



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

## “COMPARACIÓN ENTRE LA IMPREGNACIÓN FORZADA A $-25^{\circ}\text{C}$ Y A TEMPERATURA AMBIENTE EN EL PROCESO DE PLASTINACIÓN DE ÓRGANOS DE ANIMALES”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

SARA MAYORAL ROBLES



ASESORES:

MVZ. SANTIAGO AJA GUARDIOLA  
MVZ. JOSÉ RAMÍREZ LEZAMA

2010



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*“We know how to carry out science by adding parts to other parts; and we are as children standing on the shoulders of giants: we are able to see much farther than antiquity could”*

*Bernard de Chartres*

*Gracias a todos por su apoyo y por su paciencia. . .*

---

# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	1
I. GENERALIDADES	
1. Antecedentes históricos de las técnicas de preparación y conservación más comunes de especímenes biológicos	2
2. Aplicaciones de la técnica de plastinación	12
3. Marco teórico	
3.1 Elementos básicos de un equipo de plastinación	15
3.2 Principio de la técnica de plastinación	18
3.2.1 Fijación	18
3.2.2 Deshidratación	18
3.2.3 Impregnación forzada a -25°C	19
3.2.4 Impregnación forzada a temperatura ambiente	22
3.2.5 Curado	22
4. Objetivo	24
5. Hipótesis	25
II. MATERIALES Y MÉTODOS	
1. Obtención de material biológico	26
2. Fijación	27
3. Deshidratación	27
4. Impregnación forzada	27
5. Curado	30

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFÍA	38

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

	Pág.
Figura 1. Ultracongelador	17
Figura 2. Cámara de impregnación	17
Figura 3. Bomba de vacío	17
Figura 4. Válvula de precisión	17
Figura 5. Columna de mercurio y manómetro de Bennert	17
Figura 6. Cámara de curado	17
Figura 7. Polímeros Biodur S3, S10 y S6	17
Figura 8. Acetonómetro	17
Figura 9. Tasa de formación de burbujas 1	21
Figura 10. Tasa de formación de burbujas 2	21
Figura 11. Tiempo total de plastinación	32
Figura 12. Órganos plastinados a -25°C	33
Figura 13. Órganos plastinados a temperatura ambiente	33
Tabla 1. Raza y edad de perras donadoras	26
Tabla 2. Porcentaje y cambios de acetona	27
Tabla 3. Tasa de disminución de presión a -25°C	28
Tabla 4. Tasa de disminución de presión a temperatura ambiente	29
Tabla 5. Resultados de la evaluación de las características de las piezas sometidas a la etapa de impregnación forzada a -25°C	31
Tabla 6. Resultados de la evaluación de las características de las piezas sometidas a la etapa de impregnación forzada a temperatura ambiente	31

## **RESUMEN**

### **Mayoral Robles Sara**

Esta tesis pertenece a la línea de investigación PAPIME Proyecto EN212804 “Empleo de la plastinación en piezas anatómicas con lesiones en la enseñanza de la patología veterinaria”.

Desde que se diseñó la técnica de plastinación, el polímero más utilizado es el caucho de silicón en la técnica Biodur S10. Ésta es la más difundida en los laboratorios de todo el mundo porque es considerada como el método estándar. Hasta hace algunos años, pocos anatomistas modificaron la técnica mediante el uso de nuevos polímeros y de la técnica a temperatura ambiente.

El propósito de este trabajo fue comparar la etapa de impregnación forzada estándar, realizada a  $-25^{\circ}\text{C}$ , con la realizada a temperatura ambiente. El proceso se realizó en doce órganos reproductores de perras, divididos en dos grupos. Se planteó que con el método estándar los especímenes tendrían una mejor calidad, debido a que se cuenta con más experiencia e información acerca de esta técnica. Sin embargo, los resultados mostraron que no hubo tal diferencia, pues ambos grupos conservaron la estructura anatómica y una buena calidad en el detalle de superficie. Por el contrario, los especímenes sometidos al proceso a temperatura ambiente mostraron mayor flexibilidad y se requirió menos tiempo para su realización.

Las ventajas que mostró el proceso a temperatura ambiente fueron que se requirió menos tiempo para el proceso de plastinación y menos equipo, al eliminar la necesidad de un ultracongelador. La desventaja es que el tiempo de vida de la mezcla de Biodur S10+S3 se reduce a temperatura ambiente, lo cual puede evitarse si se guarda la mezcla en el ultracongelador durante los intervalos de trabajo, o si se mezcla con acetona antes de reutilizarla para un nuevo proceso.

Los especímenes de ambos grupos mostraron el potencial excepcional de la plastinación ya que son modelos didácticos sin olor, no tóxicos y durables, además de que pueden manipularse sin el uso de guantes

## **I. GENERALIDADES**

### **1. Antecedentes históricos de las técnicas más comunes de preparación y conservación de especímenes biológicos.**

Todos los seres vivos sufren un proceso de putrefacción después de la muerte. Desde los albores de la humanidad se han hecho esfuerzos para detener ese estado de descomposición y mantener el cuerpo incorrupto. Al principio, se trataba de preservar los restos mortales para una posible resurrección. Tiempo después, el interés en la morfología hizo necesario conservar los tejidos biológicos para poder estudiarlos (1).

Durante la historia de la humanidad, el progreso de las técnicas de conservación anatómica se ha efectuado de una manera lenta y paulatina. Sus avances, relacionados con la adopción de métodos nuevos, se han desarrollado de manera paralela a los progresos de otras ciencias (química por ejemplo), que le han proporcionado nuevos canales de investigación (2).

Los primeros conocimientos anatómicos que tuvo la humanidad no se adquirieron empleando procedimientos técnicos de ninguna clase, sino por el examen de piezas que el azar proporcionaba. Entre éstas pueden citarse, principalmente, los huesos putrefactos en la tierra o al aire libre. Es importante señalar que el estudio de estas piezas naturales, en cuya preparación no interviene la mano del hombre, no constituye una verdadera técnica, pero de esta manera se obtuvieron varios detalles de la constitución del esqueleto, los cuales, quedaron registrados en algunos de los libros más antiguos de la humanidad (2).

Después de esto, los embalsamamientos egipcios fueron las primeras maniobras anatómicas que se practicaron en cadáveres, aunque éstas no eran realizadas con un objeto preconcebido de estudio, sino para cumplir un rito. No obstante, la disección de cadáveres generó una nueva adquisición de datos sobre la anatomía del cuerpo humano y animal (2).

Ciertamente, cuando los griegos comenzaron a invadir Egipto, los habitantes de este lugar ya contaban con una tradición anatómica.

En la antigua Grecia, Alcmaeon (500 a. C.) estableció los fundamentos de la ciencia médica a través de la práctica de disección en animales. Después, Hipócrates (400 a.C.) realizó algunos estudios anatómicos. Según el *Corpus Hippocraticum*, era posible deducir algunas características, no sólo patológicas sino también morfológicas, a través de la observación externa y de la palpación del cuerpo humano. Además, propuso la disección y vivisección de animales, con estructuras anatómicas similares a las de los humanos, para inferir cómo eran los órganos humanos (3).

Los filósofos presocráticos se dedicaban al estudio del cuerpo humano y de los animales. Sin embargo, Aristóteles fue el gran visionario de la ciencia antigua, y sobre él se cimienta todo el desarrollo biológico posterior, incluido el actual (3). Aristóteles constantemente se planteaba preguntas sobre la filosofía natural y comenzó su investigación empírica para tratar de explicar e interpretar la manera en que las cosas funcionan. Inevitablemente, incluidos en ese contexto, se encontraban la morfología y la composición de los cuerpos y sus partes. El método que utilizó, como se puede observar en sus textos de zoología, fue el de la observación directa a través de repetidas disecciones comparativas de animales (4).

En sus tratados zoológicos, particularmente en su *Historia animalium*, *De generatione animalium* y *De partibus animalium*, Aristóteles estableció el método general para la observación de cuerpos animados a través de la disección y la vivisección. Para el filósofo griego, la disección no fue sólo un instrumento utilizado ocasionalmente como respuesta a preguntas incidentales, sino también una metodología sólidamente fundada en una teoría capaz de descubrir los secretos de la naturaleza y de la verdad. En sus trabajos zoológicos, se pueden encontrar dos contribuciones fundamentales a la metodología anatómica. Por principio de cuentas, Aristóteles propuso la práctica sistemática de la disección como herramienta para el aprendizaje de las partes internas del cuerpo y de sus funciones. En segundo lugar, le dio legitimación teórica al paradigma de la investigación, basado en la analogía entre la fisiología animal y la humana (4). Queda claro que la práctica de la disección animal y la expansión del campo de la

investigación médica revelaron las posibilidades ofrecidas por la observación directa. La incisión del cuerpo humano como herramienta de investigación era el siguiente paso.

Diseccionar y observar el interior del cuerpo humano parece la técnica disponible más obvia. Pero no fue sino hasta que se fundó la escuela de Alejandría (III a. C.) que dicha práctica se comenzó a aplicar. Herófilo y Erasítrato fueron los más célebres anatomistas de Alejandría, y la certeza de su saber llegó hasta nuestros días por medio de los textos galénicos, principalmente. Se dice que ambos disecaban a los condenados a muerte. Todo indica que Erasítrato y Herófilo sentaron las bases del estudio científico de la anatomía. Ambos realizaron minuciosas disecciones y descripciones que motivaron las investigaciones de Galeno (5).

Galeno, al aceptar que la anatomía constituye el medio primordial para el conocimiento del cuerpo, se dedicó a la anatomía práctica, que lo convirtió en un virtuoso cirujano. Lamentablemente, no disecó cuerpos humanos, sino todo tipo de animales, de los que sólo infirió el conocimiento del cuerpo humano. En algunos casos, sus logros fueron sorprendentes, en otros, problemáticos (5).

Galeno combatió la escuela empírica que afirmaba que bastaba con observar esporádicamente las heridas para obtener un conocimiento anatómico confiable. Aconsejaba a sus alumnos no conformarse con el aprendizaje pormenorizado de los huesos en los textos, sino ser observadores acuciosos y asiduos (5).

En la época de Galeno, sí era factible el estudio de los huesos pero no del resto del cuerpo. Debido a que las disecciones siempre fueron prohibidas en Grecia, sus alumnos heredaron el mismo procedimiento, lo que provocó que, a lo largo del primer milenio de nuestra era, los textos de Galeno, que contenían comentarios y resúmenes de Platón, Aristóteles, Herófilo, Erasítrato y del propio Hipócrates, llegaran a las generaciones médicas como verdades sagradas, incuestionables e inmutables. Al carácter absoluto de la obra galénica, se sumó el concepto social y religioso del cadáver, el cual impedía las disecciones de los cuerpos humanos (5).

Ya en tiempos de Celso (siglo I d. C.), había una campaña contra la disección y la vivisección, así como contra aquellos que pretendían practicarlas. La Iglesia

Católica, a lo largo de los siglos, atacó duramente a los anatomistas. El temor de entrar en contacto con la sangre y la muerte, con la putrefacción y la idea de la resurrección de la carne, fue un factor primordial para que la anatomía humana se quedara en estado latente (5).

El primer paso se dio cuando los Papas otorgaron a médicos o instituciones universitarias el permiso para realizar disecciones de manera excepcional, bajo el acuerdo de celebrar misas en sufragio de las almas de los cuerpos lacerados. Así, los muertos podrían descansar en paz eterna, y no existiría la posibilidad de que poderes hostiles o maldiciones actuaran contra la persona que realizara el estudio anatómico. Los cuerpos destinados a la disección pertenecían a ladrones, asesinos, extranjeros, desconocidos y judíos (5).

La curiosidad por la disección nunca cesó del todo; por el contrario, se incrementó el robo de esqueletos o de infracciones mayores, como el desenterramiento precoz del cadáver (medida muy penada) o la compra de los despojos antes de sepultarlos (5).

La renovación de la medicina no cambió el panorama anatómico; posiblemente fueron otras las causas: la circulación de los textos griegos y árabes originales, el desarrollo de la enseñanza universitaria y la práctica de la necropsia (5).

Las traducciones de los textos de los grandes maestros hicieron llegar al médico las teorías y prácticas metodológicas relacionadas con el ejercicio anatómico. Su impacto en la didáctica fue tal, que la enseñanza teórica clínica se enriqueció de la rehabilitación de la anatomía. Por otro lado, Venecia y Bolonia fueron pioneras de la práctica de la necropsia. Desde 1181, en Venecia se estableció una norma en la que dos médicos debían verificar las heridas en personas fallecidas de muerte violenta e informar al Tribunal. Seguramente, al inicio se trató de observaciones y no de maniobras, pero ya a mediados del siglo XIII hay relatos de verdaderas disecciones. Las epidemias, a veces por causas desconocidas, o los posibles envenenamientos proporcionaron a la necropsia bases más sólidas para la disección anatómica, pues en muchos casos, se convirtió en salvaguarda de la salud pública (5).

Bolonia, que en un principio fue una escuela de Jurisprudencia, requirió de los necesarios estudios forenses. Allí, se generó una notable escuela de dibujos quirúrgicos, que, a su vez, estimularon el interés por las disecciones anatómicas. La primera disección pública del siglo XIV se realizó en sus recintos (5).

En el área de las ciencias –y la medicina no es la excepción– los cambios, aun los que parecen más bruscos, no son obra de un solo individuo. Sucede que la personalidad de alguno de ellos es tan destacada y el momento histórico tan oportuno que quedan en la historia como piedras angulares de referencia (6).

Tal es el caso de Raimundo de Liuzzi, llamado “El Mondino”, médico boloñés que en 1315 llevó a las aulas de clase dos cadáveres de mujeres para enseñar la disección. La disección didáctica de Mondino no pretendía descubrir estructuras entonces desconocidas, sino sólo confirmar y visualizar la doctrina de Galeno. Mondino, además de sus disecciones en fresco, utilizó preparaciones secadas al sol (6).

Hay que recordar que a falta de conservadores, la disección tenía que realizarse rápidamente, especialmente la de vísceras abdominales. Además, se elegían los meses más fríos del año. Algunas veces se tenía que continuar trabajando de noche, y el proceso completo tardaba cuatro días, de los cuales, cada uno estaba destinado para una parte del cuerpo, en el siguiente orden: el abdomen, el tórax, la cabeza y las extremidades. Sin embargo, el ejercicio era didáctico, y al extraer los órganos para mostrarlos, no se ponían en duda las teorías de Galeno y otros padres míticos de la medicina (3).

A partir de las primeras décadas del siglo XVI estaba por iniciarse un fenómeno que no sólo cambiaría el rumbo de la anatomía y la medicina, sino de toda la actividad humana, y cuya influencia duraría por más de cien años: el Renacimiento (5). Una de las figuras más importantes de esta época es sin duda Leonardo Da Vinci. Como era de esperarse, la anatomía, -como todas las ciencias que abrazó Leonardo Da Vinci-, no fue la excepción de su arte sublime. Para Leonardo, el dibujo anatómico era el medio para estudiar las funciones vitales. Deseaba representar al ser humano en todos sus movimientos con la máxima fidelidad y perfección. Para ello, no se contentó con analizar el aspecto externo a través de

estudios de desnudos, sino que también quería comprender la configuración interna del organismo y la interacción de huesos, músculos y tendones. Con el paso del tiempo, el interés por la anatomía se convirtió en un campo de investigación independiente al que dedicaba mucho tiempo. Leonardo concebía al cuerpo humano como una máquina maravillosa cuyos principios de funcionamiento deseaba entender (7).

En la década de 1480, Da Vinci ya había realizado estudios anatómicos esmerados y acompañados de dibujos muy precisos. En los años posteriores a 1506, trabajó con el profesor de anatomía Marcantonio della Torre. Se dice que della Torre le pidió que ilustrara un texto anatómico que él mismo elaboraría, sin embargo murió repentinamente y no se logró terminar el proyecto. Leonardo no sólo estudió las funciones óseas y musculares, sino también la urinaria, la pulmonar y la circulatoria con ideas que se aproximaban a los mecanismos que fueron descubiertos años más tarde. Entre los triunfos de Da Vinci en neurología se encuentran algunas figuras extraordinarias del cerebro. Consiguió un gran éxito al inyectar los vasos sanguíneos y los ventrículos cerebrales con un medio sólido (cera) y obtuvo los moldes de las cavidades (5). Estos procedimientos constituyen los primeros intentos de la técnica de repleción en anatomía.

Sin embargo, a pesar de las contribuciones de Leonardo Da Vinci, Andreas Vesalius es considerado, por múltiples razones, como el verdadero padre de la nueva anatomía. El genio de Vesalius dio la luz a todos los nuevos conceptos y métodos que hicieron que la anatomía pasara de ser una actividad didáctica para convertirse en una ciencia basada en la investigación (5).

En 1543, Vesalius, profesor de la Universidad de Padua, publicó *De humani corporis fabrica libri septem*. Esta obra constituye un evento de extraordinaria importancia para la historia de la anatomía. Por medio de la observación directa del cadáver y de un profundo conocimiento de la literatura anatómica, Vesalius fue capaz de confirmar, discutir y corregir todo lo que previamente se había dicho acerca de las diferentes partes del cuerpo (4).

Vesalius estableció que la práctica de la disección y la necesidad de la observación directa en el estudio y la enseñanza de la anatomía humana son las

herramientas esenciales para el anatomista. Enfatizaba el hecho de que Galeno nunca había disecado un cuerpo humano y sólo se había limitado a los animales, particularmente a los monos. Entonces, de acuerdo con el pensamiento de Vesalius, Galeno no contaba con los conocimientos suficientes para observar las diferencias morfológicas y fisiológicas entre animales y humanos, de manera que cometió una gran cantidad de errores en la interpretación y descripción del cuerpo humano (4).

Es por eso que Vesalius fue duro y atacó sin miramientos a Galeno, provocando serias polémicas. Además, pensaba que era un error separar las disciplinas médicas y propugnó acabar con la doble figura de médico y cirujano, entregándose él mismo a la práctica de la disección. Vesalius puso fin al concepto de anatomía pública y optó por la privada, con lo cual, derrumbó la barrera que separaba al cadáver de los estudiantes. Solía reunir a éstos en pequeños grupos a modo de seminarios, durante los que sus discípulos abrían los cuerpos. Con ello, el cadáver se convertía en una especie de libro, de manera tal, que los sentidos y la 'memoria muscular' captaban la experiencia y la enseñanza. A partir de ese momento, con los centenares de dibujos realizados por orden e intervención de Vesalius, el arte quedó indisolublemente ligado a las descripciones para la enseñanza de la anatomía (5).

Fue también en aquella época que la práctica de la disección comenzó a propagarse y, en consecuencia, se consolidaron los procedimientos técnicos necesarios. Sin duda, la necesidad reclamaba nuevas maniobras de disección, que fueron ideadas por el ingenio de los anatomistas (8).

Las preparaciones anatómicas jugaron un papel crucial en la educación médica de los siglos posteriores. Especímenes de huesos y tejidos fueron vitales no sólo para mostrar a los alumnos diminutas y complicadas redes vasculares, u otras estructuras que no podían distinguir por sí mismos, sino para mostrar enfermedades o condiciones, con las cuales los futuros cirujanos podían enfrentarse en la práctica con sus pacientes. En una época en la cual los médicos todavía señalaban al desequilibrio de los humores como causa de enfermedad, la anatomía mórbida estaba en sus inicios (8).

Los especímenes se pueden dividir en preparaciones secas o húmedas. Las primeras son relativamente sencillas de preparar: los huesos, algunos músculos y en ocasiones vísceras, eran secados al aire y después barnizados para preservarlos del deterioro (9).

En el caso de las preparaciones húmedas, se cree que Robert Boyle, científico del siglo XVII, descubrió el uso del alcohol para conservar el tejido orgánico. Aunque algunas veces fue sustituido por el ron, la ginebra, el brandy y en ocasiones el whisky, el alcohol se mantuvo como conservador predilecto hasta que fue suplantado en el siglo XIX por el formaldehído. Pero las recetas que los anatomistas inventaron para hacer sus cócteles, particularmente los conservadores que inyectaban en las arterias para embalsamar tejidos blandos, fueron celosamente guardados (9). El profesor holandés Frederik Ruysch, que presidió las demostraciones de anatomía en el anfiteatro de Ámsterdam de 1666 a 1731, llevó esto al extremo. Notablemente orgulloso de su proceso de embalsamamiento, creó una amplia colección de preparaciones singulares en un museo bizarro. Las mayores atracciones eran unos cuadros surreales de esqueletos de niños y fetos, colocados en paisajes hechos con partes de humanos y animales, “árboles” realizados con bronquios, y “rocas” provenientes de piedras vesicales. Aunque Ruysch se llevó el secreto de sus fórmulas a la tumba, más tarde se descubrió que el líquido conservador contenía nada menos que alcohol y pimienta negra (8).

Asimismo, las técnicas utilizadas para inyectar vasos sanguíneos con líquidos conservadores y resinas coloreadas también fueron guardadas. Alrededor de 1740 en Londres, William Hunter aprendió de su maestro Frank Nicholls el arte de las técnicas de conservación. Posteriormente enseñó a su hermano John Hunter, quién en poco tiempo superó al maestro y realizó una vasta cantidad de preparaciones anatómicas (9).

Al igual que Ruysch, John Hunter desarrolló un verdadero libro de recetas de cocina en los que incluía aceites, cebo, mantequilla, soluciones acuosas mezcladas con resinas de plantas o animales además de pigmentos. También utilizaba cera y mercurio para inyectar los vasos sanguíneos (9).

La meta de los anatomistas era preservar su trabajo, de tal modo que la belleza de la anatomía pudiera conservar su apariencia natural.

También en esta época comenzaron a aparecer las primeras reproducciones en cera con fines científicos. Fue un artista de Siracusa, Gaetano Giulio Zumbo, quien desarrolló el arte de modelar los preparados anatómicos. Zumbo completó su formación en Bolonia, donde existía una famosa escuela de anatomía. Se servía de esqueletos auténticos para modelar los músculos y las vísceras en cera. Era frecuente que se emplearan más de 200 cadáveres, o partes de éstos, para un modelo. Ahora bien, hay que tener en cuenta que en aquella época no existían métodos de conservación ni cámaras frigoríficas, así que para hacer disecciones exactas se necesitaban cadáveres frecuentemente (10).

Posteriormente, Fontana, creador de *La Specola*, en Florencia, con el apoyo del Gran Duque Pedro Leopoldo, tuvo la ambición de realizar cuantas piezas anatómicas de cera fueran posibles. Fontana tenía el objetivo de crear una verdadera obra de uso didáctico para evitar el examen directo de los cadáveres en los estudios de anatomía, ya que era muy difícil conseguirlos. Para llevar a cabo tal empresa, acompañó la colección con una serie de dibujos al temple, que reproducían varias piezas. A su alrededor, había una serie de números de los que se desprendían unas finas líneas que identificaban varios órganos, músculos, huesos, etcétera. Debajo de cada una de las urnas que contenían las piezas, había un pequeño cajón, en el que se encontraban hojas con explicaciones correspondientes a los números del dibujo. De este modo, se conformaba un auténtico tratado tridimensional de anatomía (10).

En 1762, Honoré Fragonard fue declarado Profesor de Anatomía de la primera escuela de veterinaria del mundo en Lyon, Francia. En 1763, se convirtió en director y comenzó a crear modelos anatómicos para ser exhibidos en el anfiteatro de la escuela. Como entusiasta partidario de la anatomía natural, Fragonard utilizó las técnicas tradicionales de conservación que se emplearon en el siglo XVIII: técnica de desecación o conservación en alcohol. Tardó nueve años preparando cientos de modelos anatómicos. Algunos fueron usados como herramientas de aprendizaje para los estudiantes, otros se convirtieron en piezas de arte (11).

Fragonard utilizó la técnica de inyección de cera para preparar diversos especímenes de humanos y animales. El anatomista francés inyectaba los vasos sanguíneos con cera coloreada: azul para las venas y rojo para las arterias; abría los cráneos para remover el encéfalo; separaba los músculos y nervios para después secarlos y colocarlos de una manera que representaba el movimiento. Fragonard también realizó algunas corrosiones. Esta técnica está basada en la inyección de los vasos sanguíneos por un material inerte y la destrucción de los tejidos por medio de un ácido, de manera que sólo la inyección inerte se conserva, creando un modelo del sistema vascular (11).

Fue asimismo en este siglo cuando las técnicas de conservación experimentaron un importante desarrollo que incluyó a muchos investigadores. Entre ellos se puede mencionar a Pierre Dionis, que empleó el ácido tánico con el fin de evitar el crecimiento de hongos; François Chaussier se sirvió del bicloruro de mercurio para evitar la putrefacción y favorecer la momificación, mientras que Karl W. Scheele aplicó la glicerina para la conservación de cadáveres (12).

Más adelante, tanto el progreso técnico como los procedimientos de disección siguieron avanzando. Ya en el siglo XIX, en el año 1868, el químico alemán August Wilhem von Hoffmann descubrió el formol. A este descubrimiento se sumaron una serie de técnicas anatómicas realizadas por diversos investigadores y científicos que mejoraron notablemente el estudio de la anatomía. Entre ellos, cabe destacar a Schaffer, Pernkopf, Kaiserling, Minakoff, Wickerheiner, Tolon, Laskowski, Serguei, Debov, Spalteholz, entre otros. Hoy en día, en las salas de disección e incluso en el proceso de embalsamamiento de las funerarias, se utiliza el formol como medio químico básico de las innumerables fórmulas de conservación de cadáveres, asociado a otras sustancias como la glicerina, el alcohol, el fenol, el timol, el arsénico, el cloruro de sodio, el cloruro de zinc, el sulfato de potasio, el hidrato de cloral, el ácido acético, por citar las más comunes (12).

Hoy en día, es un hecho que el uso de material biológico es indispensable para la enseñanza de la anatomía, pero se ha comprobado que la preservación de especímenes biológicos por medio de métodos convencionales tiene algunas desventajas. La preservación de piezas en soluciones conservadoras, como la

formalina, o la colocación de las piezas en cajas de acrílico no permiten tocar ni analizar el espécimen, además de que desprenden vapores tóxicos (13).

La plastinación es una técnica que se utiliza para la conservación de especímenes biológicos degradables sin utilizar soluciones conservadoras (14). La técnica de plastinación se ha empleado tanto para la enseñanza como para la investigación. El Dr. Gunther von Hagens desarrolló esta técnica en 1977, en el Departamento de Anatomía de la Universidad de Heidelberg, Alemania. Actualmente, este método se emplea en más de 200 institutos de anatomía, patología clínica, biología y zoología, entre otros, de todo el mundo (15).

Los especímenes que se preservan con la técnica de plastinación son durables, fáciles de limpiar y no tóxicos, además de que permiten el estudio de las estructuras anatómicas (macro y microscópicas), de las texturas y algunas otras propiedades de los tejidos, que se pierden al utilizar las técnicas clásicas de conservación, en las que se emplea formalina o glicerina fenificada (16).

## **2. Aplicaciones de la técnica de plastinación**

Después de tres décadas de su publicación, la técnica de plastinación ha sido usada y aplicada de diversas maneras.

Los órganos plastinados han sido aceptados principalmente por las ventajas que tienen sobre los conservados con otros métodos. Por ejemplo, preservan el detalle anatómico, son especímenes secos, sin olor y no tóxicos que, además, tienen una excelente calidad y durabilidad (16). Además, las estructuras delicadas como venas, arterias y nervios se vuelven más resistentes y se preservan por más tiempo (17).

Como ya se ha mencionado, a lo largo de la historia de la anatomía la disponibilidad de cadáveres y órganos para la enseñanza, tanto de humanos como de animales, ha estado sujeta a las leyes. Es por eso que actualmente se buscan alternativas para reducir el número de animales utilizados con el propósito de enseñanza e investigación (17). En el caso de especímenes humanos, se busca aprovechar órganos conservados en formol durante mucho tiempo, debido a que las leyes y las ideas religiosas restringen el abastecimiento de tejidos frescos (18).

Ante esta situación, el uso de especímenes plastinados es muy conveniente, porque los ejemplares pueden durar varios años y no necesitan condiciones especiales de almacenamiento.

Los avances en plastinación durante los últimos años han permitido el desarrollo de nuevas áreas de investigación en el campo de la anatomía y de la patología. A continuación se mencionan algunos.

En la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de Davis, California, se ha empleado la técnica para producir especímenes de animales de laboratorio (conejos, cuyos y cerdos) que muestran la anatomía orolaríngea. Esta práctica ha evitado la eutanasia de varios animales cada año para realizar una práctica demostrativa del procedimiento de intubación orolaríngea en éstos (17).

Otra aplicación es el uso de órganos plastinados como herramienta para la investigación y enseñanza de cirugía de mínima invasión. La simulación de situaciones clínicas permite a los médicos beneficiarse de cursos prácticos de adiestramiento, como los que a continuación se presentan. El entrenamiento en técnicas de endoscopia terapéutica (citología, biopsia, polipectomía y retiro de cuerpos extraños) utilizando modelos plastinados, proporcionó a los asistentes al Curso Internacional Teórico Práctico de Endoscopia Digestiva la práctica básica necesaria para luego realizar procedimientos endoscópicos “*in vivo*” de una manera segura (19).

En el área de la imagenología, el conocimiento de la anatomía es esencial para la comprensión de las lesiones y deformidades. Además, el conocimiento de la anatomía seccional de las estructuras y sus interrelaciones es crucial para interpretar adecuadamente las imágenes diagnósticas, tales como el ultrasonido, la resonancia magnética y las tomografías computarizadas. En el Instituto de Imagenología Biomédica de la Universidad de Tennessee, se han preparado especímenes plastinados que desarrollan la habilidad de los estudiantes para interpretar este tipo de imágenes (20). También se han elaborado especímenes de apoyo para la interpretación de imágenes ecocardiográficas de perros. Cuando se utiliza la ecocardiografía bidimensional en tiempo real, las imágenes se observan en un solo plano. Es por eso que se prepararon especímenes con el método de

plastinación, en los que se hicieron cortes correspondientes a los planos de las imágenes del ecocardiograma para ilustrar la anatomía tridimensional correspondiente a las imágenes sectoriales bidimensionales (21).

En el Departamento de Anatomía y Embriología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, se utilizan modelos plastinados del miembro torácico equino debido a que el conocimiento de la anatomía de éste es esencial para la comprensión de las lesiones e implicaciones clínicas que representan. En este lugar se utilizan cortes transversales de los especímenes para que los estudiantes puedan adquirir fácilmente el conocimiento de la anatomía seccional de las estructuras del miembro torácico y sus interrelaciones (22).

En el campo de la patología y de las ciencias forenses, la plastinación ha encontrado diversas aplicaciones, tales como la conservación de muestras de tejido tomadas durante la cirugía o en la necropsia, y también sirve para preparar muestras de tejido como evidencia legal (23).

La plastinación no está confinada al campo de las ciencias morfológicas. Debido a las características que proporciona esta técnica, los especímenes no sólo se han utilizado en el campo de la anatomía como material didáctico, sino también en la museografía. Por ejemplo, en el Museo Nacional de Historia Natural de París, se utilizó la técnica para plastinar organismos marinos (moluscos, crustáceos y peces) que ahora forman parte de la colección. También es posible aplicar este proceso a otros organismos, como parásitos, insectos, reptiles o plantas (24).

Los arqueólogos han comenzado a utilizar la plastinación como método para conservar hallazgos valiosos, por ejemplo, material textil y biológico. En China se realizó la plastinación de dos momias de 400 años de antigüedad y se obtuvieron resultados satisfactorios. Después del proceso, las momias adquirieron flexibilidad, los órganos recuperaron el color, e incluso, se pudieron tomar muestras para su estudio histológico. Lo más importante es que después del proceso no se requiere ningún cuidado especial para su almacenamiento (25).

Debido a la importancia que ha tenido esta técnica en los últimos años, a continuación se describirá el proceso de elaboración de especímenes anatómicos con la técnica de plastinación.

### **3. Marco teórico**

#### **3.1 Elementos básicos de un equipo de plastinación**

La técnica de plastinación consiste en reemplazar el agua y los lípidos de los tejidos por un polímero por medio de la aplicación de vacío a bajas temperaturas. Las propiedades ópticas (opacidad o transparencia), así como las mecánicas (firmeza o flexibilidad) que se obtienen del espécimen plastinado, dependen del tipo de polímero utilizado, ya sea caucho de silicón Biodur S10, resina epóxica E12 o poliéster P40 (26).

El polímero más utilizado es el caucho de silicón en la técnica S10; ésta es la más difundida, ya que se considera el método estándar porque permite un amplio rango de aplicaciones y provee resultados satisfactorios con el uso de poco equipo (27).

Con el método de plastinación se obtienen grandes beneficios, sin embargo, el diseño de un laboratorio de plastinación implica varios problemas. Entre estos hay problemas técnicos, estructurales y, principalmente, económicos. Así que es recomendable comenzar con la técnica estándar S10, que es la más económica y fácil (28).

El equipo esencial que se requiere para iniciar con la técnica Biodur S10 es un ultracongelador para la deshidratación y la impregnación, un sistema de vacío para realizar la impregnación forzada, así como una cámara de impregnación, y finalmente una cámara de curado (29).

El uso de la acetona puede ser peligroso, pues es un material explosivo si se utiliza en grandes cantidades. Por tal motivo, el laboratorio debe contar con medidas de seguridad que disminuyan el peligro de explosiones (29).

A continuación se enlista el material y equipo necesarios para realizar la técnica de plastinación:

- Ultracongelador. Debe alcanzar una temperatura de  $-25$  a  $-30^{\circ}\text{C}$ ; por razones de seguridad se debe retirar la instalación de iluminación interior y colocar una válvula de seguridad antivacío (28).

- Contenedores de acetona. Deben ser recipientes de plástico con tapas y resistentes a la acetona (29).
- Acetonómetros. Se emplean en el proceso de deshidratación, indican el porcentaje de acetona. El valor 100% corresponde a la máxima densidad de la acetona (0.79) y el valor 0 está tomado como la densidad del agua (30).
- Cámara de impregnación (cámara de vacío). El tamaño depende del tipo de piezas a plastinar. Debe ser de acero y contar con puntos de conexión en la zona superior para la entrada de presión de vacío y para la conexión al vacuómetro. Se necesita una tapa transparente de metacrilato o cristal grueso que permita la inspección de las burbujas de acetona y que resista la presión. Puede contar con una cesta interior de metal para las preparaciones (31).
- Bomba de vacío. Debe ser una bomba de paletas de rotación en cámara de aceite que alcance una velocidad de  $1\text{m}^3/\text{h}$  por cada 10 litros de polímero y contar con juntas resistentes a la acetona. Utiliza aceite de alta viscosidad ( $225\text{mm}^2/\text{s}$ ) y baja presión de vapor (31).
- Válvulas de ajuste de la presión de vacío. Permiten la entrada del aire exterior al circuito de vacío. Regula la velocidad de trabajo ( $\text{m}^3/\text{h}$ ) que realiza la bomba de vacío sobre la cámara de impregnación (31).
- Vacuómetro de Bennert. Mide la presión de vacío y permite un control preciso de ésta en las fases media y final de la impregnación (31).
- Cámara de curado. Puede ser un recipiente no necesariamente hermético, de plástico (polietileno o propileno), cristal o aluminio, con una rejilla en la base para que escurra el polímero que drena de las piezas. Debe contar con tapa (31).
- Evaporador para la cámara de curado. Requiere de un sistema de aire comprimido (bomba de acuario), un sistema de ventiladores de tamaño pequeño y un compresor de aire (31).
- Polímeros Biodur: silicón S10, endurecedor S3 y endurecedor S6 (31).

## Elementos básicos de un equipo de plastinación



**Fig 1. Ultracongelador**



**Fig 2. Cámara de vacío**



**Fig3. Bomba de vacío**



**Fig 4. Válvula de precisión**



**Fig 5. Columna de Mercurio y Manómetro**



**Fig 6. Cámara de curado**



**Fig 7. Polímeros Biodur S3, S10 y S6**



**Fig 8. Acetonómetro**

### **3.2 Principio de la técnica de plastinación**

Sin importar el tipo de polímero que se utilice ni la temperatura a la que se realice, el proceso de plastinación consta de cuatro pasos básicos: fijación, deshidratación, impregnación forzada y curado.

#### **3.2.1 Fijación**

Cualquier material biológico debe fijarse con el propósito de prevenir el proceso de putrefacción y de brindarle firmeza para que pueda resistir los siguientes pasos del proceso. Además, la fijación adecuada del espécimen es muy importante para la calidad final del tejido u órgano plastinado (32). Antes de iniciar el proceso de fijación de cualquier tipo de espécimen de origen biológico es muy importante darle la forma definitiva. Se deben tomar en cuenta los objetivos para los que se ha elaborado y preparado, ya que iniciada la fijación no podrá corregirse jamás dicha forma. El fijador utilizado en el proceso de plastinación es la formalina al 5% (33).

#### **3.2.2 Deshidratación**

Antes de realizar la impregnación forzada es necesario remover el agua de los tejidos. Durante la deshidratación, el agua de los especímenes así como un poco de grasa tisular son reemplazados con un solvente orgánico. El método más efectivo de deshidratación es la sustitución en frío con acetona (30).

El procedimiento de deshidratación consiste en colocar el espécimen, previamente fijado, en un recipiente colocado en el ultracongelador con acetona a  $-25^{\circ}\text{C}$ . Se recomienda que la cantidad de acetona debe ser por lo menos diez veces mayor que el volumen del espécimen a deshidratar (30). El reemplazamiento del agua y la grasa tisular por el líquido deshidratante, se efectúa por medio de difusión. El espécimen debe permanecer en el líquido deshidratante hasta que la concentración de éste en el tejido sea de 99%. Tal estado se determina con el uso de un acetómetro, que indica el contenido de agua que está presente en la acetona (31).

Por razones de seguridad, los cambios de acetona deben realizarse a  $-25^{\circ}\text{C}$  porque la temperatura debe estar por debajo del punto de inflamación de la acetona ( $-19^{\circ}\text{C}$ ) y porque a esta temperatura la presión de vapor es muy baja y la acetona no se evapora (31).

Una característica muy importante de la acetona es que funciona como agente deshidratante al mismo tiempo que como solvente intermediario, debido a que su punto de ebullición es de  $56^{\circ}\text{C}$ . La mezcla explosiva con aire está entre 2.5 y 13%. Debido a esto, es importante tomar medidas de seguridad (31).

### **3.2.3 Impregnación forzada a $-25^{\circ}\text{C}$**

La impregnación forzada está considerada como el paso más importante en el proceso de plastinación (34).

Este paso consiste en la extracción del solvente intermediario volátil del espécimen y el reemplazo simultáneo con un polímero curable. La extracción se realiza mediante el uso de vacío (35).

En el proceso de impregnación, se toma ventaja de la diferencia de presión de vapor entre el bajo punto de ebullición del solvente intermediario ( $56.5^{\circ}\text{C}$ ) y el elevado punto de ebullición del polímero ( $295^{\circ}\text{C}$ ). De manera tal, que el solvente intermediario se extrae continuamente en estado gaseoso del espécimen mediante vacío, siendo reemplazado por el polímero curable (34).

La impregnación forzada consta de tres pasos:

#### **1. Preimpregnación.**

En este paso se realiza la preparación de la mezcla de polímeros (baño de impregnación). El polímero Biodur S10 y los agentes endurecedores Biodur S3 y Biodur S6 son estables de manera individual por varios meses a temperatura ambiente (35).

El polímero Biodur S10 se combina con el endurecedor Biodur S3 a temperatura ambiente y se mezclan entre sí en una proporción 100:1 (34).

Una vez que la mezcla está hecha, se coloca en la cámara de vacío y se aplica éste para remover el aire que se introdujo al realizar la mezcla por algunos minutos, hasta que deja de haber burbujas en la superficie de la mezcla. Este proceso se conoce como deaeración (35).

Después de que la mezcla se ha deaerado, los especímenes saturados con el solvente intermediario son sumergidos en el baño de impregnación a  $-25^{\circ}\text{C}$ . Es recomendable que los especímenes permanezcan en la mezcla de Biodur S10+ S3 aproximadamente veinticuatro horas antes de comenzar el proceso. Durante este tiempo la diferencia en la concentración entre el solvente intermediario y la mezcla de polímeros se estabiliza por difusión (31).

## 2. Impregnación forzada intermitente.

En este paso se lleva a cabo una lenta disminución en la presión absoluta (incremento de vacío). El incremento de vacío hace que el solvente intermediario salga del espécimen y que la mezcla de polímeros penetre en el espécimen (35).

Se requiere una lenta pero continua extracción del solvente intermediario del espécimen. El solvente se evapora del espécimen y se eleva hacia la superficie a través del polímero circundante, (dando la impresión visual de “hervir”). La mezcla de polímeros es bombeado por medio de la bomba de vacío hacia el separador de solvente-aceite. La extracción del solvente intermediario (acetona) deja un vacío en el tejido y eleva el gradiente de presión entre el espécimen y el baño de impregnación. El vacío en el tejido y la diferencia resultante de presión “jala” la mezcla de polímero hacia el tejido (35).

La tasa de extracción debe monitorearse por medio de los siguientes métodos.

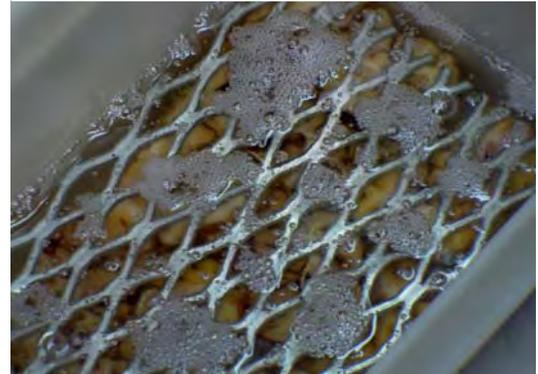
- Tasa de formación de burbujas. Se forman burbujas de alrededor de 1cm de diámetro mientras el solvente se evapora y se extrae del espécimen. Una tasa ideal de extracción del solvente intermediario se produce cuando hay pocas burbujas en la superficie y se revientan. No es recomendable que la extracción sea muy rápida porque las paredes del espécimen se colapsan. En la extracción rápida se observan muchas burbujas pequeñas (35).

**Fig 9. Tasa de formación formación de burbujas 1**



**Pocas burbujas (tasa ideal de extracción)**

**Fig 10. Tasa de formación formación de burbujas 2**



**Muchas burbujas (no recomendable)**

- Monitoreo y registro de la tasa de disminución de la presión absoluta (presión de vacío o presión negativa). Durante la impregnación forzada, el vacío y la tasa de disminución de la presión absoluta se monitorean por medio de una columna de mercurio primero y después por un manómetro de Bennert (35).

Si la bomba de vacío se conecta directamente a la tina de impregnación, en pocas horas se logra un vacío total. Es por eso, que se debe instalar un sistema de válvulas para que la presión absoluta se pueda disminuir y estabilizar de manera controlada (35).

En la impregnación forzada, el vacío se debe aumentar gradualmente, para ello existen dos formas:

1. Colocar una válvula entre el contenedor y la bomba de vacío, de aquí en adelante llamada válvula conectora. Esta válvula conectora debe ser muy precisa, particularmente, si la velocidad de bombeo es muy alta (más de  $1\text{m}^3$  por 5-10 litros de polímero), lo que resulta en un primer sistema de seguridad (31).
2. Colocar una válvula de paso en un lugar separado de la cámara de vacío, de manera que sea posible introducir, de manera regulada, el aire ambiental a dicha cámara, esto como un segundo sistema de seguridad (31).

La bomba de vacío debe contar, relativamente, con poca capacidad y ser del tipo de aceite de alta viscosidad. Una capacidad de bombeo de 1 m<sup>3</sup>/h por cada 10 litros de polímero es adecuado (35).

La impregnación está completa cuando la presión absoluta se estabiliza entre 2-10 mm Hg por algunos días. Cuando esto sucede, se libera el vacío y la atmósfera de la tina de impregnación se restaura a la presión atmosférica.

### 3. Postimpregnación.

Es importante dejar reposar a los especímenes en la tina de impregnación a presión atmosférica durante un día antes de removerlos del baño de impregnación. Esto permite que el polímero en el espécimen se equilibre con el del baño de impregnación (35).

#### **3.2.4 Impregnación a temperatura ambiente.**

La impregnación forzada a temperatura ambiente se lleva a cabo más rápido que en frío porque el polímero es menos viscoso a temperatura ambiente y, por lo tanto, puede introducirse en el espécimen más rápido y fácil. La desventaja es que la mezcla de Biodur S10+S3 tiene una vida más corta a temperatura ambiente (35). Esto se debe a que el Biodur S3 produce la elongación de las moléculas del silicón S10. Como ya se mencionó, la cantidad recomendada para preparar la mezcla de polímeros es de 1% de Biodur S3. A esta concentración, la mezcla se vuelve viscosa en aproximadamente tres semanas a temperatura ambiente (20°C). A -25°C, este proceso tarda aproximadamente 8 semanas o incluso puede ser indefinido (31).

El proceso para realizar la impregnación a temperatura ambiente es el mismo que para la impregnación a -25°C. Es decir, también se realizan los pasos de preimpregnación, impregnación forzada intermitente y postimpregnación. La diferencia radica en que no se necesita un ultracongelador para el proceso, pues éste se lleva a cabo a temperatura ambiente.

### **3.2.5 Curado**

La etapa final de curado o polimerización consiste en el secado y endurecimiento de los especímenes que han sido sometidos al proceso de impregnación forzada.

El endurecedor Biodur S3, utilizado en la mezcla con el Biodur S10, es un líquido no volátil. Al incorporarlo al silicón Biodur S10 se forma una mezcla altamente viscosa. Su función es hacer que el curado sea posible, al actuar como acelerador de este proceso. Además, asegura que el interior del espécimen se cure completamente (31).

Sin embargo, después de la impregnación forzada el espécimen debe ponerse en contacto con un medio gaseoso que permita el curado completo del espécimen. Este medio gaseoso lo proporciona el endurecedor Biodur S6 (31).

El método de acción del endurecedor Biodur S3 y del gas curador Biodur S6 es el siguiente. El endurecedor Biodur S3 actúa aumentando el peso molecular de las cadenas del polímero Biodur S10 mediante la elongación de sus cadenas e incorporando grupos moleculares pesados a éstas. Permite así una prepolimerización que potencia el efecto del endurecedor Biodur S6. El Biodur S3 es responsable de la flexibilidad del espécimen, debido a la elongación de las moléculas. El Biodur S6 establece puentes físicos entre las cadenas del polímero S10, lo cual se denomina entrecruzamiento tridimensional (31).

Mientras actúa como 'entrecruzador', el Biodur S6 penetra hasta el centro del espécimen en su forma gaseosa (31).

Para lograr el curado de los especímenes, éstos se pueden someter al proceso de curado rápido o al curado lento.

#### **Curado lento**

La polimerización lenta consiste en el precurado del espécimen durante 2 ó 3 semanas. Durante este tiempo, el espécimen debe permanecer a temperatura ambiente, en caso de haber realizado la impregnación a  $-25^{\circ}\text{C}$ , para permitir que la mezcla de polímeros se vuelva lo suficientemente viscosa para que se adhiera a la superficie. Este efecto de prepolimerización o precurado está favorecido por el

efecto del endurecedor Biodur S3. Durante el proceso, el exceso de polímero drenado del espécimen debe limpiarse constantemente (31).

Una vez drenado el exceso de polímero, cuando la superficie de los especímenes se vuelve pegajosa, éstos se colocan en una cámara de curado, la cual, puede ser un contenedor de plástico con tapa. Es importante añadir cristales de gel de sílice o cloruro de calcio, para evitar la humedad excesiva en la cámara, y que debido a esto se formen manchas blancas en la superficie del espécimen (31).

#### Curado rápido

La polimerización rápida consiste en curar primero la superficie del espécimen y posteriormente el interior. Después de sacar a los órganos del baño de impregnación se dejan a temperatura ambiente, en caso de haber realizado la impregnación a  $-25^{\circ}\text{C}$ , para retirar el exceso de polímero. Posteriormente se colocan en la cámara de curado donde son expuestos a elevadas concentraciones del gas endurecedor Biodur S6. Cuando la superficie del órgano comienza a polimerizarse el flujo de silicón disminuye y se hace más viscoso y pegajoso, sin embargo, es importante limpiar la superficie para evitar que el exceso de polímero solidifique y “enmascare” el aspecto de la superficie del órgano. El curado final se realiza fuera de la cámara de curado. Los especímenes presentan la superficie curada, por lo tanto, el polímero deja de fluir. Los especímenes deben colocarse en bolsas de plástico selladas para que el exceso de gas endurecedor Biodur S6 que tienen en la superficie penetre hacia el interior del órgano y se complete la polimerización. Este proceso tarda aproximadamente de 3 a 4 meses (31).

Una vez terminada esta última fase del procedimiento de plastinación, se obtiene un espécimen no tóxico, seco, inodoro, durable y que requiere de mínimo cuidado para su almacenamiento.

#### **4. Objetivo**

A lo largo de la historia siempre se ha buscado innovar las técnicas anatómicas ya existentes, o bien, de desarrollar otras nuevas. El caso de la técnica de plastinación no es la excepción.

En la mayoría de los laboratorios de todo el mundo, se realiza de manera protocolaria el método estándar de plastinación Biodur S10. No obstante, en 1993 R. Henry (35), M Ripani en 1994 (36) y Kularbkaewi en 1996 (37) han realizado la técnica con Biodur S10 a temperatura ambiente en la etapa de impregnación forzada. Mientras que Zheng en 1998 (25), Baker en 1999 (38), Raoof (39) y Latorre (22) en 2001, comenzaron a utilizar nuevos polímeros y también han desarrollado la técnica de plastinación a temperatura ambiente.

Con base en lo anterior, el objetivo de ese trabajo es comparar la calidad y características de los órganos sometidos a la etapa de impregnación forzada a  $-25^{\circ}\text{C}$ , con los realizados a temperatura ambiente en la etapa de impregnación forzada. Asimismo se busca estimar si existe diferencia en el tiempo requerido para la etapa de impregnación forzada, al comparar el procedimiento estándar con el de temperatura ambiente.

#### **5. Hipótesis.**

Dado que la plastinación de especímenes con el método estándar es la técnica más difundida y experimentada, en este trabajo tendrán mejor calidad las piezas plastinadas con el método estándar (a  $-25^{\circ}\text{C}$ ) que las piezas plastinadas a temperatura ambiente.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Obtención de material biológico.

Se colectaron, de fuente ética, doce conjuntos de órganos genitales femeninos [ovarios (*ovarium*), tubas uterinas (*tuba uterina*), útero (*uterus*), vagina (*vagina*), vestíbulo (*vestibulum vaginae*), vulva (*pubendum femininum*), clítoris (*clitoris*) y uretra (*urethra feminina*)] (40), de perras (*Canis familiaris*) en la sala de necropsias del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

A continuación se muestra un cuadro con la raza y edad dentaria de las perras de donde se obtuvieron los órganos.

PIEZA	RAZA	EDAD DENTARIA	OBSERVACIONES
1	Poodle	2 años	
2	Gran Danés	5 meses	
3	Pitbull	6 años	
4	Poodle	3 años	
5	Criolla	2 años	Gestante
6	Criolla	2 años	
7	Criolla	7 años	Hidrómetra
8	Criolla	1 año	
9	Rottweiler	3 años	
10	Boxer	4 años	
11	Cocker spaniel	10 años	
12	Criolla	5 años	

**Tabla 1. Raza y edad de perras donadoras**

Posteriormente se realizó la disección fina de los órganos genitales, eliminando la mayor parte del ligamento ancho del útero (*lig. latum uteri*), el ligamento redondo (*lig. teres uteri*) y el tejido adiposo regional.

A partir de esta etapa, todos los pasos de la técnica de plastinación se realizaron en el Laboratorio de Plastinación del Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

## 2. Fijación.

Los especímenes se fijaron en formalina al 5% durante 15 días a temperatura ambiente. Después de sacarlas del fijador se lavaron con agua corriente para posteriormente ser colocados en el siguiente proceso.

## 3. Deshidratación.

La deshidratación se realizó por sustitución en frío con acetona. Los órganos se sumergieron en recipientes de plástico que contenían diez veces su volumen en acetona a  $-25^{\circ}\text{C}$ . La acetona fue cambiada semanalmente hasta que el contenido de agua fue de 1%. Para determinar el porcentaje de acetona, se realizaron mediciones semanales con un acetómetro. El tiempo de deshidratación fue de 21 días.

En el siguiente cuadro se detalla la secuencia de los cambios y las mediciones que se realizaron.

DÍA	% ACETONA	TEMPERATURA	CAMBIO
1	95	$-25^{\circ}\text{C}$	Acetona 98%
5	96.3	$-30^{\circ}\text{C}$	Acetona 98%
10	98	$-25^{\circ}\text{C}$	Acetona 100%
16	99	$-26^{\circ}\text{C}$	Acetona 100%
21	99.4	$-26^{\circ}\text{C}$	Acetona 100%

**Tabla 2. Porcentaje y cambios de acetona**

## 4. Impregnación forzada.

Al término de la deshidratación se realizó la plastinación de los órganos de acuerdo con el método estándar de la técnica Biodur S10. Los órganos se dividieron en dos grupos de seis y cada grupo fue sometido al proceso de impregnación forzada a diferente temperatura.

Grupo 1: polímero Biodur S10+S3 a  $-25^{\circ}\text{C}$

Grupo 2: polímero Biodur S10+S3 a temperatura ambiente.

## Grupo 1

Preimpregnación. Los seis especímenes se colocaron en el ultracongelador a  $-25^{\circ}\text{C}$  en la cámara de impregnación con la mezcla S10+S3 a una proporción 100:1 y previamente deaerada. Se mantuvieron durante 24 horas sin aplicar vacío para que se equilibraran con la mezcla de silicón.

Impregnación forzada intermitente. Después de 24 horas se inició la aplicación de vacío. El vacío se monitoreó con un manómetro y el progreso de la impregnación mediante la observación de la tasa de formación de burbujas en la superficie de la mezcla. Al observarse burbujas chicas y que se presentaban esporádicamente, la presión se redujo gradualmente a 5 mm Hg hasta que las burbujas cesaron.

Post impregnación. Después de liberar el vacío de la cámara de impregnación y restaurar la presión atmosférica, se mantuvieron inmersas durante 24 horas más para permitir que se equilibraran con la mezcla Biodur S10+S3.

En el siguiente cuadro se muestra la tasa obtenida de la disminución de presión a  $-25^{\circ}\text{C}$ .

DÍA	PRESIÓN	TEMPERATURA	OBSERVACIÓN
1	Sin presión	$-25^{\circ}\text{C}$	Estabilización
2	20 mm Hg	$-22^{\circ}\text{C}$	Burbujas grandes
3	18 mm Hg	$-25^{\circ}\text{C}$	Muchas burbujas chicas
4-6	18 mm Hg	$-25^{\circ}\text{C}$	Pocas burbujas chicas
7	15 mm Hg	$-23^{\circ}\text{C}$	Pocas burbujas chicas
8-9	12 mm Hg	$-25^{\circ}\text{C}$	Pocas burbujas chicas
10-12	10 mm Hg	$-25^{\circ}\text{C}$	Sin burbujas
13-15	7 mm Hg	$-26^{\circ}\text{C}$	Sin burbujas
16-21	5 mm Hg	$-25^{\circ}\text{C}$	Sin burbujas
22	Sin presión	$-25^{\circ}\text{C}$	estabilización

**Tabla 3. Tasa de disminución de presión a  $-25^{\circ}\text{C}$**

## Grupo 2

Preimpregnación. Se colocaron los seis especímenes restantes en la cámara de impregnación con la mezcla S10+S3 a temperatura ambiente (la cual se mantuvo en promedio a 20°C). Se mantuvieron durante 24 hrs sin aplicar vacío para que se equilibraran con la mezcla de silicón.

Impregnación forzada intermitente. Después de 24 hrs se inició la aplicación de vacío. El vacío se monitoreó con un manómetro y el progreso de la impregnación mediante la observación de la tasa de formación de burbujas en la superficie de la mezcla. A esta temperatura la resina es fluida y penetra en el órgano rápidamente. Cuando la presión absoluta se estabilizó a 3 mm Hg durante 24 hrs y cesaron de aparecer las burbujas en la superficie del baño de impregnación, se consideró que el espécimen estaba completamente impregnado.

Post impregnación. Después de liberar el vacío y restaurar la presión atmosférica, se mantuvieron inmersas durante 24 hrs más para permitir que se equilibraran con la mezcla de silicón Biodur S10+S3.

En el siguiente cuadro se muestra la tasa obtenida de la disminución de presión a temperatura ambiente.

DÍA	PRESIÓN	TEMPERATURA	OBSERVACIÓN
1	Sin presión	22°C	Estabilización
2	11 mm Hg	20°C	Muchas burbujas chicas
3-5	15 mm Hg	20°C	Pocas burbujas chicas
6	10 mm Hg	20°C	Pocas burbujas chicas
7	7 mm Hg	21°C	Pocas burbujas chicas
8	5 mm Hg	20°C	Sin burbujas
9-11	3 mm Hg	20°C	Sin burbujas
12	3 mm Hg	20°C	Sin burbujas
13	Sin presión	20°C	estabilización

**Tabla 4. Tasa de disminución de presión a temperatura ambiente**

## **5. Curado**

Terminada la impregnación se sacaron los órganos de sus respectivas cámaras. En ambos grupos, el proceso se realizó a temperatura ambiente.

### **Grupo 1**

Se dejó que el polímero drenara de los especímenes y posteriormente se limpió el exceso de polímero de la superficie cada 2 horas, durante las primeras 8 horas.

Posteriormente, los especímenes se colocaron en una cámara de curado con gas endurecedor Biodur S6, la cual, se vaporizó 30 minutos diariamente, durante 10 días. Durante este tiempo fue necesario cambiar los especímenes de posición, así como, limpiar el exceso de polímero tres o cuatro veces al día. Se dejaron 14 días más en la cámara de curado.

Finalmente, los especímenes se colocaron en una bolsa de plástico durante tres meses para contener los vapores del gas Biodur S6 alrededor de éstos y permitir que el gas se absorbiera para que se realizara el curado completo.

### **Grupo 2**

Se dejó que el polímero escurriera de los especímenes, y posteriormente, se limpió el exceso de polímero de la superficie cada 2 horas durante las primeras 8 horas.

Posteriormente, los especímenes se colocaron en una cámara de curado con gas endurecedor Biodur S6, la cual se vaporizó 30 minutos diariamente durante 5 días. Durante este tiempo, fue necesario limpiar el exceso de polímero de los especímenes tres o cuatro veces al día. Después permanecieron 4 días más en la cámara de curado.

Finalmente, los especímenes se colocaron en una bolsa de plástico durante mes y medio para contener los vapores de Biodur S6 alrededor de éstos y permitir el curado completo.

### III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al terminar el proceso de plastinación se realizó un análisis descriptivo de los órganos, mediante la comparación de las siguientes características de las piezas con relación a la temperatura a la cual se sometieron: color, rigidez, detalle de superficie, flexibilidad y estructura anatómica.

El detalle de superficie se refiere a la calidad del aspecto externo del órgano una vez plastinado.

La estructura anatómica se relaciona con la conservación de la morfología de los especímenes después de la plastinación.

PIEZA	COLOR	RIGIDEZ	DETALLE DE SUPERFICIE	ESTRUCTURA ANATÓMICA
-1	Similar*	Sí	Bueno	Normal
-2	Similar	Sí	Bueno	Normal
-3	Similar	Sí	Bueno	Normal
-4	Similar	Sí	Bueno	Normal
-5	Similar	Sí	Bueno	Normal
-6	Similar	Sí	Bueno	Normal

**Tabla 5. Resultados de la evaluación de las características de las piezas sometidas a la etapa de impregnación forzada a  $-25^{\circ}\text{C}$ .**

\*Similar al color que tenían después de la fijación.

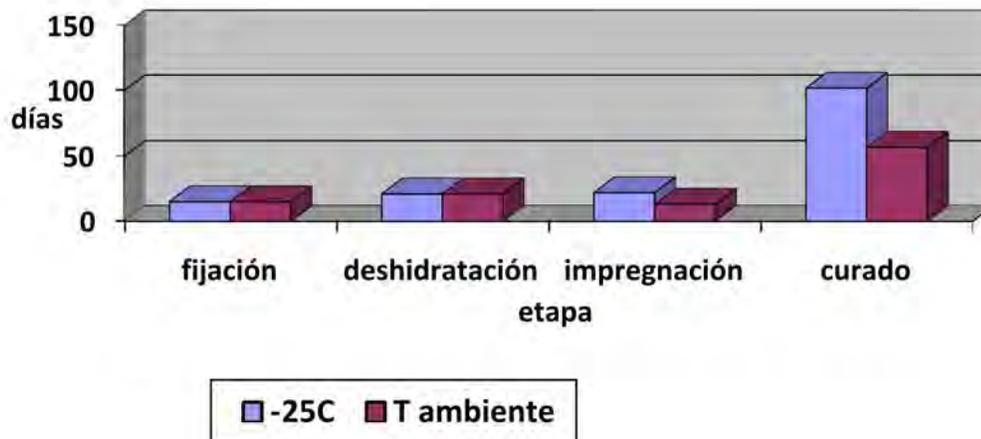
PIEZA	COLOR	RIGIDEZ	DETALLE DE SUPERFICIE	ESTRUCTURA ANATÓMICA
1	Similar*	No	Bueno	Normal
2	Similar	No	Bueno	Normal
3	Similar	No	Bueno	Deformación de tubas uterinas
4	Similar	No	Bueno	Normal
5	Similar	No	Bueno	Normal
6	Similar	No	Bueno	Normal

**Tabla 6. Resultados de la evaluación de las características de las piezas sometidas a la etapa de impregnación forzada a temperatura ambiente.**

\*Similar al color que tenían después de la fijación.

En la siguiente gráfica se muestra el tiempo total empleado en cada grupo.

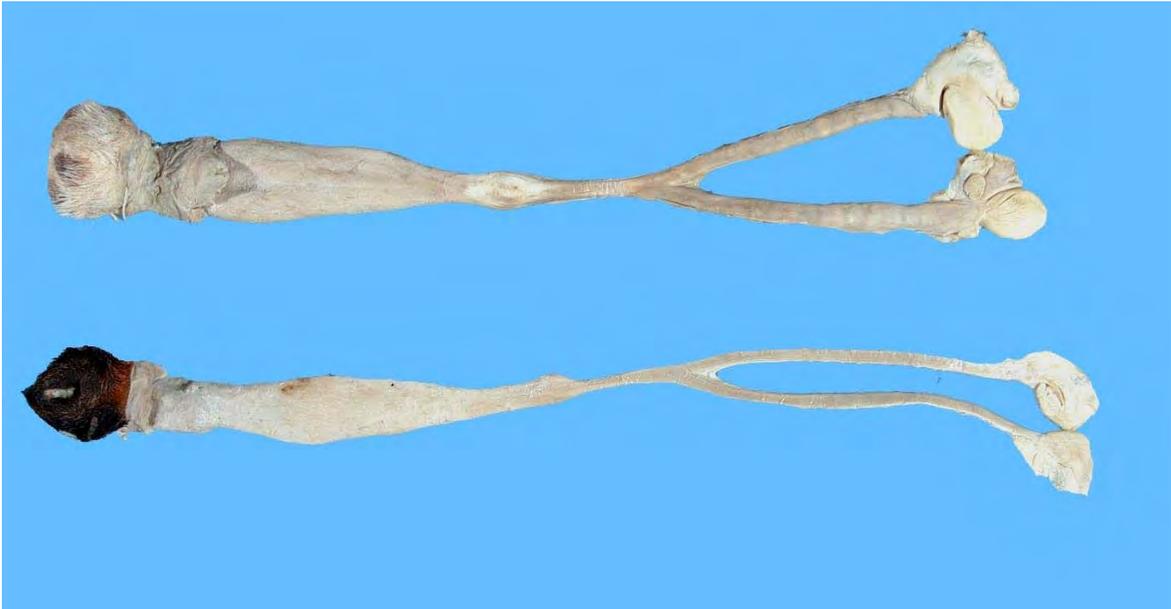
**Fig 11. Tiempo total de plastinación**



Como puede observarse, los resultados revelaron que el color final de los especímenes plastinados de ambos grupos fue similar al que tenían después de la fijación. Así mismo, en ambos grupos los órganos conservaron su estructura anatómica, excepto un espécimen del grupo 2, y el detalle de superficie de los especímenes de ambos grupos se considera como bueno. Sin embargo, las piezas obtenidas a  $-25^{\circ}\text{C}$  presentaron mayor rigidez que los realizados a temperatura ambiente.

Los especímenes plastinados a temperatura ambiente requirieron de menos tiempo para la etapa de impregnación forzada, así como, para el curado.

A continuación, se muestran dos fotografías de los órganos plastinados.



**Fig 12. Órganos plastinados a -25C**



**Fig 13. Órganos plastinados a temperatura ambiente**

Los especímenes plastinados de ambos grupos no mostraron diferencias aparentes en la calidad de la conservación. Los órganos plastinados tienen la característica de ser un modelo didáctico permanente, además de que pueden tocarse directamente sin el uso de guantes y no desprenden vapores tóxicos.

## **Discusión**

Con ambas técnicas se obtuvieron órganos con la calidad deseada. La deformación de los cuernos que presentó uno de los especímenes del grupo 2 se debió, probablemente, a que no se mantuvo la posición original en la etapa de fijación.

Al igual que en el trabajo realizado por Smodlaka (41), los especímenes de ambos grupos no mostraron diferencias perceptibles en la calidad del detalle de superficie ni en la durabilidad.

Latorre (22) reporta que el procesar especímenes a temperatura ambiente puede hacerlos menos rígidos, así como, promover el incremento en la flexibilidad, lo cual, se observa en los especímenes obtenidos en este trabajo.

A temperatura ambiente, el silicón conserva una viscosidad mucho menor que a  $-25^{\circ}\text{C}$ , permitiendo así una penetración más rápida al órgano y una salida más fácil de la acetona (25). Es por eso que, a temperatura ambiente la impregnación forzada y el curado fueron más rápidos.

Según Ripani (36), la impregnación a temperatura ambiente limita el tiempo de vida del Biodur, debido a que la viscosidad del polímero se incrementa después de algunas semanas; por otra parte, se reduce el tiempo de impregnación. Esto es importante si el laboratorio plastina órganos pequeños y guarda el polímero residual en un ultracongelador a  $-25^{\circ}\text{C}$  durante los intervalos de trabajo para que pueda ser reutilizado. Para Kularbkaewi (37), este problema puede resolverse mediante la mezcla del polímero con acetona antes de rehusarlo en un nuevo baño de especímenes (37).

La impregnación a temperatura ambiente significa que solamente se requieren bajas temperaturas para la deshidratación, lo que reduce el costo del equipo, según Baker (38).

Los especímenes plastinados pueden ser almacenados a temperatura ambiente y usados por tiempo indefinido, además, de que pueden tocarse directamente sin el uso de guantes ni equipo especial y no desprenden vapores tóxicos. Estudios recientes han relacionado la exposición al formaldehído y compuestos similares con varias enfermedades tales como dermatitis alérgicas, desordenes oculares y de vías aéreas y carcinogénesis (17). Por lo tanto, cualquier método que disminuya la exposición al formaldehído debe ser explorada.

El proceso de plastinación es actualmente utilizado para crear modelos didácticos en escuelas tanto de medicina humana como veterinaria. Ha sido aplicado a una variedad de especies, la única limitación es el tamaño de la cámara de impregnación.

Realizar la etapa de impregnación a temperatura ambiente, ofrece las ventajas de reducir el tiempo requerido para el proceso de plastinación, así como, el empleo de menos equipo al eliminar el uso de un ultracongelador. La desventaja es que después de tres semanas aproximadamente la viscosidad de la mezcla se incrementa.

Al igual que la técnica de plastinación, este trabajo ofrece una variedad de aplicaciones prácticas, pues las piezas producidas sirven como modelo didáctico para la enseñanza de anatomía normal, patológica, clínica, quirúrgica, dismórfica, teratológica, etcétera.

En el caso de los órganos reproductores femeninos plastinados, pueden utilizarse como modelo anatómico para clases de anatomía comparada y anatomía de los órganos reproductores de hembras, que puede usarse tanto en clases de cirugía, como de reproducción. También pueden servir como modelo para la enseñanza de anatomía patológica, pues se pueden conservar órganos que presenten diversas patologías tales como: hiperplasia endometrial quística, quistes ováricos, piómetra, hidrómetra, hipoplasia ovárica y toda clase de neoplasias, como adenomas, adenocarcinomas, leiomiomas, leiomiomas, fibromas, fibrosarcomas y tumor venéreo transmisible, entre otros (42).

Aunque los especímenes plastinados no pueden reemplazar la experiencia de la disección de órganos frescos, otra aplicación no menos importante, es que la

plastinación es una alternativa para reducir y reemplazar el uso de animales vivos usados en investigación y educación.

Esta tesis sienta las bases para continuar elaborando material didáctico con la técnica de plastinación a temperatura ambiente, pues se ha demostrado que se obtienen especímenes con calidad, además de que se reduce el costo del proceso al eliminar el uso de un ultracongelador (con un costo aproximado de \$180 000) en la etapa de impregnación forzada.

## **CONCLUSIONES**

No se demostró que las piezas plastinadas a temperatura ambiente presentaran una calidad inferior que las plastinadas a  $-25^{\circ}\text{C}$ , como se estableció en la hipótesis. Con ambas técnicas se obtuvieron resultados satisfactorios. Al compararlas se observó que no mostraron diferencias perceptibles en el detalle de superficie ni en la estructura anatómica. Por el contrario, las piezas realizadas a temperatura ambiente mostraron ser más flexibles, además, de que se requirió menor tiempo en el procedimiento.

Los especímenes de ambos grupos presentan la característica exclusiva de la plastinación de ser modelos didácticos sin olor, no tóxicos, durables y que pueden manipularse directamente sin el uso de guantes.

Además, se encontró que realizar la etapa de impregnación forzada a temperatura ambiente tiene las ventajas de reducir el tiempo empleado en el proceso y de disminuir el uso de equipo, porque se elimina el uso de un ultracongelador en esta etapa, con este tipo específico de órganos.

La desventaja es que el tiempo de vida de la mezcla de Biodur S10+S3 se reduce a temperatura ambiente; lo cual, puede evitarse si se guarda la mezcla en el ultracongelador durante los intervalos de trabajo, o si se mezcla con acetona antes de rehusarla en un nuevo proceso.

Se debe tener presente que la innovación de las técnicas de conservación ha permitido el desarrollo de la investigación médica y la enseñanza.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Weiglein, AH. Plastination a teaching and research tool. *J Int Soc Plastination* 1996; 10:4-5.
2. Mezquita D. Manual de técnica anatómica. 2ª ed. España: Ediciones Gráficas, 1952.
3. Singer C. A Short History of Anatomy from the Greeks to Harvey. New York: Dover Publications, 1957.
4. Carlino A. Books of the Body. Anatomical Ritual and Renaissance Learning. United States of America: The University of Chicago Press, 1999.
5. Covarrubias J. El arte y los anatomistas del renacimiento. En: Kumate J, coordinador. Italia en la medicina. Ensayos mexicanos. 1ª ed. México: El Colegio Nacional, 1997:67-69.
6. García E. La medicina de la Italia Medieval. En: Kumate J, coordinador. Italia en la medicina. Ensayos mexicanos. 1ª ed. México: El Colegio Nacional, 1997:57-66.
7. Buchholz E. Leonardo da Vinci. Vida y obra. China: Könemann Verlagsgesellschaft, 2000.
8. Olry R. Short history of vascular injections, with special reference to the heart vessels. *J Int Soc Plastination* 1998; 13:7-11.
9. Moore W. The Knife Man. Great Britain: Bantam Books, 2005.
10. Poggesi M. La colección de figuras de cera del Museo "La Specola". En: Düring M, editor. Encyclopaedia Anatomica. Museo La Specola Florence. Alemania: Taschen, 1999:28-43.
11. Kristan L, Anneli R. Weird Europe: A guide to Bizarre, Macabre, and Just Plain Weird Sights. USA: Macmillan, 1999.
12. Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobón LH. Métodos Histotecnológicos. USA: Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América, 1995.
13. Von Hagens G. Impregnation of soft biological specimens with thermosetting resins and elastomers. *Anat. Rec.* 1979; 194:247-256.
14. Whittaker G. Anatomy without Tears-Plastinated Specimens in Human Biology. In: The Australasian Society for Human Biology Conference; 1994 December 4-8; Perth Australia. [Citado en oct 20 2009]. Available from: URL: <http://humanbiology.curtin.edu.au/plastination.html>
15. Weiglein AH. Preservation and plastination. *Clin Anat* 2002; 15:445.
16. Miklošová M, Sivrev D. Plastination- A teaching and research tool. *Folia Vet* 1999; 43:104-107.
17. Daviau J, Parker J, Parmelee R, Jahn S, Frank D. The use of plastinated specimens as teaching aids of orolaryngeal anatomy in selected laboratory animals. *Contemp Top Lab Anim Sci* 1997; 36:50-52.
18. Cannas M, Fuda P. Plastination of Old Formalin-Fixed Specimens. *J Int Soc Plastination* 1991; 5:11-15.
19. Sánchez FM. Plastinated specimens in the minimally invasive surgery center (Cáceres Spain). *J Int Soc Plastination* 2004; 19:44-45.
20. Henry RW, Daniel GB, Al-Bagdadi FK, Butler J. Plastinated Specimens, an aid in interpreting MRI, CT and sectional anatomy. *Anat Histol Embryol* 1991; 20:1.
21. Bright JM, Henry RW. Teaching the standard imaging planes of two-dimensional, realtime echocardiography in the dog aided by plastinated specimens. *Anat Rec Suppl* 1993; 1:40.
22. Latorre R, Vázquez JM, Gil F, Ramírez G, López-Albors O, Orenes M, Martínez-Gomaris F, Arenciba A. Teaching Anatomy of the Distal Equine Thoracic Limb with Plastinated Slices. *J Int Soc Plastination* 2001; 16:23-30
23. Bickley HC. Plastination: A new technique for anatomic pathology and forensic science. *Pathology Update Series Communication* 1984; 2:2-8.
24. Maréchal JP, Grondin G, Clique A, Durand M, Maigret J. Plastination: Application for the Conservation of Natural History Collections. *J Int Soc Plastination* 2001; 16:35.

25. Zheng T, You X, Liu J, Zhu K. A Study on the Preservation of Exhumed Mummies by Plastination. *J Int Soc Plastination* 1998; 13:20-22.
26. Henry R. Principles of plastination. *J Int Soc Plastination* 1998; 13:28.
27. Whittaker G. Plastination in Teaching Anatomy. In: Conf Australian Optometrical Association Conference;1995; Perth, Australia. [Citado en oct 20 2009]. Available from: URL: <http://humanbiology.curtin.edu.au/plastination.html>
28. Gubbins RBG. Desing of a plastination laboratory. *J Int Soc Plastination* 1990; 4:24-27.
29. Reina-de la Torre F, Rodríguez-Baeza A, Doménech-Mateu J. Setting up a Plastination Laboratory at the Faculty of Medicine of the Autonomous University of Barcelona. *Eur J Anat*, 2004; 8:1-6
30. Henry, RW. Dehydration of specimens for plastination. *J Int Soc Plastination* 1995; 9:27.
31. Von Hagens G: Heidelberg plastination folder: Collection of all technical leaflets for plastination. Germany: Anatomisches Institut 1, Universität Heidelberg,1985.
32. Henry RW, Janick L, Henry C. Specimen Preparation for Silicone Plastination. *J Int Soc Plastination* 1997; 12:13-17
33. Ostrom K. Fixation of Tissue for Plastination: General Principles. *J Int Soc Plastination* 1987; 1:3-11.
34. Bickley HC, Conner RS, Walker AN, Jackson RL. Preservation of Tissue by Silicone Rubber Impregnation. *J Int Soc Plastination* 1987; 1:30-39
35. Henry R, Nel P. Forced impregnation for the Standard S10 Method. *J Int Soc Plastination* 1993; 7:27-31.
36. Ripani M, Bassi A, Perracchio L, Panebianco V, Perez M, Boccia ML, Marinozzi G. Monitoring and enhancement of fixation, dehydration, forced impregnation and cure in the standard S-10 technique. *J Int Soc Plastination* 1994; 8:3-5.
37. Kularbkaewi Ch, Cook P, Yutanawiboonchai W, Von Hagens G. Plastinated pathology specimens at room temperature in Thailand. *J Int Soc Plastination* 1996; 11:17-20.
38. Baker JA. COR-TECH PR10 silicone: Initial trials in plastinating human tissue. *J Int Soc Plastination*, 1999; 14:13-19.
39. Raouf A. Using a room-temperature plastination technique in assessing prenatal changes in the human spinal cord. *J Int Soc Plastination*, 2001;16:5-8.
40. Internacional Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature (I.C.V.G.A.N.) editor. *Nomina Anatomica Veterinaria*. 5th edition. Hannover: Editorial Committee 2005.
41. Smodlaka H, Latorre R, Reed RB, Gil F, Ramirez G, Vázquez-Autón JM, López-Albors O, Ayala MD, Orenes M, Cuellar R, Henry RW. Surface detail comparison of specimens impregnated using six current plastination regimens. *J Int Soc Plastination*, 2001; 16:5-8.
42. Carlton W, McGavin MD. Thomson's Special Veterinary Pathology. 2<sup>nd</sup> ed. USA: Mosby, 1995.