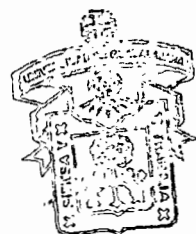


UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Preparación de Cadáveres de Cánidos Completos Mediante Fijación Electroquímica Experimental.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :

Jaime Guillén Mojica

Guadalajara, Jal.

1991.

DEDICATORIAS

Con gran admiración, respeto y orgullo a los seres que más quiero y que me han dado la vida: A ellos que me guiaron con su amor, comprensión, apoyo y buen ejemplo a lograr las grandes metas que hay en la vida y han forjado en mí una profesión para ser hombre de bien y provecho: MIS PADRES.

A mis hermanos y hermanas

Con cariño por ser mis compañeros y consejeros durante el trayecto de nuestras vidas.

A mis familiares y amigos:

Ustedes que me han acompañado en el camino de la vida para mi realización.

A Delia, mi novia:

Que con su amor y dulzura me inspiró a superarme y a no dejarme vencer por el desaliento.

A tí amigo que me alentaste en todo momento durante el desarrollo de mi tesis.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Por todo, lo que mis palabras no pueden explicar. Gracias.

A mis asesores de tesis:

M.V.Z. Jacinto Bañuelos Pineda y
Físico José de Jesús Macías Comparán
por su participación como asesores de la misma y porque sin sus
conocimientos y ayuda no hubiera sido posible el desarrollo de
la presente.

Al M. en C. Joaquin Garcia Estrada:

Por haberme motivado a la realización de este tema.

A los miembros del jurado:

M.V.Z. Ricardo Garcia Cauzor

M.V.Z. Jorge Galindo Garcia

M.V.Z. Gabriel Moreno Llamas

M.V.Z. R. Leonel De Cervantes M.

M.V.Z. Norma A. Sandoval Delgado

Por su valiosa participación.

A mis Maestros:

Por compartir sus conocimientos y
haberme encaminado en mi realización.

EL PRESENTE TRABAJO FUE ELABORADO EN EL
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION CIENTIFICA
Y METODOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD
DE GUADALAJARA.

PREPARACION DE CADAVERES DE CANIDOS COMPLETOS MEDIANTE

FIJACION ELECTROQUIMICA EXPERIMENTAL

I N D I C E

CONTENIDO	Pag.
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION.....	2
a) Antecedentes.....	2
b) Marco Teórico.....	5
c) Planteamiento del problema.....	7
III. HIPOTESIS.....	8
IV. OBJETIVOS.....	9
V. JUSTIFICACION.....	10
VI. MATERIAL Y METODOS.....	12
VII. RESULTADOS.....	17
VIII. DISCUSION.....	23
IX. CONCLUSIONES.....	27
X. BIBLIOGRAFIA.....	28

I.- RESUMEN:

Con base en los conocimientos físico-químicos desarrollados en estudios previos con fijación electroquímica, se elaboró el presente trabajo que tuvo como propósito la preparación de cadáveres completos de cánidos. Para lo cual se utilizaron 8 cadáveres de cánidos de reciente sacrificio y una cámara de fibra de vidrio de 1.9 m de largo por 0.7 m' de profundidad y 0.7 m de ancho. En sus 4 extremos se instalaron porta-electrodos para la inserción de electrodos cilindricos a los que se les hizo llegar corriente eléctrica alterna. La solución fijadora estuvo compuesta por formaldehído, ácido acético y glicerol al 3%, azúcar 20%, azida de sodio al 0.001% y como electrolito ClNa al 1%, aforandose la solución a 300 l. Fue procesado un cadáver a la vez por periodos de ionización de 10-12 hr/día durante 2 a 5 días consecutivos. Los cadáveres fueron tratados de 2 maneras; a) cargados vía gastrointestinal y b) perfundidos vascularmente, para después introducirlos en la cámara. Completado el proceso se sacaron y lavaron en agua. Los animales fijados fueron guardados en bolsas de plástico conteniendo glicerol-alcohol. Dos cadáveres fueron cargados y los 6 restantes fueron perfundidos vascularmente. Los animales cargados con 3 y 5 días de proceso y 53 y 94°C respectivamente resultaron con fijación parcial y descarnado. De los animales perfundidos, tres de ellos con 2 a 5 días de proceso y temperatura mayor a 57°C resultaron en una fijación parcial y descarnado. Los restantes 3 cadáveres con 2 y 3 días de proceso, pero temperatura menor a 56 °C fueron fijados. La fijación parcial y el descarnado obtenido en el primer cadáver procesado obligó a determinar la influencia de las variables tiempo-temperatura. Con los restantes experimentos se descarto a la autólisis enzimática como factor del descarnado, se verificó que la alta temperatura provoca el descarnado del cadáver y se determinó el nivel óptimo de temperatura y tiempo de proceso, también se demostró que el proceso electroquímico resulta lento para detener la autólisis enzimática y desarrollo bacteriano producidos en las primeras horas de proceso. De lo anterior se concluye que temperaturas mayores de 56°C provocan el descarnado del cadáver independientemente de si es cargado o perfundido y en temperaturas menores es posible fijarlo, aunque hasta el momento previamente perfundido. Asimismo, por los resultados obtenidos la solución fijadora resultó un medio estéril. Sin embargo, es necesario hacer mas estudios que conduzcan a conocer con mas precisión la fijación electroquímica de cadáveres.

II.-INTRODUCCION:

a) Antecedentes:

Existen diferentes métodos para preservar tejidos para estudio histológico, la mayoría tienen en común la necesidad de preservar la citoarquitectura y favorecer la posterior tinción, generalmente se requieren especímenes pequeños que son fácilmente fijados por su espesor de menos de 1 cm³ (3), sin embargo para la preparación de cadáveres completos es necesario recurrir a métodos diversos como la infiltración tisular con fijadores químicos, fijación por inmersión o el embalsamado (1,5), asimismo es posible utilizar el sistema vascular para la fijación inmediata de todos los tejidos corporales (4), sin embargo para esto se requiere que no hayan transcurrido más de 30 min. después de la muerte somática, con este método de perfusión se logra una mucho mayor calidad de los tejidos ya que se reduce el tiempo de autólisis entre la muerte y la fijación (4).

Actualmente en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnica de la Universidad de Guadalajara se practica una técnica de fijación de cadáveres completos de cánidos con la cual es posible conservar los cadáveres por periodos de cuatro meses sin necesidad de refrigeración, asimismo no se requiere que estos se encuentren sumergidos en formol. Esta técnica se inicia con el desangrado del animal y lavado posterior del sistema cardiovascular por vía carótida o femoral con solución salina mediante el aparato de venoclisis. Posteriormente se perfunde vascularmente con una solución fijadora previamente

preparada conteniendo alcohol, glicerina, formol, ácido fénico y esencias aromáticas. Después se rasura el cadáver y se impregnan lienzos con solución alcohol-glicerol hasta cubrir el cadáver, envolviendolo después con una bolsa de plástico. Una vez hecho lo anterior se dejan pasar 15 días para realizar la primera disección.

Recientemente en la misma Facultad se desarrolló un método de fijación electroquímica para la preparación de encéfalos humanos y de animales mediante el cual se preserva el tejido en 36 h, tiempo considerable menor en comparación con los 6 a 8 meses que normalmente se requieren cuando se fija el encéfalo mediante inmersión (1,4,10), con base en el conocimiento de los distintos elementos fisicoquímicos que influyeron para hacer posible lo anterior, resulta factible extrapolar el principio para la preparación de material mucho más voluminoso que el cerebro, como cadáveres completos de canidos. Para este propósito es necesario determinar si este proceso confiere las mismas características de preservación tisular con lo que se conseguirán las siguientes ventajas:

- a) Menor tiempo para la fijación.
- b) No será necesario mantener al cadáver inmerso en formol ni será necesaria refrigeración.
- c) Ahorro de soluciones fijadoras.
- d) Los tejidos conservan sus dimensiones anatómicas originales.
- e) Pueden conservarse los cadáveres en bolsas herméticas de plástico, con una atmósfera húmeda generada en su interior mediante una mezcla de alcohol-glicerol, sin que se produzca

deterioro por deshidratación u oxidación, aparte de que se requerirá menos espacio.

Lo anteriormente señalado ya ha sido demostrado con preparaciones de encéfalos que se conservaron sin ninguna manifestación de deterioro por periodos mayores de 1 año.

Por otra parte, se pretende fijar las vísceras en su posición anatómica original, con lo que se facilitará la enseñanza a estudiantes de anatomía y patología.

b) Marco Teorico:

Existen métodos alternativos para la preparación de tejidos, órganos y cadáveres completos (6-11), sin embargo éstos conllevan implicaciones técnicas, por lo anterior y con base en el conocimiento del principio de fijación electroquímica se asociaron diferentes elementos:

- Actividad química de los radicales dialdehído del formaldehído que se liberan con el calor y reaccionan con los compuestos químicos tisulares.

- Descomposición electrolítica que sufren los azúcares presentes en la solución ionizada y por el calor, mediante lo cual se liberan grupos aldehídos que actúan en forma semejante a los fijadores aldehídicos.

- Aceleración de las reacciones entre la mezcla fijadora y los tejidos por la elevada osmolaridad y la electrólisis.

- Alteraciones osmóticas que resultan en los tejidos por los fenómenos de difusión simple de la solución en la que se encuentran inmersos.

- Efectos sobre la capacidad electroconductiva de los tejidos que se incrementa por la penetración de los electrolitos ionizantes.

Los parámetros anteriores pueden modificarse mediante la variación de voltaje (110 a 150 v), distancia interpolo, concentración de electrolito, tipo de electrodos (carbón mineral) y superficie inmersa de éstos en la solución ionizada; relación peso del material/volumen de la solución

fijadora, osmolaridad, curvas de ascenso y descenso de la temperatura y velocidad de descomposición del electrolito.

c) Planteamiento Del Problema:

Hasta el presente no se han comprendido con claridad los efectos que causa en los tejidos el paso de la corriente eléctrica, este principio resulta útil para la desmineralización de material óseo en poco tiempo, para lo cual se usan sustancias como el ácido etilen-diamino-tetraacético (E.D.T.A.), ácidos orgánicos o minerales. Este principio también se utiliza para acelerar el paso de fármacos u otros compuestos polares a través de la piel con propósito terapéutico (Cataforesis).

Aparte de los experimentos realizados en el Dpto. de Neurociencias de la Fac. de Medicina y el Dpto. de Investigación de la Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara acerca de la fijación electroquímica de cerebros y desechos de pescadería, no se ha utilizado la corriente eléctrica con el propósito de fijación de otros tejidos de diferente consistencia, lo cual es el principal propósito del presente estudio, en el que además se provocará simultáneamente un efecto hiperosmótico que acelere el recambio de fluidos tisulares en los cadáveres, con lo que será posible su conservación prolongada sin que pierdan sus propiedades físicas.

III.- HIPOTESIS:

Si mediante fijación electroquímica se acelera la penetración de fijadores a los tejidos y se induce la polimerización parcial de los mismos, luego entonces es posible preparar cadáveres completos de cánidos en corto tiempo, con características tisulares que los hagan aptos para el manejo práctico y además conservarlos por largos periodos sin refrigeración.

IV.- OBJETIVOS:

GENERAL:

Aplicar el proceso electroquímico experimental con el fin de desarrollar un sistema alternativo para la preparación de cadáveres de cánidos completos, destinados a la enseñanza anatómica y prácticas de diagnóstico patológico.

ESPECIFICOS:

- 1 Obtener cadáveres de cánidos con el método de fijación electroquímica de tal forma que no resulten irritantes para la piel y mucosas del operador.
- 2 Analizar las características morfométricas resultantes del material orgánico tratado al finalizar el proceso.
- 3 Evaluar el tiempo de preservación del material orgánico fijado al término del proceso electroquímico.

V.- JUSTIFICACION:

Mediante electrólisis se aceleran las reacciones que suceden entre los fijadores químicos en contacto con los tejidos, por lo que se pueden preparar cadáveres completos en poco tiempo, sin que se afecte la estructura anatómica.

El principio en el que se fundamenta esta propuesta está basado en la aceleración de la velocidad de penetración de los fijadores convencionales (aldehídos) por efecto de la temperatura y la hiperosmolaridad del compuesto, además de la liberación de radicales libres por descomposición electrolítica.

Tampoco se requiere de equipo especial para el procedimiento, de esta manera puede disponerse de un mayor número de especímenes de buena calidad para conservarlos a temperatura ambiente sin necesidad de mantenerlos sumergidos en soluciones fijadoras, ni utilizar refrigeración, aparte de que se reutilizarían las soluciones por varias ocasiones, una vez que se hayan adicionado los volúmenes necesarios de las sustancias que se hayan consumido, lo que implica un ahorro económico considerable.

También cabe mencionar que la previa perfusión del animal sería de mayor conveniencia para el presente estudio, pero debido a la necesidad de experimentar el método mencionado por primera vez en cadáveres de cánidos (se han hecho estudios preliminares en cerebros de cánidos), resulta conveniente determinar la capacidad fijadora del proceso bajo las

especificaciones de concentración y carga eléctrica conocidas, como uno de los principales objetivos del presente estudio.

Es importante mencionar que una de las justificaciones primordiales del presente procedimiento radica en que los prosectores no sufrirán daños a corto y largo plazo en mucosas y ojos, ya que mediante la técnica propuesta, una vez procesado el cadáver se eliminarán completamente los residuos de aldehídos que han sido descritos como altamente cancerígenos (su uso se ha restringido en países desarrollados). Por otra parte, las propiedades plásticas que confiere este proceso a los tejidos, posibilitará el uso de prácticas quirúrgicas como disección y sutura.

VI.- MATERIALES Y METODOS:

Para este estudio se utilizaron 8 cadáveres de cánidos de reciente sacrificio y aproximadamente 20 kg de peso corporal, procedentes del Centro Antirrábico Municipal. Inmediatamente después del sacrificio (sobredosis anestésica) de los animales, fue retirado el pelo por medio de una rasuradora eléctrica, con el fin de facilitar el paso de la solución fijadora. Después se procuró que los cuerpos conservaran sus vísceras en las cavidades torácica y abdominal, así como el cerebro en la caja craneal.

Para realizar el procedimiento experimental se utilizó una cámara de fibra de vidrio de 1.9 m de largo por 0.7 m de profundidad y 0.7 m de ancho, con un aditamento en el fondo para mantener el cuerpo sumergido mediante el uso de una correa sujetadora de material plástico, resistente al tratamiento.

En cada uno de los cuatro extremos de la cámara se instalaron porta-electrodos de cobre para la inserción en su interior de electrodos cilíndricos de carbón inorgánico de alta electro-conductividad, de 27 cm de longitud y 0.8 mm de diámetro, a los cuales se les hizo llegar corriente eléctrica alterna de 120 voltios a través de un regulador de voltaje con capacidad máxima de 150 v. Sobre la cámara se colocó una tapa de fibra de vidrio de ajuste hermético que evitó la emisión de gases. En la parte central más baja se instaló un termómetro de carátula con escala de 0 a 100 °C para continuamente registrar la temperatura.

La solución fijadora estuvo compuesta por una mezcla de Formaldehído (comercial) al 3% , ácido acético al 3%, azúcar al 20%, azida de sodio al 0.001% y glicerol 3.0 %. Se prepararon 300 litros de la mezcla anterior, en la cual las sustancias descritas fueron disueltas en agua, en relación 1:1 vol/vol. Como electrolito se utilizó una solución acuosa de ClNa al 1%, de la cual se agregó el volumen suficiente para ionizar la mezcla anterior y conferirle una adecuada electroconductividad, por lo cual se mantuvieron totalmente sumergidos los electrodos de carbón y se utilizaron 120 v de corriente eléctrica. Bajo estas condiciones se estableció una curva de ascenso de la temperatura para que en alrededor de 12 h el cadáver alcanzara por lo menos 53° C (temperatura corporal interna), o una temperatura mayor cuando así se requirió, pero sin sobrepasar 94 °C.

Fue procesado un solo cadáver a la vez, por lo que se sujetó al fondo de la cámara para evitar su flotación, la cual se indujo por la elevada osmolaridad de la solución y permitió la penetración de la solución fijadora por los orificios naturales, con ésto se consiguió el contacto del fijador con la totalidad de la superficie de los tejidos, ya que el cuerpo se cubrió totalmente. Fue sometido a períodos de ionización de 10 a 12 h por cada día, durante cinco días consecutivos para los dos primeros animales y a dos o tres días en los posteriores cadáveres.

Antes de ser sometido al proceso electroquímico, los cadáveres se colocaron en posición decúbito ventral donde se

introdujo solución fijadora por medio de una jeringa de 20 ml. en el espacio intervertebral a nivel lumbar.

Lo anterior tuvo el propósito de fijar el encéfalo y la médula espinal a través del espacio subaracnoideo y las cavidades ventriculares sin practicar craneotomía.

Después se colocó el cadáver en decúbito dorsal, por lo que mediante una sonda gástrica se introdujo solución fijadora directamente en el interior del estómago hasta que se observó el egreso de la misma por el ano y se fijaron catéteres rígidos en la pared abdominal mediante separación de los músculos rectos abdominales y a nivel de la zona inguinal (2).

Lo anterior tuvo por objeto lograr una doble difusión del fijador; desde el lumen del tubo gastrointestinal y desde el espacio peritoneal, para detener la autólisis postmortem que sucede rápidamente por la presencia de una gran cantidad de bacterias en el lumen intestinal, lo segundo se logró una vez que el cuerpo estuvo sumergido en la cámara.

Asimismo antes de introducir el cadáver en la cámara, se dejó instalada una sonda endotraqueal que sobresalió del nivel de la solución fijadora una vez que el cuerpo se hubo sumergido en la cámara, por lo que los vapores que se generaron por la elevación de la temperatura se difundieron libremente hacia el interior del árbol respiratorio y se fijó el tejido pulmonar sin el uso de líquidos.

A fin de lograr una adecuada fijación de los tejidos la temperatura debió ascender lentamente por lo que las capas más superficiales de los tejidos se fijaron y actuaron como una

barrera protectora para el ascenso gradual de la temperatura, los ciclos, preferentemente, se establecieron de 10 a 12 horas de duración.

La conservación de la temperatura en la solución tuvo por objeto acelerar la velocidad de difusión del fijador, lo cual también se logró por la elevada osmolaridad de la solución, debido a la presencia de azúcares incristalizables, además se provocó la dilatación de la masa muscular y se facilitó la entrada del fijador sin que se produjeran daños térmicos a los tejidos más sensibles. También se aumentó la cantidad de vapores con efecto fijador para el sistema respiratorio. Este procedimiento se repitió en dos cadáveres, puesto que los demás animales fueron perfundidos vascularmente con la misma solución fijadora. La perfusión consistió en la disección del canal yugular para exponer la vena yugular y la arteria carótida. Una segunda disección se realizó para obtener la vena y arteria femoral. A través de estos conductos se hizo llegar primeramente solución salina fisiológica por medio de un aparato de perfusión y hacer el lavado completo del sistema vascular, lo cual se determinó al observar la salida de solución lavadora sin sangre por las vías femoral, carótida y yugular. De la misma manera se introdujo la solución fijadora hasta observar su salida por las vías mencionadas, inmediatamente después se introdujo el cadáver a la cámara.

Una vez completado el tratamiento electroquímico del cadáver, este se mantuvo en agua por espacio de 24 horas para eliminar los restos del fijador y evitar la oxidación de los

tejidos. Después el cuerpo fue conservado en una bolsa hermética de plástico en cuyo interior se generó una atmósfera húmeda mediante estopas impregnadas de una solución de glicerol-alcohol en relación 60:40.

Regularmente se examinó el cuerpo para identificar la presencia de hongos o el inicio de descomposición de los tejidos. Las bolsas con el cuerpo se mantuvieron a temperatura ambiente por un período de 2 meses. En los cadáveres fijados se hicieron disecciones en tejidos con diferente profundidad con el objeto de evaluar la calidad de la fijación de los diferentes órganos, asimismo, se evaluó el grado de preservación tisular, características físicas de los órganos; coloración resiliencia, textura y conservación de su morfología original.

La misma mezcla fijadora fue reutilizada en seis ciclos de procesamiento consecutivos y a través de éstos se llevó un registro de la velocidad de ascenso de la temperatura, esto sirvió como un indicador de electroconductividad de la solución; cuando esta se redujo notablemente, se agregó la cantidad necesaria de electrolito para restaurarla.

VII.- RESULTADOS:

Una vez preparada y vaciada la solución fijadora en la cámara, se procedió a tomarle el pH que resultó de 2.24. Posteriormente, después de varios días de proceso el pH fue de 3.11.

El primer animal procesado solo fue cargado con solución fijadora por el tubo digestivo y canal intervertebral, fue tratado durante un total de 120 hr en la cámara de fijación, 60 de las cuales permaneció con corriente eléctrica. La temperatura osciló entre 22 y 94°C (Grafica # 1), y el amperaje de 7 a 22 amperes (Grafica # 2). Como resultado se obtuvo el descarnado del animal y la fijación parcial del mismo ya que algunos órganos, como el corazón, hígado y bazo se observaron íntegros. Los pulmones se encontraron completos, fijados y parcialmente elásticos, su coloración se tornó oscura y en su interior se apreciaba el árbol circulatorio (debido a la sangre fijada) y las estructuras bronquiales. El encéfalo y médula espinal se conservaron unidos en su posición natural y mostraron consistencia plástica. Notorio fue que la médula espinal fue extraída íntegra. La piel se mantuvo íntegra pero friable. No hubo desprendimiento de pelo, ni de uñas. El tejido muscular permaneció parcialmente íntegro, aunque con pérdida de cohesión en sus haces sobre todo fragilidad del tejido de inserción musculo/esquelético. Los huesos se obtuvieron casi completamente desprovistos de tejido blando, pigmentados (por

el calentamiento del azúcar de la solución) y con contenido parcial de grasa.

El segundo animal, el cual sólo fue perfundido vía carótido-yugular y femoral con la misma solución fijadora, se mantuvo igualmente por 120 hr en la cámara de proceso electroquímico y con 60 hr con corriente eléctrica. La oscilación térmica y del amperaje fue semejante al anterior experimento. El resultado obtenido en éste experimento fue el descarnado y fijación parcial del cadáver, con características similares que el animal anterior.

El tercer animal, también sólo perfundido, se mantuvo 17.5 hr con corriente eléctrica en la solución fijadora durante 2 días. La temperatura osciló de 25 a 53°C, y la fluctuación del amperaje de 8 a 17 amperes. Al final del proceso el animal no mostró signos de descarnado y se encontró íntegro y firme. Después fue lavado en agua durante 48 hr para quitar el exceso de fijador y posteriormente se incidió para su revisión. La piel fue bastante resistente y elástica, así como el tejido muscular, el cual fue bastante manejable. También se observó líquido claro extravasado en el tejido celular subcutáneo y solución fijadora en las cavidades abdominal y torácica.

Todos los órganos se encontraron intactos en su posición anatómica y de consistencia firme (hígado y bazo). El intestino presentó consistencia firme y elástica, los pulmones fueron de textura suave y elástica, de una coloración grisácea. Este animal se conservó en una bolsa de plástico que contenía en su interior una solución de glicerol-alcohol 60:40 y cerrada

con cinta adhesiva para guardar la humedad del cadáver durante los 2 meses que duró su conservación.

Únicamente a los dos primeros animales, les fue retirado el pelo antes de su introducción a la cámara ya que se consideró que este no interfería en la conducción de la corriente eléctrica y penetración de la solución, en base a los resultados obtenidos en los primeros experimentos.

El cuarto animal fue perfundido por la misma vía que los anteriores, permaneció 35 hr en la cámara electroquímica durante 3 días. La temperatura osciló entre 26 y 76°C y el amperaje entre 8 y 19. Al término del proceso se produjo la fijación parcial y el descarnado del animal con características similares a los primeros experimentos.

También se perfundió el quinto animal y recibió en total 23.5 hr de tratamiento electroquímico durante 3 días. La temperatura osciló de 26 a 56°C, con un amperaje de 8 a 17.5 amperes.

Este animal fue cambiado de posición en la cámara al segundo día de tratamiento electroquímico, ya que flotaba una considerable región costal. Al sacar el animal se observó fragilidad de la piel, principalmente en su tercio posterior. Después se colocó en agua por espacio de 24 hr. Al incidir el cadáver, los músculos de la región abdominal presentaron disminuida su resistencia, pero los de otras regiones corporales mostraron consistencia semejante al cadáver anteriormente fijado. El estómago solo presentó pérdida de tejido de la región fúndica y sus haces musculares fueron poco

resistentes, a diferencia de los intestinos que presentaron sus tejidos completos y firmes. El hígado y pulmones estaban completos aunque de consistencia friable. El corazón presentó ventrículos y aurículas de consistencia firme, aunque las aurículas de textura suave. Este animal, al igual que el tercero se depositó en una bolsa cerrada hermética y con solución de glicerol-alcohol.

El sexto animal no fue perfundido, pero si cargado el tubo digestivo y canal intervertebral, con un total de 20 hr de tratamiento. Fue sometido al proceso electroquímico por espacio de 3 días a temperatura que osciló entre 26 y 53°C y el amperaje de 8 a 17 amperes.

Después de esto, fue extraído el cadáver completo de la cámara a excepción de algunas pequeñas fisuras de la piel y músculo del torax, la piel fue de consistencia blanda y friable, el músculo de consistencia blanda, fácilmente desprendible de su inserción y de color rosado. Este animal no se diseccionó debido al intenso olor putrefacto manifiesto a los pocos minutos de la extracción de la cámara posiblemente debido a la presencia de ácido sulfhídrico formado por bacterias en las primeras horas del tratamiento electroquímico.

El séptimo cadáver únicamente perfundido, se mantuvo 26 hr con procesamiento electroquímico durante los 2 días que permaneció en la cámara. Alcanzó una temperatura máxima de 52 °C y un amperaje que fluctuó entre 7.5 y 16. Después se extrajo de la cámara y lavó con agua corriente, se observó en

aceptables condiciones de fijación por lo que posteriormente se introdujo en una bolsa de plástico, junto con la mezcla de glicerol-alcohol 60:40.

El animal 8º, también sólo perfundido se mantuvo un total de 45 hr con corriente eléctrica en 2 días de proceso. Tuvo una oscilación térmica de 28 a 57 °C y amperaje de 10 a 17.5. Al final del proceso se obtuvo la fijación parcial y el descarnado del animal (Cuadro No. 1).

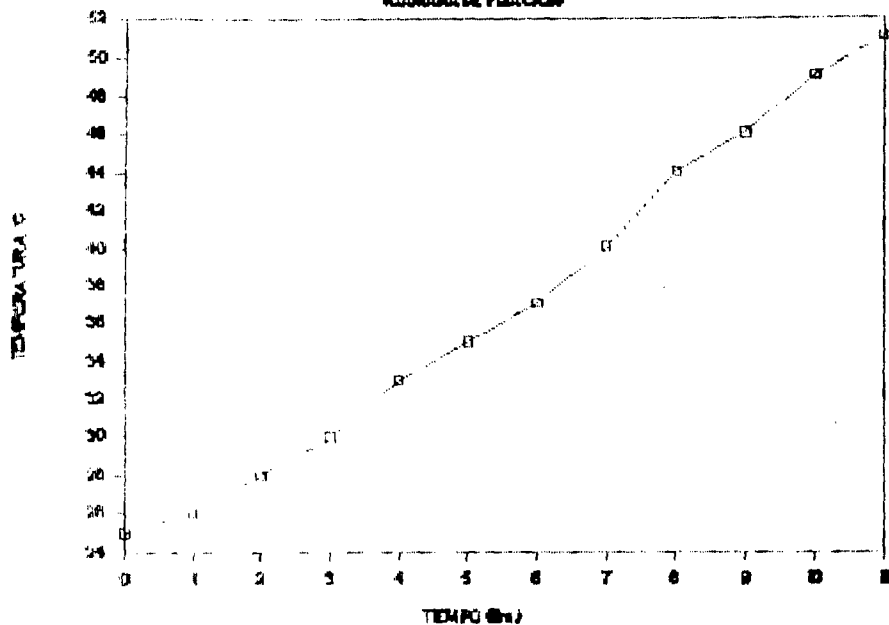
Conjuntamente a los experimentos anteriores se comprobó si las bacterias presentes en el cadáver eran capaces de sobrevivir en la solución fijadora, para esto se introdujo un tubo de diálisis cerrado en sus extremos que contenía cultivos de colonias de salmonella spp., dentro de la cámara, en la que se aplicó corriente eléctrica por 12 hr. Al sacar la cinta de la cámara se observó el efecto hiperosmótico de la solución fijadora, al encontrarse la cinta llena de esta solución. La muestra fue llevada al laboratorio de bacteriología de esta Facultad donde una parte fue incubada a 37 °C en caldo de tetrionato y en caldo selenite-cistina. Al no observarse turbidez (indicio de crecimiento bacteriano) en los caldos y para confirmar la negatividad de las muestras, se realizaron siembras de los caldos en placas con la utilización de medios de cultivo agar-verde brillante y agar-sulfito de bismuto, de lo cual se obtuvieron resultados también negativos.

Como se sabe, las bacterias del género salmonella crecen en una temperatura mínima de 6.7 °C y una máxima de 45 °C, y un pH mínimo de 4.5, también se conoce que estas bacterias se

desarrollan en condiciones óptimas a 37 °C, aunque se ha demostrado en otros estudios que crece mejor a 42 °C (12). En base a esto se procedió a repetir la misma metodología anteriormente descrita con la segunda parte de la muestra pero esta vez sometida a una temperatura de 42°C. En este segundo procedimiento el crecimiento bacteriano fue completamente negativo. Para confirmar estos resultados, fue repetido el experimento de supervivencia bacteriana y el resultado fue similar (Cuadro 2).

CURVA DE ASCENSO DE TEMPERATURA

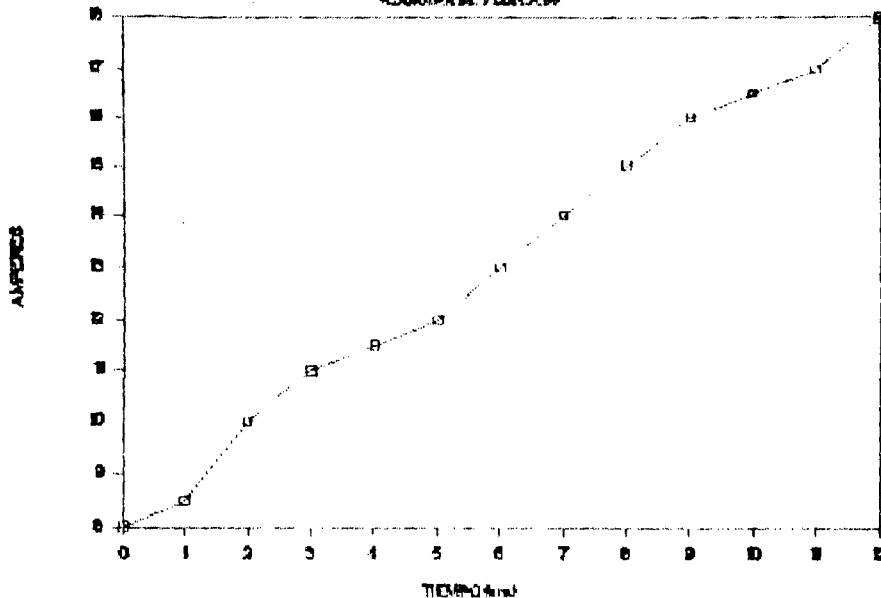
CAMARA DE FIJACION



Gráfica 1. Muestra el ascenso progresivo de la temperatura de la solución fijadora. En 11 horas de proceso electroquímico continuo, fue alcanzado el punto máximo.

CURVA DE ASCENSO DEL AMPERAJE

CAMARA DE FLUCCION



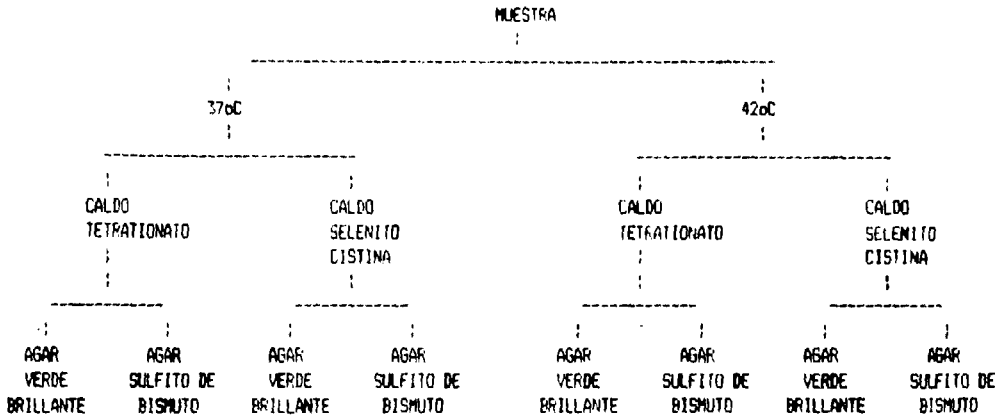
Gráfica 2. El comportamiento del amperaje producido durante el proceso electroquímico fue similar al de la temperatura (progresivo). Solo que aquí el punto máximo alcanzado fue a las 12 horas.

CUADRO DE RESULTADOS

EXPERIMENTO	PERFUSION	CARGADO	TOTAL DE Hrs	DIAS DE PROCESO	TEMPERATURA	AMPERAJE	RESULTADO
1	NO	SI	60	5	22-94oC	7-22	Fijación parcial y descarnado
2	SI	NO	60	5	22-94oC	7-22	Fijación parcial y descarnado
3	SI	NO	17.5	2	25-53oC	8-17	Fijado
4	SI	NO	35	3	26-76oC	8-19	Fijación parcial y descarnado
5	SI	NO	23.5	3	26-56oC	8-17.5	Fijado
6	NO	SI	20	3	26-53oC	8-17	Descarnado
7	SI	NO	26	2	24-52oC	7.5-16	Fijado
8	SI	NO	45	2	28-57oC	10-17.5	Fijación parcial y descarnado

Cuadro 1. Resume el manejo, comportamiento y resultados obtenidos durante el proceso electroquímico del total de los experimentos realizados en este estudio.

PRUEBA BACTERIOLOGICA



Cuadro 2. Muestra la metodología seguida para realizar la prueba bacteriológica, la cual resultó negativa tanto en medios de cultivo líquidos como sólidos.

VIII. D I S C U S I O N

El resultado inesperado obtenido del primer experimento (fijación parcial y descarnado del cadáver), hizo necesario determinar la influencia de las principales variables que participaron en el proceso electroquímico (especialmente la temperatura y tiempo de exposición), ya que estas fueron determinantes para provocar los diferentes efectos observados en los tejidos. Por lo anterior se modificó la metodología originalmente propuesta, ya que con las condiciones del primer experimento no se logró la preservación adecuada del animal.

El segundo experimento tuvo como finalidad principal valorar la influencia de la temperatura y el tiempo de exposición sobre la fijación del cadáver. Para reducir la variable (autólisis del tejido) se utilizó un animal perfundido. Los resultados obtenidos fueron semejantes a los del primer experimento en el que solamente se introdujeron las soluciones en el tubo digestivo, cavidad peritoneal y espacio subaracnoideo. Después de completar el tratamiento el cuerpo se encontró parcialmente fijado y descarnado.

Por lo anterior, con los resultados del tercer experimento en el que la temperatura máxima no sobrepasó los 53°C el cadáver resultó adecuadamente fijado, con lo que se comprobó que la temperatura elevada (70-80° C) fue el principal factor que provocó el descarnado (13), este efecto térmico destructivo fue favorecido por la hiperosmolaridad de la solución y la excitación provocada en los tejidos una vez que se impregnaron por el electrolito.

El cuarto y quinto experimento se orientaron a identificar el rango de temperatura y duración del proceso que fueran más adecuados para completar la fijación del animal previamente perfundido. En el primero de estos dos cadáveres la temperatura alcanzó los 76°C, por lo que se produjo el descarnado. Durante el procesamiento del otro animal la temperatura no sobrepasó los 56°C, por lo que los tejidos se fijaron adecuadamente, sin embargo se observaron algunas zonas con indicios de descarnado en la región abdominal, por esta razón determinamos que temperaturas mayores a 56°C durante tres días de tratamiento pueden provocar el descarnado del cadáver.

Tomando como base los experimentos anteriores y con la intención de comprobar la hipótesis del presente trabajo fue procesado el sexto animal, solamente cargado con la solución fijadora en tubo digestivo y espacio ocupado por el líquido cefaloraquídeo. Se obtuvieron resultados adversos respecto a la pretensión originalmente propuesta para este trabajo, ya que el cuerpo resultó parcialmente descarnado y con mal olor, debido a la autólisis enzimática y la producción de ácido sulfhídrico por bacterias de la putrefacción. Con este último resultado se concluyó que la velocidad de penetración de la solución fijadora durante el proceso electroquímico, no fue suficiente para detener el efecto autolítico y crecimiento bacteriano. Factores que se aceleran en las primeras horas de procesamiento del cadáver debido principalmente al incremento

en la temperatura y que posteriormente son inhibidos por el mismo proceso electroquímico.

De esta manera, a través del séptimo experimento se comprobó que la temperatura no mayor a 52-53°C permite conservar la organización estructural de los tejidos blandos, ya que nuevamente fue posible obtener un cadáver adecuadamente fijado.

El último experimento (8º), tuvo la intención de ratificar los resultados mencionados, durante este la temperatura se elevó a 57° C durante dos días, lo que provocó el descarnado del animal.

Debido a la amplia variabilidad de los resultados obtenidos en este estudio sería conveniente realizar otros experimentos adicionales para poder determinar la factibilidad de lograr la fijación de cadáveres frescos mediante el proceso electroquímico sin previa perfusión intracardiaca o intravascular, lo que probablemente se logre en base a modificación de las variables que participan en este proceso. De esta manera podrán obtenerse preparaciones con mayor durabilidad y conservación de sus propiedades de textura y elasticidad para fines didácticos.

Uno de los logros adicionales de este estudio fue el hecho de haber provocado el desprendimiento de las partes blandas de los cuerpos conservando el esqueleto intacto con sus sitios de inserción óseo/cartilaginosa, lo cual tiene diferentes aplicaciones; como un método de obtención sencilla y práctica de esqueletos desengrasados, estables y de color blanquecino

que facilite su estudio por los Médicos Veterinarios en formación o el tratamiento de cadáveres humanos no identificados que han sufrido una acción predatoria de animales silvestres o que por su estado avanzado de putrefacción son difíciles de identificar fisonómicamente, no así por los rasgos estructurales óseos específicos para cada individuo que pueden contrastarse radiológicamente o el estudio mediante clonación del ADN y composición de minerales de los huesos por espectrofotometría de absorción atómica que juntos permiten conocer el sexo, la edad aproximada y el origen étnico de los individuos, además del patrón de arreglo dental que es altamente significativo para fines de identificación debido a que, aún bajo condiciones de incineración los dientes se conservan sin deformarse hasta los 900 °C, sin embargo se requiere del diseño de otra clase de experimentos para lograr este propósito en el menor tiempo posible y sin la necesidad de utilizar ácidos inorgánicos.

IX.- CONCLUSIONES

- 1.- No se logra la fijación del cadáver en fresco previamente fijado cuando se alcanzan temperaturas mayores a 56°C durante tres días de procesamiento experimental.
- 2.- El tratamiento electroquímico por dos días de animales perfundidos a temperatura menor de 53°C provoca la fijación adecuada del animal.
- 3.- Durante el procedimiento se provoca esterilización de los tejidos cuando están completamente embebidos en la solución fijadora.
- 4.- Para lograr la fijación de cadáveres no perfundidos mediante este proceso experimental es necesario realizar estudios adicionales.

X.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- 1 Beach, T. G., Tago, H, Nagai, T., Kimura, H., McGeer, P. L. and McGeer, E. G. 1987. Perfusion fixation of the human brain for immunohistochemistry: comparison with immersion fixation. J. Neurosci. Methods. 19: 183-192.
- 2 Bussolati, G. A. 1978. Fixation-decalcification procedure for bone biopsies. Histopathology. 2: 329-334.
- 3 Cook, S. F. and Conn, H. E. 1962. A comparison of methods for decalcifying bone. J. Histochem. Cytochem. 10: 560-563.
- 4 Feria-Velasco, A. and Karnovsky, M. J. 1970. Preservación óptima del sistema nervioso central por perfusión con glutaraldehído para estudio ultraestructural. Arch. Invest. Med. (Mex.) 1: 201-220.
- 5 Holt, S. J. and Hicks, R. M. 1961. Studies on formalin fixatives for electron microscopy and cytochemical staining purposes. J. Biophys. Biochem. Cytol. 11: 31-45.
- 6 Kiochkov, N. D. 1980. Electron microscopic examination of formalin-fixed autopsy material Arkh. Pathol. 41: 64-66.
- 7 Karnovsky, M. J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. J. Cell Biol. 27: 137 A.
- 8 Leong, A. S. and Durcis, C. G. 1986. A method for rapid fixation of large biopsy specimens using microwave irradiation. Pathology. 18: 222-225.

- 9 Luna, L. G. 1960. *Manual of Histologic Staining: Methods of Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd ed. Blakiston Div. McGraw-Hill Book Comp., New York.
- 10 Simson, R. H. and Berson S. D. 1987. The postmortem diagnosis of diffuse cerebral injuries with special reference to the importance of brain fixation. *S. Afr. Med. J.* 71: 10-14.
- 11 Salas Vazquez M.. 1989. *Técnicas de preparación de piezas anatómicas y conservación de cadáveres completos*. Tesis Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U. de G..
- 12 Ellis, E.M. *Métodos de cultivo para la investigación de salmonelosis y arizonosis animales*. Un manual de la asociación americana de veterinarios especialistas en diagnostico de laboratorio. Editorial Acribia. Pag. # 7.
- 13 Lynch, J.M., Raphael, S.S., Mellor, D.L., Spare, D.P. and Inwood, H.J. 1987. *Metodos de Laboratorio*. Nueva Editorial Americana. segunda edición: 1109-1110.