

ARTÍCULO**Experiencia de la parafinización como método de conservación de piezas anatómicas**

Laura C. Alarcón¹, Samuel M. Álvarez¹, Ana S. Castillo¹, Sebastián García¹, Laura V. Gómez¹, Santiago A. Gómez¹, Johan F. Leal¹, Bryan S. Martínez¹, Natalia A. Martínez¹, Jessica P. Numpaque¹, Stephany K. Rodríguez¹, Silvia Guzmán².

¹. Estudiantes de segundo semestre Facultad de Medicina Universidad Militar Nueva Granada, ². MD. Docente Morfología Universidad Militar Nueva Granada

est.laura.gomez6@unimilitar.edu.co, est.laura.alarcon@unimilitar.edu.co,
est.ana.castillo@unimilitar.edu.co, est.santiago.gomez8@unimilitar.edu.co,
est.johan.leal@unimilitar.edu.co, est.nataliaa.marti1@unimilitar.edu.co,
est.stephany.rodri1@unimilitar.edu.co, est.sebastian.garcia@unimilitar.edu.co,
est.jessica.numpaque@unimilitar.edu.co, est.bryan.martinez@unimilitar.edu.co,
drasilviaguzman@hotmail.com

EXPERIENCIA DE LA PARAFINIZACIÓN COMO MÉTODO DE CONSERVACIÓN DE PIEZAS ANATÓMICAS

RESUMEN

La parafinización es una de las técnicas de elección más seguras y exitosas usada para la conservación de piezas anatómicas cadavéricas, siendo éste el fundamento del presente artículo. El texto pretende exponer la experiencia en la búsqueda de un protocolo adecuado de la parafinización de encéfalo humano y facilitar el estudio de la anatomía humana; este proceso se llevó a cabo en la facultad de medicina de la Universidad Militar Nueva Granada basándose en ensayos previos realizados por estudiantes en el año 2017. Para esto se desarrollaron los pasos de fijación, deshidratación, aclaramiento y parafinización de tres encéfalos. Se concluye que el protocolo usado logra preservar las piezas anatómicas, conservando los accidentes macroscópicos más evidentes del encéfalo como algunas circunvoluciones y cisuras, cuerpo calloso y cerebelo. Sin embargo, se debe mencionar que aquellos accidentes o detalles más pequeños no se logran evidenciar debido a la significativa reducción del tamaño.

Palabras clave: Parafinización, encéfalo, conservación, técnica, anatomía.

Experiencia de la parafinización como método de conservación de piezas anatómicas
Alarcón L, Álvarez S, Castillo A, García S, Gómez L, Gómez S, Leal J,
Martínez B, Martínez N, Numpaque J, Rodríguez S, Guzmán S.

ABSTRACT

Paraffinization is a conservation technique for cadaveric anatomical pieces. This article seeks to expose an appropriate protocol of the human brain paraffinization to facilitate the study of human anatomy; this process was carried out in the medical faculty of the Universidad Militar Nueva Granada and was developed through steps of fixation, dehydration, clarifying and paraffinization of three brains. It is concluded that the protocol used allows to preserve the anatomical pieces satisfactorily, preserving structures of the brain such as: convolutions, corpus callosum and cerebellum.

Keywords: Paraffinization, brain, conservation, technique, anatomy.

INTRODUCCIÓN

La anatomía humana es un elemento fundamental de la medicina; esta se encarga de estudiar la estructura y la relación que hay entre las diferentes partes del cuerpo (1). Es por esto que a través de los años se ha dado la necesidad de desarrollar técnicas que permitan la conservación de piezas anatómicas cadavéricas para un estudio más específico.

La técnica de conservación más utilizada actualmente es la fijación en formaldehído; sin embargo, esta ha evidenciado ser dañina tanto para la salud como para el medio ambiente. Si bien asegura una conservación permanente de la pieza, es mucho más susceptible a daños por manipulación (2). Es por esta razón que se

ha buscado perfeccionar técnicas alternativas como la parafinización que, por falta de información, no es utilizada de manera convencional.

Basados en lo anterior y teniendo en cuenta trabajos previos de estudiantes de la universidad Militar Nueva Granada, la presente investigación pretende describir y analizar la experiencia de la parafinización de encéfalos. De esta manera, dicha información podrá ser tenida en cuenta en la realización de futuros trabajos e investigaciones que requieran de esta técnica para el análisis morfológico. Cabe resaltar que la técnica realizada se basó en las particularidades anatómicas relacionadas a los tejidos que lo conforman.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo del estudio, en primera instancia se revisaron los proyectos realizados previamente en la Universidad Militar Nueva Granada. En ellos se tuvieron en cuenta los procedimientos

llevados a cabo para una posterior corrección y aplicación de estos.

En el estudio *Orientación a la conservación de material orgánico para el estudio morfológico: parafinización del encéfalo de cerdo*, la

ausencia de un recipiente hermético en el proceso de conservación de la pieza provocó la evaporación y contaminación de los reactivos usados en el proceso de parafinización. Así mismo, el uso de parafina de un excesivo bajo punto de fusión causó que la consistencia del encéfalo no fuera la apropiada, siendo esta blanda y poco resistente. Por último, la impregnación insuficiente de la pieza anatómica ocasionó que esta se oxidara y disminuyera su tamaño al haber presencia de tejido no parafinado (3).

Por otro lado, en el artículo *Conservación de piezas anatómicas: parafinización como alternativa al formaldehído*, la refrigeración de la pieza antes de realizar el proceso de conservación generó un aumento del contenido de líquido. Debido a esto, en la etapa de descongelación del encéfalo se produce una gran pérdida de agua, lo que facilita el rompimiento de los enlaces dentro de las células. Además, la inmersión incompleta del encéfalo en la fase de deshidratación evitó que esta se lleve a cabo de forma adecuada, ocasionando que la impregnación de la pieza en alcohol se diera de forma irregular (4).

Del mismo modo, los periodos de deshidratación muy extensos afectaron principalmente el tamaño de la pieza. Finalmente, la alta temperatura de la parafina al momento de la imbibición del encéfalo provocó un cambio de tonalidad y color café oscuro e incluso negro, sinónimo de una estructura anatómica quemada.

Ahora bien, para el desarrollo de este estudio fueron utilizados tres encéfalos, de los cuales uno es de porcino y los dos restantes de humano, uno de lactante menor y otro de adulto, siendo estos dos proporcionados por la Facultad de Medicina de la Universidad Militar Nueva Granada (evidenciados en la Figura No. 1). Durante el procedimiento, se usaron los siguientes materiales: compresas quirúrgicas, recipientes herméticos, vaso de precipitado de 300 mL de volumen, solución de formaldehído al 8%, etanol al 96%, agua destilada, xilol al 100%, parafina de baja fusión, termómetro, regla, plancha de calentamiento y báscula (5).

Una vez definidos los materiales y muestras necesarios para el desarrollo de la prueba, fue posible dar inicio al proceso de parafinización. En este procedimiento se mantuvieron los mismos pasos para las tres estructuras especificadas. Sin embargo, es importante resaltar que los encéfalos humanos fueron cortados tiempo antes del inicio de este estudio, lo cual generó la necesidad de cambiar los tiempos empleados en cada muestra. Esto se debe a que cada una de las etapas tiene como finalidad adecuar las piezas anatómicas para que estas consigan una mejor pigmentación, transparencia y rigidez.

Inicialmente, se realizó una limpieza de leptomeninges en los encéfalos de porcino y de humano mayor. Posteriormente se realizó la fijación con formaldehído al 8% durante 8 días guardando la proporción 1:10 (10 partes de fijador por 1 de muestra) (6); este paso no se llevó a cabo con los

encéfalos de lactante menor y de humano adulto ya que estos fueron fijados previamente y por personal ajeno a este estudio. A continuación, se hizo la deshidratación con etanol, con la finalidad de que la pieza aumente su rigidez, iniciando con una concentración de 70% v/v diluida con agua destilada que se fue aumentando gradualmente a

concentraciones de 80%, 90% y 96%. Si bien en los artículos revisados anteriormente se especificaba la preparación de alcoholes a un porcentaje determinado, se optó por realizar una preparación propia con la finalidad de tener mayor precisión con los porcentajes de concentración.

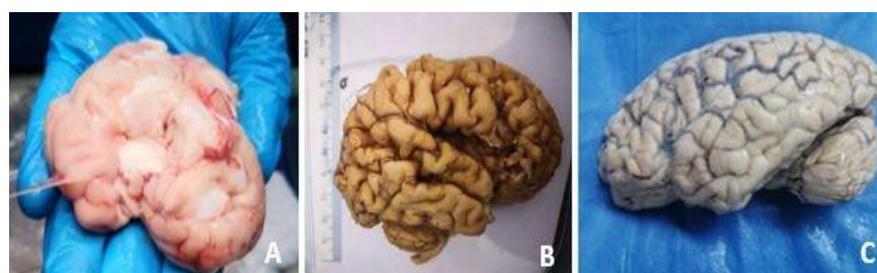


Figura No 1. Encéfalos previos al proceso de parafinización **A.** Encéfalo de porcino. **B.** Encéfalo de lactante menor. **C.** Encéfalo de humano adulto. (Fuente propia)

Para aclarar el tejido, se utilizó xilol a una concentración del 100% para que tome un aspecto transparente y de pigmentación naranja de manera uniforme. Por último, para el proceso de parafinizado, se calentó parafina de baja fusión a una temperatura

de 55-60°C en la que se sumergieron los encéfalos |, manteniendo la temperatura controlada y en constante mezcla durante 6 horas. Una vez finalizado este paso, los excesos de parafina fueron removidos con xilol.

RESULTADOS

Durante el estudio de la técnica de parafinización llevado a cabo en la facultad de medicina de la Universidad Militar Nueva Granada, se contó con 3 encéfalos diferentes, los cuales presentaron variaciones en los resultados

debido a cambios en los procedimientos aplicados a cada uno.

El protocolo usado permitió preservar las piezas anatómicas de forma adecuada. En el caso de los encéfalos humanos, se conservaron las estructuras más notorias

tales como: circunvoluciones, cuerpo calloso y cerebelo (Figuras Nos. 2 y 3); a

diferencia del encéfalo porcino, el cual no cuenta con cerebelo (Figura No. 4).

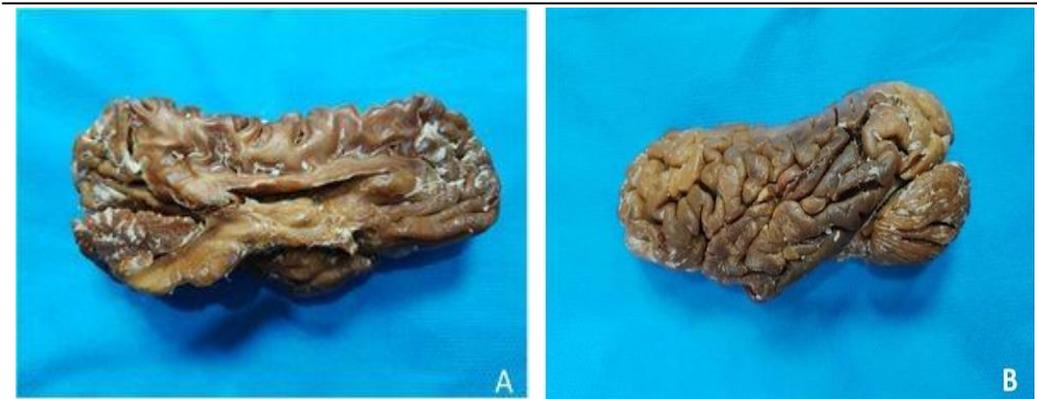


Figura No. 2. Resultado del encéfalo de adulto parafinizado. **A.** Vista medial del hemisferio izquierdo. **B.** Vista lateral del hemisferio. (Fuente propia)

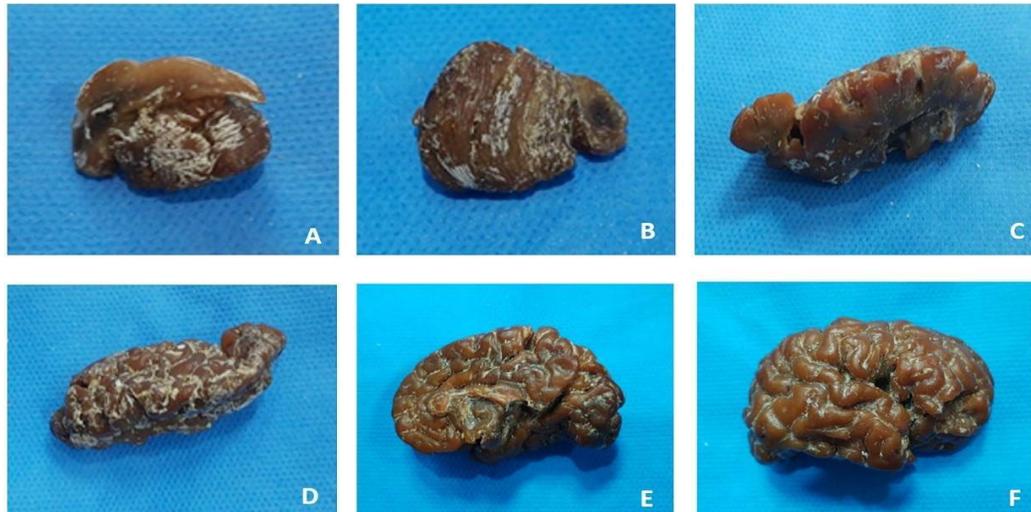


Figura No. 3. Resultado del encéfalo de lactante menor parafinizado. **A-B.** Partes del cerebelo. **C-D.** Parte del hemisferio izquierdo. **E-F.** hemisferio derecho. (Fuente propia)

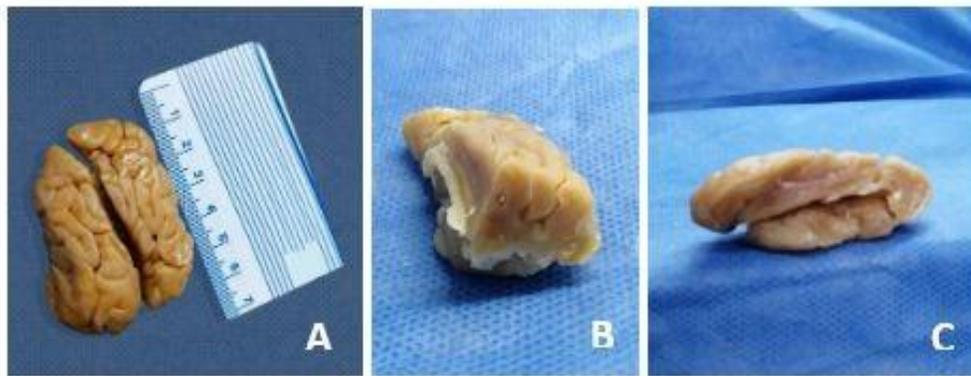
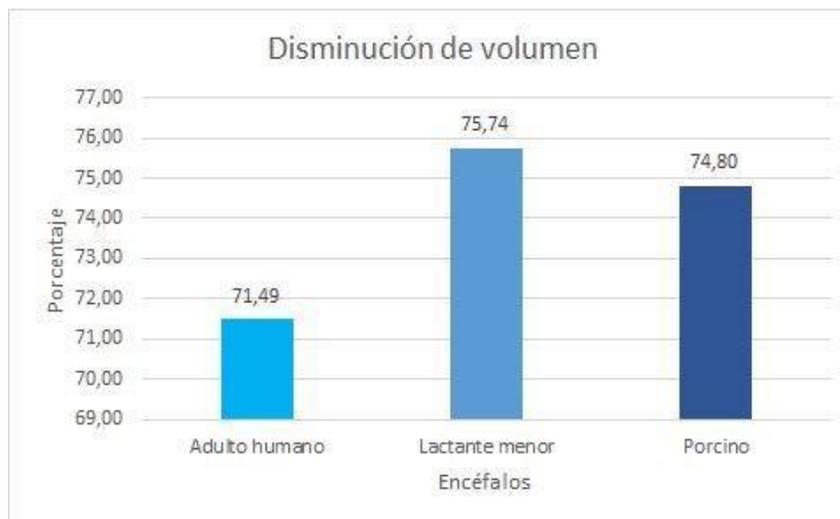


Figura No. 4. Resultado del encéfalo de porcino parafinizado. **A.** Medición del encéfalo. **B y C.** Vista interna del encéfalo. [Fuente propia].

Así mismo, se conservó la diferencia entre sustancia gris y sustancia blanca en el encéfalo humano adulto (Figura No. 2). Al finalizar el proceso, los encéfalos presentaron cambios en sus dimensiones

los cuales se resumen en la tabla 1. Con base en estos resultados se obtuvieron los porcentajes de disminución del tamaño de los encéfalos (Gráfica No. 1).



Gráfica No. 1. Porcentaje de reducción del volumen de los encéfalos teórico, basado en medidas de: alto, largo y ancho. (Fuente propia)

DISCUSIÓN

Tras comparar los resultados obtenidos con las investigaciones previas de los estudiantes de medicina de la Universidad Militar Nueva Granada del año 2017 y 2018, se evidenció que los tiempos de deshidratación influyen en el desenlace de la técnica. Esta etapa resulta decisiva para el desarrollo de los siguientes pasos (7) debido a que este periodo guarda una estrecha relación con el tamaño resultante de la pieza. Tanto estos estudios previos como el protocolo presentado demuestran que a mayor tiempo de deshidratación mayor va a ser la reducción del tamaño que presente la pieza anatómica, como

consecuencia de la pérdida de agua de esta misma.

Lo anterior refleja que, aunque el encéfalo porcino fue el de menor tamaño a lo largo del procedimiento, el encéfalo de lactante menor presentó un mayor porcentaje de reducción. Esta pieza estuvo en deshidratación 21 días y su porcentaje de reducción fue 75%, contrastado con el encéfalo de adulto humano que estuvo 10 días en deshidratación y presentó el menor porcentaje de reducción (71,49%), datos evidenciados en las Tablas Nos. 1, 2 y la Gráfica No. 1.

	<i>Largo [cm]</i>		<i>Ancho [cm]</i>		<i>Alto [cm]</i>	
	<i>Inicial</i>	<i>Final</i>	<i>Inicial</i>	<i>Final</i>	<i>Inicial</i>	<i>Final</i>
<i>Adulto humano</i>	17,5	11,6	4,5	3,6	9,3	5
<i>Lactante menor</i>	10,1	6	3,5	2,7	6,8	3,6
<i>Porcino</i>	7	4,2	2,5	1,5	5	3,5

Tabla No. 1. *Tamaño inicial y final de cada encéfalo.*

Es necesario mencionar que un factor limitante para el análisis de la reducción, en cuanto al volumen de los encéfalos, fue que no se calculó el volumen previo a la aplicación del procedimiento. Por esa razón, se tomó como referencia inicial un

valor teórico del volumen promedio de un encéfalo adulto, ya que es el único de los 3 especímenes utilizados en el estudio del cual se encontró registro científico acerca de estos valores.

	<i>Tiempo empleado en días</i>		
<i>Encéfalo</i>	<i>Porcino</i>	<i>Lactante menor</i>	<i>Humano adulto</i>
<i>Fijación</i>	4	<i>Realizada previamente</i>	<i>Realizada previamente</i>
<i>Deshidratación</i>	16	21	10
<i>Aclaramiento con xilol</i>	4	14	21

Tabla No. 2. Tiempo empleado en cada etapa del proceso de parafinización. (Fuente propia)

De acuerdo con Rosales et al, (2018) el volumen promedio de un encéfalo de adulto es de 1350 cc (8). Sin embargo, se tomó como referencia la mitad de este valor, (675 cc) debido a que en este estudio solo se parafinizó un hemisferio cerebral. El volumen de la pieza parafinizada es de 118cc, por tanto se evidencia una importante reducción del volumen, siendo del 82,51% respecto al valor teórico, porcentaje que no se encuentra muy alejado del obtenido en el presente artículo (71,49%) calculado tomando las medidas iniciales y finales del encéfalo.

Adicionalmente, la disminución del volumen también es proporcional a la cantidad de agua contenida en un tejido. Según la Sociedad Española de Nutrición

Básica y Aplicada (9), la proporción de agua en el cuerpo de un lactante a término es de 69% y en un adulto promedio es de 54,3%, por lo cual es de esperar que la reducción del volumen del encéfalo de un lactante sea mayor que la de un adulto, como se evidenció en los resultados.

Por otro lado, durante la práctica se verificó que es necesario que la pieza anatómica esté sumergida totalmente en los alcoholes para lograr una deshidratación uniforme. Esto se tuvo en cuenta ya que como se afirma en el artículo *Conservación de piezas anatómicas: parafinización como alternativa al formaldehído*, (2017)(4) este fue un factor que impidió obtener resultados óptimos.

CONCLUSIONES

1. Se observó que el protocolo usado en el presente artículo permitió la conservación de las piezas anatómicas que, si bien redujeron su volumen, las características morfológicas se conservaron adecuadamente.
2. Se debe establecer una relación entre el tiempo de deshidratación y las características histológicas del tejido que se va a conservar, como el porcentaje de agua, con el fin de evitar una reducción significativa del volumen de la pieza.
3. Resulta más conveniente que se efectúen los cortes de las piezas anatómicas previamente al proceso de parafinización, ya que se observó que al realizarlos después de este la estructura se ve ligeramente afectada.
4. Se recomienda realizar el procedimiento desde cero para tener control sobre las variables de tiempo y concentración en todos los pasos, asegurando así un mejor resultado, ya que no se observaron los resultados esperados en las piezas que fueron entregadas y previamente manipuladas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. RAE. Anatomía [Internet]. Real Academia Española. 2019 [cited 2020 Mar 13]. Available from: <https://dle.rae.es/srv/search?m=30&w%0A=anatomía%0A>
2. Moncadas, Bartolome. Métodos de conservación cadavérica y sus aspectos legales y sanitarios. 2015
3. Casas Góngora D, Cortés Espinosa J, González González J, Castellanos Chávez D. Orientación a la conservación de Material Orgánico para el estudio Morfológico: Parafinización del encéfalo de cerdo. Bogotá DC; 2017
4. Guzmán Álvarez S, Banda Espinosa V, Camacho Pinto K, Castro Gómez M, Cendales Lóez S, Contreras Ramírez L, et al. Conservación de piezas anatómicas: parafinización como alternativa al formaldehído. Bogotá DC; 2017
5. Riascos R, Aldana D, Ruiz M, Villa F. Técnicas histológicas aplicadas a la docencia en morfología. Rev Repert Med y Cirugía. 2001;10(1):23-6.

Experiencia de la parafinización como método de conservación de piezas anatómicas
 Alarcón L, Álvarez S, Castillo A, García S, Gómez L, Gómez S, Leal J,
 Martínez B, Martínez N, Numpaque J, Rodríguez S, Guzmán S.

6. Acero Mondragón E. Histotecnica: cómo se hace una lámina histológica. Basemedica, educación e investigación en salud.
 7. Eduardo C, Arenas M. 3_Tecnica_Histologica. 2010;1-12.
 8. Rosales-Reynoso MA, Juárez-Vázquez CI, Barros-Núñez P. Evolution and genomics of the human brain. Neurologia. 2018;33(4):254-65.
 9. Iglesias Rosado C, Villarino Marín AL, Martínez JA, Cabrerizo L, Gargallo M, Lorenzo H, et al. Importancia del agua en la hidratación de la población española: Documento FESNAD 2010. Nutr Hosp. 2011;26(1):27-36.
-