



V Congreso virtual de Ciencias Morfológicas
V Jornada Científica de la Cátedra Santiago
Ramón y Cajal

AGUA DE MAR SINTÉTICA: UNA ALTERNATIVA DE CONSERVACIÓN EN LA UNIVERSIDAD MÉDICA DE LA HABANA, CON EL EMPLEO DE LA MICROSCOPIA ÓPTICA

Autores:

Dra. Annia Robaina Flores¹, MsC Dra. Irela María Pérez Magín², MsC Dra. Niuxia Alonso Pupo³, MsC. Dra. Cecilia Jorge Fonseca⁴. MsC. Dra. Leticia María Salinas Ojeda⁵, Lic. Darsia Carrete Aties⁶

¹Especialista de I Grado en Anatomía Humana, Departamento de Ciencias Básicas, FCM: Dr. Julio Trigo López, Provincia: La Habana, País: Cuba

²Especialista de II Grado en Anatomía Humana. Departamento de Anatomía Humana, FCM: Victoria de Girón, Provincia: La Habana, País: Cuba.

³Especialista de I Grado en Anatomía Humana, Departamento de Ciencias Básicas, FCM: Dr. Comandante Manuel Fajardo, Provincia: La Habana, País: Cuba

⁴Especialista de II Grado en Histología, Departamento de Ciencias Básicas, FCM: Dr. Julio Trigo López, Provincia: La Habana, País: Cuba

⁵Especialista de Primer grado en Bioquímica Clínica y en Medicina General Integral. FCM: Dr. Julio Trigo López, Provincia: La Habana, País: Cuba

⁶Especialista de Posgrado en Educación Superior.

e-mail: annia@nauta.cu

Resumen:

Se realizó un estudio sobre técnicas de conservación, con el empleo del microscopio óptico, para el análisis de la estructura microscópica del órgano investigado. Los objetivos trabajados en el estudio fueron: Profundizar en el conocimiento de técnicas o métodos de conservación, Valorar la eficacia del agua de mar sintética como solución fijadora y conservadora de piezas anatómicas e histológicas. Valorar el ahorro del formol a emplear con el

agua de mar sintética para conservar las piezas anatómicas. Material y método: es un estudio descriptivo, observacional, longitudinal y prospectivo de 24 Riñones de cadáveres humanos recogidos del HMC: "Carlos Juan Finlay", previo consentimiento informado de familiares de los fallecidos. Se efectuó el análisis estadístico empleando métodos no paramétricos. Se utilizó el paquete Estadística versión 6.1 Se calcularon las medias, desviación estándar, sumas de rangos y graficación de las medias. Como resultados relevantes se obtuvieron los siguientes: Los órganos se conservaron. No hubo lisis ni olor sofocante de formol y se mantuvo el color natural de las piezas. Por tanto, este trabajo mostró, que todas las soluciones fueron eficaces para conservar los riñones y al mezclar el agua de mar con formol se ahorró este producto y se logró la conservación de los órganos.

Introducción:

A lo largo de la historia encontramos grandes avances científicos y tecnológicos que nos han permitido conservar cadáveres en perfecto estado.

Conservar un cadáver o porción del mismo es más que evitar su putrefacción.

Al morir un ser vivo, su cuerpo sufre una serie de fenómenos químicos que lleva a transformar la materia orgánica en inorgánica. Al conjunto de estos fenómenos que no son más que fermentaciones de las sustancias orgánicas producidos por microorganismos, es a lo que se denomina **putrefacción.** ^(1, 2,3)

La fijación es la operación de laboratorio que tiene por objeto conservar la estructura de los tejidos. Los fijadores más empleados son: el alcohol, yodo, ácido ósmico, ácido pícrico, sublimado corrosivo, etc. Las formas de fijación son: por perfusión y por inmersión. ^(3,4)

La finalidad principal de la fijación es conservar el protoplasma con el menor grado de alteración en relación con la célula viva. Los líquidos fijadores actúan como conservadores, inhiben los cambios autolíticos y el crecimiento bacteriano. Coagulan el protoplasma, y con ello lo hacen insoluble y endurecen el tejido en forma tal que puede cortarse con facilidad. Pueden conservar carbohidratos y lípidos, o no hacerlo. ^(5, 6)

Muchos fijadores aumentan la afinidad del protoplasma por ciertos colorantes, a esta cualidad se le denomina acción mordiente.

Los reactivos que pueden emplearse como agentes fijadores son formol, alcohol, bicloruro de mercurio, ácido acético, ácido pícrico, ácido ósmico, ácido crómico, fenol, ácido tánico, timol, permanganato de potasio, sublimado corrosivo, etc. ^(7,8)

El formaldehído es un gas incoloro de olor sofocante, muy soluble en agua. Es la solución conservadora y fijadora más utilizada en nuestro país por su alto poder antiséptico, pero tiene efectos nocivos sobre la salud humana ya que es carcinogénico (tumores en el cerebro, leucemia y cirrosis hepática), puede producir dolor abdominal, ansiedad, irritación de la mucosa nasal y laringofaríngea, depresión del SNC, coma, convulsiones, diarrea, cefalea, náuseas, vómitos, bronquitis, neumonía, edema pulmonar, micosis, además de quemaduras e incluso la muerte. ^(9,10)

Además provoca cambios de color de las estructuras anatómicas dificultando la identificación con claridad de algunos detalles anatómicos por los educandos.

Definición del agua de mar sintética: solución preparada con reactivos de calidad analítica usando agua destilada de buena calidad y que posea los mismos compuestos químicos que el agua de mar natural.

Objetivos:

General:

- Profundizar en el conocimiento de técnicas o métodos de conservación.

Específicos:

- Determinar a qué concentración de sal contenida en el Agua de Mar Sintética se evita la putrefacción de piezas naturales humana.
- Valorar la eficacia del Agua de Mar Sintética como solución fijadora y conservadora de piezas naturales humanas.
- Valorar si existe ahorro del formol utilizado como parte de estas soluciones.

Material y Método:

Se realizó un estudio sobre técnicas de conservación, descriptivo, observacional, longitudinal y prospectivo de 24 Riñones de cadáveres humanos recogidos del HMC: "Carlos Juan Finlay", previo consentimiento informado de familiares de los fallecidos. Los órganos fueron inyectados y sumergidos en las diferentes soluciones de Agua de mar sintética por un término de 3 meses.

Se realizó el análisis estadístico empleando métodos no paramétricos. Se utilizó el paquete Statística versión 6.1. Se calcularon las medias, desviación estándar, sumas de rangos y graficación de las medias. Además se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis y de rangos u de Mann-Whiney.

Tipos variables:

Variable cuantitativa continúa:

- ❖ Grosor del glomérulo: ≤ 0.02 micras: Está conservado.
 ≥ 0.02 micras: No conservado.

Variables cualitativas:

- ❖ Lisis: No hubo: Está conservado.
Sí hubo: No está conservado.
- ❖ Turbidez de la solución:
 - No hay turbidez: está. conservado
 - Hay turbidez: no está conservado.
- ❖ Criterio de exclusión:
 - Cadáveres que estén en avanzado estado de putrefacción.
 - Cadáveres que contengan los riñones afectados por distintas enfermedades renales.
 - Cadáveres de personas con enfermedades infecto contagiosas.

Pasos para la obtención de la solución agua de mar sintética:

- Pesar el Sulfato de Magnesio y de Cloruro de sodio reactivo en la balanza digital.
- Verter en el volumétrico el Sulfato de magnesio y Cloruro de sodio reactivo en 1000 ml de Agua Destilada.
- Agitar la solución hasta lograr que se diluyan los reactivos.
- Medir con el salinómetro la concentración en por ciento, de la solución que se preparó y para ello se utilizará la pipeta.
- Verter la solución obtenida en frasco de cristal.
- Rotular el frasco: agua de mar al X.

Obtención de las soluciones de Agua de mar sintética:

Al 35% ____ Cloruro de sodio: Se añadió 30g
Sulfato de magnesio: Se añadió 12g

Al 55% ____ Cloruro de sodio: Se añadió 50g
Sulfato de magnesio: Se añadió 14g

Al 75% ____ Cloruro de sodio: Se añadió 70g
Sulfato de magnesio: Se añadió 20g

Al 90% ____ Cloruro de sodio: Se añadió 80g
Sulfato de magnesio: Se añadió 25g

Preparación del experimento:

1ra Serie

- Se tomaron 12 envases con la solución de Agua de Mar Sintética, cada uno con concentraciones de ClNa crecientes (35%, 55%, 75% y 90%).
- A estos recipientes se le añadieron formol al 2%.
- El experimento se realizó 3 veces para las diferentes concentraciones de Agua de mar sintética.
- Antes de ser sumergido cada Riñón en el envase correspondiente, fueron inyectados con las soluciones preparadas en los distintos recipientes.

2da Serie

- Se tomaron 12 envases con de Agua de Mar sintética con una concentración de ClNa al 35%.
- Se añadió concentraciones crecientes de formol (2%, 4%, 7% y 10%).
- El experimento se realizó 3 veces para las diferentes concentraciones de formol.
- Antes de ser sumergido cada Riñón en el envase.

Pasos para analizar la estructura histológica de los riñones:

- ✓ Se toma una muestra de Riñón.
- ✓ Llega al laboratorio y se procesa por el procesador de tejido (equipo)
- ✓ Se incluye los tejidos en Parafina (sustancia que le da consistencia al tejido)
- ✓ Luego se corta con un Micrótopo (3 a 4 micra, es un equipo formado por chillas de acero.
- ✓ Luego se colorea con Hematoxilina y eosina (son colorantes). Con esta combinación las estructuras del núcleo toman un color azul intenso o púrpura y prácticamente todas las estructuras citoplasmáticas y sustancia intercelular toman un color rosado..
- ✓ Posteriormente se monta con bálsamo de Canadá (pegamento) en el portaobjeto para luego cubrirlo con el cubre objeto.

Tinción con hematoxilina y eosina:

- ✓ Lavar las secciones con agua corriente, remover precipitaciones de mercurio si fuera necesario.
- ✓ Teñir con hematoxilina durante 5–20 minutos, dependiendo de la tintura que se utilice (se recomienda la hematoxilina de Lendrum).
- ✓ Lavar en agua corriente por 2 minutos.
- ✓ Diferenciar en 0,5% alcohol ácido por algunos segundos. Verificar el nivel de diferenciación bajo microscopio.
- ✓ Si los núcleos están suficientemente teñidos, azular en sustituto de agua corriente de Scott (ver más adelante) durante 5 minutos o como alternativa, en 2% de acetato de potasio (si se utiliza la hematoxilina de Lendrum) durante 5 minutos.
- ✓ Lavar las secciones en H₂O.

- ✓ Teñir en 1% de eosina alcohólica durante 3–5 minutos.
- ✓ Retirar el exceso de eosina enjuagando las secciones en alcohol absoluto.
- ✓ Verificar la tinción con eosina y si fuera satisfactoria, aclarar en xileno.
- ✓ Montar en un medio de resina sintética.

Resultados y discusión

La tabla 1 muestra los valores de la medición realizada a los glomérulos renales a través del microscopio óptico, donde se mantiene constante la concentración de formol (2%) y se varía la concentración salina. Los valores obtenidos en las mediciones fueron menores al parámetro de conservación (0.02 micras), por tanto todas las soluciones empleadas conservan la pieza anatómica, siendo la más efectiva la solución que tiene una concentración de Cloruro de sodio (ClNa) al 55%.

La tabla 2 muestra los valores de la medición realizada a los glomérulos renales, donde se mantiene constante la concentración salina (35%) y se varía la concentración de formol. Constatamos que todos los valores obtenidos en dichas mediciones, fueron menores al parámetro de conservación (0.02 micras), por tanto podemos decir que todas las soluciones empleadas conservan la pieza anatómica (Riñón), siendo la más efectiva la solución que posee 40 cc de formol.

En las muestras no hubo signos de lisis, lo cual puede ser observado en las fotografías. Las soluciones mantuvieron buen grado de transparencia (Ver Foto No.1 y 2).

Conclusiones:

1. Existe conservación de los riñones con la utilización de las soluciones de agua de mar sintética con formol.

2. Se evita la putrefacción de las piezas anatómicas con las concentraciones de sal empleadas en el estudio, siendo las más relevantes las soluciones donde la concentración sal es al 55%.
3. Las soluciones empleadas mostraron transparencia, se mantuvo el color natural de las 24 piezas, se eliminó el olor sofocante del formol
4. Se disminuye el gasto económico del formol al disminuir las concentraciones a emplear del mismo, es decir es más efectivo emplear el formol al 4%.

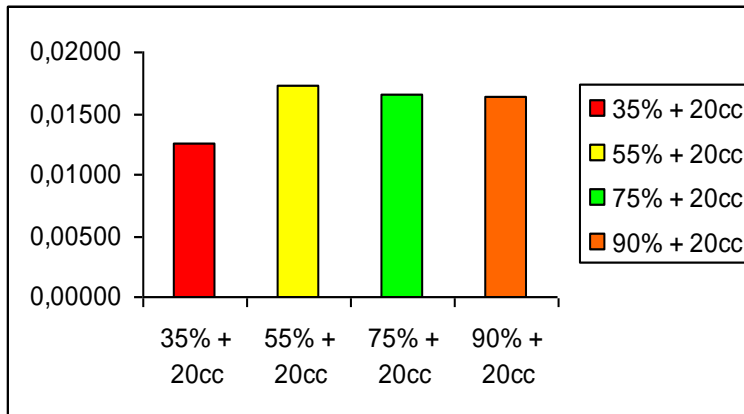
Bibliografía

1. M. Álvarez, J Rubio, J. Jiménez, A. Márquez y A. Mantilla. Aplicación de Complicad como fijador en histopatología humana: estudio comparativo con formaldehído. Rev Esp Patol 199: Vol. 32 No 4: 535-541.
2. D. Méndez. Biodegradación anaerobia de compuestos tóxicos en aguas residuales industriales. Tesis para optar por el grado de Doctor por la Universidad de Santiago de Compostela. 2002
3. Muñiz, E. Rodríguez-Mateo, L. Martínez Rodríguez, R. Gragera, R.R.
4. COMPLUCAD: un nuevo fijador para muestras histopatológicas. 1998.
5. Correa Alarcón, Flavio. Conservación de piezas anatómicas en seco mediante el método de prives Revista Electrónica de Veterinaria REDVET ®, ISSN 1695-7504, Vol. VI, nº 05, Mayo/2005.
6. Bustamante, a. m. f.; Prieto, g. r. h. & Binvignat, g. o. Preservación de placenta humana. Técnica anatómica. **Int. J. Morphol., 25(3):545-548, 2007.**
7. Tanatología / Medicina Forense
<http://www.entornomedico.org/medicos/tanatologiaem/tanatologiaembalsa-index.html> (1 of 7) [22/01/2010 13:11:55]
10. Plastinación. [ttp:/ / www. koerperwelten. com/ en/ pages/ plastination. asp](http://www.koerperwelten.com/en/pages/plastination.asp)
8. Ricardo Jiménez Mejía, Óscar Isaza Castro. Plastinación, una técnica moderna al servicio de la anatomía. vol 18 / No.1 / marzo / 2005.
9. Suazo, G. I. C. & Roa, H. I. J. Anatomía microscópica de las glándulas

- salivales por medio de una técnica histológica convencional y no convencional.
10. J. Morphol., 26(3):689-695, 2008. Almeida, Ileana. Historia del pueblo kechua. Editorial Abya Yala, 2005. ISBS 9978-22-537-4, 9789978225370.
 11. Sentinella, David E. El enigma de las momias: claves históricas del arte de la momificación en las antiguas civilizaciones. Ediciones Nowtilus S.L. 2007. ISBN 84-9763-345-8, 9788497633451
 12. Eberhardt K. Saverland. Grant's Dissector. Ed. 20. Madrid. Editorial Científica Médica. 1999.
 13. Gray, Henry. *Anatomy of the Human Body*. Philadelphia: Lea & Febiger, 2016; Bartleby.com, 2000. www.bartleby.com/107/
 14. H. Rouvière. Anatomía Humana. Descriptiva, Topográfica y funcional. Tomo II. Págs. 465- 476. Ed. 10ma Madrid. 1999.
 15. Coliez (A.): "De la conservation artificielle des cadavres. Historique Technique moderne des embaumements" Th. Paris, 1927. No. 506.
 16. Darwish (N.J.): "Les méthodes des embaumements en Egypte et en China". PV. Toulon, 2015.
 17. Wilder (H.H.) "The restoration of dried tissues with special reference to human remains". Amer. Antropor. 2016, 6-1.
 18. Eurard (J.) "Injection of dead bodies". Lancet, London, 1838, 1 (332).
 19. Bottini (E.). "Conservazioni de organi umani naturali" Giornali della reale Accademia di medicina di Torino, 2015.
 20. Giacomini (C.) "Nuovo processo per la conservazione delle sezioni di cadaveri congelati. Giornale della reale Accademia Medicina di Torino", 2014 (31-3).
 21. Katona (L.): "Methods of preserving anatomical preparations with the assistance of reduced air pressure". Acta Morphol. Acad. Sci. Hung, 2016 (10), (33-46).

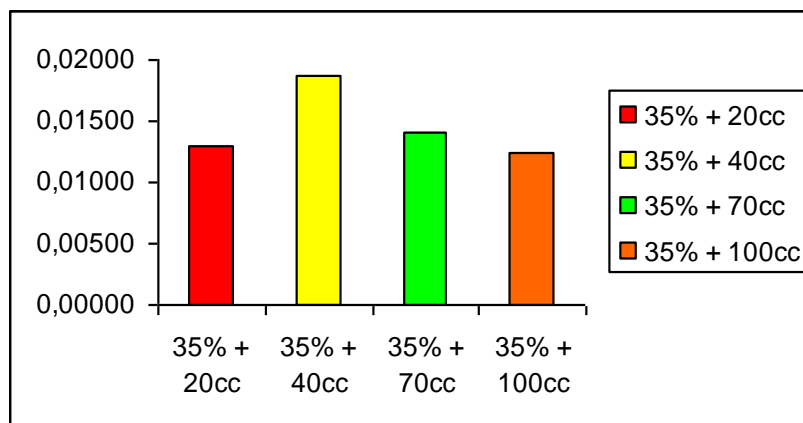
Anexos:

Tabla 1 Medias del grosor de Glomérulos humanos con igual concentración de formol y diferentes concentraciones de Agua de Mar Sintética.



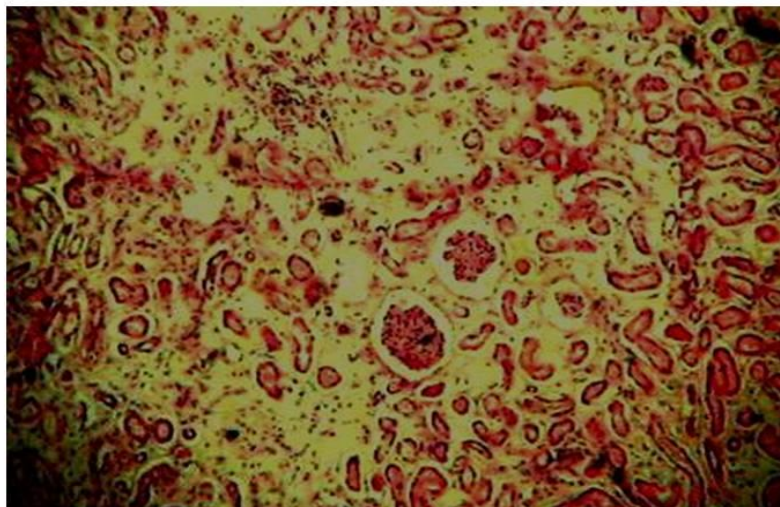
Fuente: ICBP: Victoria de Giron $p= 0.0294$

Tabla 2 Medias del grosor de Glomérulos humanos con igual concentración salina y variable concentración del formol.



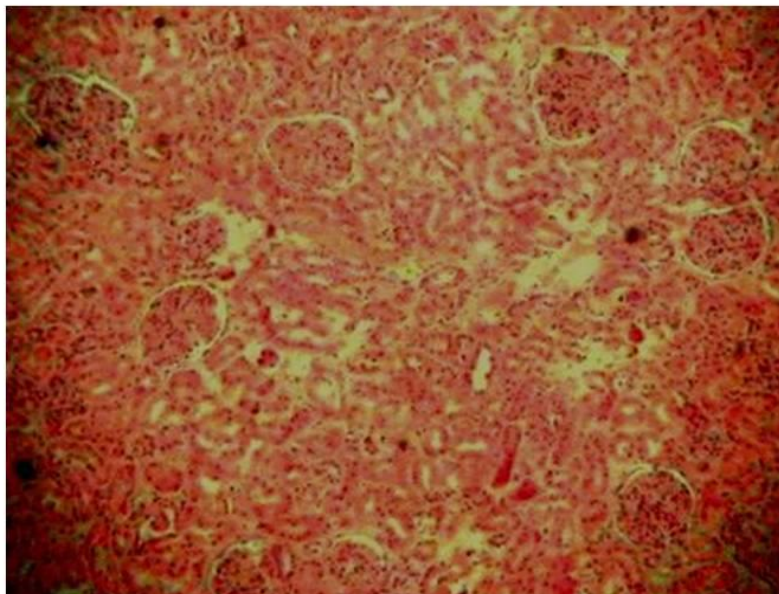
Fuente: Trabajo de investigación $p= 0.0167$

Foto No 1



Fuente: Trabajo de investigación

Foto No 2



Fuente: Trabajo de investigación