuadamente<sup>36</sup>.

## **Tinción Tricrómica de Mallory**

Procedimiento estándar desarrollado por Frank Burr Mallory en 1900 para observar las fibras de colágeno en secciones histológicas, empleando colorantes como: el ácido fucsina, naranja G y el azul de anilina, se lleva a cabo en dos etapas: en primer lugar, se colorea con fucsina ácida y luego con una solución que contiene los otros dos tintes. Se fundamenta en las diferentes afinidades químicas de los colorantes empleados con las macromoléculas tisulares presentes en la matriz extracelular del tejido conectivo<sup>37,38</sup>.

La fucsina ácida, es un tinte ácido altamente soluble en agua y poco en etanol, colorea los núcleos en tonos rojos a rosados. Por otro lado, el naranja G, un colorante fuertemente ácido con tonalidad amarillenta, se disuelve bien en agua y tiene baja solubilidad en etanol; este tinte tiñe tanto el citoplasma como el tejido conjuntivo. En cuanto el azul de anilina es un colorante soluble en agua que específicamente colorea el colágeno y el tejido conectivo, la aplicación del ácido fosfomolibdico (mordiente) antes de emplear el líquido del colorante final es esencial para facilitar su fijación<sup>39,40</sup>.

Facilita la observación detallada de una amplia gama de estructuras histológicas en el tejido conjuntivo en cortes histológicos, proporciona un buen contraste entre el músculo esquelético y las fibras de colágeno facilitando la identificación de colágeno y cartílago<sup>41,42</sup>.

## **Limitación**

- Es altamente adaptable y visualmente atractiva; es factible aplicarla en una amplia gama de órganos, sin embargo, resulta poco práctica para el bazo y los ganglios linfáticos debido a la abundancia de núcleos y linfocitos<sup>33</sup>.

## **Tinción Tricrómica de Gomori**

En 1949, Gomori fue quien ideó un método abreviado y veloz para realizar esta tinción en secciones histológicas y citológicas, misma que fue modificada por Wheatley en el año de 1951. La característica única de estas metodologías radica en la fusión de todos los tintes en una solución excepto la tinción nuclear<sup>33,43</sup>.

Los núcleos son coloreados con hematoxilina de Weigert, seguido por la aplicación la solución de un solo paso, la cual combina el cromotopo 2R para teñir el plasma y verde intenso/verde claro o azul de anilina para teñir el tejido conectivo en una solución que contiene ácido fosfomolibdico para facilitar la coloración roja del músculo y el citoplasma. Es la coloración preferida para identificar cambios histológicos en enfermedades neuromusculares y para investigar las citopatías mitocondriales relacionadas con distintas condiciones clínica<sup>44,45</sup>.

## **Limitaciones**

- Como es un método de un solo paso su eficacia depende del protocolo, siendo exitoso si todos los elementos están estandarizados<sup>46</sup>.

## **Tinción Rojo de Picrosirius**

Técnica Histoquímica desarrollada en 1968 por Constantine y Mowry, detecta fibras colágenas, incluso de las pequeñas que al unirse con la microscopia de polarización ofrece datos extra de la organización del tejido que aumenta en ciertas patologías como la arteriosclerosis, glomeruloesclerosis entre otras. Se fundamenta en las características birrefringentes del colágeno que, al combinarse con rojo sirio, es posible identificarlos mediante iluminación polarizada, donde se manifiestan como áreas brillantes en contraposición al resto del tejido que se mantiene en la oscuridad<sup>47,48</sup>.

Consiste en la fusión de dos colorantes aniónicos del rojo Sirius (PSR F3BA) diluidos en una solución saturada de ácido pícrico. PSR F3BA es un tinte aniónico que presenta una

elevada especificidad al reaccionar con aminoácidos básicos en las moléculas de colágeno, gracias a la alineación paralela de las moléculas de PSR con el eje largo de cada fibra de colágeno, este tinte amplifica la birrefringencia del colágeno al observarse bajo microscopía de luz polarizada <sup>48,49</sup>.

Es utilizada para distinguir el colágeno tipo I del colágeno tipo III en varios tejidos, como los del sistema muscular, tracto gastrointestinal, piel y miocardio, relacionando que la coloración que adquieren se basa en su espesor al igual que a la estructura de colágeno siendo clave para su distinción <sup>50,51</sup>.

### **Limitaciones**

- Muestran un color diferente bajo luz polarizada dependiendo de su grosor. El color varia de verde (fibras de nueva formación, más finas) a rojo (fibras maduras, más gruesas <sup>52</sup>.
- Si se observa con microscopía de campo brillante sin polarización, no es específico para del colágeno. En estas condiciones todos los tejidos van a aparecen de color rojo rosado <sup>52</sup>.

### **Tinción Pentacromo de Movats -Russell**

Fue descrito por primera en 1955 por Movats para destacar diversos elementos presentes en el tejido conectivo, Russell mejoro la técnica en 1972 adicionando nuevos colorantes. Recientemente se desarrollado un nuevo método que facilita la coloración al mismo tiempo de colágeno y mucopolisacáridos que se basa en respuestas o reacciones físicas que no son exclusivas de una sustancia particular. Además, también colorea los glóbulos rojos, músculos y leucocitos, utilizando tres sustancias químicas: ácido nítrico al 6%, solución de azul de toluidina y solución de picrosirius facilitando la identifica tejido conectivo mediante la aplicación de diversos colores <sup>53,54</sup>.

La solución de azul de toluidina tiñe las células y los tejidos de azul, produce un efecto particular en los mucopolisacáridos sulfatados, dándoles un tinte violeta debido a la metacromasia del tlonio. Por consiguiente, solo las estructuras que contienen estos

mucopolisacáridos, como el cartílago y ciertas glándulas, adquieren esta tonalidad violeta. En cuanto al colágeno y los glóbulos rojos, se tiñen de rojo y amarillo, respectivamente, gracias a la solución de picrosirius, que contiene rojo sirio y ácido pícrico. Por otro lado, el color verde de los linfocitos y las células plasmáticas se origina por la combinación del catión tolonio y el ácido pícrico; los músculos obtienen un tono naranja al mezclarse el color rojo del rojo de sirio con el amarillo del ácido pícrico y los citoplasmas adquieren un tono marrón claro <sup>54</sup>.

Es empleada para resaltar de manera específica y al mismo tiempo el colágeno y los mucopolisacáridos sulfatados facilitando así el estudio detallado de la matriz extracelular y otros elementos tisulares.

#### **Limitaciones:**

- No colorea gran parte de estructuras y compuestos <sup>54</sup>.
- Carece de especificidad en relación con las reacciones químicas <sup>54</sup>.

#### **Tinción Van Gieson de Verhoeff'**

Desarrollada en 1889 por Ira-Van Gieson, más tarde Frederick H. Verhoeff la modificó en 1908 como método para la coloración intensa de las fibras elásticas del tejido conectivo siendo hoy en día una de las tinciones más utilizadas para resaltar las mismas. Se fundamenta en la afinidad de la elastina hacia la combinación de hematoxilina-hierro, lo que facilita su tinción y retención frente a la decoloración. La fase de diferenciación desempeña un papel esencial en el éxito de este enfoque, y se necesita experiencia para lograr resultados uniformes, considerando su eficacia en tejidos conservados con cualquier agente fijador <sup>55,56</sup>.

Consta de dos partes: Verhoeff, que es la tinción con hierro III -hematoxilina y una solución de yodo, en donde el hierro y el yodo hacen de fijadores que ayudan a la oxidación de la hematoxilina que tiñe a la elastina y el componente de Van Gieson que es la contra tinción, que se realiza mediante el empleo de ácido pícrico y fucsina ácida para la coloración de las fibras musculares, logrando así un contraste con la tinción de hematoxilina. En esta tinción

se opta por una diferenciación, ya que el ácido pícrico empleado en la contra-tinción contribuye a una mayor distinción de las fibras elásticas <sup>57,58</sup>.

Es la más usada para determinar la presencia o ausencia de las fibras elásticas; por ejemplo, se puede emplear para demostrar la disminución y la pérdida de las mismas en los pulmones de pacientes con enfisema y con arteriosclerosis en los vasos sanguíneos <sup>56,59</sup>.

### **Limitaciones**

- Resulta considerablemente desafiante distinguir entre las fibras elásticas de calibre grueso y delgadas presentes en los vasos sanguíneos <sup>58</sup>.

### **Tinción Orceína**

Colorante perteneciente a la familia de la oxazina, descrito en 1890 por Unna para la tinción de las fibras elásticas presentes en el tejido conectivo. Esta técnica es progresiva y no requiere un proceso de diferenciación complejo, lo que la hace fácil de utilizar y preferida en varios estudios, su preparación es relativamente sencilla debido a que se emplea habitualmente en una solución alcohólica ácida <sup>60,61</sup>.

Es gran utilidad para evaluar la presencia, cantidad, disposición y posibles alteraciones de las fibras elásticas, diagnóstico de condiciones como la arteritis, identificar la presencia de aneurismas, observar los efectos de la presión y el flujo sanguíneo en arterias, arteriolas y venas gracias al contraste resultante de la diferenciación y delimitación entre las fibras <sup>62,63</sup>.

La identificación se da debido al marcado color pardo negruzco, las fibras y láminas elásticas son claramente distinguibles, mientras que los demás componentes tisulares se observan en una tonalidad verde amarillento. En venas sanas se va a visualizar un alto contenido de fibras elásticas, mientras que en las vena varicosa reflejan una concentración menor de las mismas y patrón más desorganizado <sup>64,65</sup>.

### **Limitaciones**

- Se fija selectivamente sin especificidad sobre las fibras elásticas.

## **CAPÍTULO III. METODOLOGÍA**

### **Tipo de Investigación**

- **Enfoque:** Es cualitativo ya que se analizó documentos bibliográficos obtenidos de las bases de datos científicos como: PubMed, ResearchGate, ScienceDirect, Taylor & Francis Online, Frontiers in Medicine, Scielo, Elsevier, Actualidad médica, Asocolderma, Odovtos.
- **Nivel:** Es de carácter descriptivo porque se obtuvo información relacionada con la temática, razón por la cual se hizo una búsqueda exhaustiva donde se seleccionaron y analizaron fuentes bibliográficas las cuales estaban relacionadas con las tinciones en fibras colágenas y elásticas de tejido conjuntivo humano.
- **Diseño:** Es documental- no experimental ya que no se manipulan las variables de estudio y se basa en una revisión bibliográfica de libros, manuales, atlas, artículos científicos e investigaciones publicadas en sitios web oficiales actualizadas.
- **Secuencia temporal:** Se ejecutó una investigación transversal ya que el plan de estudio está acotado en determinado tiempo y lugar.
- **Según la cronología de los hechos:** El inicio del análisis siguió los hechos ya estudiados siendo la investigación de tipo retrospectivo, el inicio de este trabajo es posterior a los hechos estudiados, basándose en los hallazgos de otros autores, en los cuales se analizó y discutió la información obtenida.

### **Técnicas de recolección de Datos**

#### **Técnicas**

Investigación documental

#### **Instrumentos**

Base de datos científicas del área de la salud

Libros, guías

Artículos de revistas científicas

## **Población de estudio y tamaño de muestra**

### **Población**

La población de estudio quedo conformada por 70 referencias bibliográficas que corresponde a artículos, libros en los que abarca información en base al tema de técnicas de tinciones para fibras colágenas y elásticas de tejido conjuntivo humano. La selección de esta información se realizó con el objetivo de obtener una amplia y representativa muestra de la literatura científica existente, a través de un proceso riguroso de búsqueda y selección. Además, se identificaron los estudios relevantes que proporcionaron información pertinente para el desarrollo de la presente investigación.

### **Muestra**

Se aplicaron criterios de inclusión y exclusión, realizando un muestreo por conveniencia ya que se tomó en cuenta la revisión bibliográfica de documentos científicos, entre ellos artículos y revistas científicas, finalmente quedó conformado por 41 artículos de las bases de datos seleccionadas como: PubMed (25), ResearchGate (4), ScienceDirect (1), Taylor & Francis Online (3), Frontiers in Medicine (1), Scielo (2), Elsevier (1), Actualidad médica (2), Asocolderma (1), Odovtos (1).

### **Método de estudio**

El método fue teórico, puesto que se trató de una investigación de revisión bibliográfica basado en la obtención de conocimientos a partir de publicaciones de artículos de investigación originales, de revisión, libros y guías, para ello se llevó a cabo el análisis y síntesis de la información obtenida.

### **Variabes de estudio**

Incluye la descripción de las fibras de colágeno y elastina presentes en el tejido conjuntivo humano, así como el uso de diferentes coloraciones para su correcto estudio que permitan el diagnóstico de diferentes patologías: tricómico de Masson, tricómico de Mallory, tricómico de Gomori, Orceína, Verhoeff -Van Gieson, Rojo de Picrosirius y Pentacromo de Movats -Russell.

## **Proceso de recolección de información**

La presente investigación comenzó con la búsqueda de información científica durante el periodo de tiempo comprendido desde noviembre de 2023 hasta marzo de 2024. Para ello se consultaron las principales fuentes y bases de datos biomédicas: PubMed, ResearchGate, ScienceDirect, Taylor & Francis Online, Frontiers in Medicine, Scielo, Elsevier, Actualidad médica, Asocolderma, Odovtos.

Se seleccionaron los artículos y documentos más relevantes publicados en los últimos 10 años todos relacionados con el tema de este estudio tinciones aplicadas en fibras colágenas y elásticas del tejido conjuntivo humano.

Los idiomas de búsqueda fueron españoles e inglés. Las palabras clave a utilizar fueron en español: tinciones, tejido conectivo, coloración de fibras elásticas/colágenas. En inglés: *stain, connective tissue, elastic/collagen fibers stain*.

Los operadores booleanos a utilizar fueron: “AND”, “OR”, “NOT” cuando la revisión fue en el idioma inglés. Cuando se realizó en español, se utilizaron| “Y”, “O” y “NO”. Se combinaron las palabras clave con los conectores para poder encontrar artículos científicos válidos para el objetivo de trabajo. Se activó el término de búsqueda médica “MeSH” (Medical Subject Headings), cuando aparecieron palabras clave que generaron confusión en el buscador.

Una vez obtenida la información, se procedió a aplicar los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

## **Criterios de inclusión y exclusión**

### **Criterios de Inclusión**

- Área temática: tinciones para fibras elásticas y colágenas del tejido conectivo
- Fechas de publicación de fuentes bibliográficas publicadas en los últimos 10 años.
- Tipos de documentos: artículos originales, de revisión, libros.

- Idiomas: español e inglés.

### **Criterios de Exclusión**

- Información científica de más de 10 años.
- Artículos que se refieren a coloraciones en otro tipo de fibras.
- Artículos que carezcan de resumen.
- Publicaciones científicas en otros idiomas diferentes al español e inglés.

### **Técnicas e instrumentos**

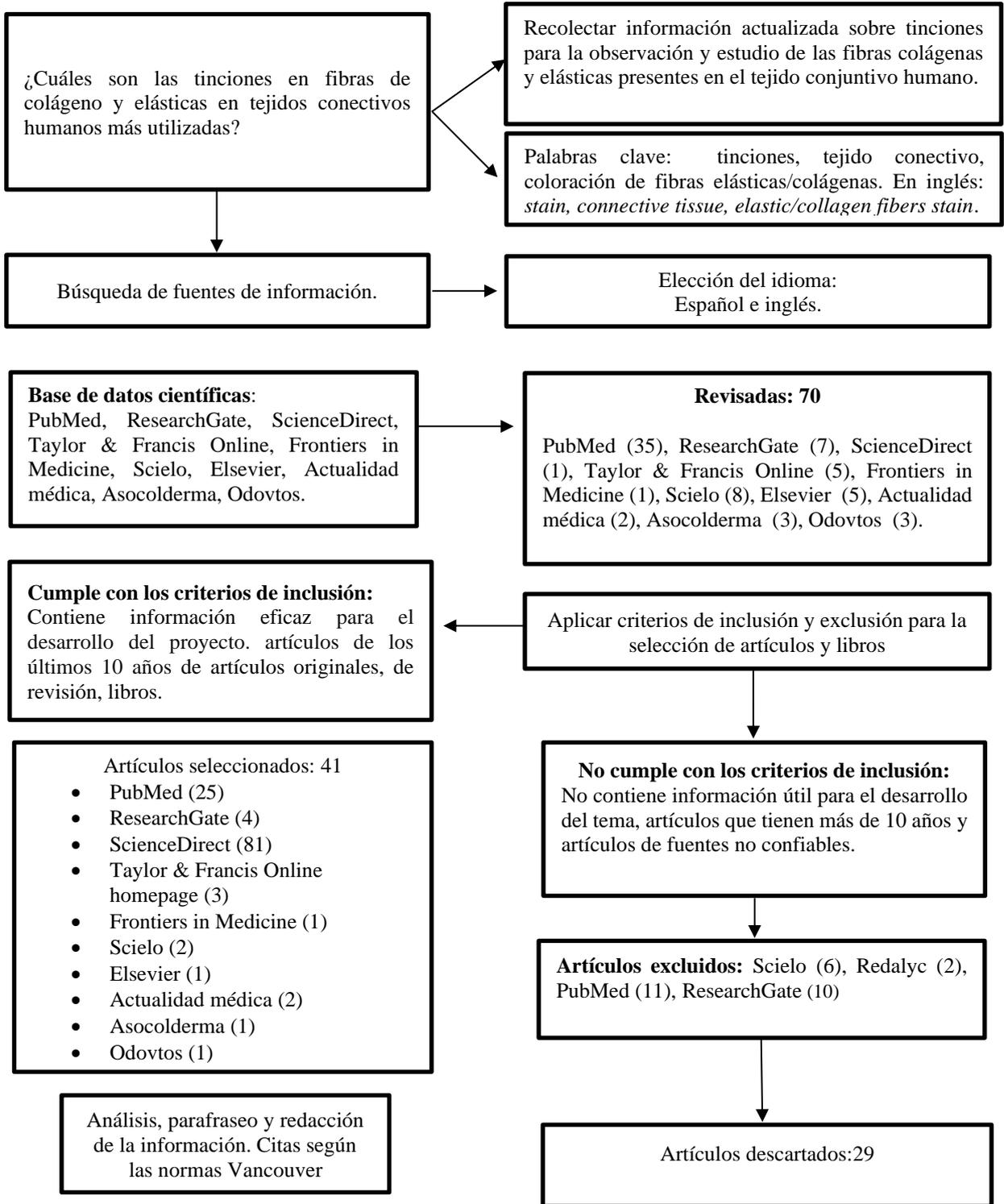
Para el presente trabajo de revisión bibliográfica la técnica que se empleó fue la observación y como instrumento la ficha nemotécnica de las diferentes tinciones empleadas en fibras elásticas y de colágeno en tejidos humanos. Los instrumentos fueron las bases de datos científicas del área de la salud, libros, monografías, guías y artículos de revistas científicas.

### **Proceso de registro**

Según la información científica encontrada se registró el número de libros, artículos y guías en el documento.

Se describió estrategias de búsqueda bibliográfica con una secuencia siguiendo el diagrama de flujo que se muestra a continuación:

**DIAGRAMA DE FLUJO PARA BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA**



Los artículos seleccionados se observan en (Anexo 12).

## **CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En este acápite se analizó la información de 70 artículos científicos seleccionados de las diferentes fuentes bibliográficas, de los cuales se eligió 41 artículos en base a los criterios de inclusión y exclusión establecidos, mismos que aportaron con información indispensable para la elaboración de las diferentes tablas.

Con el fin de determinar cuáles son las tinciones que permiten la identificación de las fibras colágenas, se ejecutó una tabla 1 en la que se obtuvo información de 28 artículos científicos en los cuales se nombra las más usadas.

Tabla 1. Tinciones para fibras colágenas.

N°	Tinción	Estructuras	Tejidos y Órganos	Resultado	Autores
1	Rojo de Picrosirius	Colágenas I: amarillo-rojo. Colágenas III: color verde.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Submucosa oral</li> <li>- Tendones</li> <li>- Glándulas salivales</li> <li>- Cartílago</li> <li>- Páncreas</li> <li>- Piel</li> </ul>	Resalta las fibras de colágeno presentes en las enfermedades orales, las glándulas salivales y los procesos cancerosos, como los que afectan al páncreas.	Sharma et al <sup>47</sup> Gupta et al <sup>66</sup> Nishat et al <sup>67</sup> López et al <sup>68</sup> Jie et al <sup>69</sup> Juengsomjit et al <sup>70</sup> Rieppo <sup>71</sup> Lattouf et al <sup>50</sup> Rittié <sup>52</sup> Drifka et al <sup>72</sup>
2	Tricrómica de Masson	Colágenas: Azul o verde. Núcleos: violeta, marrón o negro.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cavidad bucal</li> <li>- Venas</li> <li>- Piel</li> <li>- Cartílago articular</li> </ul>	Destaca específicamente el colágeno en las paredes de las venas hepáticas y en los huesos.	Otali et al <sup>73</sup> Gurina et al <sup>74</sup> Paradis et al <sup>75</sup> Widbiller et al <sup>76</sup>

		Citoplasma: rosado, tejido muscular se tiñe de rojo	-Huesos		Rieppo et al <sup>77</sup> Bodkin et al <sup>78</sup> Zhang et al <sup>79</sup> Rentsch et al <sup>80</sup>
3	Tricrómica de Mallory	Colágenas: Azul La matriz extracelular del cartílago y el hueso de color azul, citoplasmas, núcleos y músculos: tonalidades de rojo Hematíes: color amarillo.	-Submucosa oral	Excelente evaluación de las fibras de colágeno de los vasos sanguíneos en la fibrosis submucosa.	Tania et al <sup>33</sup> Reshma <sup>41</sup>
4	Tricrómico de Gomori	Colágeno: color verde oscuro-celeste. Musculo de una tonalidad roja, el citoplasma de rosado, y los núcleos de un color negro.	-Piel	Revela de manera sobresaliente las fibras de colágeno en los filamentos que emergen de la epidermis.	Patki et al <sup>45</sup> Rosero et al <sup>81</sup>
5	Pentacromo de Movats-Russell	Colágeno: rojo Glóbulos rojos: Amarillo	-Intestino -Hueso	Enfatiza especialmente el colágeno en huesos, cartílagos y	Doello <sup>54</sup> Balancín y cols <sup>82</sup>

		Músculos: color naranja Núcleos: verdoso. Mucopolisacaridos: violeta.		tejidos blandos en colores variados, proporcionando detalles en fracturas.	Schell <sup>83</sup> Yu <sup>84</sup>
--	--	--	--	--	--

En la tabla 1 hace referencia de las tinciones de fibras colágenas del tejido conectivo humano, resaltando las tonalidades que se va a adquirir de acuerdo con la técnica usada. El Rojo de picrosirius es la más usada con un 38,46 % dando lugar a una coloración amarillo- rojo al colágeno tipo I y de verde el tipo III, seguida de los métodos tricrómicos: la de Masson con 30,76 %, Pentacromo de Movats-Russell 15,38 %, Mallory con un 7,69 % y la de Gomori con un 7,69 %.

Rittie <sup>52</sup> en su estudio titulado "*Method for Picrosirius Red-Polarization Detection of Collagen Fibers in Tissue Sections*", señala que hay una amplia gama de métodos histológicos disponibles para resaltar estas fibras. Dentro de las técnicas más frecuentemente empleadas se incluyen las tinciones tricrómicas, Herovici o rojo Sirius, siendo esta última más específica que las demás. De manera similar López et al <sup>68</sup>, sostiene que la tinción de rojo Sirius se considera estándar para la identificación y cuantificación de fibras de colágeno en secciones histológicas de tejidos tanto normales como anormales. Esto se atribuye al carácter hidrófilo del tinte utilizado, que contiene grupos de ácido sulfónico capaces de interactuar con los grupos básicos presentes en la molécula de colágeno.

En estudios relacionados de la mucosa oral 3 investigaciones realizadas por Sharma et al <sup>47</sup>, Nishat et <sup>67</sup> y Gupta, et al <sup>60</sup> consideran al rojo de picrosirius como la tinción ideal para el estudio de la fibrosis subcutánea oral y en diversas condiciones patológicas orales debido a la variación gradual en los tonos de polarización de las fibras de colágeno gruesas en la displasia epitelial leve, moderada y grave, presente en el tejido epitelial de la fibrosis submucosa oral.

El tinte rojo de picrosirius se emplea en el análisis de las estructuras de colágeno presentes en los tejidos conectivos. Lattouf et al <sup>50</sup> y Rittié <sup>52</sup> argumentan que su uso se centra en la dermis de pacientes con Ehlers-Danlos tipo IV. Para Drifka et al <sup>72</sup> este tinte es fundamental para comprender las alteraciones del colágeno en el cáncer y otras condiciones relacionadas con la fibrosis, ya que el colágeno estromal tiende a mostrar una longitud y alineación más

pronunciadas en el estroma que rodea los conductos malignos en comparación con los conductos pancreáticos normales.

El colágeno juega un rol crucial en la organización estructural de los tendones, el rojo de picrosirius es el método estándar para su análisis en vista de que la microscopía de luz polarizada ofrece datos adicionales sobre las fibras de colágeno, incluyendo su disposición, variedad y distribución en el espacio, aspectos esenciales para una evaluación completa de los cambios en el colágeno dentro del tendón así lo mencionan López, et al <sup>68</sup> y Jie, et al <sup>69</sup>. En otros estudios Juengsomjit et al <sup>70</sup>, examinó su aplicación para evidenciar la maduración del colágeno en las modificaciones de la matriz extracelular en enfermedades de las glándulas salivales y Rieppo <sup>71</sup> para calcular la concentración de colágeno en el cartílago articular.

Gurina et al <sup>74</sup> señala que, aunque la de hematoxilina-eosina es la coloración de rutina para la caracterización y descripción de los métodos patológicos de casi la mayoría de los laboratorios de histopatología del mundo, los métodos especiales son los más recomendables para el análisis específico de las fibras colágenas, siendo el favorito el de Masson que permite la diferenciación de las abundantes estructuras tisulares porque facilita la cuantificación del depósito de colágeno.

Bodkin et al <sup>78</sup> sustentan que las tricrómicas son las más empleadas para la coloración de estas fibras debido a que atraen la vista de los patólogos gracias a los resultados multicolores que representan en el microscopio. Otali et al <sup>73</sup> favorece esta opinión, resaltando que esto se da por la utilización de varios colorantes como en el método de Masson y el de Mallory que tienen varios pasos en común pero que básicamente difieren en los tintes de plasma y fibra utilizados, aunque el tinte nuclear también puede ser diferente.

Los métodos tricrómicos resaltan la presencia de la matriz extracelular en los tractos de portal y las paredes de las venas hepáticas más grandes; de esta manera, subrayan de manera efectiva la distribución de la fibrosis, según lo señalado por Paradis et al <sup>75</sup>. Por otro lado, en relación con el cartílago Rieppo et al <sup>77</sup> sostiene que Masson resulta más eficiente para

evaluar su contenido de colágeno. Destaca la importancia de realizar una eliminación enzimática de los proteoglicanos antes de la tinción para mejorar su visualización en el cartílago profundo, el color azul indica la presencia de hueso regenerado, mientras que el rojo indica hueso maduro. En el caso del tejido cutáneo, se usa para examinar diferencias morfológicas entre áreas inflamadas y lesiones activas, en comparación con áreas no afectadas, este análisis fue mencionado por Bodkin et al <sup>78</sup>.

En la cavidad bucal Widbiller et al <sup>76</sup> destaca que la histología dental se visualiza de manera óptima mediante el método de Masson que revela la textura fibrosa de la matriz extracelular de la pulpa y sus elementos celulares. Sin embargo, Reshma <sup>41</sup> presenta disconformidad con lo mencionado anteriormente, ya que al comparar los distintos métodos tricrómicos para evaluar la fibrosis en la submucosa oral, la tinción de Mallory es más eficaz para detectar alteraciones subepiteliales. Además, sugiere que debe emplearse junto con la tinción de hematoxilina y eosina como complemento único para evaluar tanto el patrón de queratinización en el epitelio como los cambios en el tejido.

Cabe señalar que la popularidad perdurable de las tinciones tricrómicas desde su introducción hasta la actualidad se ha mantenido gracias a su capacidad para diferenciar distintos elementos celulares y matrices extracelulares con una alta resolución. Roser et al <sup>81</sup> referencia que el intento por hacer más sencilla estas técnicas se realizó la combinación de varios tintes y el mordiente en una única solución denominada como Gomori el cual combina varios pasos un solo paso a diferencia de las otras técnicas.

Doello <sup>54</sup> expone que existe otras alternativas de tinción para las fibras de colágeno como la reciente modificación de Movats-pentacromo que implica el uso de solo tres reactivos para la coloración de los cinco elementos fundamentales: colágeno, mucopolisacáridos sulfatados, glóbulos rojos, músculos y leucocitos. Que a pesar de ser una adaptación del antiguo método de Movats, el cual no era específico para el colágeno debido a la diversidad de colorantes utilizados como lo señala Balancín y cols <sup>82</sup>, su nueva modificación podría ser considerada como un método histológico básico.

Doello <sup>54</sup>, recomienda el uso del método pentacrómico en muestras de intestino, epiglotis y glándulas salivales, ya que proporciona una imagen clara de los tejidos de múltiples capas como el intestino, mientras que Schell <sup>83</sup>, recalca su aplicación para evaluar la curación ósea en hematomas por el contraste distinto y colorido que resulta entre los diferentes tipos de tejidos.

Según el estudio sobre Muestras Óseas Descalcificadas realizado por Yu et al <sup>84</sup> afirma que el protocolo de coloración de Movats es ampliamente reconocido como el método clásico para teñir hueso, cartílago y otros tejidos blandos con diversos colores, lo que permite una visualización más detallada de las estructuras celulares, particularmente en los condrocitos hipertróficos.

Con el fin de determinar cuáles son las tinciones que permiten la identificación de las fibras elásticas, se elaboró la tabla 2 en la que se obtuvo información de 14 artículos científicos en los cuales se nombra las más relevante.

Tabla 2. Tinciones para fibras elásticas según varios autores.

N°	Tinción	Estructuras	Tejidos y Órganos	Resultado	Autores
1	Tinción de van Gieson-Verhoeff	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fibras Elásticas: Azul a negro</li> <li>-Núcleos: azul a negro</li> <li>-Elementos citoplasmáticos: amarillo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dermis media</li> <li>- Piel</li> </ul>	Evidencia mejor la elastina de la fragmentación de la trama en la piel.	Piccinin et al <sup>58</sup> Percival et al <sup>55</sup> Petrovic et al <sup>53</sup> Halabi et al <sup>57</sup> Saponaro et al <sup>85</sup> Boza et al <sup>86</sup>
2	Tinción de orceína	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Fibras Elásticas: Pardo negruzco</li> <li>-Citoplasma: verde amarillento.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Venas</li> <li>- Arterias</li> </ul>	Muestra mayor concentración de fibras elásticas en venas saludables e identifica su presencia en arterias.	Barcat <sup>64</sup> Ayyanar, et al <sup>87</sup> Henwood <sup>60</sup> Silva et al <sup>88</sup> Robles <sup>89</sup> Herrera et al <sup>65</sup>

En la tabla 2 se mencionan las diferentes técnicas de tinción utilizadas para visualizar las fibras elásticas en el tejido conectivo humano, destacando las variaciones de color que se pueden obtener según el método empleado. La técnica de Van Gieson-Verhoeff es la más comúnmente utilizada, representando el 70% del total, seguida por el método de Orceína con un 30%.

De acuerdo con la investigación de Piccinin, et al <sup>58</sup> la tinción de Verhoeff-Van Gieson destaca como una de las más empleadas para visualizar fibras elásticas. En esta técnica, se prefiere una subdiferenciación, ya que el ácido pícrico utilizado en la contra-tinción de Van Gieson ayuda a distinguir aún más estas mismas. Después de la tinción de Verhoeff, las fibras elásticas se presentan como gruesas y globulares, creando una apariencia similar a un "collar de perlas" con bordes dentados. En el caso de trastornos hereditarios y adquiridos del tejido elástico cutáneo, la evaluación inicial se realiza frecuentemente mediante biopsias de piel, donde se aplica la coloración para facilitar la observación de las fibras.

Percival et al <sup>55</sup> respaldan esta afirmación considerando que, entre las múltiples técnicas de tinción disponibles, Verhoeff-Van Gieson es muy considerada para demostrar fibras elásticas en condiciones patológicas como las lesiones tempranas de estenosis valvular aórtica degenerativa, fibrosis de la íntima y aterosclerosis aórtica.

Según Saponaro et al <sup>85</sup>, en el año 2014, se realizó una biopsia de la piel de la fosa antecubital izquierda, y el estudio histopatológico utilizando la técnica de Verhoeff-Van Gieson reveló la presencia de fibras elásticas fragmentadas en la dermis media. Esto sugiere que esta técnica fue crucial para identificar y analizar la elastosis en la muestra de tejido cutáneo. Por otro lado, Boza et al <sup>86</sup>, valida lo antes mencionado de que este método es especialmente útil para observar y cuantificar la elastina presente en las lesiones de queratosis actínica. Respaldando así la utilidad y relevancia de esta técnica en el diagnóstico y estudio de enfermedades cutáneas, especialmente aquellas relacionadas con la degeneración elástica de la piel.

Silva et al <sup>88</sup>; señala que la orceína es utilizada para observar fibras elásticas. Por otro lado, Barcat<sup>64</sup> en su investigación, hace referencia a las contribuciones de Paul Unna y Paul Tänzer, quienes introdujeron el uso de la orceína para teñir estos tipos de fibras en 1890. Además, destaca que existen, otras técnicas desarrolladas posteriormente como la Weigert y Verhoeff, que también tiñen estas fibras con colores distintos.

Herrera <sup>65</sup> señala que, al emplear tinciones de orceína en muestras de venas varicosas, se observa una concentración reducida de fibras elásticas en la pared de la vena en comparación con las muestras de venas sanas. Este hallazgo sugiere una posible asociación entre la disminución de fibras elásticas y la patología de las venas varicosas. Por otro lado, Robles et al <sup>89</sup> detalla el procedimiento de tinción de la orceína que se usa para detectar la presencia de fibras elásticas en la arteria, el cual implica el uso de una solución de orceína al 1% en alcohol absoluto y picrocarmín de índigo.

En la tabla 3 y 4 se hace referencia acerca de las distintas técnicas de tinciones para el tejido conectivo, haciendo énfasis en sus ventajas y desventajas para la visualización de las fibras colágenas y elásticas.

Tabla 3. Ventajas y desventajas de las tinciones para fibras colágenas.

N°	Tinción	Ventajas	Desventajas	Autores
1	Rojo de Picrosirius	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Distinguir colágeno tipo I y tipo III</li> <li>-Más específica</li> <li>-Tiñe fibras delgadas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Difícil de interpretar para los biólogos que no están familiarizados con los conceptos físicos de la birrefringencia y su detección.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sharma et al <sup>47</sup></li> <li>Rittié <sup>52</sup>.</li> <li>Juengsomjit et al <sup>70</sup></li> <li>Lattouf et al <sup>50</sup></li> <li>Barros et al <sup>90</sup></li> <li>Gupta et al <sup>66</sup></li> </ul>
2	Tricrómica de Masson	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Diferenciar simultáneamente numerosas estructuras tisulares mediante tres coloraciones.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Carecen de selectividad precisa.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cruz y cols <sup>32</sup></li> <li>Otali D et al <sup>73</sup></li> <li>Gurina et al <sup>74</sup></li> <li>Viola et al <sup>91</sup></li> <li>Bodkin et al <sup>78</sup></li> </ul>

3	Tricrómica de Mallory	-Resultados multicolores en las muestras de tejido.	-No revelan fibras delgadas (tipo III).	Veuthey et al <sup>33</sup> Reshma <sup>41</sup>
4	Tricrómica de Gomori	-Técnica de un solo paso.	-Reestandarización de todo el procedimiento.	Patki et al <sup>45</sup> Rosero et al <sup>81</sup>
5	Tinción de Pentacromo de Movats-Russell	-Simple y rápido.	- No son específicos para una estructura específica.	Balancín y cols <sup>82</sup> Doello <sup>54</sup>

## **Discusión:**

En la tabla 3 se hace referencia de las ventajas y desventajas de las diferentes técnicas de tinción para fibras colágenas en base a la opinión de varios de autores.

Sharma et al <sup>47</sup> menciona que la tinción Rojo de Picrosirius es la más adecuada para la coloración de las fibras colágenas, teniendo como ventaja que el colorante que usa reacciona directamente con la molécula de colágeno permitiendo así la coloración de los diferentes tipos de fibras en diferentes tonalidades incluso hasta de las más delgadas (tipo III), lo cual no es posible con las otras técnicas. Los tricómicos carecen de selectividad porque que tiñen de un solo color todas las fibras colágenas no en base a su tipo y en ocasiones las más finas no se colorean. Al igual que Juengsomjit et al <sup>70</sup> que manifiesta que es de gran importancia la coloración de las fibras más finas para poder determinar sus alteraciones en cuanto a su disposición.

Sin embargo Lattouf et al <sup>50</sup> y Barros et al <sup>90</sup> en su estudio recalca que la técnica de rojo de picrosirius se realiza en base a la relación que tienen el colorante con la birrefringencia del colágeno bajo microscopía de luz polarizada y no todos abordan esos temas lo que dificulta su observación, por lo cual Veuthey et al <sup>33</sup> recomienda los métodos tricrómicos para la coloración de las fibras debido a su fácil interpretación por la amplia gama de colores que se dan por el uso de tres colorantes que ponen en manifiesto varias estructura y el colágeno facilitando así su diferenciación, pero se debe tener en cuenta que no son específicas.

Patki et al <sup>45</sup> cita que Gomori se caracteriza por combinar todos los tintes en una solución, lo que permite teñir tanto el plasma como las fibras al mismo tiempo. La tinción nuclear al no estar incluida en la solución debe ser aplicada de manera independiente. Sin embargo, al incorporar todos los reactivos simultáneamente, es crucial vigilar de manera rigurosa diversos factores para lograr una tinción satisfactoria. Por ende, aunque los procedimientos que involucran varios pasos generalmente son más flexibles ante cambios pequeños, cualquier ajuste en un método de un solo paso demanda una reestandarización completa del procedimiento.

Doello <sup>54</sup> menciona que existe un método nuevo acerca de la tinción pentacrómica de movats en la cual hace énfasis por ser más simple y rápido en comparación con la técnica tradicional que conocemos pero que no está enfocada a la coloración de una estructura específica.

Tabla 4. Ventajas y desventajas de las tinciones para fibras elásticas.

N°	Tinción	Ventajas	Desventajas	Autores
1	Tinción de Van Gieson-Verhoeff	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rápida y coloración intensa.</li> <li>-Coloración de fibras en condiciones patológicas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Difícil diferenciación de las fibras elásticas gruesas y finas de los vasos sanguíneos</li> </ul>	<p>Piccinin et al <sup>58</sup>                      Percival et al <sup>55</sup>                      Halabi et al <sup>57</sup>                      Radi, et al <sup>92</sup></p>
2	Tinción de Orceína	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Económica y sencilla.</li> <li>-Permite la visualización en venas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Fijadores no ópticos en la orceína.</li> </ul>	<p>Barcat <sup>64</sup>                      Herrera et al <sup>65</sup></p>

**Discusión:**

En la tabla 4 se hace referencia de las ventajas y desventajas de las diferentes técnicas de tinción para fibras colágenas y elásticas en base a la opinión de varios de autores.

Piccinin et al <sup>58</sup> y Halabi et al <sup>57</sup> mencionan que la elastina muestra una afinidad notable por el complejo hematoxilina-hierro, lo que resulta en una retención prolongada de la tinción Van Gieson-Verhoeff en comparación con otros componentes tisulares después del proceso de decoloración. Esto facilita la coloración rápida e intensa de las fibras elásticas incluso en condiciones patológicas. Sin embargo, a pesar de su facilidad de realización, diferenciar entre las fibras gruesas y finas de los vasos sanguíneos sigue siendo notablemente difícil.

De acuerdo con Henwood <sup>60</sup>, en contraste con otras metodologías, la solución de orceína se destaca por su simplicidad en el proceso de preparación y la ausencia de necesidad de diferenciación, lo que la hace altamente conveniente en varios estudios científicos debido a su facilidad de uso y preferencia. En cambio, Barcat <sup>64</sup> manifiesta que se le puede dar otro uso la orceína misma que ha sido utilizada en varias aplicaciones, incluyendo la elaboración del tornasol, en farmacias y en técnicas histológicas.

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La coloración Rojo de Picrosirius sobresale como la más utilizada para el análisis de las alteraciones en el colágeno, como en casos de fibrosis, enfermedades orales y lesiones en la piel, ya que permite distinguir los diferentes tipos. Por otro lado, la tinción tricrómica de Masson es útil para evaluar el grado de fibrosis, mientras que la de Mallory ayuda a diferenciar entre colágeno, cartílago y hueso. La coloración de Gomori se emplea para analizar enfermedades neuromusculares. Por último, la técnica menos frecuente en la observación de anomalías del colágeno es la del pentacromo de Movats-Russell.
- La técnica de Verhoeff-Van Gieson, es ampliamente utilizada para resaltar las fibras elásticas en el tejido conectivo basándose en la afinidad de la elastina hacia la combinación de hematoxilina-hierro, lo que facilita su tinción y retención; por lo cual es esencial para diagnosticar su presencia o ausencia en diversos tejidos.
- La coloración Rojo de Picrosirius es beneficiosa para identificar el colágeno y diferenciar entre los tipos I y III, mejorando la especificidad de la técnica, aunque su interpretación puede ser complicada para quienes no están familiarizados con la birrefringencia. Los métodos tricrómicos y la técnica de pentacromo de Movats-Russell ofrecen resultados multicolores en muestras de tejido, pero carecen de una selectividad precisa. En cuanto a la tinción de fibras elásticas, la técnica de Van Gieson-Verhoeff proporciona una intensa coloración que facilita su detección, aunque es difícil distinguir entre las fibras gruesas y delgadas en los vasos sanguíneos. Algunos investigadores prefieren la sencillez de la técnica de la orceína, a pesar de que puede mostrar una visualización irregular de las mismas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. H.Ross, Michael. HISTOLOGIA (texto y atlas) [Internet]. 7ma edicion. 2015 [citado 29 de febrero de 2024]. 169 p. Disponible en: <https://www.udocz.com/apuntes/62106/ross-histologia-7-edicion-texto-y-atlas>
2. Saavedra J. Texto Atlas de Histología. Biología celular y tisular. 2 edición. 2016.
3. Fortoul Van Der Goes TI. HISTOLOGIA Y BIOLOGIA CELULAR. 3 edición. 2017. 404 p.
4. González C. HISTOLOGÍA [Internet]. IPP, Red illumno Libro de texto de ciencias en Microbiología. 2015. 82 p. Disponible en: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/85/LIBRO\\_TEXTO\\_IPP\\_HISTOLOGIA.pdf](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/85/LIBRO_TEXTO_IPP_HISTOLOGIA.pdf)
5. Mejía Verdial DA, Paredes Moreno FA, Licona Rivera TS, Salinas Gómez LR. HISTOLOGÍA: DESDE SU ORIGEN HASTA LA ACTUALIDAD. Rev Científica Esc Univ Las Cienc Salud. 2019;3(1):47-57.
6. Lowe S. Histología Humana. 2020.
7. Viteri J, Carrasco AM, Jácome M, Vaca G, Tubón I, Rodríguez V, et al. Enfermedades huérfanas. 15 de julio de 2020 [citado 29 de febrero de 2024]; Disponible en: [https://www.revistaavft.com/images/revistas/2020/avft\\_5\\_2020/18\\_enfermedades.pdf](https://www.revistaavft.com/images/revistas/2020/avft_5_2020/18_enfermedades.pdf)
8. Chan YC, Ting CW, Ho P, Poon JT, Cheung GC, Cheng SW. Revisión epidemiológica durante 10 años de los pacientes hospitalizados con síndrome de Marfan. An Cir Vasc. 2016;22(5):659-64.
9. Chiu HH, Wu MH, Chen HC, Kao FY, Huang SK. Epidemiological Profile of Marfan Syndrome in a General Population: A National Database Study. Mayo Clin Proc. 1 de enero de 2014;89(1):34-42.
10. Groth KA, Hove H, Kyhl K, Folkestad L, Gaustadnes M, Vejlstrup N, et al. Prevalence, incidence, and age at diagnosis in Marfan Syndrome. Orphanet J Rare Dis. 2 de diciembre de 2015;10:153.
11. Valderrama Zurián FJ, Martín Gutiérrez V, Sorlí JV, Mingarro Castillo M, Ejarque Doménech I, Ortiz Uriarte R, et al. Síndrome de Marfan. Aten Primaria. 2019;41(5):281-4.

12. Genetic Aortic Disorders Association Canada [Internet]. [citado 29 de abril de 2024]. Marfan Syndrome. Disponible en: <https://www.gadacanada.ca/marfan-syndrome#:~:text=1%20in%203%2C000%2D5%2C000%20people,United%20States%20have%20Marfan%20syndrome.>
13. Barzaga ÁAG, García AS, Hernández MSC. INCIDENCIA DEL SÍNDROME DE MARFÁN EN PACIENTES DE EDADES PEDIÁTRICAS. Disponible en: <https://cibamanz2021.sld.cu/index.php/cibamanz/cibamanz2021/paper/viewFile/758/495>
14. Velandia-Sánchez A, Álvarez-Martínez JV, Polania-Sandoval C, Gómez-Galán S, Sanabria-Arévalo LM, Florez-Amaya P, et al. Surgical Interventions and Follow-up for Marfan Syndrome Aortic Disease: A Latin American Center Experience. *J Vasc Surg.* junio de 2023;77(6):e165-7.
15. Silvia Leticia Verdín Terán, Leticia Moreno Fierros, Norma Rebeca Rojo Botello. *Histologia e Inmunohistoquímica* [Internet]. Vol. 89. 2013. 411-423 p. Disponible en: <https://antares.iztacala.unam.mx/papime/wp-content/uploads/2014/10/Histologia1.pdf>
16. Meg, Manuel. *Técnicas histológicas TINCION* [Internet]. 2018. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tecnicas-tincion.pdf>
17. Alberto, Luis, Narváez, Poalasin, Noemí, Sonia. *Enfermedades del tejido conectivo y sus cambios morfoestructurales.* 2018;20. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6731208>
18. Chontal, Abdiel Buelna, Loyd, Dayna R, Wang, Xioaya. *Recomendaciones para el mejoramiento de la calidad en los servicios de Anatomía Patológica* [Internet]. Vol. 89. 2014. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2022-11/2022-11-recomendaciones-mejoramiento-calidad-servicios-anatomia-patologica.pdf>
19. Instituto Nacional de Cualificaciones. *Histologia y citología Competencia general Unidades de competencia Entorno Profesional Ámbito Profesional* [Internet]. 2015. Disponible en: [https://incual.educacion.gob.es/documents/20195/94271/SAN125\\_3\\_RV+-+Q\\_Documento+publicado/68e25aff-b086-4641-b296-9072c41a3667](https://incual.educacion.gob.es/documents/20195/94271/SAN125_3_RV+-+Q_Documento+publicado/68e25aff-b086-4641-b296-9072c41a3667)
20. Alturkistani HA, Tashkandi FM, Mohammedsaleh ZM. *Histological Stains: A Literature Review and Case Study.* *Glob J Health Sci.* 2016;8(3):72-9.
21. Iverson BL, Dervan PB. *Morfofisiología* [Internet]. 2015. Disponible en: [https://aulavirtual.sld.cu/pluginfile.php/110594/mod\\_resource/content/1/MF\\_completo\\_parte1.pdf](https://aulavirtual.sld.cu/pluginfile.php/110594/mod_resource/content/1/MF_completo_parte1.pdf)

22. Gustavo Egea , Francesc Jiménez-Altayó ,. Connective Tissue. :2023.
23. Kamrani P, Marston G, Arbor TC, Jan A. Anatomy, Connective Tissue. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [citado 29 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538534/#:~:text=Connective%20tissue%20is%20composed%20primarily,fluid%20connective%20tissues%20without%20fiber.>
24. Ross MH, Pawlina W. Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular [Internet]. Ed. Médica Panamericana; 2007. 998 p. Disponible en: <https://www.google.com.ec/books/edition/Histolog%C3%ADa/NxYmIRZQi2oC?hl=es&gbpv=1&dq=tejido+conectivo+fibras&pg=PA165&printsec=frontcover>
25. John D Bancroft. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques [Internet]. 2016. Disponible en: <https://knustmeltsa.files.wordpress.com/2020/08/bancrofts-theory-and-practice-of-histological-techniques-7th-edition-0702042269autosaved1.pdf>
26. [https://portal.cuautitlan.unam.mx/manuales/Manual\\_Colorantes.pdf](https://portal.cuautitlan.unam.mx/manuales/Manual_Colorantes.pdf). Colorantes para laboratorios de ciencias basicas. 2018;1-142. Disponible en: [https://portal.cuautitlan.unam.mx/manuales/Manual\\_Colorantes.pdf](https://portal.cuautitlan.unam.mx/manuales/Manual_Colorantes.pdf)
27. MARCANO D. Introducción a la Química de los Colorantes [Internet]. Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales. 2018. 254 p. Disponible en: <http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/19390/1/colorantes%20listo%20%2Bisbn.pdf>
28. Torres ML, Rumbaut GIP, Mesa Z. COLORANTES MÁS USADOS EN EL ESTUDIO DE ESTRUCTURAS TISULARES. 2021; Disponible en: <https://cibamanz2021.sld.cu/index.php/cibamanz/cibamanz2021/paper/viewFile/465/345>
29. Cruz M. Manual de Técnicas Histológicas. 1988.
30. Cediell JF, Cárdenas MH, García A. Manual de histología: Tejidos fundamentales [Internet]. Universidad del Rosario; 2009. 370 p. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=ca2kuO4iwM0C&pg=PA40&dq=tinciones+e#v=onepage&q=tinciones%20e&f=false>
31. Kumar G. Special Stains and H & E Second Edition [Internet]. 2010. Disponible en: [https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/08066\\_special\\_stains\\_eduguide.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/08066_special_stains_eduguide.pdf)
32. Cruz NR. APLICACIÓN DE COLORACIONES ESPECIALES EN EL DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO: TINCIÓN TRICRÓMICA DE MASSON. FAVE

- Sección Cienc Vet [Internet]. 6 de diciembre de 2021 [citado 29 de febrero de 2024];19(suplemento). Disponible en: <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/publicaciones/index.php/FAVEveterinaria/article/view/10932/14950>
33. Veuthey T, Herrera G, Dodero VI. Dyes and stains: from molecular structure to histological application. *Front Biosci Landmark Ed.* 1 de enero de 2014;19(1):91-112.
34. Brusco HA, Costa J JL, Loidl CF. *Histología Medico-Práctica* [Internet]. 2014. Disponible en: <https://aprobemosjuntos.files.wordpress.com/2018/03/histo-brusco.pdf>
35. Panreac Química S.L.U. TINCIÓN TRICRÓMICA DE MASSON (CON AZUL DE ANILINA) [Internet]. 2017. Disponible en: [https://www.itwreagents.com/download\\_file/ce\\_ivd\\_instructions/CEIVD18/es/CEI](https://www.itwreagents.com/download_file/ce_ivd_instructions/CEIVD18/es/CEI)
36. Menesas G. PICROSIRIUS RED AND MASSON'S TRICHROME STAINING TECHNIQUES AS TOOLS FOR DETECTION OF COLLAGEN FIBERS IN THE SKIN OF DOGS WITH ENDOCRINE DERMATOPATHOLOGIES PICROSIRIUS RED AND MASSON'S TRICHROME STAINING TECHNIQUES AS TOOLS FOR DETECTION OF COLLAGEN FIBERS IN THE SKIN OF DOGS WITH ENDOCRINE DERMATOPATHOLOGIES. 2019 [citado 10 de marzo de 2024]; Disponible en: <https://www.scielo.br/j/cab/a/hddS6rx46HSgT8Zn9v9Xd7H/#>
37. H. J. conn. *Biological stains; a handbook on the nature and uses of the dyes* [Internet]. Biological Stain Commission. 1997. Disponible en: <https://ia601305.us.archive.org/35/items/biologicalstains1953conn/biologicalstains1953conn.pdf>
38. Roma S, Pérez, F. EL DESAFIANTE DERROTERO DE LA HISTOLOGÍA MÉDICA. *Rev Medica Rosario* [Internet]. 2020; Disponible en: <https://www.revistamedicaderosario.org/index.php/rm/article/download/145/225>
39. Castro S. *Histoquímica Especial* [Internet]. 2017. Disponible en: [https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/3258/1/DO\\_FCS\\_507\\_GL\\_A0082\\_2017.pdf](https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/3258/1/DO_FCS_507_GL_A0082_2017.pdf)
40. Wulff S. *Special Stains* [Internet]. Colorado; 2004. Disponible en: [https://biomedizin.unibas.ch/fileadmin/user\\_upload/biomedizin/core\\_facilities/histology/Guides/DAKO.guide\\_to\\_special\\_stains.pdf](https://biomedizin.unibas.ch/fileadmin/user_upload/biomedizin/core_facilities/histology/Guides/DAKO.guide_to_special_stains.pdf)

41. Reshma V, Varsha B, Rakesh P, Radhika M, Soumya M, D'Mello S. Aggrandizing oral submucous fibrosis grading using an adjunct special stain: A pilot study. *J Oral Maxillofac Pathol JOMFP*. 2016;20(1):36-46.
42. Bio-Optica Milano S.p.A. MALLORY TRICROMICA [Internet]. 2023. Disponible en: [https://bio-optica.it/ftp/Sito/technical\\_datashet/020802.pdf](https://bio-optica.it/ftp/Sito/technical_datashet/020802.pdf)
43. Alphatec. Trichrome Stain Set (Wheatley's Modification) [Internet]. 2019. Disponible en: <https://www.alphatecsystems.com/files/dfu/L004627.F%20--%20Proto-fix%20Wheatleys%20Trichrome%20Stain%20Set.pdf>
44. Kierszenbaum AL, Tres L. Histología y biología celular: Introducción a la anatomía patológica [Internet]. Elsevier Health Sciences; 2020. 823 p. Disponible en: [https://www.google.com.ec/books/edition/Histolog%C3%ADa\\_y\\_biolog%C3%ADa\\_celular/y2XnDwAAQBAJ?hl=es-419&gbpv=1&dq=tincion+gomori++histologia&pg=PA49&printsec=frontcover](https://www.google.com.ec/books/edition/Histolog%C3%ADa_y_biolog%C3%ADa_celular/y2XnDwAAQBAJ?hl=es-419&gbpv=1&dq=tincion+gomori++histologia&pg=PA49&printsec=frontcover)
45. Patki HS. Utility of Basic Stains in Gomori's One Step Trichrome Staining Protocol. *Indian J Vet Anat* [Internet]. 2021 [citado 3 de marzo de 2024];33(2). Disponible en: <https://epubs.icar.org.in/index.php/IJVA/article/view/120543/46191>
46. Megias manuel, Molist P. Tecnicas histologicas PROTOCOLOS. 2018.
47. Sharma R, Rehani S, Mehendiratta M, Kardam P, Kumra M, Mathias Y, et al. Architectural Analysis of Picrosirius Red Stained Collagen in Oral Epithelial Dysplasia and Oral Squamous Cell Carcinoma using Polarization Microscopy. *J Clin Diagn Res JCDR*. diciembre de 2015;9(12):EC13-6.
48. Serrano A, Pareja A. Manual de procedimientos Hospital Infanta Margarita [Internet]. 2010 [citado 29 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.calameo.com/read/001236630a5423996f35e>
49. CN N. Cuantificación de colágeno tipo I y tipo III en el corazón de bovinos con deficiencia secundaria de cobre. 2021; Disponible en: <https://www.fvet.uba.ar/archivos/publicaciones/invet/vol23-2-2021/art-9-vol23-2-2021.pdf>
50. Lattouf R, Younes R, Lutomski D, Naaman N, Godeau G, Senni K, et al. Picrosirius Red Staining: A Useful Tool to Appraise Collagen Networks in Normal and Pathological Tissues. *J Histochem Cytochem*. 1 de octubre de 2014;62(10):751-8.
51. John A. Kiernan. Sirius Red for Collagen Staining Protocol [Internet]. 2022. Disponible en:

[https://med.emory.edu/departments/medicine/divisions/cardiology/research/labs/microscopy-in-medicine/\\_documents/sirius-red-collagen-staining-protocol.pdf](https://med.emory.edu/departments/medicine/divisions/cardiology/research/labs/microscopy-in-medicine/_documents/sirius-red-collagen-staining-protocol.pdf)

52. Rittié L. Method for Picrosirius Red-Polarization Detection of Collagen Fibers in Tissue Sections. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2017;1627:395-407.
53. Petrovic A, Abramovic M, Mihailovic D, Gligorijevic J, Zivkovic V, Mojsilovic M, et al. Multicolor counterstaining for immunohistochemistry - a modified Movat's pentachrome. *Biotech Histochem*. 1 de diciembre de 2011;86:429-35.
54. Doello K. A New Pentachrome Method for the Simultaneous Staining of Collagen and Sulfated Mucopolysaccharides. *Yale J Biol Med*. 3 de septiembre de 2014;87(3):341-7.
55. Percival KR, Radi ZA. A Modified Verhoeff-Van Gieson Elastin Histochemical Stain to Enable Pulmonary Arterial Hypertension Model Characterization. *Eur J Histochem EJH*. 11 de febrero de 2016;60(1):2588.
56. Parry N, Welch A. The Bitesize Guide to Special Stains for Histology [Internet]. 2019. Disponible en: <https://bitesizebio.com/wp-content/uploads/2019/01/Guide-to-Special-Stains-for-Histology-Bitesize-Bio.pdf>
57. Halabi CM, Mecham RP. Elastin purification and solubilization. En: Mecham RP, editor. *Methods in Cell Biology* [Internet]. Academic Press; 2018 [citado 29 de febrero de 2024]. p. 207-22. (Methods in Extracellular Matrix Biology; vol. 143). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0091679X17301334>
58. Piccinin MA, Schwartz J. Histology, Verhoeff Stain. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [citado 29 de febrero de 2024]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519050/>
59. Assis EP. Manual de Buenas Prácticas en Patología. Sociedade Brasileira de Patologia - SBP; 2020.
60. Henwood A. Current applications of orcein in histochemistry. A brief review with some new observations concerning influence of dye batch variation and aging of dye solutions on staining. *Biotech Histochem Off Publ Biol Stain Comm*. diciembre de 2003;78(6):303-8.
61. Flamini M, Barbeito C. Introducción a las técnicas histológicas básicas [Internet]. 2017. Disponible en: [https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/149546/Documento\\_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/149546/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

62. Clementi C, Carlotti B, Burattini C, Pellegrino RM, Romani A, Elisei F. Effect of hydrogen bonding interaction on the photophysics of  $\alpha$ -amino-orcein. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 5 de mayo de 2019;214:522-30.
63. Bermejo J. Tecnico Especialista en Anatomia Patologica Del Servicio Gallego de Salud.volumen Ii Ebook [Internet]. MAD-Eduforma; 2006. 326 p. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=v3WYlx7FCHAC&pg=PA58&lpg=PA58&d#v=onepage&q&f=false>
64. Barcat JA. Orceína y fibras elásticas. *Med B Aires.* octubre de 2003;63(5):353-6.
65. Herrera Mingorance JD, Rivera-Izquierdo M, Rodríguez-Morata A, Salmerón Febres LM, Scionti G. Análisis histológico de la pared de la vena sana y varicosa y su correlación con sus propiedades biomecánicas. *Actual Médica [Internet].* 2014 [citado 9 de marzo de 2024];(791). Disponible en: [https://actualidadmedica.es/articulo/791\\_or05/](https://actualidadmedica.es/articulo/791_or05/)
66. Gupta S, Aggarwal R, Gupta V, Vij R, Tyagi N, Misra A. Picrosirius red: a better polarizing stain. *J Histotechnol.* 3 de abril de 2017;40(2):46-53.
67. Nishat R, Kumar H. Collagen fibers in oral submucous fibrosis - A polarizing microscopy study using two special stains. *Indian J Pathol Microbiol.* 1 de octubre de 2019;62:537.
68. López De Padilla CM, Coenen MJ, Tovar A, De la Vega RE, Evans CH, Müller SA. Picrosirius Red Staining: Revisiting Its Application to the Qualitative and Quantitative Assessment of Collagen Type I and Type III in Tendon. *J Histochem Cytochem.* octubre de 2021;69(10):633-43.
69. Liu J, Xu M, Wu J, Zhang H, Yang L, Lun D, et al. Picrosirius-Polarization Method for Collagen Fiber Detection in Tendons: A Mini-Review. *Orthop Surg.* 10 de marzo de 2021;13(3):701-7.
70. Juengsomjit R, Meesakul O, Arayapisit T, Larbcharoensub N, Janebodin K. Polarized Microscopic Analysis of Picrosirius Red Stained Salivary Gland Pathologies: An Observational Study. *Eur J Dent.* 17 de mayo de 2022;16(4):930-7.
71. Rieppo L, Janssen L, Rahunen K, Lehenkari P, Finnilä MAJ, Saarakkala S. Histochemical quantification of collagen content in articular cartilage. Choi J, editor. *PLOS ONE.* 7 de noviembre de 2019;14(11):e0224839.
72. Drifka CR, Loeffler AG, Mathewson K, Mehta G. Comparison of Picrosirius Red Staining With Second Harmonic Generation Imaging for the Quantification of Clinically

- Relevant Collagen Fiber Features in Histopathology Samples - PMC. 2016 [citado 29 de febrero de 2024]; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5006137/>
73. Otali D, Fredenburgh J, Oelschlager D, Grizzle W. A standard tissue as a control for histochemical and immunohistochemical staining. *Biotech Histochem Off Publ Biol Stain Comm.* julio de 2016;91(5):309-26.
  74. Gurina TS, Simms L. Histology, Staining. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [citado 29 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557663/#:~:text=Medical>
  75. Paradis V, Zucman-Rossi J. Cellular and Molecular Techniques. *MacSween's Pathology of the Liver (Eighth Edition)*. 1 de enero de 2024;96-121.
  76. Widbiller M, Rothmaier C, Saliter D, Woelflick M, Eidt A, Buchalla W, et al. Histology of human teeth: Standard and specific staining methods revisited. *Arch Oral Biol.* 1 de abril de 2021;127:105136.
  77. Rieppo L, Janssen L, Rahunen K, Lehenkari P, Finnilä MAJ, Saarakkala S. Histochemical quantification of collagen content in articular cartilage. *PLoS ONE.* 7 de noviembre de 2019;14(11):e0224839.
  78. Bodkin AJ, Criswell SL. Hidradenitis suppurativa lesions are associated with decreased collagen, decreased elastin, and increased neovascularization. *J Histotechnol.* 3 de abril de 2021;44(2):80-9.
  79. Zhang C, Yan B, Cui Z, Cui S, Zhang T, Wang X, et al. Bone regeneration in minipigs by intrafibrillarly-mineralized collagen loaded with autologous periodontal ligament stem cells. *Sci Rep.* 5 de septiembre de 2017;7(1):10519.
  80. Rentsch C, Schneiders W, Manthey S, Rentsch B, Rammelt S. Comprehensive histological evaluation of bone implants. *Biomater.* 6 de febrero de 2014;4:e27993.
  81. Rosero D, Flores L. IMAGE ANALYSIS IN GOMORI'S TRICHROME STAIN OF SKELETAL MUSCLES SUBJECTED TO ISCHEMIA AND REPERFUSION INJURY. 2016; Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/309014146\\_IMAGE\\_ANALYSIS\\_IN\\_GOMORI\\_S\\_TRICHROME\\_STAIN\\_OF\\_SKELETAL\\_MUSCLES\\_SUBJECTED\\_TO\\_ISCHEMIA\\_AND\\_REPERFUSION\\_INJURY](https://www.researchgate.net/publication/309014146_IMAGE_ANALYSIS_IN_GOMORI_S_TRICHROME_STAIN_OF_SKELETAL_MUSCLES_SUBJECTED_TO_ISCHEMIA_AND_REPERFUSION_INJURY)
  82. Balancin ML, Baldavira CM, Prieto TG, Machado-Rugolo J, Farhat C, Assato AK, et al. Dissecting and Reconstructing Matrix in Malignant Mesothelioma Through Histocell-

- Histochemistry Gradients for Clinical Applications. *Front Med* [Internet]. 13 de abril de 2022 [citado 10 de marzo de 2024];9. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2022.871202/full>
83. Schell H, Duda GN, Peters A, Tsitsilonis S, Johnson KA, Schmidt-Bleek K. The haematoma and its role in bone healing. *J Exp Orthop*. 7 de febrero de 2017;4(1):5.
84. Sun Y, Helmholz H, Willumeit-Römer R. Multicolor Histochemical Staining for Identification of Mineralized and Non-Mineralized Musculoskeletal Tissue: Immunohistochemical and Radiological Validation in Decalcified Bone Samples. *Bioengineering*. 21 de septiembre de 2022;9(10):488.
85. Saponaro A. *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica*. 2014;77.
86. Boza Y, Martínez A, Rojas IG. Evaluación histomorfométrica de la elastosis en queilitis actínica. *Odvotos - Int J Dent Sci*. 2016;18(3):51-9.
87. Ayyanar P, Mitra S. Utility of orcein stain and comparison with Masson trichrome stain in chronic intestinal pseudo-obstruction. *Indian J Pathol Microbiol*. 2023;66(2):400-2.
88. Silva J, Rojas M, Araya C, Villagra F. Características Histológicas de la Piel de la Cara Volar del Pulgar en Individuos Chilenos con Desvanecimiento del Dactilograma. *Int J Morphol*. septiembre de 2017;35(3):1107-13.
89. Robles M, Rodríguez Morata A, Reyes Ortega JP, Garzón Bello I. Arterioesclerosis carotídea: correlación clínico-histológica de placas vulnerables. *Actual Médica*. 2018;103(804):61-5.
90. Valdiero JB de JG, Dias da Cunha RL, de Brito-Gitirana L. Combined staining of elastic and collagen fibers for histopathological and differential diagnosis in aorta pathologies. *J Histotechnol*. 3 de abril de 2019;42(2):87-91.
91. Viola E A, Hindia B - *Int J Orofac Biol*. Connective tissue stains - A review. 2020 [citado 29 de febrero de 2024]; Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/363083432\\_Connective\\_tissue\\_stains\\_-\\_A\\_review](https://www.researchgate.net/publication/363083432_Connective_tissue_stains_-_A_review)
92. Radi Z. Comparison of five elastin histochemical stains to identify pulmonary small vasculature\*. *J Histotechnol*. 3 de julio de 2017;40(3):73-8.

## ANEXOS

### Anexo 1. Tricrómica de Masson

<b>TINCIÓN TRICRÓMICA DE MASSON</b>	
Colorantes usados	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hematoxilina férrica según Weigert para el núcleo celular.</li><li>• Mezcla de colorantes ácidos para el citoplasma (ácido Fucsina ácida-escarlata).</li><li>• Azul de Anilina para el tejido conjuntivo (fibras colágenas)</li><li>• Ácido fosfomolibdico/fosfotungstico (solución aniónica, actúa como mordiente y diferenciador).</li><li>• Acido Pítrico para los eritrocitos.</li></ul>
Procedimiento	<ul style="list-style-type: none"><li>• Desparafinar e hidratar el corte histológico hasta llegar al agua destilada. Alcohol 100% por 2 min. Alcohol 96 % por 2 min. Agua Destilada por 2 min.</li><li>• Depositar 6 gotas Hematoxilina solución B (Weigert) sobre la preparación y 6 gotas Hematoxilina solución A (Weigert).</li><li>• Dejar reaccionar 10 minutos. Sin lavar, escurrir la preparación y colocar 10 gotas del Ácido Pítrico solución alcohólica y dejar actuar por 4 minutos.</li><li>• Lavar rápidamente (3-4 segundos) con agua destilada.</li><li>• Depositar 10 gotas de Escarlata de Biebrich. Dejar reaccionar 4 minutos.</li><li>• Lavar con agua destilada.</li><li>• Depositar 10 gotas de Ácido Fosfomolibdico. Dejar reaccionar 10 minutos.</li><li>• Sin lavar, escurrir la preparación y depositar 10 gotas de Azul de Anilina. Dejar reaccionar por 5 minutos.</li><li>• Lavar con agua destilada.</li><li>• Deshidratar utilizando una serie creciente de alcoholes Alcohol 70 % - 1 pase rápido. Alcohol 85 %- 1 pase rápido. Alcohol 96% - 1 pase rápido.</li></ul>

Alcohol absoluto – 1 minutos. <ul style="list-style-type: none"> <li>● Aclarar con Xileno (3 minutos).</li> <li>● Montar con medio de montaje.</li> <li>● Observar al microscopio.</li> </ul>		
<b>Resultados</b>	<b>Estructura</b>	<b>Coloración</b>
	fibras colágenas	azul oscuro o verde
	núcleos	violeta, marrón o negro
	citoplasma eritrocitos y tejido muscular	rosado
Observaciones		
<p>Es importante considerar que la intensidad de las estructuras teñidas de azul puede variar según se ajuste el tiempo de incubación con azul de anilina, y si se ha realizado una diferenciación con ácido fosfomolibdico/fosfotúngstico de las estructuras teñidas de rojo dependerá de su intensidad.</p>		

**Fuente:** Panreac Química (2017). **Disponible en:**

[https://www.itwreagents.com/download\\_file/ce\\_ivd\\_instructions/CEIVD18/es/CEI](https://www.itwreagents.com/download_file/ce_ivd_instructions/CEIVD18/es/CEI)

## Anexo 2. Tricrómica de Mallory

<b>TINCIÓN TRICRÓMICA DE MALLORY</b>	
Colorantes usados	<ul style="list-style-type: none"><li>• Fucsina acida</li><li>• Tampón ácido de diferenciación</li><li>• Ácido fosfomolíbico</li></ul>
Soluciones	
<ul style="list-style-type: none"><li>• Mezcla policromada Mallory</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Azul de Anilina</li><li>- Naranja G</li><li>- Agua destilada</li><li>- Ácido acético glacial</li></ul>
Procedimiento	
<ul style="list-style-type: none"><li>• Llevar la sección a agua destilada.</li><li>• Alcohol 100% por 2 min.</li><li>• Alcohol 96 % por 2 min.</li><li>• Agua Destilada por 1 min.</li><li>• Colocar 10 gotas de fucsina ácida sobre la sección: dejar actuar 10 minutos.</li><li>• Lavar en agua destilada.</li><li>• Colocar 10 gotas de reactivo tampón ácido de diferenciación sobre la sección: dejar actuar 2 minutos.</li><li>• Lavar rápidamente con agua de manantial (2-3 segundos) y colocar 10 gotas de ácido fosfomolíbico sobre la sección: dejar actuar 5 minutos.</li><li>• Sin lavar, escurrir el portaobjetos y colocar 10 gotas de solución mezcla policromada según Mallory sobre la sección: dejar actuar 1 minuto.</li><li>• Lavar en agua destilada, deshidratar rápidamente mediante la serie ascendente de alcoholes. Alcohol 70 % - 1 pase rápido. Alcohol 85 %- 1 pase rápido. Alcohol 96% - 1 pase rápido. Alcohol absoluto – 1 minuto.</li><li>• Aclarar con xileno (1 minuto).</li><li>• Montaje con Permount.</li></ul>	

<b>Resultados</b>	<b>Estructura</b>	<b>Coloración</b>
	Fibras colágenas	azul
	Núcleos y citoplasma	rojo
	Hematíes	amarillo
	Cartílago y hueso	azul

**Fuente:** Bio-Optica Milano (2023). **Disponible en:** [https://bio-optica.it/ftp/Sito/technical\\_datasheet/020802.pdf](https://bio-optica.it/ftp/Sito/technical_datasheet/020802.pdf)

### Anexo 3. Tricrómica de Gomori

<b>TINCIÓN TRICRÓMICA DE GOMORI</b>	
Colorantes usados	<ul style="list-style-type: none"><li>● Hematoxilina Weigert núcleo.</li><li>● Bouin Cromo2R (CI 16570).</li><li>● Verde luz (CI 42095).</li><li>● Solución de Bouin como mordiente.</li><li>● Ácido fosfotungstico.</li><li>● Ácido acético glacial.</li></ul>
Fijador	Formol o Bouin
<b>Soluciones</b>	
Tricrómica	<ul style="list-style-type: none"><li>- 0.6 g cromo2R (CI 16570).</li><li>- 0.3 g verde luz (CI 42095).</li><li>- 0.8 g ácido fosfotungstico.</li><li>- 1 ml ácido acético glacial.</li><li>- Hasta 100 ml de agua destilada.</li></ul>
<p>Procedimiento:</p> <p>Dividir las muestras en secciones de aproximadamente 8 micrómetros y colocadas en portaobjetos cubiertos con gelatina.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>● 2x10 min en xileno para desparafinar.</li><li>● 2x10 min en etanol 100°.</li><li>● 10 min en etanol 96°.</li><li>● 10 min en etanol 80°.</li><li>● 10 min en etanol 50°.</li><li>● 5 min en agua destilada.</li><li>● 1h en líquido de Bouin a 56-60 °C, o 24 h a temperatura ambiente.</li><li>● Varios lavados en agua destilada hasta eliminar el color amarillo.</li><li>● 10 min en hematoxilina de Weigert.</li></ul> <p>Si la solución (hematoxilina de Weiger) ha estado guardada por un tiempo prolongado, puede ser necesario aumentar la duración del proceso de tinción.</p>	

- 5-10 min en agua corriente.

Si las muestras pierden intensidad en su coloración o se tiñen débilmente, se pueden sumergir nuevamente en Hematoxilina férrica de Weigert durante 5 minutos adicionales. La eficacia de la tinción puede verificarse observando las muestras bajo el microscopio.

- 15 min en solución tricrómica.
- 1 min en ácido acético al 1 %.

Este es un paso de diferenciación. Si las muestras no presentan una coloración adecuada o si falta intensidad en el color rojo, es posible prolongar el tiempo de inmersión de las secciones en la solución tricrómica.

- 30 segundos en agua destilada.
- 1 min en etanol 100°.
- 1 min en etanol 100°.
- 2 a 3 min en xileno.
- Montado de las secciones.

	<b>Estructura</b>	<b>Coloración</b>
<b>Resultados</b>	Fibras colágenas	oscuro-celeste
	Musculo	rojo
	Citoplasma	rosado
	Núcleos	negro

#### **Observación**

- La solución de trabajo de hematoxilina férrica de Weigert no debe mantenerse preparada por más de 10 días debido a que pierde su eficacia con el tiempo y se debe filtrar antes de su uso para prevenir posibles artefactos.
- la solución tricrómica debe tener un pH de 2. La diferenciación con ácido acético al 1% también se puede llevar a cabo con ácido acético al 0.5% durante 1 minuto. Es importante realizar la deshidratación final de manera rápida para evitar la pérdida del colorante

**Fuente:** Mejías Manuel, (2018). **Disponible en:**

<https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tecnicas-protocolos.pdf>

#### Anexo 4. Rojo de Picrosirius

<b>TINCIÓN ROJO DE PICROSIRIUS</b>		
Colorantes usados	<ul style="list-style-type: none"><li>• Solución Rojo Picrosirius.</li><li>• Rojo Sirio F3B (C.I. 35782).</li><li>• Solución acuosa saturada de ácido pícrico.</li><li>• Solución. Agua acidificada.</li></ul>	
Procedimiento: <ul style="list-style-type: none"><li>• Desparafinar e hidratar los cortes en parafina. Alcohol 100% - 2 min. Alcohol 96 % - 2 min. Agua Destilada - 1 min.</li><li>• Teñir con rojo picrosirius durante una hora. Este proceso garantiza una coloración equilibrada, evitando aumentos con tiempos más prolongados. Es crucial no utilizar intervalos más cortos, incluso si los colores parecen satisfactorios.</li><li>• Lavar en dos cambios de agua acidificada con ácido acético.</li><li>• Retire físicamente la mayor parte del agua de los portaobjetos agitándolos vigorosamente o (solo para unos pocos portaobjetos) secar con papel de filtro húmedo.</li><li>• Deshidratar en concentraciones crecientes de alcohol etanol al 70 %, 90 %, 95 % y 100 % (diez inmersiones o 2 a 3 minutos de incubación cada uno).</li><li>• Aclarar en xileno (1 minuto) y montar en un medio resinoso.</li></ul>		
<b>Resultado</b>	<b>Estructura</b>	<b>Coloración</b>
	Colágenas I	amarillo rojo
	Colágenas III	color verde

**Fuente:** John A (2022). **Disponible en:**

[https://med.emory.edu/departments/medicine/divisions/cardiology/research/labs/microscopy-in-medicine/\\_documents/sirius-red-collagen-staining-protocol.pdf](https://med.emory.edu/departments/medicine/divisions/cardiology/research/labs/microscopy-in-medicine/_documents/sirius-red-collagen-staining-protocol.pdf)

## Anexo 5. Pentacromo de Movats -Russell

<b>TINCIÓN PENTACROMO DE MOVATS -RUSSELL</b>	
Muestra	<ul style="list-style-type: none"><li>• Cortar los bloques en secciones de 5 umm con un microtomo rotativo.</li><li>• Coloque las láminas sobre portaobjetos de microscopía y séquelas a 36 h durante 24 horas.</li></ul>
<b>Soluciones</b>	
Solución de Ácido nítrico al 6%:	6 mL de ácido nítrico + 94 mL de agua destilada.
Solución de tinción con azul de toluidina	0,5 g de azul de toluidina disueltos en 100 ml de agua destilada a pH 1 – 1,5.
Solución de tinción de Picrosirius:	0,5 g de rojo sirio disueltos en 500 ml de agua destilada saturada de ácido pícrico.
<b>Procedimiento:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Desparafinar en xileno (50 a 100 ml) durante 10 minutos (repetir dos veces).</li><li>• Hidratar con tres soluciones. Etanol absoluto - 5 minutos. Etanol al 95% - 5 minutos. Agua destilada - 5 minutos.</li><li>• Trate previamente con ácido nítrico al 6% (50 a 100 ml) durante 5 minutos.</li><li>• Teñir con solución de azul de toluidina (50 a 100 ml) durante 5 minutos. La solución de azul de toluidina se prepara disolviendo 0,5 g de azul de toluidina en 100 ml de agua destilada a un pH de 1 a 1,5 (ajustado con HCl al 0,5%).</li><li>• Lavar en agua destilada.</li><li>• Teñir con solución de picrosirius (50 a 100 ml) durante 5 minutos.</li><li>• Lavar en agua destilada.</li><li>• Secar las muestras a temperatura ambiente.</li><li>• Lavar las muestras tres veces en xileno.</li><li>• Cubrir con resina y cubreobjetos.</li></ul>	

<b>Resultados</b>	<b>Estructura</b>	<b>Coloración</b>
	Fibras colágenas	rojo
	Mucopolisacáridos sulfatados	violeta
	Glóbulos rojos	amarillo
	Músculos	naranja
	Núcleos	verdoso

**Fuente:** Doello K (2014). **Disponible en:**

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4144288/>

**Anexos 6 . Van Gieson de Verhoeff**

<b>TINCIÓN VAN GIESON DE VERHOEFF</b>	
<b>Soluciones</b>	
<b>Solución de hematoxilina Verhoeff</b>	Hematoxilina.....30ml Percloruro de hierro .....12ml Yodo ..... 12ml
<b>Tinte Van Gieson:</b>	Solución A Fucsina ácida.....1g Agua destilada ..... 100ml Solución B Solución acuosa de ácido pícrico saturado. Solución A+B Colocar 50 ml de solución saturada de ácido pícrico y 7,5 ml de fucsina.
<b>Solución de cloruro férrico:</b>	Cloruro férrico. .... 2g Agua destilada .....100ml
<b>Solución de hiposulfito de sodio</b>	Tiosulfato de sodio.....5g Agua destilada .....100ml
<p>Procedimiento:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Desparafinar e hidratar los tejidos (eliminar la parafina de manera habitual en los preparados histológicos).</li> <li>• Teñir con hematoxilina de Verhoeff por 20 min.</li> <li>• Lavar con agua corriente.</li> <li>• Diferenciar en cloruro férrico por 1-2 min, o hasta que las fibras aparezcan en color negro sobre un fondo grisáceo pero muy pálido.</li> <li>• Lavar con agua corriente.</li> <li>• Hiposulfito de sodio por 5 min.</li> </ul>	

- Lavar con agua corriente.
- Solución van Gieson por 3 min.
- No lavar.
- Secar ligeramente sobre papel de filtro.
- Deshidratar en alcohol.
  - Etanol 70 % por 1 minuto.
  - Etanol al 96% por 1 minuto.
  - Etanol 100 % por 1 minuto.
- Aclarar con Xileno o Neo-Clear por 5 minutos.
- Montar con Neo-Mount.

	<b>Estructura</b>	<b>Coloración</b>
<b>Resultados</b>	Fibras elásticas y núcleos	azul a negro
	Fondo	amarillo

**Fuente:** Assis EP (2020). **Disponible en:** Manual de buenas Prácticas en Patología

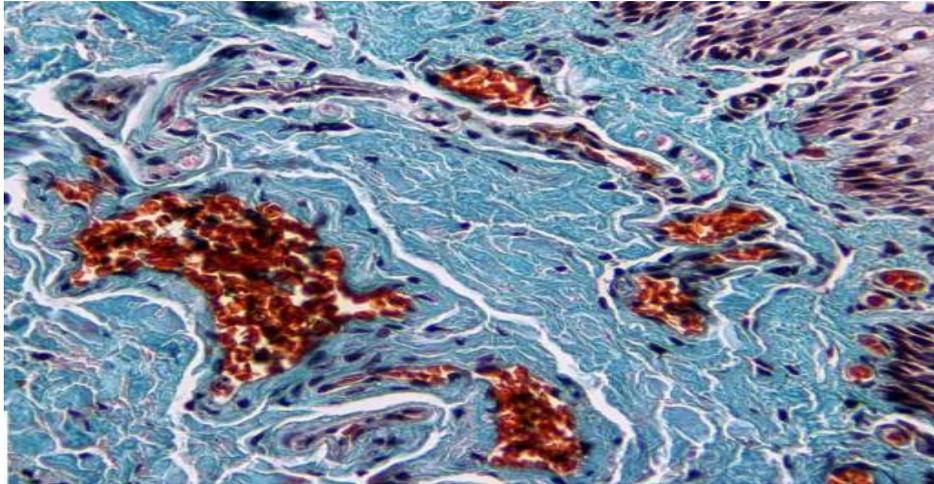
## Anexos 7. Orceína

<b>TINCIÓN ORCEÍNA</b>		
Colorantes usados	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solución de orceína.</li> <li>• Solución de picrocarmín de índigo.</li> </ul>	
<b>Soluciones</b>		
Solución de orceína.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- orceína</li> <li>- Alcohol isopropílico</li> <li>- HCl</li> </ul>	
Solución de picrocarmín de índigo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Solución acuosa saturada de ácido pícrico.</li> <li>- Carmín de índigo.</li> </ul>	
<b>Procedimiento:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Desparafinar e hidratar los cortes en parafina.</li> <li>• Colorear con la solución de orceína de 15 a 30 minutos.</li> <li>• Lavado rápido con agua destilada.</li> <li>• Teñir con picrocarmín unos 20 segundos.</li> <li>• Diferenciar el exceso de orceína mediante una deshidratación prolongada en etanol absoluto.</li> <li>• Aclarar.</li> <li>• Montar con DPX.</li> </ul>		
<b>Resultado</b>	<b>Estructura</b>	<b>Coloración</b>
	Fibras Elásticas	pardo negruzco
	Citoplasma	verde amarillento

**Fuente:** Bermejo J (2006). **Disponible en:**

<https://books.google.com.ec/books?id=v3WYlx7FCHAC&pg=PA58&lpg=PA58&d#v=onepage&q&f=false>.

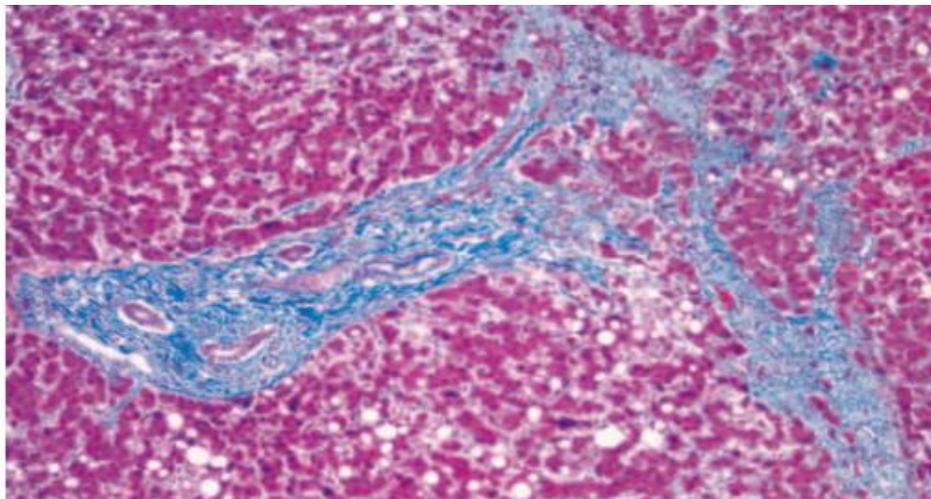
**Anexos 8.** Muestra de mucosa oral normal con aumento de 40x, tinción de Tricrómica de Masson



**Fuente:** Cáceres Felipe (2017). **Disponible en:**

<https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v35n4/0717-9502-ijmorphol-35-04-01576.pdf>

**Anexos 9.** La tinción Tricrómica de Gomori se utiliza para identificar colágeno en muestras de tejido de hígado y riñón.



**Fuente:** Wulff Sonja (2004). **Disponible en:**

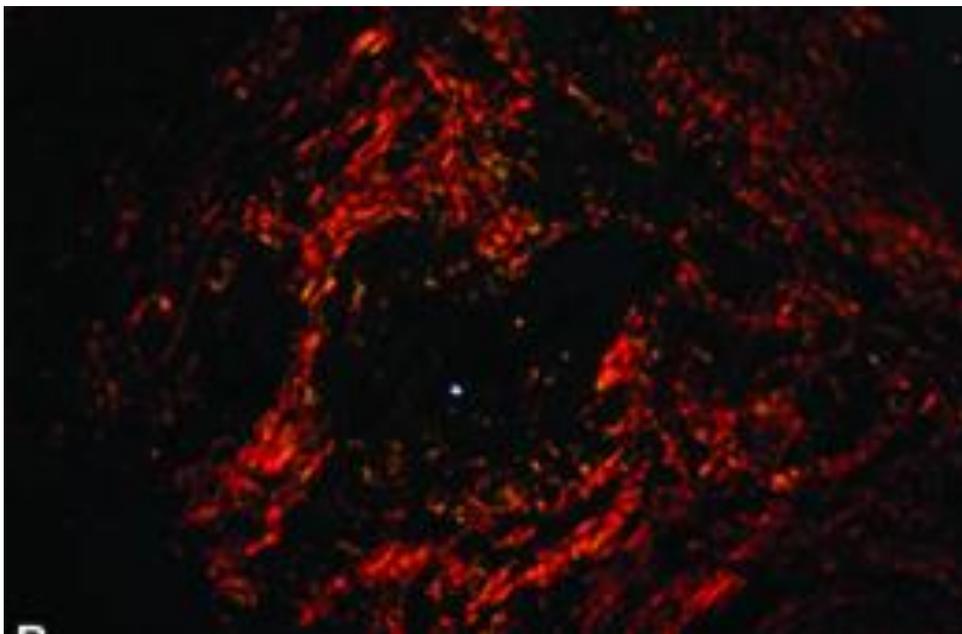
[https://biomedizin.unibas.ch/fileadmin/user\\_upload/biomedizin/core\\_facilities/histology/Guides/DAKO.guide\\_to\\_special\\_stains.pdf](https://biomedizin.unibas.ch/fileadmin/user_upload/biomedizin/core_facilities/histology/Guides/DAKO.guide_to_special_stains.pdf)

**Anexos 10.** Tejidos teñidos con el nuevo método de pentacromo. Son muestras histológicas de intestino teñido con este método.



**Fuente:** Doello Kevin (2014). **Disponible en:**  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4144288/>

**Anexos 11.** Fotomicrografía de fibroma de irritación de la mucosa bucal como control positivo que muestra color naranja rojizo. (Tinción roja Picrosirius, X100)



**Fuente:** Sharma Rashi (2015). **Disponible en:**  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4717680/>

**Anexos 12. Artículos Seleccionados**

<b>N°</b>	<b>Año</b>	<b>Autores</b>	<b>Idioma</b>	<b>Base de datos</b>	<b>Título original</b>
<b>1</b>	2022	Juengsomjit R, Meesakul O, Arayapisit T, Larbcharoensub N, Janebodin K.	Ingles	PubMet	Polarized Microscopic Analysis of Picrosirius Red Stained Salivary Gland Pathologies: An Observational Study.
<b>2</b>	2017	Rittié L.	Ingles	PubMet	Method for Picrosirius Red-Polarization Detection of Collagen Fibers in Tissue Sections.
<b>3</b>	2023	Gurina TS, Simms L.	Ingles	PubMet	Histology, Staining.
<b>4</b>	2016	Drifka CR, Loeffler AG, Mathewson K, Mehta G.	Ingles	PubMet	Comparison of Picrosirius Red Staining With Second Harmonic Generation Imaging for the Quantification of Clinically Relevant Collagen Fiber Features in Histopathology Samples.
<b>5</b>	2014	Lattouf R, Younes R, Lutomski D, Naaman N, Godeau G, Senni K.	Ingles	PubMet	Picrosirius red staining: a useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological tissues.
<b>6</b>	2020	Viola E A, Hindia B.	Ingles	ResearchGate	Connective tissue stains.

<b>7</b>	2019	Rieppo L, Janssen L, Rahunen K, Lehenkari P, Finnilä MAJ, Saarakkala S.	Ingles	PubMet	Histochemical quantification of collagen content in articular cartilage.
<b>8</b>	2015	Sharma R, Rehani S, Mehendiratta M, Kardam P, Kumra M, Mathias Y.	Ingles	PubMet	Architectural Analysis of Picrosirius Red Stained Collagen in Oral Epithelial Dysplasia and Oral Squamous Cell Carcinoma using Polarization Microscopy.
<b>9</b>	2024	Paradis V, Zucman-Rossi J.	Ingles	ScienceDirect	Cellular and Molecular Techniques.
<b>10</b>	2021	Widbiller M, Rothmaier C, Saliter D, Woelflick M, Eidt A, Buchalla W.	Ingles	PubMet	Histology of human teeth: Standard and specific staining methods revisited.
<b>11</b>	2019	Nishat R, Kumar H.	Ingles	PubMet	Collagen fibers in oral submucous fibrosis - A polarizing microscopy study using two special stains.
<b>12</b>	2021	López De Padilla CM, Coenen MJ, Tovar A, De la Vega RE, Evans CH, Müller SA.	Ingles	PubMet	Picrosirius Red Staining: Revisiting Its Application to the Qualitative and Quantitative Assessment of Collagen Type I and Type III in Tendon.
<b>13</b>	2017	Gupta S, Aggarwal R, Gupta V, Vij R, Tyagi N, Misra A.	Ingles	ResearchGate	Picrosirius red: a better polarizing stain.
<b>14</b>	2021	Liu J, Xu M, Wu J, Zhang H, Yang L, Lun D.	Ingles	PubMet	Picrosirius-Polarization Method for Collagen Fiber Detection in Tendons:

<b>15</b>	2016	Otali D, Fredenburgh J, Oelschlager D, Grizzle W.	Ingles	PubMet	A standard tissue as a control for histochemical and immunohistochemical staining.
<b>16</b>	2014	Veuthey T, Herrera G, Doderó VI.	Ingles	PubMet	Dyes and stains: from molecular structure to histological application.
<b>17</b>	2019	Rieppo L, Janssen L, Rahunen K, Lehenkari P, Finnilä MAJ, Saarakkala S.	Ingles	PubMet	Histochemical quantification of collagen content in articular cartilage.
<b>18</b>	2017	Zhang C, Yan B, Cui Z, Cui S, Zhang T, Wang X.	Ingles	PubMet	Bone regeneration in minipigs by intrafibrillarly mineralized collagen loaded with autologous periodontal ligament stem cells.
<b>19</b>	2014	Rentsch C, Schneiders W, Manthey S, Rentsch B, Rammelt S.	Ingles	PubMet	Comprehensive histological evaluation of bone implants.
<b>20</b>	2021	Bodkin AJ, Criswell SL.	Ingles	Taylor and Francis Online	Hidradenitis suppurativa lesions are associated with decreased collagen, decreased elastin, and increased neovascularization.
<b>21</b>	2016	Reshma V, Varsha B, Rakesh P, Radhika M, Soumya M, D'Mello S.	Ingles	PubMet	Aggrandizing oral submucous fibrosis grading using an adjunct special stain: A pilot study.

<b>22</b>	2017	Schell H, Duda GN, Peters A, Tsitsilonis S, Johnson KA, Schmidt-Bleek K.	Ingles	PubMet	The haematoma and its role in bone healing.
<b>23</b>	2022	Sun Y, Helmholtz H, Willumeit-Römer R.	Ingles	PubMet	Multicolor Histochemical Staining for Identification of Mineralized and Non-Mineralized Musculoskeletal Tissue: Immunohistochemical and Radiological Validation in Decalcified Bone Samples.
<b>24</b>	2022	Balancin ML, Baldavira CM, Prieto TG, Machado-Rugolo J, Farhat C, Assato AK.	Ingles	Frontiers in Medicine	Dissecting and Reconstructing Matrix in Malignant Mesothelioma Through Histocell-Histochemistry Gradients for Clinical Applications.
<b>25</b>	2019	Valdiero JB de JG, Dias da Cunha RL, de Brito-Gitirana L.	Ingles	Taylor and Francis Online	Combined staining of elastic and collagen fibers for histopathological and differential diagnosis in aorta pathologies.
<b>26</b>	2016	Rosero D, Flores L.	Ingles	ResearchGate	IMAGE ANALYSIS IN GOMORI'S TRICHROME STAIN OF SKELETAL MUSCLES SUBJECTED TO ISCHEMIA AND REPERFUSION INJURY.
<b>27</b>	2014	Doello K.	Ingles	PubMet	A New Pentachrome Method for the Simultaneous Staining of Collagen and Sulfated Mucopolysaccharides.

<b>28</b>	2021	Patki HS.	Ingles	ResearchGate	Utility of Basic Stains in Gomori's One Step Trichrome Staining Protocol.
<b>29</b>	2017	Z.A. Radi y K.R. Percival.	Ingles	Taylor and Francis Online	Comparison of five elastin histochemical stains to identify pulmonary small vasculature.
<b>30</b>	2023	Meghan A. Piccinin; Janice Schwartz.	Español	PubMed	Histología, Tinción de Verhoeff.
<b>31</b>	2016	K.R. Percival y Z.A. Radi.	Ingles	PubMed	A modified Verhoeff's elastin histochemical stain to enable pulmonary arterial hypertension model characterization.
<b>32</b>	2011	A Petrovic, M Abramovic, D Mihailovic, J Gligorijevic, V Zivkovic, M Mojsilovic, I Ilic.	Ingles	ResearchGate	Multicolor counterstaining for immunohistochemistry - a modified Movat's pentachrome.
<b>33</b>	2018	Carmen M. Halabi, Robert P. Mecham.	Ingles	Elsevier	Capítulo 12 - Purificación y solubilización de la elastina.
<b>34</b>	2014	Alberto Enrique Saponaro, Tomás Mosquera, Francisca Starck, Félix Vigovich.	Español	AsoColderma	Pseudoxantoma elástico.
<b>35</b>	2016	Boza Oreamuno, Yadira V.; Martínez, Alejandra; Rojas, Isolde G.	Español	Odovtos	Evaluación histomorfométrica de la elastosis en queilitis actínica.
<b>36</b>	2003	Juan Antonio Barcat.	Español	Scielo	Orceína y fibras elásticas.

<b>37</b>	2023	Pavithra Ayyanar, Suvradeep Mitra.	Ingles	PubMed	Utility of orcein stain and comparison with Masson trichrome stain in chronic intestinal pseudo-obstruction.
<b>38</b>	2009	Un Henwood.	Ingles	Taylor and Francis Online	Current applications of orcein in histochemistry. A brief review with some new observations concerning influence of dye batch variation and aging of dye solutions on staining.
<b>39</b>	2017	Juan Silva; Mariana Rojas; Claudia Araya & Francisca Villagra.	Español	Scielo	Características Histológicas de la Piel de la Cara Volar del Pulgar en Individuos Chilenos con Desvanecimiento del Dactilograma.
<b>40</b>	2018	Robles-Martín María L, Rodríguez-Morata Alejandro, Reyes-Ortega Juan P, Garzón-Bello Ingrid Johanna.	Español	Actualidad médica	Arterioesclerosis carotídea: correlación clínico-histológica de placas vulnerables.
<b>41</b>	2014	José Damián Herrera Mingorance, Giuseppe Scionti, Mario Rivera Izquierdo, Alejandro Rodríguez Morata, Luis Miguel Salmerón Febres.	Español	Actualidad médica	Análisis histológico de la pared de la vena sana y varicosa y su correlación con sus propiedades biomecánicas.