

1 Biotempo, 2024, vol. 21 (2), XX-XX.

2 DOI: <https://doi.org/10.31381/biotempo.v21i2.6881>

3 Este artículo es publicado por la revista Biotempo de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú.
4 Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional
5 (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier
6 medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original.



8 ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

9 COMPARATIVE ANALYSIS OF THREE HISTOLOGICAL FIXATIVE SOLUTIONS IN
10 THE TRACHEA AND SMALL INTESTINE OF *MUS MUSCULUS* (LINNAEUS, 1758)
11 "ALBINO MOUSE"

12 ANÁLISIS COMPARATIVO DE TRES SOLUCIONES FIJADORAS A NIVEL
13 HISTOLÓGICO EN TRÁQUEA E INTESTINO DELGADO DE *MUS MUSCULUS*
14 (LINNAEUS, 1758) "RATÓN ALBINO"

15 Miguel Dávila-Robles^{1*}; Luz Meza-Yance¹ & Jeanfranco Rivas-Narrea¹

16
17 ¹ Laboratorio de Microscopía (LA 76) - Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo
18 Palma (URP), Lima, Perú.

19 * Corresponding author: miguel.davila@urp.edu.pe

20
21 Dávila-Robles *et al.*

22
23 Titulillo: Comparative Analysis of Fixatives in Trachea and Small Intestine of Albino Mouse

24
25 Miguel Dávila-Robles:  <https://orcid.org/0000-0002-7429-4836>

26 Luz Meza-Yance:  <https://orcid.org/0000-0003-4864-5708>

27 Jeanfranco Rivas-Narrea:  <https://orcid.org/0000-0002-2105-1988>

28
29 **ABSTRACT**

30
31 The main objective of tissue preservation with the use of fixatives is to maintain the histology
32 of an organ identical to its natural state for subsequent study. The most common fixatives used

33 in histology are alcohol, formaldehyde, and Bouin's solution. Recent studies on the application
34 of fixative substances in histological processes indicate the need to guarantee the quality of the
35 relationship: type of fixator-sample. For this reason, the purpose of this work is to compare the
36 fixation quality of alcohol, formaldehyde and Bouin's solution at the tissue level of the trachea
37 and small intestine of *Mus musculus* (Linnaeus, 1758) "albino mouse". To do this, the animal
38 was slaughtered using an anesthetic, then the samples were dissected, extracted and fixed,
39 which were placed in vials containing ethyl alcohol, 10% formaldehyde and Bouin's solution
40 for a week; Subsequently, the histological process methodology was followed. The results
41 indicate that in the trachea, fixation with Bouin better preserves the cellular structure, including
42 microvilli and glands, while alcohol and formaldehyde show less defined epithelia and
43 differences in the submucosa. On the other hand, in the intestine, Bouin's solution better
44 preserves the four histological layers, while alcohol and formaldehyde stand out in the
45 preservation of microvilli and cell shape, although with variations in the submucosa. In short,
46 it is necessary to use fixing mixtures, such as Bouin's solution, in order to enhance the qualities
47 of each fixative and attenuate its defects and disadvantages.

48 **Keyword:** Alcohol - Bouin's Solution - Formaldehyde - Small Intestine - Trachea

49

50 RESUMEN

51 La conservación de tejidos con el uso de fijadores tiene como principal objetivo mantener la
52 histología de un órgano idéntico a su estado natural para su posterior estudio. Los fijadores más
53 comunes usados en histología son el alcohol etílico, el formol y la solución de Bouin. Estudios
54 recientes sobre la aplicación de sustancias fijadoras en procesos histológicos indican la
55 necesidad de garantizar la calidad de la relación: tipo de fijador-muestra. Por este motivo, la
56 finalidad del presente trabajo es comparar la calidad de fijación del alcohol, formol y Solución
57 de Bouin a nivel tisular de la tráquea y del intestino delgado de *Mus musculus* (Linnaeus, 1758)
58 "ratón albino". Para ello, se realizó el sacrificio del animal mediante el uso de un anestésico,
59 luego, se realizó la disección, extracción y fijación de las muestras, las cuales fueron colocadas
60 en viales que contenían alcohol etílico, formol 10% y solución de Bouin durante una semana;
61 posteriormente se siguió la metodología del proceso histológico. Los resultados indican que en
62 la tráquea la fijación con Bouin conserva mejor la estructura celular, incluyendo
63 microvellosidades y glándulas, mientras que alcohol y formol muestran epitelios menos
64 definidos y diferencias en la submucosa. Por otro lado, en el intestino, la Solución de Bouin
65 preserva mejor las cuatro capas histológicas, mientras que alcohol y formol destacan en la
66 conservación de microvellosidades y forma celular, aunque con variaciones en la submucosa.

67 En síntesis, es necesario el uso de mezclas fijadoras, como la solución de Bouin, con el
68 propósito de potenciar las cualidades de cada fijador y atenuar sus defectos y desventajas.

69 **Palabras clave:** Alcohol - Formol - Intestino Delgado - Solución de Bouin - Tráquea

70

71 INTRODUCCIÓN

72

73 Las técnicas de conservación de tejidos con el uso de fijadores tienen la función principal de
74 mantener la histología de un órgano idéntico a su estado natural para su posterior estudio
75 (Poveda & Calvache, 2021). Es por este motivo que, un buen fijador debe cumplir con
76 determinadas características como: a) evitar la autólisis, b) proteger la muestra de diferentes
77 ataques bacterianos, c) insolubilizar elementos observables, d) evitar distorsiones y retracciones
78 tisulares y e) preparar al tejido para procedimientos de tinciones específicas (Megías *et al.*,
79 2018). Los fijadores comúnmente usados en histología son el alcohol, el formol y la solución
80 de Bouin. Se menciona al alcohol como un fijador no iónico que penetra en el tejido provocando
81 contracción y endurecimiento de la muestra, genera una coagulación total del citoplasma y hace
82 que diversos componentes celulares sufran el “efecto arrastre” (Tomasi, 2013). Por otro lado,
83 el formol es considerado como uno de los mejores fijadores universales del sistema nervioso
84 por lo económico y penetrante (Solís, 1966). Por último, la Solución de Bouin es un compuesto
85 conformado por el formol, ácido pícrico y ácido acético glacial; especialmente indicado para la
86 fijación de tejidos blandos, glándulas y órganos reproductores (Ballesteros, 2022).

87

88 La tráquea es un conducto del sistema respiratorio que histológicamente está formada por
89 mucosa, submucosa, capa cartilaginosa y adventicia (Arce & Iniesta, 2015). La mucosa está
90 formada por un epitelio pseudoestratificado ciliado, el cual posee tres tipos principales de
91 células: ciliadas, mucosas y basales; y por una lámina propia de tejido conectivo laxo (Alfaro,
92 2007). La submucosa está conformada por tejido conectivo laxo, similar a la lámina propia. La
93 capa cartilaginosa es hialina formada por anillos incompletos en forma de C en el cual se suele
94 encontrar músculo liso dispuesto de forma transversal, aunque en algunas puede tener
95 orientación longitudinal. La adventicia recubre la parte externa de los anillos incompletos
96 cartilaginosos conformada por tejido conectivo, el cual, puede contener tejido adiposo (Megías
97 *et al.*, 2018).

98

99 El intestino delgado es un conducto largo que se divide en tres zonas: duodeno, yeyuno e íleon
100 caracterizándose por la presencia de las Glándulas de Brunner, las Células de Paneth y las

101 Placas de Peyer, respectivamente (Ferrufino *et al.*, 1996). Su arquitectura histológica está
102 conformada por cuatro capas: mucosa, submucosa, muscular y serosa (Megías *et al.*, 2018). La
103 capa mucosa presenta un epitelio de revestimiento cilíndrico simple y debajo posee una lámina
104 propia de tejido conectivo laxo. Entre la lámina propia y la submucosa se encuentra la muscular
105 de la mucosa siendo la responsable del movimiento de las vellosidades (Herrería, 2013). La
106 capa submucosa está compuesta por tejido conjuntivo laxo o denso, donde se encuentran las
107 glándulas, los vasos sanguíneos y los plexos nerviosos submucosos (Illanes *et al.*, 2006). La
108 capa muscular se conforma por dos capas de músculo: capa muscular longitudinal (más externa)
109 y capa muscular circular (más interna). La capa serosa está formada por una capa fina de tejido
110 conjuntivo laxo, revestida de epitelio simple plano conocido como mesotelio (Junqueira &
111 Carneiro, 2015).

112

113 Los estudios más recientes sobre la aplicación de sustancias fijadoras en procesos histológicos
114 indican la necesidad de garantizar la calidad del proceso de manipulación y procesamiento del
115 tejido dependiendo de la concentración, el tipo de sustancia, el tiempo y la temperatura
116 (Guamán & Aroca, 2024). De esta manera, las investigaciones referentes al uso del formol
117 mencionan alteraciones de la química y la morfología del tejido al tratarse de un tiempo de
118 fijación muy prolongado (Wu *et al.*, 2022). Por otra parte, se menciona que el fijador de Bouin
119 no es apto para biopsias renales debido a las distorsiones observadas en las muestras (Howat &
120 Wilson, 2014). No obstante, otros estudios han demostrado que la fijación con alcohol logra
121 preservar mejor la morfología de los tejidos que el formol (Haque *et al.*, 2020).

122

123 En relación a *Mus musculus* Linnaeus 1758 “ratón albino”, es el animal más utilizado en las
124 pruebas de diagnóstico e investigación debido a su disponibilidad comercial, su pequeño
125 tamaño, vida relativamente corta, su alta tasa reproductiva y su bajo costo de mantenimiento
126 (Ayala, 2021). Asimismo, el genoma del ratón posee un 95% de coincidencia con el genoma
127 humano destacando así su valor como un modelo biológico para realizar investigaciones
128 científicas (Hidalgo, 2017).

129

130 En este sentido, la finalidad del presente trabajo es comparar la calidad de fijación del alcohol
131 etílico, formol y solución de Bouin a nivel tisular de la tráquea y del intestino delgado de *M.*
132 *musculus*.

133

134 **MATERIALES Y MÉTODOS**

135 ***Proceso histológico***

136 ***Obtención y fijación de la muestra***

137 El procedimiento se inició con el sacrificio del animal mediante el uso de un anestésico,
138 posteriormente, se realizó la disección y extracción de las muestras de tráquea e intestino
139 delgado de tres ratones albinos (*M. musculus*), las cuales fueron colocadas en viales que
140 contenían alcohol etílico, formol 10% y solución de Bouin, cada uno con 10 ml del fijador,
141 durante una semana.

142

143 ***Inclusión en parafina y coloración***

144 Las muestras fijadas fueron colocadas en cassettes para realizar el proceso de “deshidratación”
145 en alcoholes etílico de 70°, 80°, 90°-I, 90°-II, 100°-I y 100°-II por 45 min en cada uno; luego,
146 se realizó el “aclaramiento” Xilol-I y Xilol-II por 15 min en cada uno; después, se llevó a cabo
147 la “impregnación” en Parafina-I y Parafina-II fundidas a 60 °C durante 1 h en cada una; por
148 consiguiente, se completó con la “inclusión” en Barras de Leuckart con parafina para obtener
149 un bloque sólido y brindar consistencia a la muestra. Finalmente, se realizaron los “cortes en
150 microtomía” de 6µm para su “coloración” en Hematoxilina-Eosina (H-E) y su “montaje” con
151 Bálsamo de Canadá.

152

153 ***Observación en el microscopio***

154

155 Para la observación individual de las láminas se empleó un microscopio óptico con cámara
156 incorporada de la marca Leica y el Software Lasez para la adquisición de imágenes de un campo
157 visual por objetivo para la observación de la arquitectura histológica (40x) y detalles celulares
158 (100x). Para el reconocimiento de los tipos de tejidos y células se emplearon los Atlas de
159 Histología Normal (Di Fiore, 2019) e Histología: Texto y Atlas (Ross & Pawlina, 2015).

160

161 **Aspectos éticos:** Los autores indican que se siguieron todos los procesos estándares éticos del
162 país.

163

164 **RESULTADOS**

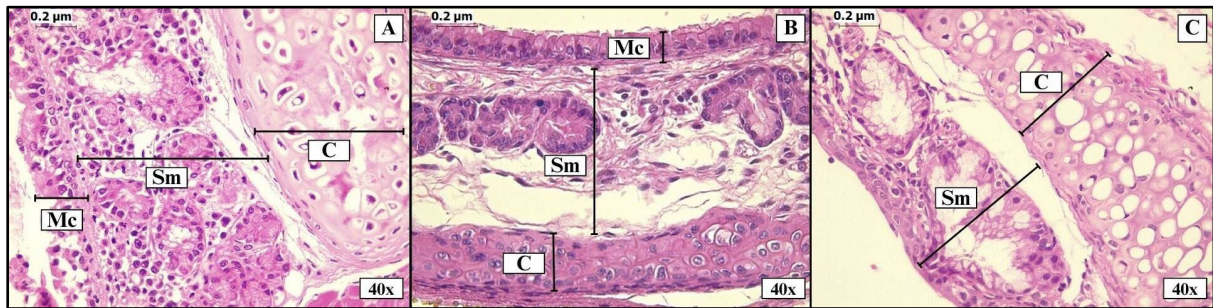
165

166 ***Tráquea***

167 En la muestra fijada con alcohol, se aprecia la arquitectura histológica compuesta por una
168 mucosa con epitelio disperso e incompleto, una submucosa con la presencia de algunas

169 glándulas y una capa cartilaginosa uniforme. Por otro lado, en la muestra fijada con Bouin, se
170 observa la capa mucosa con células del epitelio compactas y dispuestas sobre la capa
171 submucosa, en la cual se logran distinguir un mayor número de glándulas. Asimismo, se
172 observa la capa cartilaginosa con una mejor coloración que la anterior. Por último, en la muestra
173 fijada con formol, se aprecia una submucosa con la presencia de glándulas, separada de la capa
174 cartilaginosa por un espacio sin tejido (Fig. 1).

175

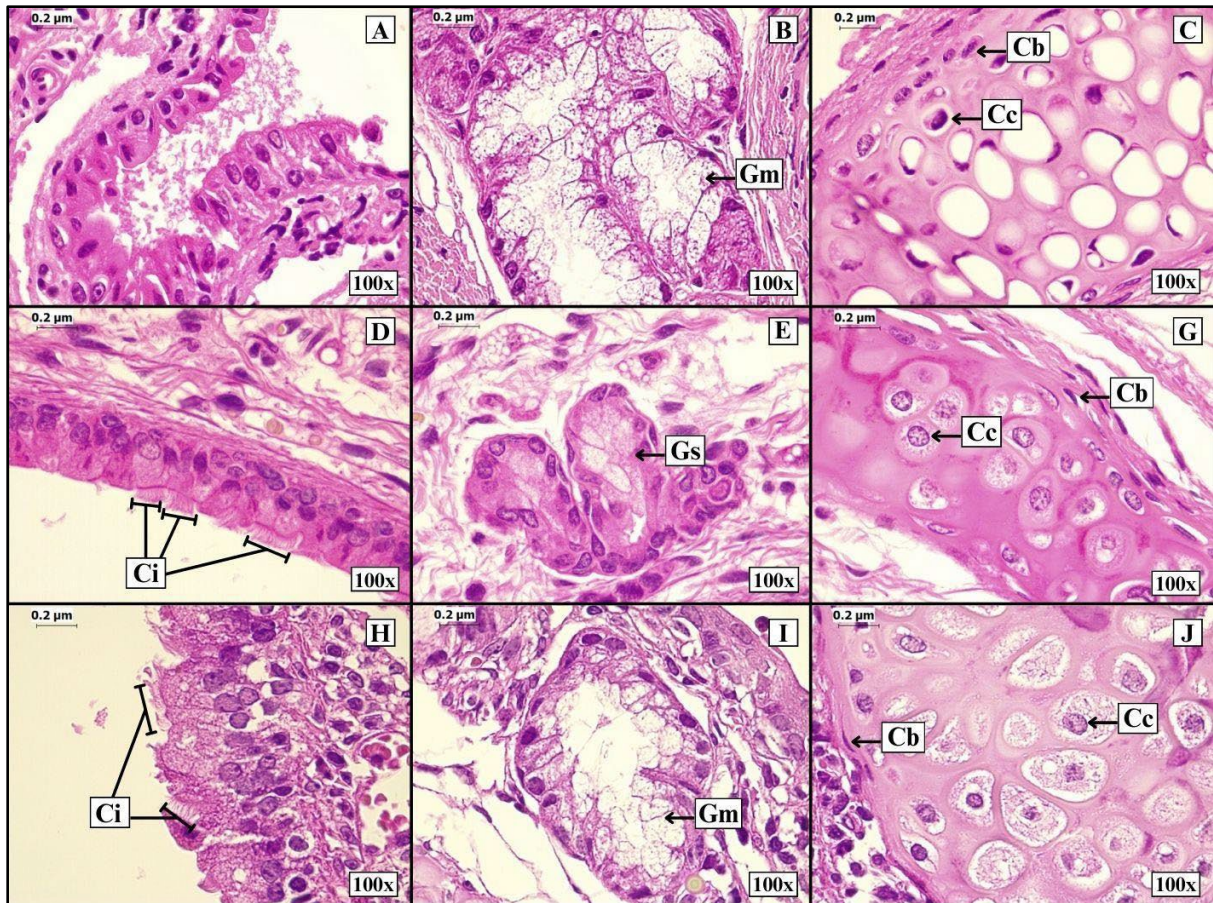


176

177 **Figura 1.** Arquitectura histológica de la tráquea. A: Alcohol, B: Solución de Bouin y C: Formol.
178 Mucosa (Mc), Submucosa (Sm), Cartílago (C). Tinción Hematoxilina-Eosina (H-E).

179

180 En las muestras fijadas con Bouin y Formol se identifica la presencia de microvellosidades,
181 siendo el primer fijador el único que logra conservar mejor su disposición y estructura. Esto se
182 evidencia debido a que en las muestras fijadas con Formol se observa un epitelio con espacios
183 vacíos y microvellosidades dispuestas en diferentes direcciones, mientras que en las muestras
184 fijadas con alcohol no se observan microvellosidades y sólo rezagos de estas mismas. Además,
185 se puede observar la presencia de glándulas (mucosas y serosas) en todas las muestras, sin
186 embargo, tanto el Alcohol como el Formol logran conservar mejor su estructura. De manera
187 similar, en todas las muestras se observa la presencia de condrocitos y condroblastos dispuestos
188 a lo largo del cartílago hialino (Fig. 2).



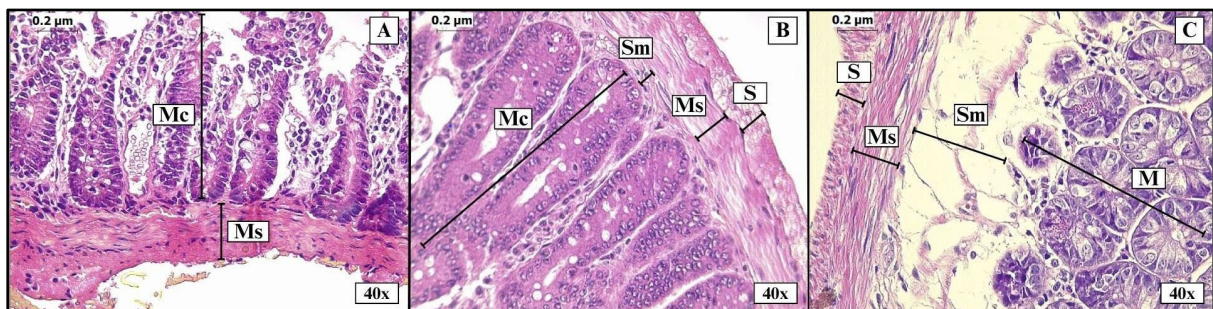
189
 190 **Figura 2.** Detalles celulares de la tráquea. A, B y C: alcohol, D, E y F: Solución de Bouin, H,
 191 I y J: formol; cilios (Ci), glándula mucosa (Gm), glándula serosa (Gs), condrocito (Cc),
 192 condroblasto (Cb). Tinción Hematoxilina-Eosina (H-E).

193

194 ***Intestino delgado***

195 En las muestras fijadas con alcohol, la capa mucosa y la capa muscular se encuentran mejor
 196 conservadas, ya que, logran diferenciarse, mientras que la capa submucosa y la capa serosa no
 197 se llegaron a conservar. En la fijación de la solución de Bouin, se puede distinguir la
 198 arquitectura histológica en una correcta conservación: la mucosa, la submucosa, la muscular y
 199 la serosa. Por último, en la fijación con formol se pueden apreciar las cuatro capas, empero la
 200 capa submucosa se observa con una poca o nula conservación de las estructuras; por otro lado,
 201 la capa mucosa, la capa muscular y la capa serosa son aquellas que se conservan mejor y poseen
 202 las características límites entre cada capa (Fig. 3).

203



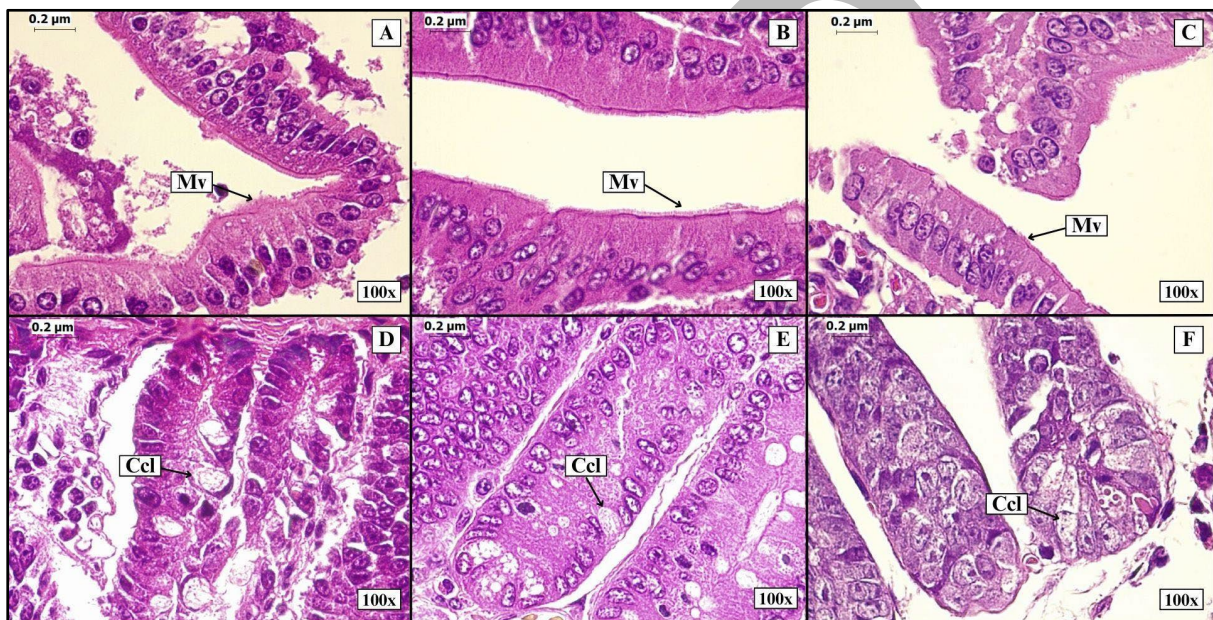
204

205 **Figura 3.** Arquitectura histológica del intestino. A: Alcohol, B: Solución de Bouin y C: Formol.
206 Mucosa (Mc), Submucosa (Sm), Muscular circular (Mc), Serosa. Tinción Hematoxilina-Eosina
207 (H-E).

208

209 Los tres fijadores son buenos conservantes de las microvellosidades y los núcleos ovalados de
210 los enterocitos, sin embargo, se pueden apreciar diferencias en éstos últimos. El alcohol y el
211 formol conservan la forma cilíndrica, por otra parte, la solución de bouin no conserva la forma
212 de los enterocitos. Las células caliciformes se visualizan mejor en la solución de bouin, empero
213 no se conserva la forma de cáliz; el alcohol y el formol conservan mejor la forma de la célula,
214 no obstante, puede resultar complejo visualizarlas (Fig. 4).

215



216

217 **Figura 4.** Detalles celulares del esófago. A y D: alcohol, B y E: solución de bouin, C y F:
218 formol; microvellosidades (Mv), células caliciformes (Cel). Tinción Hematoxilina-Eosina (H-
219 E).

220

221 DISCUSIÓN

222

223 En relación a la tráquea, la arquitectura histológica visualizada se compone de las capas mucosa,
224 submucosa y el cartílago, con escasas evidencias de la capa serosa. Según Rajathi (2020), quien
225 estudió la histología completa de la tráquea del perro, menciona que este conducto, desde la luz
226 hasta el exterior, consiste de cuatro capas bien diferenciadas: la mucosa, la submucosa, cartílago
227 hialino y túnica adventicia o serosa. Ello también es afirmado por Alfaro (2007) quien empleó
228 formaldehído al 10% para la fijación de la tráquea del cuy. Estos estudios permiten afirmar que
229 los tres fijadores empleados (alcohol etílico, solución de Bouin y formol) conservan de manera
230 incompleta la capa más externa y, por lo tanto, la arquitectura total de la muestra.

231

232 Con respecto a la capa mucosa, los resultados indican que la efectividad de conservación, de
233 mayor a menor, es: Solución de Bouin, formol y alcohol. Según Alfaro (2007) afirma que esta
234 capa se encuentra revestida por un epitelio cilíndrico pseudoestratificado ciliado con células
235 caliciformes. Sin embargo, a pesar de que en todas las muestras no se evidencie la presencia de
236 células caliciformes, la solución de Bouin logra mantener la característica del epitelio; mientras
237 que el formol conserva pocas microvellosidades y el alcohol ninguna, ambos presentando las
238 células ligeramente separadas e inclinadas, siendo estas características las que difieren con la
239 descripción de Ovalle & Nahirney (2021), quienes afirman que la capa mucosa posee un epitelio
240 columnar alineado.

241

242 Además, se reconoce que todos los fijadores conservan de manera adecuada las glándulas de la
243 capa submucosa, ello de manera similar a los resultados de Crespo (1998), en donde el empleo
244 de formol neutro 10% en buffer fosfato en la tráquea de cuyes, logra la conservar las glándulas
245 de la submucosa que conectan con diversos espacios respiratorios. Asimismo, en todas las
246 muestras se logra conservar el cartílago, los condroblastos y condrocitos, por lo que, los tres
247 fijadores permiten la preservación del cartílago para un análisis específico. Sin embargo, de
248 acuerdo a lo descrito por Fletcher (2021) en la tráquea, los anillos cartilagosos se encuentran
249 incompletos y forman parte de aproximadamente dos tercios del círculo. Por lo que, a diferencia
250 del alcohol y el formol, la solución de Bouin mantiene la disposición de aquellas estructuras
251 considerando la arquitectura histológica global.

252

253 De la misma manera, los resultados obtenidos en la fijación del intestino delgado demuestran
254 que la conservación de la arquitectura histológica varía con cada fijador. En este sentido Haque
255 *et al.* (2020) mencionan que los fijadores en base de alcohol no generan alteraciones
256 significativas en los tejidos, a diferencia del formol que causa una deshidratación y, por tanto,
257 una alteración en la morfología del tejido. No obstante, los resultados obtenidos no coinciden
258 con lo previamente mencionado, debido a que el alcohol no preserva adecuadamente la capa
259 submucosa, mientras que el formol sí. No obstante, se logra evidenciar estructuras más
260 específicas con alcohol como: células caliciformes y enterocitos con microvellosidades.

261

262 En relación al formol, Moreno-Durán *et al.* (2007) mencionan que posterior a la fijación del
263 intestino delgado en formol buferado al 10% se logra diferenciar tres capas: la mucosa, la
264 submucosa y la muscular. Por otro lado, Santos *et al.* (2016), empleando solución Bouin,
265 obtuvieron el mismo resultado al lograr diferenciar las tres capas del intestino delgado. Los

266 resultados de ambos estudios coinciden con los del presente estudio, pues ambos fijadores
267 permiten apreciar las tres capas tisulares mencionadas. Empero, se logra evidenciar que la
268 solución de Bouin conserva en mejores condiciones las características de las estructuras
269 celulares presentes en este órgano.

270

271 De esta manera, se destacan estructuras como: enterocitos con borde estriado y células
272 caliciformes, las cuales son características del intestino delgado. En relación a la investigación
273 realizada por Ontiveros *et al.* (2014) obtienen que, con el uso de formol, los enterocitos
274 presentan un borde estriado (microvellosidad), sin embargo, no se logra conformar una visión
275 de la forma del enterocito. En contraste, los resultados obtenidos revelan una apreciación clara
276 de la forma completa del enterocito. Ello destaca la calidad del formol como fijador, siendo una
277 característica determinante para la observación de las características del enterocito. Por otro
278 lado, Santos *et al.* (2016) mencionan que la capa mucosa presenta células caliciformes notorias
279 al ser fijadas en solución de Bouin, sin una visualización clara de las células epiteliales del
280 intestino delgado: enterocitos. Del mismo modo, en este estudio, las células caliciformes se
281 visualizan con mayor claridad en la solución de Bouin; sin embargo, no se conserva la forma
282 de cáliz.

283

284 Se concluye que los fijadores empleados presentan capacidades variables para conservar la
285 histología de la tráquea y el intestino delgado. En la muestra de tráquea, la solución de Bouin
286 conserva de mejor manera la arquitectura histológica, como los anillos cartilagosos y el
287 epitelio columnar en la mucosa; mientras que el formol y el alcohol muestran una conservación
288 menos óptima, siendo el alcohol el menos efectivo. En cuanto al intestino delgado, el formol y
289 la solución de Bouin logran una diferenciación adecuada de las capas tisulares, siendo la última
290 la que ofrece una mejor conservación de las estructuras celulares y sus características, como las
291 células caliciformes y los enterocitos. En este contexto, una única sustancia fijadora
292 difícilmente cumple con todos los requisitos para lograr una fijación óptima, ello considerando
293 la arquitectura total del tejido y los detalles celulares en el mismo. Por lo tanto, es necesario el
294 uso de mezclas fijadoras, como la solución de Bouin, con el propósito de potenciar las
295 cualidades de cada fijador y atenuar sus defectos y desventajas.

296

297 **AGRADECIMIENTOS**

298

299 Agradecemos a la Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú por la oportunidad de
300 investigación.

301

302 **Author contributions: CRediT (Contributor Roles Taxonomy)**

303 MDR = Miguel Davila-Robles

304 LMY = Luz Meza-Yance

305 JRN = Jeanfranco Rivas-Narrea

306

307 **Conceptualization:** MDR, LMY, JRN

308 **Data curation:** MDR, LMY, JRN

309 **Formal Analysis:** MDR, LMY, JRN

310 **Funding acquisition:** MDR

311 **Investigation:** MDR, LMY, JRN

312 **Methodology:** MDR, LMY, JRN

313 **Project administration:** MDR

314 **Resources:** MDR

315 **Software:** MDR, LMY, JRN

316 **Supervision:** MDR

317 **Validation:** MDR, LMY, JRN

318 **Visualization:** MDR, LMY, JRN

319 **Writing – original draft:** MDR, LMY, JRN

320 **Writing – review & editing:** MDR, LMY, JRN

321

322 **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

323

324 Alfaro, C. (2007). *Contribución al estudio histológico del respiratorio del cuy (Cavia*
325 *porcellus)*. [Tesis de tipo Bachiller, Universidad Nacional de Cajamarca]. Repositorio
326 Institucional de la Universidad Nacional de Cajamarca.

327

328 Arce, R., & Iniesta, J. (2015). *Libro virtual de formación en Otorrinolaringología*. SEORL-
329 PCF.

330

331 Ayala, M. (2021). El ratón como animal de experimentación. En Carbone, C., Ayala, M., &
332 Cagliada, M. (Eds.), *Ciencia del bienestar de los animales del laboratorio*. (pp. 128-
333 141). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP).

334

335 Ballesteros, J. (2022). *Procesamiento histológico: Fijadores*. PanReac AppliChem.
336 https://www.itwreagents.com/download_file/ce_ivd_instructions/CEIVD06/es/CEIVD
337 [06_es.pdf](https://www.itwreagents.com/download_file/ce_ivd_instructions/CEIVD06/es/CEIVD)
338

339 Benavides, F., & Guenet J. (2014). Capítulo II: Biología y manejo reproductivo del ratón
340 *Manual de genética de roedores de laboratorio: Principios básicos y aplicaciones*
341 (309). (pp. 59-81). [https://secal.es/wp-content/uploads/2014/10/02-GENETICA-Pba-](https://secal.es/wp-content/uploads/2014/10/02-GENETICA-Pba-2.pdf)
342 [2.pdf](https://secal.es/wp-content/uploads/2014/10/02-GENETICA-Pba-2.pdf).
343

344 Crespo, F. (1998). *Morfología funcional en el sistema respiratorio de mamíferos marinos*.
345 [Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires]. Repositorio Digital Institucional de la
346 Universidad de Buenos Aires.
347

348 Di Fiore, M. (2019). *Atlas normal de Histología* (8^{va} ed). El Ateneo.
349

350 Ferrufino, J., Taxa, L., & Ángeles, G. (1996). Histología normal del intestino delgado. Normal
351 Histology of Small Bowel. *Rev. Med. Heredia*, 7, 46-57.
352

353 Fletcher, C. (2021). Chapter 4: Tumors of the Upper Respiratory Tract. En: Fletcher, C. (ed.)
354 *Diagnostic Histopathology of Tumors* (96-224). ElSevier Health.
355

356 Guamán, Y., & Aroca, C. (2024). *Aplicación de sustancias fijadoras en tejidos humanos en*
357 *procesos histológicos* [Tesis para optar el Título de Licenciado en Ciencias de la Salud
358 en Laboratorio Clínico]. Universidad Nacional de Chimborazo.
359

360 Haque, Z., Rahman, A., Khan, Z., Hussan, M., & Alam, M. (2020). Alcohol-Based Fixatives
361 can Better Preserve Tissue Morphology than Formalin. *International Journal of*
362 *Morphology*, 38, 1371-1375.
363

364 Herrería, E. (2013). *Intestino delgado y patologías asociadas a la malabsorción intestinal*.
365 [Tesis para optar por el grado en Enfermería, Universidad de Cantabria]. Repositorio
366 Abierto de la Universidad de Cantabria.
367

368 Hidalgo, J. (2017). *Equipamientos para ratones de laboratorio* [Tesis para optar el título de
369 Diseñador inédita]. Universidad Pontificia Católica de Chile.
370

371 Howat, W., & Wilson, B. (2014). Tissue fixation and the effect of molecular fixatives on
372 downstream staining procedures. *Methods*, 70, 12–19.
373

374 Illanes, J., Fertilio, B., Chamblas, M., Leyton, V., & Verdugo, F. (2006). Descripción
375 Histológica de los Diferentes Segmentos del Aparato Digestivo de Avestruz
376 (*Struthio camelus var. domesticus*). *International Journal of Morphology*, 24, 205-
377 214.
378

- 379 Junqueira, L., & Carneiro, J. (2015). Capítulo 15: Sistema Digestivo. Ponce, S. (Ed.) *Histología*
380 *Básica* (pp. 280-310). Médica Panamericana.
- 381
- 382 Megías, M., Molist, P., & Pombal, M. (2018). *Técnicas histológicas: Fijación. Departamento*
383 *de Biología Funcional y Ciencias de la Salud*.
384 <https://atlashistologia.webs7.uvigo.es/pdfs-descargas/tecnicas-fijacion>
385
- 386 Moreno-Durán, C., López-Hurtado, C., & Ruiz-Sanchez, F. (2007). Histología del sistema
387 digestivo de *Didelphis albiventris* (Lund, 1840). *Universitas Scientiarum*, 12, 41-53.
388
- 389 Ontiveros, R., Muñoz, F., & Anzaldúa, S. (2014). Características histológicas e histoquímicas
390 del intestino delgado en crías de la tortuga caguama (*Caretta caretta*). *Veterinaria*
391 *México OA*, 1, 1-15.
392
- 393 Ovalle, W., & Nahirney, P. (2021). Chapter 15: Respiratory System. En Ovalle, W., &
394 Nahirney, P. (Eds.). *Netter's Essential Histology* (pp. 359-380). Elsevier.
395
- 396 Poveda, H., & Calvache, Z. (2021). *Conocimiento sobre la técnica de fijación de muestras*
397 *anatomopatológicas, por parte del personal que labora en una institución prestadora*
398 *de servicios de salud Hospital de San José de Popayán*. Fundación Universitaria de
399 Ciencias de la Salud - FUCS. <https://repositorio.fucsalud.edu.co/handle/001/1946>
400
- 401 Rajathi, S. (2020). Histology of the Trachea in Dogs. *International Journal of Arts, Science and*
402 *Humanities*, 7, 80-83.
403
- 404 Ross, M.; & Pawlina, W. (2015). *Histología: Texto y Atlas* (7^{ma} ed). Lippincott Williams &
405 Wilkins.
406
- 407 Santos, H., Vieira, L., Nunes, S., & Gruppi, R., (2016). Análise do intestino delgado de Danio
408 rerio exposto a organofosforado e detergente: um estudo histológico e morfométrico.
409 *Revista Conexão*, 11, 51-58.
410
- 411 Solís, M. (1966). Técnicas de fijación y coloración histológicas. *Instituto Nacional de*
412 *Investigaciones*, 11, 1-44.
413
- 414 Tomasi, H. (2013). *Métodos Histológicos*. Universidad Nacional de Córdoba.
415
- 416 Wu, X., Deng, C., Su, Y., Chaoyi, Z., Chen, M., Tian, K., Wu, H., & Xu, S. (2022). The effect
417 of prolonged formalin fixation on the expression of proteins in human brain tissues.
418 *Acta Histochemica*, 124, 1-9.
- 419 Received August 29, 2024.
- 420 Accepted October 11, 2024.