

‘EVALUACIÓN DE CINCO PROTOCOLOS DE CONSERVACIÓN DE TEJIDOS EN CHIGÜIRO (*Hydrochaeris hydrochaeris*) (LINNAEUS, 1766)

Evaluation of five protocols of conservation’s techniques in chigüiro *Hydrochaeris hydrochaeris* (Linnaeus, 1766) tissues

José R. Corredor-Matus¹, Carlos J. Sejín-Puche² y Mario A. González- G³

¹ Medico Veterinario Zootecnista, MSc, Profesor asistente Escuela de Ciencias Animales, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Meta, Colombia-Grupo de investigación sistemas de producción en especies silvestres GISPES, jcorredormatus@gmail.com

² Medico Veterinario Zootecnista, Esp., Profesor asociado de la Escuela de Ciencias Animales de Unillanos, miembro del GISPES

³ Medico Veterinario, Profesor asociado de la Escuela de Ciencias Animales de Unillanos, miembro del GISPES

ABSTRACT

Bodies conservation is a technique that uses the formalin chemical almost exclusively. It’s use dehydrates the tissues, takes the tissues dissection very hard and volatilized contaminants fumes. With the purpose to carry out morphological studies in chigüiros (*Hydrochaeris hydrochaeris*) and minimize contaminants effects for exclusive use of formalin, tests were made with five conservations protocol’s, using compounds such: Formalin at 5, 12, 14, 16 y 18 %; Phenol at 3, 5, 7 and 8 %; glycerin at 1, 5 and 10 %; Ethanol at 5, 7, 10 y 12 %, using two experimental animals for each one. Specimens were anesthetized with a mixture of atropine, midazolam, ketamine and xylazine. Exsanguinations and application of conservation protocols, was made through the carotid artery, using an injection fluids pump. Volume applied was calculated according with ten per cent of corporal weight of each specimen. Dissection was begun ten days after conserving protocols applied. Muscle tissues were took to different times (30, 60, 90, 120 after protocols applications), to verified the actions of each protocol. Protocol 1 is behaving properly, because the corpses were preserved in good condition during the study period, allowing the realization of dissections and supported the manipulation of parts, protecting them from the climatic conditions prevailing in the area. The protocol two and three had similar behavior to one, the tissues were softer, but more dehydrated by the use of higher concentrations of formaldehyde. It is noteworthy that vapor contamination was significantly reduced. In protocol 4, the tissues of the head, neck, upper extremities and thoracic viscera, were kept well hydrated and better. Protocol 5, follows the same pattern of others. The preservation of

tissues was good, with no perceived excess volatility of gas, the dissection carried out more comfortably. Still need to analyze the histological studies relating to the last sampling (120 days) to determine the effect on the tissues. It is expected; the study is completed, and has protocols that ensure greater conservation, soft tissue and substantial decrease in gas pollution.

Key words: Corpses, capybara, pollution, formaldehyde, gas.

RESUMEN

La conservación de cadáveres se ha realizado haciendo casi el uso exclusivo de formol. Esto deshidrata los tejidos, haciendo dificultosa la disección y provocando vapores contaminantes. Con el fin de adelantar estudios morfológicos en chigüiros (*Hydrochaeris hydrochaeris*) y de minimizar los efectos contaminantes por el uso exclusivo del formol, se hicieron ensayos con cinco protocolos de conservación, utilizando componentes como: Formol al 5, 12, 14, 16 y 18 %; Fenol al 3, 5, 7 y 8 %; Glicerina al 1, 5 y 10 %; Etanol al 5, 7, 10 y 12 %, usando dos ejemplares de chigüiro para cada uno de los procedimientos. Los animales experimentales fueron anestesiados con un coctel anestésico a base de Atropina, Midazolán, Ketamina y Xilazina. La exanguinación y aplicación de protocolos se hizo vía arteria carótida, con ayuda de una bomba de fluidos automatizada. El volumen aplicado se cálculo con base al 10 % del peso corporal del individuo experimental. La disección se inició a los diez días de aplicado el protocolo, se tomaron muestras de tejido muscular a diferentes tiempos para evaluar el efecto conservante. El protocolo uno se comporto en forma adecuada, dado que los cadáveres se conservaron en buen estado durante el tiempo de estudio, permitiendo la realización de disecciones y soportado la manipulación de las piezas, protegiéndolas de las condiciones climáticas imperantes en la zona. El protocolo dos y tres tuvieron un comportamiento similar al uno, los tejidos son más suaves, pero más deshidratados por el uso de concentraciones más altas de formol. Es de resaltar que la contaminación por vapores, se redujo considerablemente. Con el protocolo 4, los tejidos de cabeza, cuello, vísceras torácicas y miembros torácicos, se han conservado bien y mejor hidratados. El protocolo 5, siguió el mismo patrón de los demás. La conservación de los tejidos, fue buena, sin percibirse exceso de volatilidad de gases, realizándose la disección con mayor comodidad. Esta por analizar los estudios histológicos correspondientes a la última toma de muestras (120 días) para determinar el efecto en los tejidos. Se espera, finalizado el estudio, contar con protocolos que aseguren mayor conservación, suavidad de tejidos y disminución sustancial de contaminación por gases.

Palabras Clave: Cadáveres, capibara, contaminación, formol, gases.

INTRODUCCIÓN

La preocupación por la conservación de los cuerpos ha sido constante, desde los albores de la humanidad, pues el ser humano se niega, al final de su vida, a ser convertido en una "nada", de ahí que la Teratología sea una ciencia cuya finalidad trata de la preservación de cadáveres.

El formaldehido (HCHO) se utiliza desde hace tiempo como fijador tisular, preservador,

desinfectante, embalsamador (Reverte 1999) y en la actualidad es usado en la industria para diversos fines. Además de ser un producto ampliamente empleado, es una sustancia con la que cada Medico Veterinario y humano ha tenido contacto temprano en sus días de permanencia en los laboratorios de anatomía normal o patológica (Batista 1986, Allegritti 1993, Allegritti 2003).

Existen numerosas propiedades del formaldehído en los procesos de preservación y conservación de tejidos. No obstante, se desconocía su alto potencial tóxico (Perkins y Kimbrough, 1986). Sin embargo las manifestaciones clínicas determinadas por la exposición al formaldehído dependen, por lo general, de concentraciones elevadas del compuesto (desde 50 ppm en adelante), con síntomas como vómitos, epifora, irritación de ojos, edema pulmonar, disnea, cáncer de piel y en ocasiones se observa la aparición de neumonía secundaria. En los casos graves, la muerte ocurre generalmente dentro de las primeras 10 horas de exposición. Moret (1990).

Moret (1990), señala que la exposición al formaldehído produce, además de irritación y constricción de la garganta, piel pegajosa, vértigo, dolor abdominal, diarrea, convulsiones, daño renal, hematuria, anuria y en casos extremos colapso cardiovascular, shock secundario, acidosis metabólica, coma y muerte, algunos cambios vegetativos y trastornos neurológicos caracterizados por indigestión, anorexia, pérdida de la memoria, irritabilidad, náuseas y cefaleas. Frigas *et al.* (1984), por su parte, sugieren que las personas sensibles al formaldehído presentan alergias como asma bronquial y dermatitis.

De acuerdo con Tomas (1998), el formaldehído es cancerígeno en ratas y ratones. Esto sugiere un comportamiento similar en humanos, especialmente si están expuestos por un tiempo suficientemente prolongado y a concentraciones altas. Además el formaldehído puede ser un facilitador para otros agentes oncogénicos. Opinión compartida por Moret (1990).

Lo anteriormente mencionado, deja claro que el formaldehído es un producto de riesgo, que pone en peligro la salud del usuario y que por tanto debe buscarse la forma de reemplazarlo por otros productos inocuos y que cumplan con la función de conservación y fijación de tejidos.

La glicerina es un reactivo inocuo para el ser vivo, que se utiliza en histopatología como medio para la

conservación de tejidos, que van a ser procesados Histotécnicamente. Universidades Como la de Antioquia, la utilizan habitualmente en el anfiteatro de Medicina Veterinaria, para la conservación de los cadáveres, lo que ha permitido disminuir la utilización del formaldehído, producto que por la vaporización que genera, es contaminante del ambiente.

De otro lado, el *Hydrochaeris hydrochaeris* es especie promisoría para su explotación zootécnica por ser herbívoro, tener alta tasa de reproducción, rápido crecimiento, tolerancia a altas densidades y manejo fácil (Assaf . *et al* 1976, Gonzalez 1977, Azcarate 1980, Gonzalez 1985, Mones y Ojasti, 1986, Instituto Alexander von Humboldt 2004) lo que permitiría trabajar en su conservación y aprovechamiento económico, utilizando estrategias como la implementación de zoológico (Otero 1972), que ofrezcan alternativas de producción sostenible. Estas características de la especie y su potencial, ponen de presente la necesidad de realizar trabajos de investigación que contribuyan a aumentar y fortalecer el conocimiento de *Hydrochaeris hydrochaeris* en diferentes aspectos, como su anatomía y fisiología, conocimiento que es básico para intentar implementar modelos de explotación *ex situ*.

Con el fin de adelantar estudios morfológicos en chigüiros (*Hydrochaeris hydrochaeris*) y de minimizar los efectos contaminantes por el uso exclusivo del formol, se efectuaron ensayos con cinco protocolos de conservación, utilizando componentes como: Formol, Fenol, Glicerina y Etanol, a fin de determinar cual de ellos es mas viable como preservante de cadáveres, ante las condiciones climáticas de la región del pie de monte llanero de la Orinoquia colombiana. De esta manera se pretende con este proyecto, desarrollar y evaluar técnicas de conservación y preservación de tejidos; esto con la finalidad de disminuir el riesgo a la salud por el uso continuado de formol, así como, disminuir el número de individuos sacrificados con fines académicos.

METODOLOGÍA

El trabajo se realizó en los laboratorios de anatomía e histopatología de la Escuela de Ciencias Animales, de la universidad de los Llanos en la ciudad de Villavicencio, Meta, Colombia, ubicado a una altura de 420 m.s.n.m., temperatura promedio de 28 °C, precipitación anual de 4050 mm y humedad relativa promedio del 85 %. Se utilizaron

diez chigüiros adultos hembras y machos. Cada dos ejemplares fueron perfundidos con una mezcla de Formol, etanol, fenol y glicerina, en las concentraciones que se observan en la tabla 1. La asignación del protocolo a cada animal, se hizo aleatoriamente.

Tabla 1. Concentración en porcentaje, de cada uno de los reactivos utilizados en cinco protocolos de conservación

Reactivo	PROTOCOLOS				
	1	2	3	4	5
Formol %	5	14	12	18	16
Etanol %	5	5	7	10	12
Fenol %	8	7	3	7	5
Glicerina %	5	5	10	1	1

La restricción física de los animales se realizó mediante una malla (nasa) utilizando un protocolo de manejo modificado aprobado por la corporación ambiental CORMACARENA. La inmovilización química, se efectuó utilizando el siguiente protocolo: Atropina: 0,04 mg/Kg IM, Midazolam: 0.3 mg/Kg, Ketamina: 5 mg/Kg, Xilazina: 0.2 mg/Kg. La mezcla anestésica se administró vía IM. Después de anestesiados los animales, se procedió al sacrificio por exanguinación. Los protocolos de restricción y de sacrificio, fueron aprobados por el comité de bioética de la Universidad de Los Llanos. Inmediatamente sacrificados, se cateterizó la vena yugular y la arteria carótida a fin de inocular los protocolos preservante. Para ello se utilizó una Bomba peristáltica de perfusión, la cual incorpora la mezcla preservante, regulando el caudal aplicado y controlando de presión de perfusión. El volumen aplicado se calculó con base al 10 % del peso corporal del individuo experimental, por lo que siempre se pesaba al ejemplar, antes de su sacrificio.

Una vez aplicados las sustancias preservantes, a cada uno de los grupos de ejemplares se les hizo disección a partir del décimo día de aplicado el

protocolo de conservación. La disección fue completa en cada grupo de ejemplares, comenzando con la disección de piel, que avanzó en primer lugar por las regiones cefálica y cervical, hasta contactar con el lado opuesto. Posteriormente se inició la segunda fase de la disección de piel por las zonas torácicas y abdominales, bilateralmente. La tercera fase de disección de piel correspondió a la región glútea, perineo y miembro pelviano, para posteriormente seguir con la disección de los músculos, vasos, nervios, etc., de la región de la cabeza y cuello. Posteriormente se continuó con la disección de tórax, cavidad abdominal y pélvica, haciendo una descripción detallada de los órganos, que se conservaron en canecas plásticas, con tapa, en las mezclas propuestas. Igual tratamiento se hizo con los miembros torácicos y pelvianos. Cada procedimiento, tanto de perfusión de los reactivos, como de disección de cada animal experimental, fue debidamente documentada mediante fotografías.

Para la verificación de la preservación, se hicieron estudios histológicos de músculo, tomando muestras a los 30, 60, 90 y 120 días postratamiento. Este artículo muestra los avances hasta los 90 días. El procedimiento se realizó en el laboratorio de

histopatología, siguiendo los protocolos de muestreo, conservación y remisión de tejidos que el laboratorio de histología tiene protocolizado, para el manejo de tejidos, cortes y coloraciones que allí se maneja.

Para la lectura de las placas histológicas, de los estudios de preservación, se utilizó un microscopio triocular marca Carl Zeiss, modelo axiostar plus, diseñado para montaje de cámara fotográfica.

RESULTADOS

Ensayos preliminares

Antes de utilizar los protocolos en los ejemplares de chigüiro, se realizaron ensayos preliminares de cada uno de éstos en equinos y caninos, a fin de determinar su comportamiento en estas especies. El protocolo 1 se utilizó inicialmente en un equino de 170 kilos de peso, empleando los mismos procedimientos que en los ejemplares experimentales. La disección se inició a los 8 días del tratamiento. Para esta época se comenzó a observar algo de descomposición que inició por los ollares, labios y rodets coronarios de las cuatro extremidades. Al iniciar la disección de la región cervical, se comprobó que la descomposición estaba avanzada, por lo que se decidió eliminar el ejemplar.

El segundo ensayo de este protocolo se utilizó en dos caninos de aproximadamente 20 kilos de peso. Este protocolo se comportó en forma adecuada, dado que los cadáveres se conservaron en buen estado durante todo el semestre, sin sufrir descomposición.

El protocolo 2 empleó un ejemplar equino de 190 Kilos, con edad aproximada de 2.5 años. Al iniciar la disección se notó que el proceso de descomposición fue más lento, iniciándose por ollares, nariz y miembros. A este ejemplar se le practicó la disección completa de cuello, descartándose la cabeza y las vísceras abdominales, torácicas y pelvianas. Los miembros, tanto anteriores como posteriores, sufrieron descomposición a nivel del rodete coronario, conservándose las demás estructuras.

El seguimiento fotográfico de los protocolos y de los estudios histológicos se efectuó con una cámara digital marca canon, modelo G5, compatible con el microscopio arriba señalado.

Respecto al tratamiento que recibió la información emanada de los estudios histológicos de los protocolos de conservación, se hizo un tratamiento de estudio descriptivo, de las observaciones hechas.

En caninos también se ensayó este protocolo, en donde tuvo un comportamiento similar al protocolo 1 en esta especie, pero dado que el porcentaje de formol utilizado fue mayor, se percibió la presencia de mayor cantidad de vapores de formol y se observó que las piezas disecadas presentaban un mayor grado de deshidratación, tornándose más difícil su manipulación y disección.

El protocolo 3 se aplicó a un ejemplar equino de 100 kilos de peso, con una edad aproximada de 1.5 años. La disección se inició a los 8 días, notándose que la descomposición se inició igual que en los casos anteriores, comenzando por ollares, labios, cabeza y rodets coronarios. De este ejemplar se practicó disección de todas sus estructuras, sin descartar ninguna pieza.

El protocolo 4 se ensayó en un ejemplar equino, macho de 180 Kilos de peso. La disección de este ejemplar se comenzó a la semana de aplicarse la mezcla. Los tejidos correspondientes a cabeza, cuello, vísceras torácicas y miembros torácicos, se conservaron bien, no percibiéndose presencia de volatilidad de formol. Con respecto a vísceras de la cavidad abdominal y pélvica, así como los miembros pelvianos, se presentó un proceso de descomposición, que inició a partir del cuarto día de aplicación del protocolo, que hizo necesario eliminar estas piezas. La descomposición comenzó a nivel de la ijada y simultáneamente en la parte distal de los miembros pelvianos, proyectándose posteriormente a la región del perineo.

Uno de los grandes beneficios de este protocolo, es que los tejidos viables, se conservan mejor hidratados, favoreciendo la disección, manipulación y conservación.

El protocolo 5 de estos ensayos, empleo una yegua con peso de 300 kilos. La disección se comenzó a los 7 días del sacrificio. Como observación, se debe tener en cuenta que este ejemplar no se dejó en ayuno, conservando el aparato gastrointestinal, gran contenido de ingesta. La conservación de los tejidos fue buena, a excepción de las partes distales de miembros torácicos y pelvianos, por lo que se recomienda en lo sucesivo, aplicación de formol local en estas áreas. No se percibió exceso de volatilidad de gases,

especialmente del formol, realizando la disección con mayor comodidad.

Ensayos experimentales

Como se mencionó en la metodología, la disección se inició a los diez días del sacrificio y aplicación de las mezclas conservantes, en cada uno de los protocolos, observándose como rasgo común en todos ellos, que los ejemplares se conservaron en buen estado, con muy baja percepción de olor a formol y notándose que las masas musculares se conservan suaves al tacto y se dejan deprimir. La Figura 1, muestra la secuencia de eventos al iniciar la disección de la región cervical. Se puede apreciar en la foto 3, la coloración limpia del tejido subcutáneo, al incidir la piel.



Figura 1. Secuencia de disección cervical de la disección de chigüiros (*Hydrochaeris hydrochaeris*), conservados con protocolos de mezcla de sustancias conservantes

La disección de la piel comenzó a partir del plano longitudinal medio, desde el área dorsal de la cabeza hasta alcanzar el coxis. Se observa una piel gruesa, de aproximadamente 5-6 mm de espesor, en esta región. Al retirar la piel, se aprecia el músculo cutáneo,

de bastante grosor y muy adherido a la piel, conservando un color rosáceo y una textura friable (Figura 2). Siguió la disección de piel alcanzando los miembros torácicos. La tercera fase de disección de piel correspondió a la región glútea, perineo y miembro pelviano.



Figura 2. Avance de la Disección en Regiones Cervical y Torácica de chigüiros (*Hydrochaeris hydrochaeris*), conservados con protocolos de mezcla de sustancias conservantes

La figura deja ver la coloración característica de los músculos, que conservan un aspecto normal y coloración rosácea. Una característica de la piel del cuello, es que se adelgaza hasta alcanzar un grosor aproximado de 2 mm.

Efecto de los protocolos

Protocolo 1

Como se describió en la metodología, se procesaron placas histológicas de músculo tomadas a los 30,

60, 90 y 120 días de aplicados los protocolos, mostrando aquí los resultados de preservación obtenidos hasta el día 90. La figura 3, detalla las características histológicas del tejido muscular con aumento de 40X, a los 30 días de aplicado este protocolo. Se observa que las células musculares han comenzado su proceso de autólisis, demostrado por el recogimiento que las mismas, con aumento de los espacios intercelulares, por efecto de la deshidratación.

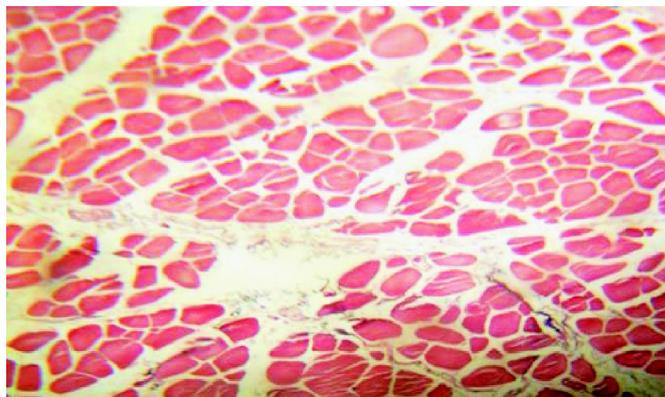


Figura 3. Corte histológico transversal de músculo a los treinta días de aplicado el protocolo 1. Aumento 40X

A los sesenta días de aplicado este protocolo, se observa con claridad en la placa histológica, los núcleos en su posición periférica de las células

musculares, con disminución de su tamaño. El proceso de autólisis esta disminuido, como puede apreciarse en la figura 4.

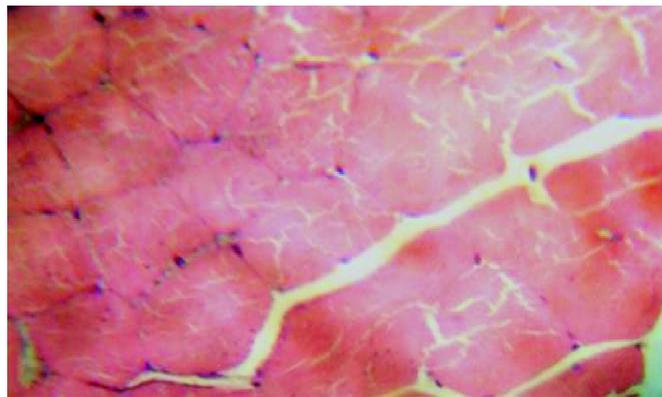


Figura 4. Corte histológico transversal de músculo a los sesenta días de aplicado el protocolo 1. Aumento 100X

Las características del tejido a los noventa días, se aprecian en la Figura 5. En ella se observa claramente los espacios intercelulares, que han

venido ampliándose y la presencia de los núcleos periféricos de cada una de las células, que como se mencionó en el figura 3, se han reducido.

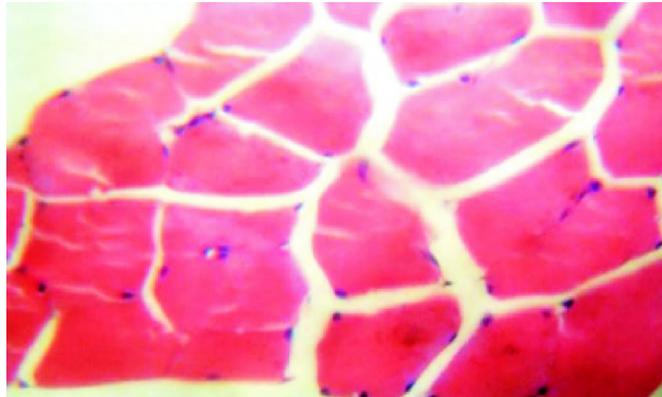


Figura 5. Corte histológico transversal de musculo a los noventa días de aplicado el protocolo 1. Aumento 100X

Protocolo 2

Las figuras 6, 7 y 8, muestran los cortes histológicos de este protocolo a los 30, 60 y 90 días respectivamente. Se observa en su conjunto que los núcleos se conservan, el proceso es controlado y la arquitectura tisular facilita la identificación del tejido. Los vasos sanguíneos mantienen la estructura y el

tejido conectivo conserva la arquitectura normal; se conservan los espacios de CONHEIM. En la figura 6 se observa una gran cantidad de tejido conectivo, con amplios espacios entre los paquetes de fibras musculares. Por su parte en la Figura 7, se aprecia un corte longitudinal, con la presencia de núcleos alargados

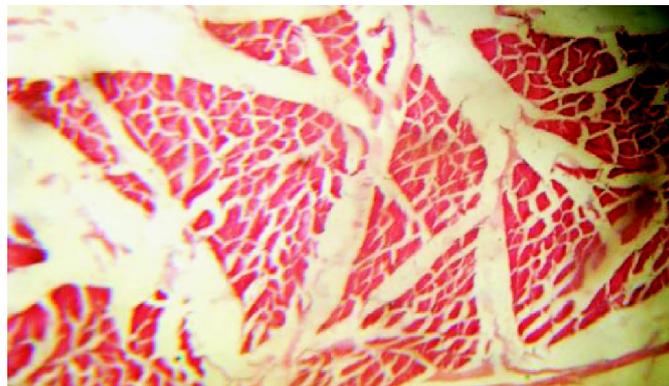


Figura 6. Corte histológico transversal de musculo a los treinta días de aplicado el protocolo 2. Aumento 40X

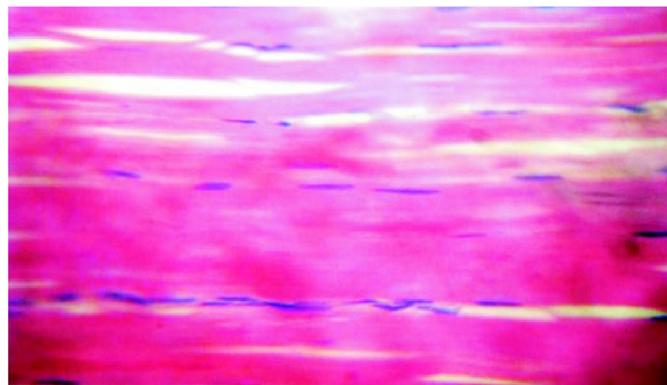


Figura 7. Corte histológico longitudinal de musculo a los sesenta días de aplicado el protocolo 2. Aumento 100X

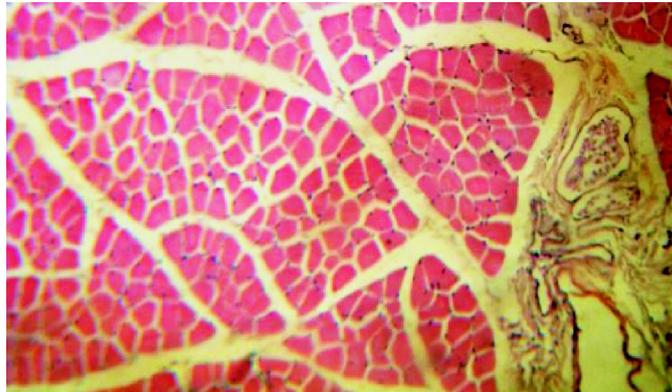


Figura 8. Corte histológico transversal de musculo a los noventa días de aplicado el protocolo 2. Aumento 40X

Protocolo 3

Las figuras 9, 10 y 11 muestran los resultados del estudio histológico a los 30, 60 y 90 días de aplicado el protocolo 3. Se aprecia un aumento leve de la autolisis. Se demuestra porque los espacios

intercelulares son más grandes, porque la retracción celular ha aumentado. Se observan zonas no coloreadas o poco coloreadas, debido a que las enzimas celulares han autolizado las organelas.

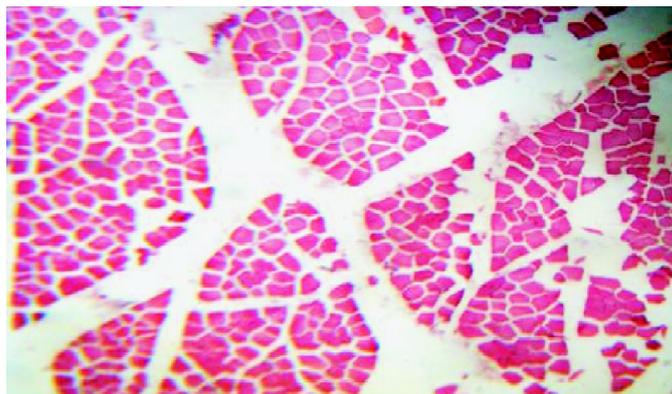


Figura 9. Corte histológico transversal de musculo a los treinta días de aplicado el protocolo 3. Aumento 40X

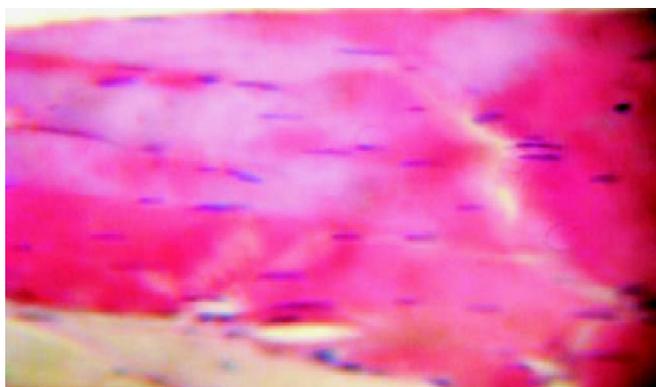


Figura 10. Corte histológico longitudinal de musculo a los sesenta días de aplicado el protocolo 3. Aumento 100X

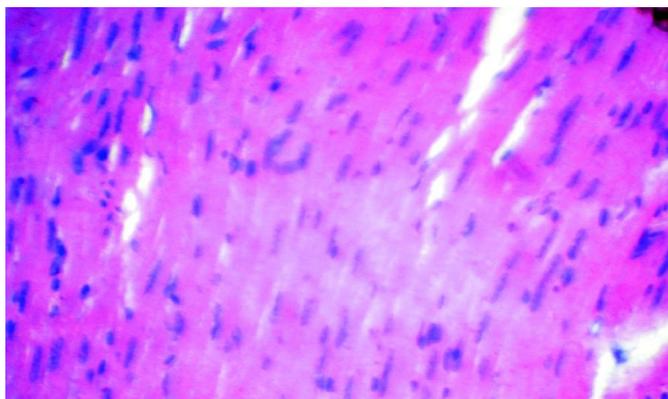


Figura 11. Corte histológico transversal de musculo a los noventa días de aplicado el protocolo 3. Aumento 40X

Protocolo 4

En las figuras 12, 13 y 14, se aprecia las características histológicas del tejido muscular a los 30, 60 y 90 días de aplicado el protocolo 4. El resultado es similar al observado con el protocolo 3, hay aumento del espacio intercelular, que se conserva, prevalecen fibras colagenas, pero escasas, especialmente a los 90 días, hay

retracción celular mas intensa, evidencia de la autolisis y deshidratación; las enzimas de las células han autolizado tejido colágeno, por acción de la colagenasa. Las células se observan más retraídas y núcleos menos visibles y pálidos, sin embargo no se pierde la arquitectura del tejido y es identificable.

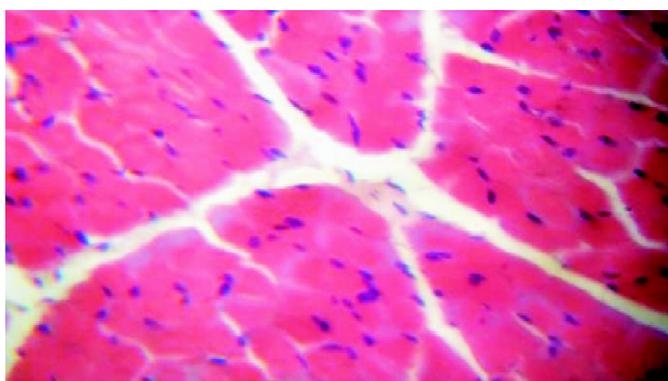


Figura 12. Corte histológico transversal de musculo a los treinta días de aplicado el protocolo 4. Aumento 10

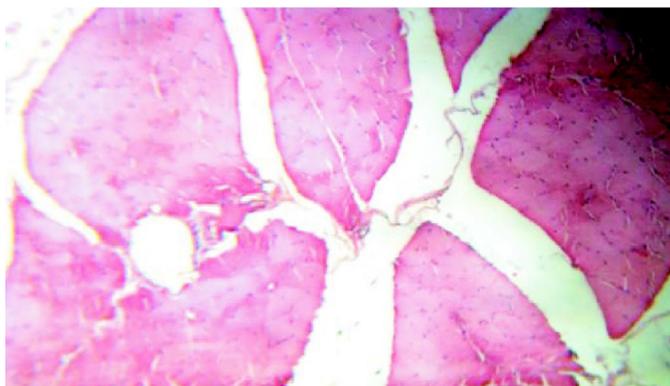


Figura 13. Corte histológico transversal de musculo a los sesenta días de aplicado el protocolo 4. Aumento 100X

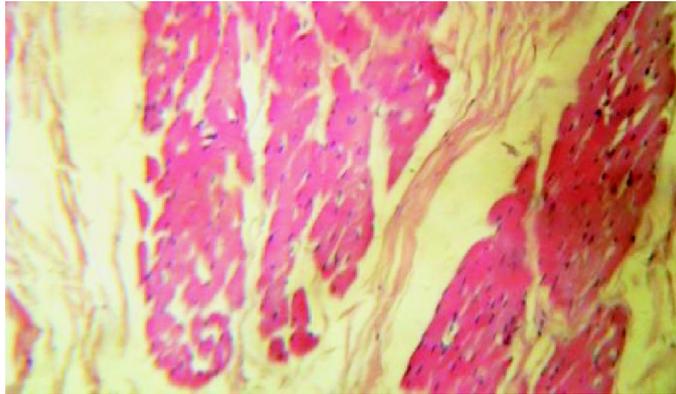


Figura 14. Corte histológico transversal de musculo a los noventa días de aplicado el protocolo 4. Aumento 100X

Protocolo 5

Las figuras 15, 16 y 17, dejan ver las hallazgos histológicos a los 30, 60 y 90 días de aplicado el protocolo 5. Se observa espacios intercelulares grandes, los núcleos están desaparecidos, ha aumentado el proceso de autólisis. En ningún protocolo se ha presentado proceso de putrefacción, los espacios son

grandes. Los componentes de los protocolos, al parecer aumentan la deshidratación. El proceso de aclaramiento de tejidos, en los preparados histológicos se hace con xilol, toluol o fenol, y la deshidratación con etanol, por eso se ven espacios claros por recogimiento de las células, sin embargo la autólisis se controla.

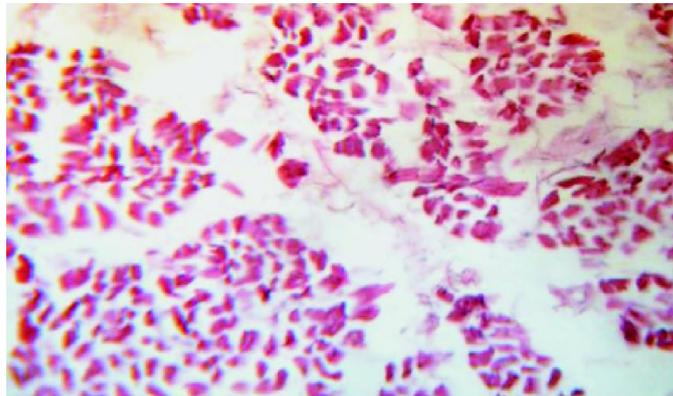


Figura 15. Corte histológico transversal de musculo a los treinta días de aplicado el protocolo 5. Aumento 10X

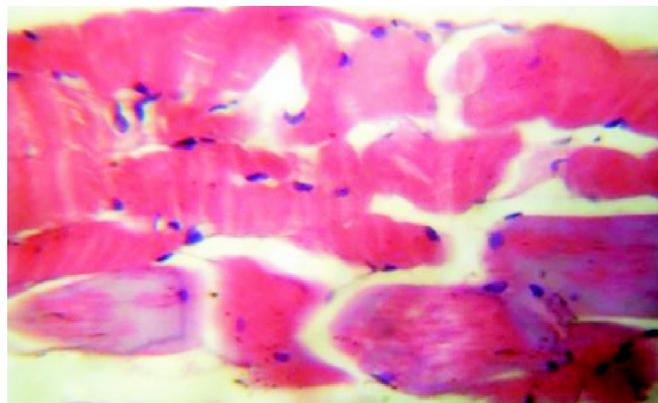


Figura 16. Corte histológico transversal de musculo a los sesenta días de aplicado el protocolo 5. Aumento 100X

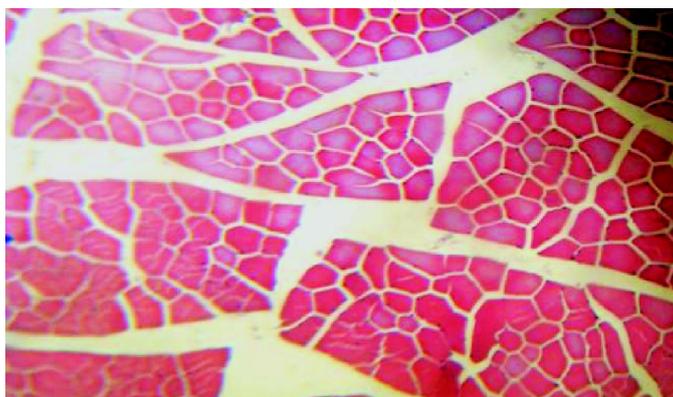


Figura 17. Corte histológico transversal de musculo a los noventa días de aplicado el protocolo 5. Aumento 40X

DISCUSIÓN

Este proyecto tuvo como finalidad evaluar cinco protocolos de conservación de cadáveres para anatomía, utilizando como animal experimental el *Hydrochaeris hydrochaeris*. Como se mencionó antes, la idea fundamental es reducir el uso de formol, como principal elemento fijador de tejidos. Antes de usar cada uno de los protocolos, se hicieron ensayos en equinos y caninos, que son los especímenes habituales de estudio en la cátedra de anatomía. Es importante resaltar las condiciones climáticas imperantes en la zona de estudio, descritas en la metodología y que son factores que inciden fuertemente en la conservación de piezas anatómicas, en donde protocolos que dan buenos resultados, bajo otras condiciones climáticas, bajo las nuestras, es diferente.

De estos ensayos preliminares se puede decir, que para el caso del protocolo 1, la concentración de formol utilizada fue muy baja (5 %), situación que probablemente ocasionó la descomposición rápida del ejemplar. Habitualmente en esta especie, el protocolo del laboratorio de anatomía utilizaba solo formol, como único elemento conservante. Al disminuir fuertemente su concentración, mezclarlo con otros elementos y, dada las condiciones climáticas imperantes en la zona de estudio la mayor parte del año (nueve meses), pueden ser las razones que llevaron al resultado obtenido. El protocolo 2, en donde se incrementó la

concentración de formol al 14 %, la conservación de tejidos mejoró sustancialmente, especialmente de músculos, afectándose las vísceras, probablemente por que no se obtuvo la perfusión adecuada, ya que la irrigación de éstas es menor que la de los músculos esqueléticos.

Siguiendo con los ensayos preliminares, el protocolo 3, en la que se utilizó menor concentración de formol (12 %), con relación al protocolo 2, a pesar de seguir el mismo patrón de descomposición de los dos anteriores, tuvo una mejor conservación, no siendo necesario eliminar ninguna estructura. Es de anotar que este ejemplar era el de menor peso y edad, lo que hace pensar que la primera variable, juega un papel importante en la perfusión por gravedad de la mezcla conservante. Esta situación se pudo comprobar al utilizar el protocolo 1 y 2 en caninos, ejemplares que no sufrieron descomposición, permitiendo la realización de las diferentes disecciones y soporto la manipulación de las piezas, que podrían ser conservadas para ser utilizadas como piezas de disección demostrativas, durante varios semestres, siempre y cuando se almacenen en lugares adecuados (Cuarto frío y/o pocetas de conservación), ya que dadas las condiciones climáticas tan adversas en la zona de experimentación, de temperatura ambiental y humedad relativa muy altas, favorecen la descomposición y la presencia de hongos en las piezas anatómicas.

La descomposición que se observó en el ejemplar equino de protocolo 4, se presume obedece a la vía seleccionada para la perfusión de la mezcla (Arteria carótida), ya que en primer lugar, la aplicación va en sentido contrario a la circulación general y en segunda instancia, al hecho de que las arterias son menos distensibles que las venas, lo cual pudo provocar la menor perfusión de la mezcla conservante, hacia los tejidos más distantes del sitio de aplicación.

Es de resaltar sin embargo, que la contaminación por vapores de formol, se redujo considerablemente en todos los protocolos utilizados en los ensayos preliminares, haciendo más tolerable el ambiente de trabajo.

Llama la atención que los protocolos utilizados en equinos y de acuerdo con la experiencia de muchos años de ejercicio docente en la anatomía, se nota que las piezas tienden a generar descomposición en las partes más distales de los miembros, tanto torácicos como pelvianos, lo que hace pensar que la perfusión de la mezcla a estos sitios, no es muy completa y probablemente se deba a la disposición arterial de los vasos que nutren estas regiones, que pueden sufrir espasmos antemortem, lo que generaría una vía más reducida para la llegada de la mezcla a estas zonas.

Sobre los resultados obtenidos en la especie experimental (*Hydrochaeris hydrochaeris*), los cinco protocolos arrojaron excelente resultado, ya que no se presentó descomposición en ninguno de los cadáveres utilizados y la disección, el ambiente de trabajo y la manipulación de piezas, se realizó sin la molestia que habitualmente genera el uso exclusivo del formol.

De acuerdo con la literatura, el formol es el fijador de tejidos más ampliamente conocido y usado en la mayoría de facultades de medicina y medicina veterinaria del mundo (Bensley y Hensley 1947, Armed Forces 1957, Baker 1966, Bickley *et al.* 1981, Hangay y Dingley 1985, Ripani y *et al.* 1996, Henry 1998, Von Hagens y Whalley 2000). Su acción, como la de otros fijadores, está encaminada a preservar el

estado de las células y tejidos, al detener el proceso autolítico y conservarlas en el estado en que se encontraban durante la vida (Bancroft y Stevens 1990). Para lograrlo se establecen puentes cruzados entre sus moléculas, de modo que quedan estabilizadas y bloqueadas en su posición y estructura original. Los enlaces establecidos son de tipo covalente, con los grupos amino libres presentes en las proteínas y forman puentes cruzados entre sí y con las proteínas adyacentes. Esto da como resultado la formación de una delgada malla, que mantiene la estructura interna celular y la cohesión tisular. (Celani y *et al.* 1984, UMSNH 2009). Los alcoholes como el etanol, son fijadores de tejidos que estabilizan las proteínas sin combinarse con ellas y producen cierto endurecimiento tisular, además de tener acción antioxidante, que para el caso de las técnicas histológicas, favorecen la coloración y tinción de tejidos (Gurr 1960, Baker, 1966, Bancroft y Stevens 1990, Luna 1992, Bloom y Fawcett, 1995, Geneser, 2000). El fenol también se encuentra entre las sustancias químicas fijadoras simples, aunque su uso es menos frecuente que el formol, utilizándose principalmente en soluciones compuestas (Celani *et al.* 1984, Bloom y Fawcett, 1995; Geneser, 2000). La glicerina por su parte, actúa como un vehículo a semejanza de lo que sucede con el agua, pero es fácilmente contaminada por bacterias y hongos, lo que la hace poco práctica para usar en concentraciones más elevadas a las utilizadas en este estudio, dadas las condiciones climáticas a las que nos hemos referido, imperantes en la zona.

Los resultados con el protocolo 1 mostraron que en las tres muestras analizadas se observa algo de autólisis (Las células se van recogiendo) y aumenta el espacio intercelular por la deshidratación. Los núcleos conservan la posición y se nota que hay disminución del tamaño del núcleo por la acción enzimática de la célula. Es de resaltar que el proceso de autólisis se disminuye y casi se detiene, acción que puede evidenciarse por la similitud del comportamiento histológico entre las muestras, es decir la muestra 3, conserva similitud con la 1 y 2, a pesar de que los tiempos de procesamiento son diferentes.

El Protocolo 2, mostró que el proceso de autólisis se ha controlado, pero se aprecia una mayor deshidratación de los tejidos, ya que los espacios entre paquetes celulares se han ampliado. Este efecto puede deberse a la mayor concentración de formol que tiene este protocolo (14 %). El hecho que la arquitectura celular se conserve, es indicativo de que las concentraciones utilizadas en este protocolo, han funcionado adecuadamente.

El protocolo 3 utilizó una concentración de formol ligeramente menor a la anterior (12 %), con leve incremento en la concentración del etanol y reducción en la concentración de fenol. Este protocolo además utilizó la concentración más elevada de glicerina (10 %). Aunque las características histológicas son semejantes, aquí se observó un aumento leve de la autólisis en razón a que las enzimas celulares han actuado sobre las organelas. De acuerdo con lo descrito sobre la acción de los fijadores, puede especularse que la acción química de estos no logró una total cobertura, que podría atribuirse a defectos en la perfusión de la mezcla. Si bien el procedimiento utilizado siempre fue el mismo en todos los ejemplares, pudo presentarse particularidades individuales que pudieron afectar su distribución. Además al utilizar una concentración mayor de glicerina, pudo permitir una mayor acción de agentes bacterianos que pudieran haber causado algún efecto adverso. Sin embargo es necesario insistir en que ninguno de los ejemplares utilizados en los cinco protocolos, sufrió descomposición evidente.

Las características del protocolo 4 es que la concentración de formol y etanol fue la mayor (18 % y 10 % respectivamente), hecho que se tradujo en los estudios histológicos, en un mayor grado de deshidratación, que de ninguna manera afecta la identificación del tejido y conserva perfectamente la arquitectura del mismo. Este resultado demuestra que sin lugar a dudas, los cadáveres de la especie en estudio, pueden soportar un tratamiento de conservación con formol mas bajo al utilizado en este protocolo, lo que seguramente redundará en menor contaminación del ambiente con vapores emitidos por este compuesto.

El protocolo cinco utilizó la concentración mas elevada de etanol (12 %) y una concentración intermedia de formol (16 %). a las utilizadas en los protocolos 2,3 y 4. La evidencia histológica muestra que la autólisis es levemente mayor en este protocolo, aunque totalmente controlada, es decir no ha avanzado desde la muestra tomada a los 30 días, respecto a la procesada a los 90 días. La deshidratación en este protocolo es mayor a los anteriores y claramente este hecho lo podemos relacionar con el uso en este protocolo de la concentración más elevada de etanol, que como se mencionó anteriormente, es utilizado en las técnicas histológicas para generar este efecto. Sin embargo es probable que el efecto combinado de los constituyentes de la mezcla, potencien la acción deshidratante.

Sin embargo es importante aclarar, que la arquitectura de los tejidos no pierde su forma y permiten su identificación. Por el contrario, la acción deshidratante, acaso pueda tener efecto beneficioso en el tejido macro, que como piezas para el estudio anatómico, podrían perdurar por mas tiempo sin presentar deterioro evidente, lo cual sería de gran importancia, en especial en el estudio de especies silvestres como la que nos ocupa, en la que no sería conveniente el sacrificio continuo de ellas, para el uso académico en el anfiteatro.

Analizando en conjunto los cinco protocolos utilizados en este estudio, es evidente que todos arrojaron resultados positivos, es decir, ninguno de ellos permitió la descomposición de los cadáveres de la especie, en contraste con lo ocurrido con las especies utilizadas en los ensayos preliminares, en donde los protocolos con las concentraciones mas bajas de formol, alcanzaron a tener descomposición de parte de sus tejidos. Enfatizando en lo dicho anteriormente, el tamaño de la especie parece tener efecto en la viabilidad del protocolo. Probablemente el efecto climático puede afectar más a un animal de mayor corpulencia, que a aquellos de tamaño menor.

Como uno de los objetivos de este proyecto esta encaminado a disminuir sustancialmente el uso del formol como elemento único de conservación de cadáveres, los resultados son claros en evidenciar que es perfectamente posible disminuir, incluso hasta el 5 % la concentración de formol (Protocolo

1), sin que este hecho ponga en riesgo la conservación de la pieza, lo cual redundará en un menor riesgo para el usuario, ya sea estudiante, profesor o investigador, por el uso exclusivo de formol y además en una muy sustancial reducción de los vapores contaminantes emanados por este elemento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su más sincero agradecimiento al Instituto de Investigaciones de la Orinoquia Colombiana (IIOC), de la Universidad de

los Llanos, entidad que financió la ejecución de este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

Allegritti Pablo, [Obra Inédita Registrada]. "La Preservación de los Muertos a través de los Milenios", 2003, Mendoza, ED. E/T.

Bancroft JD and Stevens A. Theory and practice of the histological techniques, 1990. 3a ed. Churchill Livingstone, London.

Allegritti, Pablo,. "Prácticas Funerarias Precolombinas: la Conservación de los Cuerpos en las Antiguas Culturas Sudamericanas", 1993, Mendoza, edición especial, *copyright by* Pablo Allegritti.

Bensley R.R., Hensley SH. Handbook of histological and cytological technique. 1947 Chicago: University of Chicago Press.

Armed Forces,. Manual of Macroscopic Techniques 1957, Washington D.C. Institute of pathology, Medical Museum Laboratory, Walter Reed Medical Center, p302-304.

Bickley HC, von Hagens G, Townsend FM, An improved method for the preservation of teaching specimen. 1981. Arch Patol Lab Med, 105:674-676.

Assaf, A.; O. Cruz; A. Agüero y E. González Estudio sobre capacidad de retención de agua y poder de emulsificación de la carne del chiguire con relación a la carne de res, cerdo y pollo. 1976. En resúmenes del segundo seminario sobre chiguire y babas. CONACYT I.P.A., Fac. Agronomía, UVC. Maracay.

Bloom, W. y Fawcett, D.W., Tratado de histología, 1995. 12a Ed, McGraw-Hill, Interamericana, Mexico.

Azcarate, B.T. Sociobiología y manejo del *capibara* (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Doñana 1980. Acta Vertebrata 7:1-228.

Celani M. S., Fernández Surribas J., von Lawzewitsch I. Lecciones de Histología Veterinaria. 1984 Volumen I Microscopia y Técnicas Histológicas. I. Ed. Hemisferio sur S. A. 3ra. Ed..

Batista, C.A.C. et al. Conservação e estocagem de cadáveres a seco para o ensino de anatomia mediante o uso do vácuo. 1986 Rev. Bras. Cien. Morfol. 3(2):121-123.

Frigas, E., Filley, W.V., Reed, C.E. Bronchial Challenge with Formaldehyde gas : lack of bronchoconstriction in 13 patients suspected of having formaldehyde- Induced asthma. 1984. Mayo clin Proc., 59 : 295-299.

Baker JR, Cytological techniques, 1966. 5ª edición, Methuen, London.

González, J. El chiguire, una fuente indígena de carne de la América tropical. 1977. Revista mundial de zootecnia e industrial del chiguire. Universidad de Venezuela,. Maracay, Venezuela.

- González, J. E. El Capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) estado actual de su producción. 1995. FAO: Producción y sanidad animal (Roma), 110p.
- Geneser, F Histología. Sobre bases biomoleculares, 2000 3a Ed., Editorial Medica Panamericana, Buenos Aires.
- Gurr E.,. Methods of analitical histology and histochemistry. 1960 The Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- Hangay G, Dingley M, Biological Museum Methods, 1985: Vol. 1, Vertebrates. New York and Sidney: Academic Press, p49, 278, 302.
- Henry RW, Principles of plastination. 1998 J. Int. Soc Plastination, 13(2): 27.
- Instituto Alexander von Humboldt – GTZ – Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Proyecto “Conservación y uso sostenible del Chigüiro en el Casanare” Aportes metodológicos, 2004. Memorias Encuentro Latinoamericano Sobre Chigüiros, Yopal (Casanare).
- Luna L. G.. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 1992 Mc Graw Hill Book company. 3 ed..
- Mones, A. and J. Ojasti *Hydrochoerus hydrochaeris*. 1986. .Mammalian Species, 264: 1-7.
- Moret de Arcia Olga,. Contribución al estudio de los efectos tóxicos del Formaldehido. 1990, Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela.
- Otero R,. Proyecto de zocriadreas en chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*), en la granja ICA Carimagua, 1972 INDERENA, p 1-10.
- Perkins,J.L, Kimbrough,J.D., Formaldehyde exposure in a gross anatomy laboratory. 1986. Occup. Med., 27 : 813-815.
- Reverte Coma, José M. “Antropología Forense”, Madrid. ED. Ministerio de Justicia, 1999.
- Ripani M, Boccia ML, Cervone P. De Vargas, Macciuca M,. Light microscopy of plastinated tissue. Can plastinated organs be considered viable for structural observations? 1996 J Int Soc Plastination 11(1): 28-30.
- Tomás Buisán, María Luisa. Los distintos productos conservantes en el área Médico Legal, ventajas e inconvenientes. 1998, Rev.Esp.Med.Leg.; XXII (84-85): 51-57.
- UMSNH, Universidad Michoacana De San Nicolas De Hidalgo, 2009: http://dieumsnh.qib.umich.mx/patología_pract/practica_2.htm.
- Von Hagens G, Whalley A. Anatomy art: Fascination beneath the surface. . 2000 D-69126 Heidelberg: Institute for Plastination.