

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**“ESTANDARIZACIÓN DE TÉCNICAS DE PRESERVACIÓN,  
RESTAURACIÓN Y EXTRACCIÓN DE PIEZAS ANATÓMICAS Y  
MATERIAL GENÉTICO DEL LABORATORIO DE MORGUE Y  
NECROBIOLOGÍA DE LA ESCUELA DE MEDICINA DE LA  
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA, ENTRE EL 2017 Y 2018”.**

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado de Ciencias Morfológicas, para optar al grado y título de Maestría Académica en Ciencias Morfológicas.

JÉSSICA GONZÁLEZ FERNÁNDEZ

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2020

## **Dedicatoria**

A mi mamá, mi papá y mi hermano por siempre estar ahí en los momentos en que más los he necesitado, y porque gracias a ellos me he convertido en la persona que soy ahora.

## **Agradecimientos**

Agradezco al Departamento de Morgue y Necrobiología y al Programa de Donación de Cuerpos de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica, quienes proporcionaron la totalidad del material biológico con el que se trabajó.

Al Departamento de Innovación en Material Biológico Humano de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, al Dr. Diego Pineda Martínez y la PhD. Lorena Valencia Caballero por su apoyo y guía en el desarrollo de esta investigación.

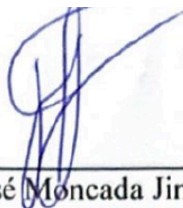
A la Dra. Lizbeth Salazar Sánchez PhD, MSc. Daniel Chacón Arguedas y el Dr. Eduardo Induni Lopez MSc por su guía y colaboración en la investigación.

A la Lic. Rebeca Alfaro González y al Ing. Marvin Coto Jiménez PhD, por su apoyo y guía.

Dra. Karolina Trujillo Trujillo, Dra Adriana Murillo Chávez, Daniel Chacón Arguedas, y la Dra. Andrea Fernández Badilla, quienes colaboraron en la observación de las muestras macroscópicas e histológicas de los cuerpos involucrados en el estudio.

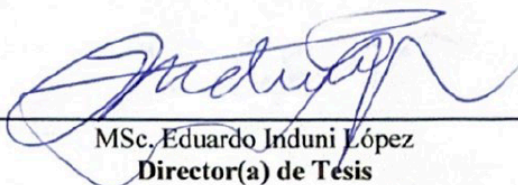
Al Lic. Alexander Rodríguez del Laboratorio de Medicina Molecular e Histotecnología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica por facilitar las instalaciones para el procesado de las muestras a nivel histológico y molecular.

“Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Médicas de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Académica en Ciencias Morfológicas.”



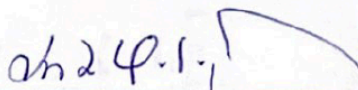
---

Dr. José Moncada Jiménez  
**Representante del Decano  
Sistema de Estudios de Posgrado**



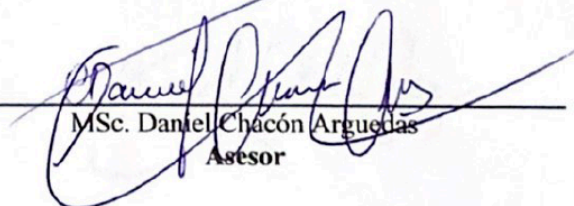
---

MSc. Eduardo Induni López  
**Director(a) de Tesis**



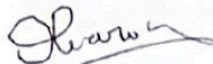
---

PhD. Lizbeth Salazar Sánchez  
**Asesora**



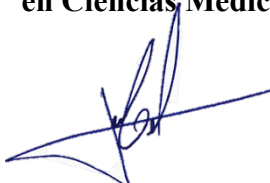
---

MSc. Daniel Chacón Argueta  
**Asesor**



---

Dr. Oswaldo Alvarado Jiménez  
**Representante de la Directora del Programa de Posgrado  
en Ciencias Médicas**



---

Jéssica González Fernández  
**Candidata**

## Tabla de contenido

<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>II</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>III</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>VIII</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>X</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>XI</b>
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS</b> .....	<b>XIII</b>
<b>Tabla de abreviaturas:</b> .....	<b>XIV</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.2. PLANTEAMIENTO DE LOS OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.2.1 <i>Objetivo general</i> .....	3
1.2.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	4
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	4
1.4. FACTIBILIDAD.....	5
1.5. LIMITACIONES.....	6
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>7</b>
2.1. ANTECEDENTES DEL PROYECTO.....	7
2.1.1 <i>Estudio de la anatomía y el embalsamado a lo largo de la historia</i> .....	7
2.1.2 <i>La Química de las Soluciones de Fijación, Conservación y Restauración</i> .....	14
2.2. ESTADO DE LA CUESTIÓN.....	17
2.2.1 <i>Experiencia de la restauración de material anatómico</i> .....	17
2.2.2 <i>Experiencia en la obtención de material genético de cuerpos de morgues o laboratorios de anatomía</i> .....	20
<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	<b>24</b>
3.1. TIPO DE ESTUDIO.....	24
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
3.2.1 <i>Población de estudio</i> .....	24
3.2.2 <i>Criterios de inclusión y exclusión</i> .....	26
3.2.3 <i>Metodología</i> .....	28
3.3. CONSIDERACIONES ESTADÍSTICAS.....	39
3.4. CONSIDERACIONES BIOÉTICAS.....	40
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>42</b>
4.1. RESTAURACIÓN DE ÓRGANOS.....	42
4.2. ÓRGANOS O TEJIDOS DE CUERPOS DISECADOS.....	63
4.2.1 <i>Variables macroscópicas</i> .....	63
4.2.2 <i>Variables moleculares</i> .....	78
4.2.3 <i>Variables histológicas</i> .....	86
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>105</b>
4.3.1 RESTAURACIÓN DE ÓRGANOS.....	105
4.3.2 ÓRGANOS O TEJIDOS DE CUERPOS DISECADOS.....	107
4.3.2.1 <i>Variables macroscópicas</i> .....	107
4.3.2.2 <i>Variables moleculares</i> .....	109
4.3.2.3 <i>Variables histológicas</i> .....	112

<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>114</b>
<b>GLOSARIO:.....</b>	<b>117</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA: .....</b>	<b>118</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>130</b>
ANEXO 1: COMITÉ ÉTICO CIENTÍFICO, SESIÓN NÚMERO 69, OFICIO: VI-5670-2017...	131
ANEXO 1:VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN, OFICIO VI-6343-2017, APROBACIÓN DEL PROYECTO.....	132
ANEXO 2:FORMULARIO DE DONACIÓN CUERPO 1. ....	134
ANEXO 3:FORMULARIO DE DONACIÓN DE CUERPO 2. ....	135
ANEXO 4:FORMULARIO DE DONACIÓN DE CUERPO 3. ....	136
ANEXO 5:TIEMPO DE PROCEDIMIENTO EN HORAS DE SUMERSIÓN EN KOH DILUIDO EN H <sub>2</sub> O. ....	137
ANEXO 6: TIEMPO DE PROCEDIMIENTO EN HORAS DE SUMERSIÓN EN KOH DILUIDO EN ALCOHOL. ....	138
ANEXO 7: PORCENTAJE DE KOH DILUIDO EN AGUA SEGÚN LA CALIDAD DE RESTAURACIÓN DEL ÓRGANO EN UNA PRIMERA RONDA. ....	139
ANEXO 8: PORCENTAJE DE KOH DILUIDO EN AGUA SEGÚN LA CALIDAD DE RESTAURACIÓN DEL ÓRGANO EN UNA SEGUNDA RONDA. ....	140
ANEXO 9: DURACIÓN TOTAL DEL PROCEDIMIENTO (EN DÍAS) SEGÚN CALIDAD DE RESTAURACIÓN POR ÓRGANO. ....	141
ANEXO 10: PORCENTAJE DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO POR COLOR POST-RESTAURACIÓN. ....	142
ANEXO 11: TIEMPO EN HORAS DE SUMERSIÓN EN PERÓXIDO DE HIDRÓGENO POR COLOR POST-RESTAURACIÓN. ....	143
ANEXO 12: EVALUACIÓN DE CONSISTENCIA EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 2 POR PARTE DEL OBSERVADOR 1 Y 2. ....	144
ANEXO 13: EVALUACIÓN DE CONSISTENCIA EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 2 POR PARTE DEL OBSERVADOR 1 Y 3. ....	144
ANEXO 14: EVALUACIÓN DE CONSISTENCIA EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 2 POR PARTE DEL OBSERVADOR 2 Y 3. ....	145
ANEXO 15: EVALUACIÓN DE CONSISTENCIA EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 3 POR PARTE DEL OBSERVADOR 1 Y 2. ....	145
ANEXO 16: EVALUACIÓN DE CONSISTENCIA EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 3 POR PARTE DEL OBSERVADOR 1 Y 3.....	146
ANEXO 17: EVALUACIÓN DE CONSISTENCIA EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 3 POR PARTE DEL OBSERVADOR 2 Y 3.....	146
ANEXO 18: EVALUACIÓN DE LA COLORACIÓN EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 2 POR PARTE DEL OBSERVADOR 1 Y 2. ....	147
ANEXO 19: EVALUACIÓN DE LA COLORACIÓN EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 2 POR PARTE DEL OBSERVADOR 1 Y 3. ....	148
ANEXO 20: EVALUACIÓN DE LA COLORACIÓN EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 2 POR PARTE DEL OBSERVADOR 2 Y 3. ....	149
ANEXO 21: EVALUACIÓN DE LA COLORACIÓN EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 3 POR PARTE DEL OBSERVADOR 1 Y 2. ....	150
ANEXO 22: EVALUACIÓN DE LA COLORACIÓN EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 3 POR PARTE DEL OBSERVADOR 1 Y 3. ....	151
ANEXO 23: EVALUACIÓN DE LA COLORACIÓN EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 3 POR PARTE DEL OBSERVADOR 2 Y 3. ....	152

ANEXO 24: EVALUACIÓN DEL OLOR EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 2 POR PARTE DEL OBSERVADOR 1 Y 2.....	153
ANEXO 25: EVALUACIÓN DEL OLOR EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 2 POR PARTE DEL OBSERVADOR 1 Y 3.....	153
ANEXO 26: EVALUACIÓN DEL OLOR EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 2 POR PARTE DEL OBSERVADOR 2 Y 3.....	154
ANEXO 27: EVALUACIÓN DEL OLOR EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 3 POR PARTE DEL OBSERVADOR 1 Y 2.....	154
ANEXO 28: EVALUACIÓN DEL OLOR EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 3 POR PARTE DEL OBSERVADOR 1 Y 3.....	155
ANEXO 29: EVALUACIÓN DEL OLOR EN LOS 31 ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO N° 3 POR PARTE DEL OBSERVADOR 2 Y 3.....	155
ANEXO 30: FORMULARIO DE VALORACIÓN DE CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS SEGÚN EL OBSERVADOR 2, EN EL CUERPO 2 Y 3 RESPECTIVAMENTE. ....	156
ANEXO 31: FORMULARIO DE VALORACIÓN DE CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS SEGÚN EL OBSERVADOR 3, EN EL CUERPO 2 Y 3 RESPECTIVAMENTE. ....	158
ANEXO 32: COMPARACIÓN DE VARIABLES MACROSCÓPICAS DE LOS TRES OBSERVADORES EN LOS ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO 1.....	160
ANEXO 33: COMPARACIÓN DE VARIABLES MACROSCÓPICAS DE LOS TRES OBSERVADORES EN LOS ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO 2.....	161
ANEXO 34: COMPARACIÓN DE VARIABLES MACROSCÓPICAS DE LOS TRES OBSERVADORES EN LOS ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL CUERPO 3.....	162
ANEXO 35: COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL PROCESO DE RESTAURACIÓN DE LOS ÓRGANOS. ....	163
ANEXO 36: VARIABLES HISTOLÓGICAS EVALUADAS EN LOS 31 ÓRGANOS O TEJIDOS DEL CUERPO 1.....	170
ANEXO 37: VARIABLES HISTOLÓGICAS EVALUADAS EN LOS 31 ÓRGANOS O TEJIDOS DEL CUERPO 2. ....	171
ANEXO 38: VARIABLES HISTOLÓGICAS EVALUADAS EN LOS 31 ÓRGANOS O TEJIDOS DEL CUERPO 3. ....	172

## Resumen.

*La Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica, a lo largo del tiempo ha utilizado la fijación de piezas anatómicas por medios químicos como la formalina; estas se exponen a un deterioro acelerado a causa de los efectos del formol, comprometiendo además las condiciones de preservación y mantenimiento, produciendo también afectación en el medio ambiente.*

**Metodología:** *El presente es un estudio descriptivo observacional de tipo transversal, realizado entre Julio del 2017 y octubre del 2018, utilizando el material biológico presente en el laboratorio de Morgue y Necrobiología (LaMoNec) de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica.*

*El estudio se realizó en dos etapas: 1) La restauración de 265 órganos del LaMoNec previamente fijados con formalina, por medio de un procedimiento que cuenta con: Macerado con KOH diluido en H<sub>2</sub>O, a una concentración de 2-4% m/v del químico por un período de 24 horas. Lavado con NaCl diluido en H<sub>2</sub>O, utilizando 1% del químico por un período de 24 horas. Blanqueamiento con peróxido de hidrógeno diluido en H<sub>2</sub>O utilizando 2% del químico, por un período de tiempo de 2–8 horas según el color deseado en el órgano con la valoración posterior de observadores externos; y 2) La Comparación macroscópica, histológica y molecular de 31 tejidos u órganos de tres cuerpos: uno en **estado fresco**, otro preservado con la **fórmula antigua** (método tradicional de fijación) y un tercero conservado con **fórmula nueva** (método a implementar). La muestra se clasificó según variables categóricas y se aplicó estadística descriptiva múltiple variable. El análisis estadístico se llevó a cabo por medio del programa R versión 3.4, extensión GGPlot2, que permitió analizar variables cualitativas y cuantitativas para la realización de tablas y gráficos, y comparar la información obtenida.*

**Resultados:** *1) De los 265 órganos restaurados, el 37% se catalogó como muy buena restauración, en el 57% como buena y solamente el 6% como mala restauración 2) A nivel macroscópico se observó que los tejidos evaluados en el cuerpo fijado con la fórmula nueva, presentaron una consistencia similar a la de un cuerpo fresco, sin presentar olor a formalina. En el caso de la coloración, se presentó una mayor similitud entre los tejidos de ambos cuerpos fijados, con respecto al cuerpo fresco.*

*A nivel molecular, se obtuvo material genético degradado por efecto de la fijación, pero que es posible amplificar el ADN con el gen de amelogenina.*

*A nivel histológico, los tejidos del cuerpo fijado con la fórmula nueva se conservan mejor que los fijados con la fórmula antigua o los del cuerpo fresco.*

### **Conclusiones:**

*Es posible restaurar las piezas anatómicas con el método utilizado aumentando su vida útil. La fase de desengrasado no debe de aplicarse a todos los órganos, solamente a los que presentan mucho tejido graso*

*La fijación con la fórmula nueva es adecuada para mantener características como textura o consistencia en los tejidos similares a la de un cuerpo fresco, con disminución en la intensidad del olor a formalina. De los cuerpos embalsamados, ya sea con fórmula antigua o fórmula nueva, se logra recuperar ADN viable pero muy fragmentado. Histológicamente la fórmula nueva permite la conservación de la estructura celular de forma adecuada.*

## **Summary.**

*The University of Costa Rica School of Medicine, over time has used the fixation of anatomical pieces by chemical means such as formalin; These are exposed to accelerated deterioration due to the effects of formaldehyde, also compromising the conditions of preservation and maintenance, and causing damage to the environment.*

**Methodology:** *This is an observational descriptive cross-sectional study, conducted between July 2017 and October 2018, using the biological material present in the Morgue and Necrobiology Laboratory (LaMoNec) at the University of Costa Rica School of Medicine.*

*The study was carried out in two stages: 1) The restoration of 265 organs of the LaMoNec previously fixed with formalin, by means of a procedure that has: Macerated with KOH diluted in H<sub>2</sub>O, at a concentration of 2-4% m / v of the chemical for a period of 24 hours. Wash with NaCl diluted in H<sub>2</sub>O, using 1% of the chemical for a period of 24 hours. Whitening with hydrogen peroxide diluted in H<sub>2</sub>O using 2% of the chemical, for a period of 2–8 hours depending on the desired color in the organ, with subsequent evaluation by external observers; and 2) The macroscopic, histological and molecular comparison of 31 tissues or organs of three bodies: one in a fresh state, another preserved with the old formula (traditional method of fixation) and a third preserved with a new formula (method to be implemented). The sample was classified according to categorical variables and multiple descriptive variable statistics were applied. Statistical analysis was carried out using the R version 3.4 program, extension GGLOT2, which allowed the analysis of qualitative and quantitative variables for the realization of tables and graphs, and to compare the information obtained.*

**Results:** *1) Of the 265 organs restored, 37% were classified as very good restoration, 57% as good and only 6% as poor restoration. 2) At the macroscopic level, it was observed that the tissues evaluated in the body fixed with the new formula, presented a consistency similar to that of a fresh body, with no formalin odor. In the case of coloration, there was a greater similarity between the tissues of both fixed bodies, with respect to the fresh body.*

*At the molecular level, genetic material degraded by the effect of fixation was obtained, but it is possible to amplify DNA with the amelogenin gene.*

*At the histological level, the tissues of the body fixed with the new formula are better preserved than those fixed with the old formula or those of the fresh body.*

### **Conclusions:**

*It is possible to restore the anatomical parts with the method used, increasing their useful life.*

*The degreasing phase should not apply to all organs, only those with a lot of fatty tissue.*

*Fixation with the new formula is adequate to maintain characteristics such as texture or consistency in tissues similar to that of a fresh body, with a decrease in the intensity of the formalin odor. Viable but highly fragmented DNA can be recovered from embalmed bodies, either with an old or a new formula. Histologically the new formula allows the conservation of the cellular structure in an adequate way.*

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1:</b> La historia del embalsamado, fórmulas fijadoras de material biológico a lo largo del tiempo en distintos países. ....	11
<b>Tabla 2:</b> Criterios de inclusión y exclusión de los órganos en los laboratorios del Departamento de anatomía de la Escuela de Medicina, de la Universidad de Costa Rica hasta setiembre del 2017. ....	26
<b>Tabla 3:</b> Criterios de inclusión y exclusión para seleccionar los cuerpos de donde se tomaron las 31 muestras de órganos y tejidos. ....	27
<b>Tabla 4:</b> Variables macroscópicas a evaluar previo y posterior a la restauración de cada uno de los órganos de los laboratorios del Departamento de Anatomía de la Escuela de Medicina, de la Universidad de Costa Rica hasta setiembre del 2017. ....	30
<b>Tabla 5:</b> Variables a considerar en el proceso de restauración de cada uno de los órganos a restaurar de los laboratorios del Departamento de Anatomía de la Escuela de Medicina, de la Universidad de Costa Rica hasta setiembre del 2017. ....	31
<b>Tabla 6:</b> Criterios para determinar el estado de la restauración de los órganos .	32
<b>Tabla 7:</b> Numeración de órgano o tejido a evaluar en cada uno de los cuerpos elegidos. ....	33
<b>Tabla 8:</b> Variables macroscópicas de los órganos y tejidos disecados de los 3 cuerpos evaluados. ....	34
<b>Tabla 9:</b> Variables moleculares de los órganos y tejidos disecados de los 3 cuerpos evaluados. ....	37
<b>Tabla 10:</b> Variables microscópicas de los órganos y tejidos disecados de los 3 cuerpos evaluados. ....	37
<b>Tabla 11:</b> Valoración de índice Kappa de Cohen <sup>(70)</sup> .....	40
<b>Tabla 12:</b> Resumen procedimiento seguido para la restauración según órgano. .	46
<b>Tabla 13:</b> Cantidad de procedimientos distintos realizados, según los químicos utilizados en cada órgano. ....	59
<b>Tabla 14:</b> Comparación del coeficiente de Kappa Cohen para la valoración de la consistencia de los 31 órganos y tejidos del cuerpo 2 y 3 entre los tres observadores entre si. ....	66
<b>Tabla 15:</b> Comparación del coeficiente de Kappa Cohen para la valoración de la coloración de los 31 órganos y tejidos del cuerpo 2 y 3 entre los tres observadores entre si. ....	76
<b>Tabla 16:</b> Comparación del coeficiente de Kappa Cohen para la valoración del olor de los 31 órganos y tejidos del cuerpo 2 y 3 entre los tres observadores entre si. .	77
<b>Tabla 17:</b> Comparación de la extracción de AND de cada órgano o tejido en los 3 cuerpos evaluados. ....	79

## Índice de Figuras

<b>Figura 1:</b> Imagen que demuestra el estado previo y posterior a la restauración de el bazo, páncreas y la lengua .....	42
<b>Figura 2:</b> Imagen de hígados y una vesícula biliar previo y posterior al proceso de restauración.....	47
<b>Figura 3:</b> Imagen de corazones cerrados previo y posterior al proceso de restauración.....	49
<b>Figura 4:</b> Imagen de corazones abiertos previo y posterior al proceso de restauración.....	50
<b>Figura 5:</b> Imagen de pulmones previo y posterior al proceso de restauración.....	52
<b>Figura 6:</b> Imagen de estómagos previo y posterior al proceso de restauración ...	53
<b>Figura 7:</b> Imagen de pene, glándula mamaria, testículo y útero previo y posterior al proceso de restauración .....	54
<b>Figura 8:</b> Imagen de riñones previo y posterior al proceso de restauración.....	56
<b>Figura 9:</b> Imagen de cerebros previo y posterior al proceso de restauración.....	57
<b>Figura 10:</b> Imagen de intestino grueso e intestino delgado previo y posterior al proceso de restauración .....	58
<b>Figura 11:</b> Comparación de piel y grasa de los cuerpos 1, 2 y 3.....	67
<b>Figura 12:</b> Comparación de músculo esquelético, grasa y fascias en cuerpos 1, 2 y 3 .....	68
<b>Figura 13:</b> Comparación de estructuras de cuello en cuerpo 1,2 y 3 .....	69
<b>Figura 14:</b> Comparación de contenido de mediastino, estructuras de cuello y pulmones de cuerpos 1, 2 y 3.....	70
<b>Figura 15:</b> Comparación de intestino delgado de los cuerpos 1, 2 y 3.....	72
<b>Figura 16:</b> Comparación de hígado, vesícula biliar, estómago, epiplón mayor de cuerpos 1,2 y 3.....	74
<b>Figura 17:</b> Comparación de testículo de los cuerpos 1,2 y 3 .....	75
<b>Figura 18:</b> Electroforesis en gel de agarosa del ADN extraído de los órganos y tejidos del cuerpo 1, 2 y 3 teñido con gel red.....	84
<b>Figura 19:</b> Amplificación de ADN de los órganos y tejidos del cuerpo 1, 2 y 3 con el fragmento del gen de Amelogenina, que representa la amplificación positiva con todas las muestras de los tres cuerpos. ....	85
<b>Figura 20:</b> Comparación de imagen histológica de ganglio linfático con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células .....	88
<b>Figura 21:</b> Comparación de imagen histológica de un corte longitudinal de músculo esquelético teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células.....	90
<b>Figura 22:</b> Comparación de imagen histológica de glándula submandibular, teñida con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células.....	92
<b>Figura 23:</b> Comparación de imagen histológica de epitelio pulmonar, teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células .....	94

**Figura 24:** Comparación de imagen histológica de epitelio hepático, teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células ..... 96

**Figura 25:** Comparación de imagen histológica de cartílago de oreja, teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células ..... 98

**Figura 26:** Comparación de imagen histológica de bazo, teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células. .... 100

**Figura 27:** Comparación de imagen histológica de epitelio renal, teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células ..... 102

**Figura 28:** Comparación de imagen histológica de ciego, teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células ..... 104

## Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1:</b> Comparación de la calidad de la restauración con respecto a la cantidad de órganos restaurados por tipo .....	44
<b>Gráfico 2:</b> Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 1, 2 y 3 por parte del observador 1 .....	64
<b>Gráfico 3:</b> Evaluación de la concordancia entre la similitud de la consistencia de los cuerpos 1, 2 y 3, según el observador 1 en base a los 31 órganos y tejidos evaluados .....	65
<b>Gráfico 4:</b> Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 1, 2 y 3 por parte del observador 1 .....	71
<b>Gráfico 5:</b> Evaluación de la concordancia entre la similitud de la coloración de los cuerpos 1, 2 y 3, según el observador 1 en base a los 31 órganos y tejidos evaluados .....	73
<b>Gráfico 6:</b> Concentración de ADN extraído por órgano o tejido en el cuerpo 1, 2 y 3 .....	80
<b>Gráfico 7:</b> Representación gráfica del máximo, mínimo y promedio de la concentración de ADN extraído por cuerpo .....	81
<b>Gráfico 8:</b> Absorbancia del ADN extraído de los órganos y tejidos del cuerpo 1, 2 y 3 .....	82
<b>Gráfico 9:</b> Comparación del estado de descomposición del epitelio de ganglio linfático en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde) .....	87
<b>Gráfico 10:</b> Comparación del estado de descomposición del epitelio de músculo esquelético (músculo subclavio) en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde) .....	89
<b>Gráfico 11:</b> Comparación del estado de descomposición de el epitelio glandular (glándula submandibular) en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde) .....	91
<b>Gráfico 12:</b> Comparación del estado de descomposición, de el epitelio pulmonar en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde) .....	93
<b>Gráfico 13:</b> Comparación del estado de descomposición, de el epitelio hepático en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde) .....	95
<b>Gráfico 14:</b> Comparación del estado de descomposición, de el epitelio cartilaginoso (cartílago de oreja) en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde) .....	97
<b>Gráfico 15:</b> Comparación del estado de descomposición, de el epitelio esplénico en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde) .....	99
<b>Gráfico 16:</b> Comparación del estado de descomposición, del epitelio renal en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde) .....	101
<b>Gráfico 17:</b> Comparación del estado de descomposición, de el epitelio intestinal (ciego) en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde) .....	103

### Tabla de abreviaturas:

---

<b>a.C.</b>	Antes de Cristo
<b>ADN</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>Ao</b>	Aorta
<b>ARN</b>	Ácido Ribonucleico
<b>AMELX</b>	Gen Amelogenina en cromosoma X
<b>AMELY</b>	Gen de Amelogenina en cromosoma Y
<b>EM</b>	Escuela de Medicina
<b>F-</b>	Foward
<b>H2O2</b>	Peróxido de Hidrógeno
<b>KOH</b>	Hidróxido de Potasio
<b>L</b>	Litro
<b>LaMoNec</b>	Laboratorio de Morgue y Necrobiología
<b>m/v</b>	Masa/volumen
<b>mg</b>	Miligramos
<b>mg/cu.m.</b>	Miligramos/metros cúbicos
<b>mm</b>	Milímetros
<b>mmHg</b>	Milímetros de mercurio
<b>NaCl</b>	Cloruro de sodio
<b>°C</b>	Grados Centígrados
<b>OD</b>	Unidad de densidad óptica
<b>OH</b>	Alcohol
<b>PCR</b>	Reacción de cadena de polimerasa
<b>PCR-RFLP</b>	Polimerase Chain Reaction restriction fragment length polymorphism
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>p/v</b>	Peso/Volumen
<b>R-</b>	Reverse
<b>SCN5A</b>	Gen que codifica por la sub unidad alfa del canal iónico de sodio en células cardiacas.
<b>SFCch</b>	Solución fijadora chilena
<b>SNP</b>	Single Nucleotid Polimorfism
<b>STA FS</b>	Ciencias Forenses Aplicadas, del sureste de Texas
<b>STR</b>	Short Tandem Repeat
<b>UCR</b>	Universidad de Costa Rica
<b>UI/Kg</b>	Unidad Internacional / Kilogramo
<b>VNTR</b>	Repeticiones Tandem de número variable
<b>ηm</b>	Nanómetro

---



**Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.**

Yo, **Jéssica González Fernández**, con cédula de identidad **1 1240 0309**, en mi condición de autor del TFG titulado “ESTANDARIZACIÓN DE TÉCNICAS DE PRESERVACIÓN, RESTAURACIÓN Y EXTRACCIÓN DE PIEZAS ANATÓMICAS Y MATERIAL GENÉTICO DEL LABORATORIO DE MORGUE Y NECROBIOLOGÍA DE LA ESCUELA DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE COSTA RICA, ENTRE EL 2017 Y 2018”. Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado.

SI  NO

\*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: **3** año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

**INFORMACIÓN DEL ESTUDIANTE:**

Nombre Completo: **Jéssica González Fernández**

Número de Carné: **A32247** Número de cédula: **1 1240 0309**

Correo Electrónico: **jessica.gonzalez\_f@gmail.com / jessicagonzalezf@gmail.com**

Fecha: **4/08/2020** Número de teléfono: **8831 2502**

Nombre del Director (a) de Tesis o Tutor (a): **MSc Eduardo Induni López**

**FIRMA ESTUDIANTE**

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

## **Introducción**

La presente investigación surge de la necesidad de contar con material biológico de buena calidad, que conserve características similares a las del material fresco y que perdure a lo largo del tiempo de modo que sea adecuado para el aprendizaje de la anatomía en el Laboratorio de Morgue y Necrobiología (LaMoNec) de la Escuela de Medicina (EM) de la Universidad de Costa Rica (UCR), se realiza el proceso de fijación y preservación por medio de soluciones con altas concentraciones de formaldehído, causando deterioro del material biológico humano, y a su vez dificultando la docencia y la investigación.

Se realizó una revisión bibliográfica sobre la historia del embalsamado y su importancia en la anatomía y en la enseñanza de la medicina. Luego se analizaron los componentes químicos más comunes en las fórmulas de fijación, su método de acción y sus efectos adversos, para finalizar con un estado de la cuestión de las fórmulas fijadoras y de preservación en los últimos 20 años a nivel mundial, en donde se observa una tendencia a la fijación con soluciones con una menor concentración de formaldehído.

Se desarrolló una investigación de dos etapas: en la primera se valoró el proceso de restauración de distintos órganos de la EM, de la UCR, con el fin de determinar el procedimiento para lograr una restauración de buena o muy buena calidad, que devuelva al material biológico características propias del material fresco, como la consistencia y el color, que se pudieron haber visto dañados por el proceso de conservación, el medio ambiente y el mal uso. En la segunda parte buscó comparar el estado de distintos tejidos y órganos a nivel macroscópico, histológico

y molecular de tres cuerpos, uno en estado fresco, otro fijado con fórmula antigua y un tercero fijado con fórmula nueva, con el fin de determinar cuál de las fórmulas de fijación da como resultado tejidos con características similares a los de un cuerpo fresco.

La totalidad del material utilizado pertenece al Laboratorio de Morgue y Necrobiología (LaMoNec) de la EM de la UCR, en el período que va desde setiembre del 2017 a mayo del 2018.

### **1.1. Planteamiento del Problema**

El embalsamado de los cadáveres tiene entre sus principales objetivos desinfectar el cuerpo para disminuir las posibilidades de infección por *Staphylococcus* y *Streptococcus pyogenes*, presentes en la piel de los fallecidos, y evitar de esta forma que avance el proceso de descomposición, para que el cuerpo sea utilizado en la docencia y/o la investigación.<sup>(1,2)</sup>

El material cadavérico con el que cuenta la EM de la UCR, fijado con mezclas a base de formaldehído, presenta una liberación importante de vapores de este químico, los cuales causan irritación ocular y de mucosas de quienes trabajan con dicho material. Aunado a esto, estas piezas anatómicas, en general, presentan una vida útil más corta a causa de la exposición a altas concentraciones del químico mencionado, y da una consistencia acartonada, pétreo, de coloración café oscuro – negro, con una apariencia más momificada que natural. Lo anterior dificulta el reconocimiento de las características anatómicas propias de cada tejido, obstaculizando la docencia y la investigación.

Otra complicación del embalsamado con fórmulas a base de altas concentraciones de formalina, es que el cuerpo se almacene sumergido en fosas que contienen químicos como: alcoholes, formaldehído, fenol, entre otros; siendo no sólo una fuente de contaminación, por los vapores liberados, sino también, por la necesidad de recambiar el contenido de dichas fosas cada 5 años, generando grandes cantidades de desechos biológicos que requieren tratamiento específico, con una gran inversión económica, para su descarte.

Por último, pero no menos importante, la condición de almacenamiento no es la más digna, al encontrarse sumergidos en fosas de químicos, lo que lleva a pérdida de los rasgos físicos que los caracterizan, por el apilamiento de un cuerpo contra otro.

Además, la universidad no cuenta con bancos de tejidos que permitan el desarrollo de la investigación en el área de la salud, por lo tanto el conocer la viabilidad molecular de muestras fijadas previamente con formaldehído, permite valorar la calidad del ADN, para la elaboración de un banco de ADN en la EM, a futuro que permita desarrollar investigación en el campo de la medicina molecular<sup>(3)</sup>.

## **1.2 Planteamiento de los Objetivos de la Investigación**

### ***1.2.1 Objetivo general***

Determinar la técnica de preservación y restauración del material biológico, que mejor se acople a las necesidades del Laboratorio de Morgue y Necrobiología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica.

### ***1.2.2 Objetivos específicos***

1. Comparar las técnicas de restauración de material anatómico a nivel macroscópico.
2. Comparar dos técnicas de preservación cadavérica desde un análisis macroscópico, microscópico y molecular.
3. Analizar la calidad del ADN nuclear extraído de distintos tejidos de cuerpos embalsamados y sin embalsamar.
4. Elaborar un manual del proceso para la conservación y restauración del material anatómico de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica.

### **1.3 Justificación**

La EM de la UCR, cuenta con el Laboratorio de Morgue y Necrobiología (LaMoNec), encargado de suministrar la totalidad del material biológico humano necesario para impartir docencia en Ciencias Morfológicas en la EM, para todas las carreras del área de la salud, algunas de docencia y psicología.

La totalidad de los cursos cuentan con sesiones magistrales y horas de laboratorio en las que se trabaja con material biológico. Por esta razón, se busca una mezcla de preservación alternativa, la cual no sea nociva para la salud de quienes utilizan los cuerpos y que a la vez le permita conservar características como flexibilidad, consistencia y coloración, de los tejidos, preservándolas a lo largo del tiempo; beneficiando la docencia e investigación de la Escuela de Medicina en general.

Además, el análisis de distintos tejidos a través de técnicas moleculares permite conocer cuáles son los tejidos viables para obtener ADN de calidad adecuada ya sea sometido a las técnicas de preservación o bien en estado fresco. Esto será de gran valor para crear a futuro un banco de ADN.

La restauración del material biológico busca una mayor vida útil de las piezas anatómicas, al tiempo que mejora su apariencia, consistencia y coloración; beneficiando la educación e investigación, por medio de muestras biológicas más representativas de modelos frescos, que se conserven a lo largo del tiempo.

#### **1.4. Factibilidad.**

El estudio fue factible basándose en que los cuerpos y órganos que ya se encontraban en la EM de la UCR, y se contaba con los consentimientos informados (formularios de donación) de los cuerpos utilizados (Anexo 3-5).

El proyecto se encuentra inscrito en la Vicerrectoría de Investigación de la UCR, bajo el número **422-B7-367**, titulado **“Estandarización de Técnicas de Preservación, Restauración y Extracción de Piezas Anatómicas y Material Genético de la Morgue y Laboratorios del Departamento de Anatomía de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica”**.

Aprobado por el Comité Ético Científico de la Universidad de Costa Rica, en la sesión número 69, según el **oficio VI-5670-2017**(Anexo 1 y 2).

La EM cuenta con un Laboratorio de Histotecnología y Biología Molecular donde se procesaron las muestras histológicas y moleculares.

### **1.5. Limitaciones.**

La principal limitación fue el tamaño de la muestra; ya que por principios éticos, al trabajar con cuerpos humanos la muestra debió ser lo más pequeña posible<sup>(4)</sup>. Esto llevó a que fuese un muestreo intencional en que el experto, conociendo la población en estudio, tomó una muestra representativa de la población. En este caso se toma un cuerpo fresco, un cuerpo embalsamado con la fórmula antigua y un cuerpo embalsamado con la fórmula nueva.

## **Marco Teórico**

### **2.1 Antecedentes del Proyecto**

#### ***2.1.1 Estudio de la anatomía y el embalsamado a lo largo de la historia***

A lo largo del tiempo, distintos pueblos y culturas han realizado procesos de embalsamado, reflejando ideas relacionadas a su concepción de la conciencia, el alma y la vida después de la muerte. Un ejemplo de ello son los egipcios, quienes realizaban momificaciones a personas y animales desde aproximadamente 3000 años antes de Cristo (a.C.).<sup>(5-7)</sup>

Los babilonios, los persas y los sirios conservaban sus muertos separándolos del ambiente, colocándolos en recipientes con miel o cera, evitando que se diera el proceso de descomposición.<sup>(7,8)</sup> En China se han encontrado cuerpos embalsamados que datan de entre 187 y 145 antes de Cristo (a.C.), los restos se encontraron perfectamente conservados, inmersos en un líquido de composición desconocida.<sup>(8)</sup>

En América se han encontrado momias que entre el 2000 y el 600 antes a.C., algunas se encontraron en una de las culturas preincaicas más antiguas, la cultura Chinchorro, en la costa norte de Chile, donde se han descubierto momias que solo conservan la piel y estaban rellenas de arcilla y totora.<sup>(5,8)</sup>

En Colombia se recolectaron momias de la cultura Muisca, que evidencian procesos de evisceración y su reemplazo por oro y joyas, desecación con hoguera y envoltura de los cuerpos en mantas.<sup>(5)</sup>

Antiguamente el conocimiento anatómico se obtenían a partir de animales sacrificados y de heridas en seres humanos. Se cuenta con referencias escritas de esto en civilizaciones como la egipcia, alejandrina, griega y romana.<sup>(9-11)</sup> Se cree que la práctica de disección fue introducida en educación, particularmente en educación médica, en los siglos XII y XIII; una vez establecidas similitudes entre cuerpos humanos y animales.<sup>(12)</sup>

Durante la Edad Media la medicina en Europa se desarrollo a través de las obras de Galeno, quien dedicó gran parte de su interés científico a la investigación en morfología, realizando estudios anatomofisiológicos. Hizo investigaciones de Medicina Experimental con vivisecciones en animales, lo que lo llevó a explicar la función de estructuras anatómicas. El Galenismo proporcionó la ortodoxia de la Edad Media, y estuvo vigente durante más de 1500 años.<sup>(13-15)</sup>

Durante el Renacimiento en Europa el estudio del cuerpo humano tomó predominancia, lo que quedó plasmado en las obras de artistas y pensadores, con dibujos anatómicos que ensalzan el énfasis humanista del período. Los artistas más representativos de la época, como Miguel Ángel, Alberto Durero y Leonardo Da Vinci son considerados grandes anatomistas, este último se dedicó al estudio formal de la anatomía, utilizando cadáveres de personas privadas de libertad. (13,14,16,17)

Lo que principalmente se oponía al desarrollo de la anatomía fue la orientación de la medicina hacia la fisiología y la teoría de los humores, no a la prohibición de la Iglesia, como se ha hecho creer.<sup>(18)</sup> Se impartía únicamente recitando los textos de Galeno, para posteriormente realizar la disección de un animal por un cirujano barbero, dirigido por un profesor. Hasta 1537, Andreas Vesalio, profesor en la Cátedra de Cirugía y Anatomía de la Universidad de Padua,

convierte la disección humana en la parte más importante de su clase, realizándola rodeado de alumnos.(19)

Vesalio publica “*De Humani Corporis Fabrica libri septem*” en 1543, y esta obra es considerada el primer tratado moderno de anatomía. La obra refuerza los estudios en Anatomía, comienza a considerarse el cuerpo humano como el centro de estos estudios, asentando las bases del método científico actual.(13,14,19)

La inyección de fluidos en vasos sanguíneos, utilizada actualmente para embalsamar se ideó en el siglo XVII, con la descripción de la circulación sanguínea por el anatomista William Harvey<sup>(1,20)</sup>. El primer anatomista en utilizar esta técnica fue Jan Swammerdam, quien inyectaba cera y trementina para la preservación de vísceras alrededor del año 1672.<sup>(6)</sup> Pero es en 1893 que se utiliza el formaldehído para la fijación de tejidos histológicos y material cadavérico.<sup>(21)</sup>

La disección se reintrodujo en los años 20 de manera formal para la enseñanza y el estudio de anatomía, biología y fisiología.<sup>(22)</sup> Las universidades recibían mayormente cadáveres de individuos no reclamados; sin embargo, hubo instancias, como en el campo de concentración Auschwitz-Birkenau durante la Segunda Guerra Mundial, donde se realizaron innumerables experimentos en los prisioneros, en quienes se realizaban vivisecciones o disecciones post mortem de manera indiscriminada y sin ningún tipo de regulación, lo que dio múltiples y diversos avances en la medicina, tanto en su enseñanza como su ejercicio, a costa de prácticas poco éticas. Afortunadamente, una vez finalizado el conflicto bélico, declaraciones como la del Código de Nueremberg, Helsinki o Ginebra, regulan las investigaciones científicas y el uso de material biológico, para que situaciones de este tipo no vuelva a suceder.<sup>(9,23)</sup>

Lo anterior implicó que se le diera un mayor valor al material anatómico disponible, y se buscasen formas de proteger los tejidos de su proceso de putrefacción natural y que conservasen, dentro de lo posible, el estado natural de los tejidos en general. Las técnicas de fijación y conservación anatómica tienen precisamente este objetivo, y busca protegerlos también del crecimiento de bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Proteus vulgaris*. Esto asegura un medio seguro de trabajo, además de hacer estable el material evitando la putrefacción, convirtiéndola en una etapa fundamental en el estudio de la anatomía tanto humana como animal.<sup>(1,10,24)</sup>

En 1968, Estados Unidos adoptó el acta “*Uniform Anatomy Gift Act*”, que reconocía el derecho a la donación del cuerpo completo para la docencia, lo que vino a significar una oportunidad para obtener material biológico y dobla el compromiso de la preservación de los tejidos.<sup>(12,14)</sup>

La disección, se ha conservado como método de enseñanza de la anatomía ya que permite que el estudiante reflexione acerca de la vida y la muerte, fomenta el crecimiento de valores humanos, la ética y de habilidades interpersonales, además de académicas, al ser un ejercicio que normalmente se hace en equipo.<sup>(14)</sup>

A lo largo del tiempo distintos anatomistas han buscado la combinación de químicos que logren un proceso de fijación adecuado conservando características de material biológico fresco (tabla 1), se resume la historia del embalsamado.

**Tabla 1:** La historia del embalsamado, fórmulas fijadoras de material biológico a lo largo del tiempo en distintos países.

Autor	Fórmula	Volúmenes para embalsamado y Resultados
Saeed et al <sup>(6)</sup>	1 L de formaldehído. 500 mL de glicerina. 500 mL de ácido carbólico. 8 L de agua de grifo. Infiltrada por vía arterial, utilizando la arteria femoral como vía de acceso. <sup>(6)</sup>	El cuerpo de un adulto promedio requiere de 6 - 7L totales de solución, para un adecuado embalsamado. <sup>(25)</sup>
Coleman y Kogan <sup>(26)</sup> en 1998 en la División de Ciencias Morfológicas, Bruce Rappaport de la Facultad de Medicina de Technion-Israel Institute of Technology.	Se embalsama en las primeras 24 h post mortem. Previamente refrigerado a 4 grados centígrados (°C). La mezcla para embalsamar contiene: 500 mL de formaldehído al 37 - 40%. 200 mL de fenol. 500 mL de glicerina. 4 L de alcohol isopropílico. 20 Kg de cloruro de sodio (sal de mesa) con un volumen final aproximado de 35 L con agua del grifo. Se almacenan el cuerpo además en esta solución de embalsamamiento a 18 °C durante al menos 3 meses, aunque recomiendan hasta un año o más, antes de que se realice la disección. <sup>(26)</sup>	Un cuerpo de consistencia pequeña utiliza 25 L de volumen total infundido por vía arterial (arteria femoral) por medio de bomba de perfusión mecánica a una presión de 750 – 1000 mmHg. Describen excelentes resultados, conservación adecuada de los tejidos y mínima distorsión en la anatomía macroscópica tanto de los tejidos como de los órganos. Los tejidos se mantienen flexibles, se desecan poco, mantienen un color natural y sin crecimiento de microorganismos fúngicos. La disección no presenta dificultad alguna. Se tomaron muestras histológicas de músculo estriado, cardíaco y liso, tejido adiposo, hígado, riñones, pulmones, tráquea, cerebro, médula espinal, nervios periféricos, páncreas, glándula tiroides, glándulas suprarrenales, útero, clítoris y huesos (huesos largos, huesos planos y vértebras). Todos mostraron mínima contracción en los tejidos. <sup>(26)</sup>

<p>En la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de La Salle, en Bogotá Colombia, Muñetón y Ortíz<sup>(27)</sup></p>	<p>Primera mezcla contenía:          Vinagre blanco.          Etanol.          Glicerina.          Citrato de sodio.          Verde malaquita (actúa contra parásitos externos, bacterias y hongos).          Se aplicó a un bovino y se conservó por siete días, para posteriormente realizar las disecciones</p>	<p>Se observaron estructuras macroscópicas similares a la fijación con formol, con un proceso de autólisis y conservación de proteínas adecuado para el manejo y la conservación de las diferentes piezas anatómicas.</p> <p>Entre los resultados negativos está que el cadáver presentó un color verdoso indeseable, y la consistencia de la pieza era menos compacta que las fijadas con formalina.<sup>(27)</sup></p>
	<p>Segunda mezcla contenía:          Alcohol etílico.          Glicerina.          Agua          Se aplicó a un bovino y se conservó por 7 días previo a la disección</p>	<p>Se observó un adecuado estado de conservación, sin degeneración de tejidos a pesar de estar expuesto sobre una mesa de disección a aire ambiente un período de cuatro semanas.</p> <p>Se presentó desecamiento de las estructuras por la exposición al aire, por lo cual se debió de colocar en una recipiente que contenía de la misma mezcla con la que se embalsamó.</p> <p>La coloración de los tejidos se asemeja más a la de los animales vivos, la textura de los tejidos es más suave que la que se obtiene de cuerpos embalsamados con formalina.<sup>(27)</sup></p>
<p>Kalanjati, Prasetiowati y Alimsardjono<sup>(28)</sup>, en 2012 en el Departamento de Anatomía e Histología de la Facultad de Medicina de la Universidad Airlangga, en Indonesia</p>	<p>500 mL de glicerina.          500 gr de fenol en 500 mL de agua de grifo.          3 L de formaldehído al 37%.          12 L de agua de grifo.          Posterior al embalsamado se almacena el cuerpo a 4°C por un período de 6 meses dentro de un tanque lleno de</p>	<p>Se infundieron 16 L de solución para embalsamar, por vía arterial, con una bomba de perfusión a 400 ml de solución/min.</p> <p>Se observa un cadáver con vasos, músculos y nervios más visibles, con un color más claro, elasticidad conservada en los</p>

una solución de formalina y glicerina, ambas al 5%.<sup>(28)</sup> Una vez iniciado el proceso de disección el cuerpo debe de permanecer almacenado en el cuarto frío, a una temperatura entre los 4 y 5 °C y al final de cada disección (o uso del cuerpo) se debe de aplicar una mezcla de 1.8 L de glicerina, 200 mL de aceite de pino y 1.5 L de agua de grifo, para evitar la desecación y el crecimiento de hongos.<sup>(28)</sup> músculos. sin crecimiento fúngico y con un costo menor.<sup>(28)</sup>

Muñetón y Ortíz <sup>(29)</sup> en el 2013	<p>Mezcla de: 10 L de formol, 10 L de etanol diluidos en 80 L de agua.</p> <p>Se infunde vía arteria carótida común, luego de un lavado capilar en dichas piezas a base de agua y heparina (no indican la cantidad de fórmula necesaria para preservar cada pieza). Las piezas pueden ser utilizadas hasta 7 días posterior al proceso de embalsamado.</p> <p>Además, mientras la pieza es disecada se conservaron en recipientes que contenían la mezcla antes descrita.</p> <p>Luego son deshidratarlas con isopropanol y posteriormente se sumergieron en 400 litros de glicerina por un período de 70 días.</p> <p>Por último los cuerpos se sacaron de la glicerina y se llevó a cabo un proceso de curado por medio de aire circundante, evitando rayos solares y humedad por 30 días.<sup>(29)</sup></p>	Se obtuvieron piezas anatómicas aptas para la docencia, que no presentan olores y conservan las estructuras anatómicas en buen estado por más tiempo, en comparación con las piezas preservadas con formol. <sup>(29)</sup>
Fonseca-Matheus, Rojas y Peraza <sup>(30)</sup> , en el 2013	Previo al proceso de embalsamado y eutanasia	Los autores concluyeron que la solución alternativa

publican un estudio en la Universidad Centrooccidental “Lisandro Alvarado”, en Venezuela

del animal, a todos los especímenes utilizados se les administró 200 UI/kg de heparina sódica vía intravenosa.

Luego en el proceso de embalsamado los animales se distribuyeron en 2 grupos; el grupo 1 (control) fue tratado con la solución de uso rutinario en el laboratorio que contenía: 100 ml de formaldehído al 37%, 25 ml de glicerina y 755 ml de agua.

El grupo 2 fue tratado con una solución alternativa que estaba conformada por: 25 ml de formaldehído al 37%, 5 g de sulfato de cobre en cristales, 25 ml de glicerina y agua en cantidad suficiente para completar 1 L. Seguidamente todos los animales se almacenaron a temperatura ambiente por un lapso de 24 horas, pasado este tiempo, fueron conservados con temperaturas entre 1-4 °C mientras se realizaba la disección de los mismos.<sup>(30)</sup>

permite la preservación adecuada para la disección de los ejemplares anatómicos, con una menor exposición a la formalina, menos olores irritantes pero no es tan efectiva en el control del crecimiento de hongos en la superficie de las piezas anatómicas; y desde el punto de vista microscópico no permite conservar de manera óptima los tejidos.<sup>(30)</sup>

## ***2.1.2 La Química de las Soluciones de Fijación, Conservación y***

### ***Restauración***

#### ***2.1.2.1 Formaldehído***

El químico alemán August W. Von Hofman sintetizó el formaldehído en 1869 y, es a partir del año 1893 que empieza a utilizarse como un fijador de tejidos por su capacidad de crear enlaces cruzados entre proteínas, evitando la proliferación

de bacterias e impidiendo la putrefacción de los mismo. <sup>(1,10,21,31)</sup>

El formaldehído está compuesto químicamente por 7% de alcohol metílico, 37% de formaldehído y el resto es agua. Su concentración se expresa en términos de partes por millón (ppm), 1ppm = 1.248 mg/cu.m. Es utilizado fuera de la industria médica en pintura, adhesivos, industria química, plásticos, papel, fotografía construcción, cosméticos, entre otros. <sup>(32,33)</sup>

El uso del formaldehído innovó las técnicas de fijación del material anatómico, tanto a nivel macroscópico como microscópico, pues posee una rápida difusión tisular. A nivel comercial este químico se maneja como una solución acuosa saturada del gas formaldehído a una concentración del 37-40%. A pesar de su eficacia y bajo costo, cuestionada por ser altamente irritante a la conjuntiva ocular (un gas irritante); su inhalación también produce irritación en mucosas de vía aérea superior y, en ocasiones, del tracto respiratorio inferior. Se han presentado lesiones en piel por exposición prolongada y se documenta un alto potencial cancerígeno, teratogénico y mutagénico, aumento del riesgo de aborto, y se a relacionado con un síndrome neurológico asociado a solventes orgánicos <sup>(5,24,28,32-34)</sup>.

Se tiene reporte de casos de exposiciones prolongadas, a concentraciones elevadas, donde se han llegado a manifestar carcinomas escamosos en la mucosa nasal de ratas. <sup>(21,35)</sup>

Finalmente, las piezas anatómicas conservadas bajo técnicas a base de formaldehído presentan mayor rigidez, retracción del volumen de los órganos y pérdida del color natural de la pieza. <sup>(24)</sup>

### 2.1.2.2 Otros químicos fijadores

- **Fenol.** Químico perteneciente a la familia de los alcoholes, fue sintetizado en 1841, es de consistencia líquida, incoloro, transparente y con un olor característico, ligeramente penetrante, y es soluble en la mayoría de los solventes orgánicos.<sup>(36,37)</sup>

Es utilizado como parte de las fórmulas para la fijación de material biológico a nivel macroscópico y microscópico. Entre sus efectos adversos se encuentran: depresión del sistema nervioso central e irritación de mucosas nasal y ocular, con epífora.<sup>(21,36-38)</sup> Por sí solos no son genotóxicos, pero sí son promotores de cáncer, aumentando los efectos de carcinógenos genotóxicos ambientales; siendo esto un efecto dosis y tiempo dependiente.<sup>(39)</sup>

- **Ácido bórico.** Compuesto ácido, con apariencia cristalina, de color blanco, tiene acciones antisépticas e insecticidas, y es utilizado en la medicina china desde 1700. Tiene absorción rápida y una vida media, dentro del organismo, de un día, con excreción renal. Su toxicidad es baja en mamíferos cuando se aplica en piel, y moderada si ingresa por mucosa respiratoria en una exposición aguda al químico.<sup>(40)</sup>

- **Glicerina.** Alcohol trihídrico, soluble en agua, inodoro, viscoso, casi incoloro, con un alto punto de ebullición y estable en la mayoría de condiciones. Se volvió importante económicamente y en la industria militar en 1866, cuando Alfred Nobel inventó la dinamita, siendo esta su primera aplicación técnica.<sup>(41)</sup> En el proceso de embalsamado da flexibilidad a los tejidos, evitando que se sequen.<sup>(7,25,42)</sup> Entre sus efectos adversos agudos por exposición se encuentran: irritación de mucosas, tos, disnea, inyección conjuntival y epifora, entre otras. No se han descrito efectos adversos por uso crónico del mismo.<sup>(42)</sup>

### ***2.1.2.3 Peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)***

Potente agente oxidante, es líquido, incoloro a temperatura ambiente, soluble en agua. Es utilizado, entre otras cosas, para el blanqueamiento de telas, papel e incluso como combustible de cohetes. Sus efectos adversos incluyen: irritación de piel al contacto directo, pudiendo causar descamación, quemaduras, irritación y formación de ampollas; por inhalación puede producir irritación de las membranas mucosas del tracto respiratorio, tos, disfagia, disnea y edema pulmonar.<sup>(43-45)</sup>

### ***2.1.2.4 Hidróxido de Potasio (KOH)***

Producto químico sólido, de coloración blanquecina o amarilla, inodoro, soluble en agua, alcohol y glicerina. Absorbe rápidamente la humedad y el dióxido de carbono del ambiente. Al descomponerse se crea hidrógeno, monóxido de carbono y óxidos de potasio. Al contacto con la piel produce quemaduras y úlceras, inhalado causa tos, sensación de ahogo, lesiones en tabique nasal y quemaduras en mucosas.<sup>(46)</sup>

### ***2.1.2.7 Cloruro de sodio (NaCl)***

Químico sólido o en cristales, de color blanco, olor leve, sabor salado, soluble en agua, glicerina y amoníaco. Es un corrosivo, puede crear irritación al contacto directo con piel, ojos y mucosas orales o, al ser inhalado.<sup>(47)</sup>

## **2.2 Estado de la Cuestión.**

### ***2.2.1 Experiencia de la restauración de material anatómico***

En el 2014 se presenta un trabajo de grado como requisito parcial para optar al

título de Magister en Morfología Humana en el Departamento de Morfología Humana de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, por Julio César Franco Castillo<sup>(48)</sup>. En este se toman 10 piezas humanas (hemi-cabezas, riñón, pulmón, lengua, bloques de intestinos y bloques cardio-pulmonares) que se encontraban deterioradas y no habían sido sometidas anteriormente a restauración alguna. Se les aplicó el protocolo de restauración puntualizado en las sesiones prácticas del Curso de Técnicas Morfológicas Avanzadas - Tunja 2012, Dr. José Darío Rojas Oviedo<sup>(49)</sup>; durante el VIII Congreso Colombiano de Morfología, ASCOM (Asociación Colombiana de Morfología)<sup>(50)</sup>. Este protocolo establece un proceso de cuatro pasos: **Maceración** con hidróxido de potasio (KOH) del 1- 2% diluido en agua, **Desengrasado** con Xilol o con hidróxido de potasio (KOH) diluido en alcohol (OH) en porcentajes mayores que el paso anterior, **Aclaramiento** con hipoclorito de sodio, u otro blanqueador, en las zonas que se desea blanquear y, por último, **Conservación**, donde se aplica a cada pieza la mezcla, o procedimiento, deseado para la conservación según el criterio del investigador. En el caso mencionado se preservó con la solución fijadora conservadora chilena (SFCch).<sup>(48)</sup>

De este estudio se concluyó que el proceso de restauración no es un proceso rígido por lo que se puede repetir uno o más pasos según lo requiera la pieza anatómica.<sup>(48)</sup>

En el 2016, el Dr. Diego Pineda Martínez<sup>(51,52)</sup>, médico académico y jefe del Departamento de Innovación y Material Biológico de la Facultad de Medicina, de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), y su equipo de trabajo, empezaron a incursionar en los procesos de restauración de material biológico,

utilizando como base el método propuesto por el Dr. Rojas en Colombia<sup>(50)</sup>. El proceso utilizado por ellos cuenta también con 4 fases: **Maceración** (con KOH en porcentajes desde el 2-8 % diluido en agua de la llave), **Desengrasado** (con KOH en porcentajes que varían del 2-8 % diluido en alcohol), **Rehidratación** con NaCl al 1% m/v y **Aclaramiento** (con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> del 2-8 % diluido en agua).<sup>(53)</sup>

Los resultados obtenidos fue una mejoría en flexibilidad y coloración, con aumento de volumen por hidratación. Se concluyó que esta técnica permite restablecer el nivel de detalle en extremidades y rasgos faciales que dan un registro dactiloscópico o palmoscópico, así como apertura palpebral para estudio del globo ocular, que no era posible previo al proceso de restauración.<sup>(53)</sup> Aumenta la vida media del material biológico, así como la posibilidad de aplicar técnicas de identificación humana.<sup>(54)</sup>

A nivel nacional, no hay registros escritos que describan cómo se debe de realizar correctamente el procedimiento de embalsamado de un cuerpo, ni hay estudios sobre las distintas formulaciones para realizar dicha fijación. En las morgues de las Universidades es empírico o basado en formulaciones utilizadas en otros países, pero sin evidencia escrita que describa el procedimiento en detalle.

No hay bibliografía nacional que describa formulaciones de fijadores con mayor o menor concentración de formalina y las características presentadas por el material biológico fijado con dichas sustancias. Lo más cercano fue escrito por Álvarez y Calvo<sup>(55)</sup>, quienes realizaron en 2012 una revisión bibliográfica sobre las características de la formalina, cómo el personal de los servicios de anatomía patológica de los hospitales se encuentra expuesto a dicho químico, cuáles son las

complicaciones por la exposición a este y las acciones que se deben de tomar para mitigar sus efectos adversos.

En lo que a restauración de piezas anatómicas concierne, no hay evidencia escrita que describa que se realizara anteriormente en el país, por lo que a pesar de ser un procedimiento con varios años de estar en desarrollo, en el país es totalmente novedoso.

Con respecto a la extracción de material genético, existen publicaciones sobre la extracción de ADN a partir de huesos humanos de especímenes post mortem, con distintas características en su manejo posterior a su muerte, como exposición a aire, agua o exhumados, con el fin de valorar la obtención de ADN como técnicas forenses que permitan el reconocimiento de cuerpos.<sup>(56)</sup> Se realizó una revisión bibliográfica en la cual se encuentran estudios que explican distintos métodos para la extracción de ADN desde hueso, para uso forense y antropológico, donde dan recomendaciones sobre como obtener mejores resultados.<sup>(57)</sup> Sin embargo, ninguno de los estudios nacionales encontrados hace referencia a la extracción de ADN de material biológico fijado con formalina, para el reconocimiento humano.

### ***2.2.2 Experiencia en la obtención de material genético de cuerpos de morgues o laboratorios de anatomía.***

Después que una persona fallece, inicia el proceso de descomposición, y las moléculas empiezan a degradarse por enzimas endógenas y por organismos exógenos sumado a las condiciones ambientales en las que se encuentra el cuerpo. Razón por la cual, la obtención del material genético para la identificación de restos humanos ha surgido como una herramienta muy útil, que permite la identificación

de restos. Debido a que el ADN es una molécula más resistente a la degradación por ciertas proteínas, y se puede recuperar de distintos tejidos, dentro los que se encuentra el hueso y diente como tejidos de donde se puede recuperar ADN viable.<sup>(57-59)</sup>

Es importante recordar que el genoma humano consta de 3,200 millones de pares de bases, distribuidas en 23 pares de cromosomas, de los cuales 22 son pares y un par cromosomas sexuales (X/Y). Y fue en 1985 cuando, Alec Jeffreys fue el pionero, que realizó estudios en los que obtuvo un patrón de bandas, el cual denominó la huella digital del ADN o huella genética, los marcadores moleculares utilizados en estas pruebas fueron las regiones con repeticiones tándem de número variable (VNTR) las que poseen en promedio 30 pb y las repeticiones cortas en tándem (STR) que poseen de 2 a 5 pb.<sup>(60,61)</sup>

Se ha demostrado que el formaldehído es un químico que causa entrecruzamiento (también conocido como cross-linkage), entre los ácidos nucleicos y las proteínas, hidroliza puentes fosfodiéster del ADN y por adición de grupos metilos en las bases, crea una modificación covalente del ARN que puede generar problemas en la obtención de material genético de calidad, necesario para la aplicación de técnicas moleculares variadas, que permitan la identificación de restos humanos.<sup>(62)</sup>

Distintos investigadores afirman que por las causas ya descritas la fijación con químicos como la formalina disminuye en mayor o menor grado, el rendimiento de la amplificación por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) dependiendo además de otros factores como, el tiempo y temperatura de fijación principalmente, influyendo al final en la tasa de fragmentación del ADN<sup>(62,63)</sup>

Con la introducción de la técnica de reacción de cadena de polimerasa (polymerase chain reaction ó PCR) que permite: la amplificación de pequeños segmentos de ADN, generar millones de copias o amplificar los VNTR y STR a partir de cantidades mínimas de muestra; se introdujeron técnicas que permiten la identificación de resto humanos a partir de distintos procedimientos, entre las se que encuentran: amplificación de un gen específico, las repeticiones en tándem cortas (Short Tandem Repeat ó STR), el estudio del ADN mitocondrial, estudio de cromosomas sexuales, polimorfismos de nucleótidos únicos (single nucleotid polymorfism ó SNP) y gen de la amelogenina entre otros.<sup>(58,59,61,64)</sup>

Las Instalaciones de Ciencias Forenses Aplicadas del Sureste de Texas (STAFS) en Sam Houston State University, publicó en 2017 un estudio que buscaba evaluar el grado de degradación de la molécula de ADN por medio de la viabilidad de las repeticiones cortas en tándem, “*Short Tandem Repeat*” (STR), de diversos tejidos (piel de diferentes áreas, músculos, huesos, dientes, cabello, vello púbico y facial, uñas, órganos torácicos y abdominales) de tres cadáveres, embalsamados por funerarias diferentes con mezclas comerciales y almacenados, previo al muestreo, a 4° C por un período de 290 días (para el 1° cuerpo), 814 días (para el 2°) y 113 días (para el 3°). Una vez tomadas las muestras se almacenaron a -20°C hasta el momento de ser procesadas.<sup>(3)</sup>

Al analizar el éxito de los STR, las muestras de huesos y dientes recolectados dieron como resultado perfiles tanto parciales como completos; las muestras de médula ósea, músculos, cabello y uñas generaron tasas de éxito de STR más altas (de 90-93%); mientras que la categoría de órgano interno dio como resultado el promedio más bajo de 49%.<sup>(3)</sup>

Se concluyó que esas variantes pueden deberse al proceso de embalsamado de cada cuerpo, al tiempo antes de procesarse la muestra, al tiempo de fallecido previo al embalsamado y al uso de solo 3 cuerpos para el estudio.<sup>(3)</sup>

La amelogenina es el mayor componente proteico del esmalte, secretada por los ameloblastos, y cuenta con alrededor de 180 aminoácidos,<sup>(65)</sup> en el humano es un gen transcripcionalmente activo en ambos Cromosomas sexuales (Y y X). El gen localizado en el cromosoma Xp22.1-22.3, es llamado “AMELX”, que mide 2,872 pares de bases (pb) y el localizado en el cromosoma Yp11.2, se conoce como “AMELY”, y tiene 3,272 pb. El análisis simultáneo de estos dos genes es de gran utilidad en la identificación del sexo. En este sentido, la prueba descrita por Sullivan y cols. detecta una deleción de 6 pb del intrón 1 del gen AMELX, que genera productos de amplificación de 106 y de 112 pb para AMELY.<sup>(66,67)</sup>

Este gen es utilizado como un método simple para la determinación del sexo humano, y en pruebas forenses se utiliza para determinación de la identidad de personas desaparecidas, en la cual se pueden utilizar los genes del cromosoma Y y/o X de las muestras extraídas, para posteriormente realizar una amplificación por PCR usando dos cebadores comunes; para finalmente ser sometidos a electroforesis en un gel de agarosa.<sup>(68)</sup>

## **Marco metodológico**

### **3.1 Tipo de estudio**

Se llevó a cabo un estudio descriptivo, observacional de tipo transversal, entre enero de 2017 y mayo de 2018.

### **3.2 Materiales y métodos**

#### ***3.2.1 Población de estudio:***

El estudio consta de dos grandes partes: A) Restauración de órganos, y B) la comparación de la fijación de distintos tejidos en un cuerpo embalsamado con fórmula antigua y fórmula nueva contra un cuerpo fresco.

- A. ***Proceso de restauración:*** se utilizaron 265 órganos que correspondían a la totalidad de los órganos que se encontraban en el área de los laboratorios del Departamento de Anatomía de la Escuela de Medicina, de la Universidad de Costa Rica, para setiembre del 2017, fijados previamente con formalina diluida en agua al 10% m/v de concentración. Con un tiempo de antigüedad, de la mayoría de los órganos de más de 10 años de estar fijados en una mezcla a base de formaldehído al 10%.
- B. ***Comparación entre las mezclas para embalsamar:*** se utiliza tres cuerpos masculinos con edades entre los 78 y 79 años, donados a la Escuela de Medicina, adecuadamente identificados con su brazalete de identidad del LaMoNec, con un tiempo de fallecimiento mayor a tres semanas pero menor a 1 mes, de nacionalidades costarricense y estadounidense, los cuales fueron numerados del 1 al 3.

El cuerpo 1 se mantuvo en condición fresca, sin aplicarle ninguna fórmula para su fijación y se disecó en un período menor a 1 semana por parte de la investigadora principal; el cuerpo 2 un cuerpo fijado con una fórmula a base de formalina diluida en agua, con una concentración de la misma al 10% sin bufferizar, que será denominada fórmula antigua y que se encontraba almacenado en las fosas de químico de LaMoNec para su preservación desde el año 2015, solamente se tiene conocimiento de que se embalsamó vía vena femoral con bomba de perfusión y el cuerpo 3 estaba fijado con una solución embalsamadora a base de alcoholes con formalina en una concentración menor del 6% sin bufferizar, que será designada con el nombre de fórmula nueva, el cual se embalsamó por vía arteria femoral mediante bomba de perfusión.

Los tres cuerpos elegidos por juicio de experto; cada uno de ellos con una condición representativa para el estudio. Se valoraron variables macroscópicas, histológicas y moleculares de 31 órganos en total de cada cuerpo: ganglio cervical, pelo de cuero cabelludo, vello púbico, piel de abdomen, grasa de abdomen, músculo oblicuo externo, músculo subclavio, lengua, glándula submandibular, glándula tiroides, pulmón izquierdo, aurícula derecha, hígado, vesícula biliar, cartílago de oreja, arteria aorta ascendente, testículo, páncreas, bazo, riñón, vejiga, lecho ungueal, cartílago costal, costilla, esófago, estómago, duodeno, yeyuno, íleon, ciego y apéndice vermiforme, para tener una muestra total de 93 órganos y tejidos entre los tres cuerpos.

Se utilizó una escala nominal para etiquetar cada órgano o tejido con respecto a la categoría a la que pertenece, y poder distinguirlo de las otras categorías.<sup>(69)</sup>

### 3.2.2 Criterios de inclusión y exclusión

A. *Proceso de restauración.* Los criterios de inclusión y exclusión de los órganos restaurados se observan en la tabla N° 2.

**Tabla 2:** *Criterios de inclusión y exclusión de los órganos en los laboratorios del Departamento de anatomía de la Escuela de Medicina, de la Universidad de Costa Rica hasta setiembre del 2017.*

<b>Inclusión</b>	<b>Exclusión</b>
Fijado con formalina previamente.	Mal estado de preservación. Lesiones extensas en el parénquima del órgano. Órgano fresco.

**Fuente:** González Fernández J. 2017.

B. *Comparación entre las mezclas para embalsamar.* Los criterios de inclusión y exclusión de los cuerpos del 1-3, se observan en la tabla N° 3.

**Tabla 3:** *Criterios de inclusión y exclusión para seleccionar los cuerpos de donde se tomaron las 31 muestras de órganos y tejidos.*

Inclusión	Exclusión
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Encontrarse en el Laboratorio Morgue y Necrobiología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica para el mes de Mayo del 2018.</li> <li>• Tiempo transcurrido entre el fallecimiento y el proceso de disección o embalsamado menor a un mes.</li> <li>• Descripción de la mezcla con la cual fue embalsamado.               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Brazaletes de identificación.</li> <li>• Conocer su fecha de ingreso a la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica.                   <ul style="list-style-type: none"> <li>• Acta de defunción.</li> </ul> </li> <li>• Carta de donación personal o del hospital donde falleció.</li> <li>• No haber sido sometido a algún método de fijación previo ingreso al Laboratorio de Necrobiología y Morgue de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica.                   <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mismo sexo en los cuerpos seleccionados.</li> </ul> </li> </ul> </li> <li>• Poseer pelo en cuero cabelludo, vello púbico, orejas, lengua y uñas, en al menos una mano.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Autopsia previa.</li> <li>• Descripción al ingreso a la morgue que sugiera estado de descomposición avanzada, como zonas de la piel con verdosas u olor fétido.</li> <li>• Desconocimiento de la cantidad de litros de la solución utilizada para embalsamar.</li> <li>• Desconocimiento de la fórmula utilizada para embalsamar.</li> <li>• Historia de cirugías previas.</li> </ul>

**Fuente:** González Fernández J. 2017.

### 3.2.3 Metodología

#### *A. Restauración de órganos*

Se tomaron los 265 órganos de los laboratorios del Departamento de Anatomía de la Escuela de Medicina para el setiembre 2017, fijados previamente con formalina, en los que se encontraban pulmones, corazones abiertos y cerrados, bazos, hígados, páncreas, lengua, estómagos, intestinos delgado y gruesos, úteros, glándulas mamarias, penes, testículos, riñones y cerebros completos.

Primeramente cada órgano fue fotografiado (para documentar su estado previo a la restauración) y numerado; todo el proceso se documentó mediante bitácoras de trabajo.

El proceso de restauración se llevó a cabo de la siguiente forma:

- **Fase de maceración:** los órganos fueron colocados en un recipiente plástico con tapa en una solución de hidróxido de potasio (KOH) diluido en agua de grifo, variando su concentración entre 1 - 8% de masa/volumen (m/v), dejándolos reposar en esta un tiempo variable, según las características de la pieza anatómica y las condiciones de su tejido previo al proceso de restauración.<sup>(52)</sup> La solución debía cubrirlos por completo.
- **Fase de desengrasado:** se preparó una solución de hidróxido de potasio diluida en alcohol al 95%, con una concentración que varió del 1 - 8% m/v según lo ya mencionado.<sup>(52)</sup> De igual manera, se introdujeron los órganos en un recipiente plástico con tapa, cubiertos completamente por la solución y

nuevamente se dejaron reposar por un tiempo variable según la pieza a restaurar.

- **Fase de lavado:** se repitió lo mismo que en las fases previas sólo que en esta ocasión se utilizó una solución al 0,9 - 1,0 % (m/v) de cloruro de sodio (NaCl) en agua.<sup>(52)</sup>
- **Fase de blanqueamiento:** se colocaron las piezas anatómicas en una solución de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 1 - 8 % m/v diluido en agua de grifo, según los mismos criterios previos y de la misma manera que los pasos previos.<sup>(52)</sup>

Al completar cada fase se tomaron fotografías de cada una de las piezas anatómicas y se colocaron los resultados observados en una bitácora de trabajo. Una vez terminada esta etapa, se tomaron de la bitácora de trabajo los datos necesarios para completar la tabla de datos con las variables cuantitativas a evaluar en cada órgano (Anexo 36), las cuales se describen en las tablas N° 04 y 05.

**Tabla 4:** Variables macroscópicas a evaluar previo y posterior a la restauración de cada uno de los órganos de los laboratorios del Departamento de Anatomía de la Escuela de Medicina, de la Universidad de Costa Rica hasta setiembre del 2017.

Consistencia	Coloración	Olor	Daño en el parenquima del órgano
No valorable	No valorable	No valorable	
Pétreo (indurado)	Negro	Formalina	Sí
Duro-elástico	Café oscuro	Químico no identificado	
Blando	Café claro	Sin olor	
	Blanco		
Como esponja	Amarillo	Alcohol	No
	Gris		

**Fuente:** González Fernández J. 2017.

**Tabla 5:** Variables a considerar en el proceso de restauración de cada uno de los órganos a restaurar de los laboratorios del Departamento de Anatomía de la Escuela de Medicina, de la Universidad de Costa Rica hasta setiembre del 2017.

	<b>Macerado o KOH en H<sub>2</sub>O</b>	<b>Desengrasado o KOH en OH</b>	<b>Rehidratación n NaCl</b>	<b>Blanqueamiento o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>
<b>Porcentaje concentración de la solución (%)</b>	1 - 8	1 - 8	0,9 - 1	1 - 8
<b>Tiempo de Sumerción de cada órgano (en horas)</b>	0 - 408	0 - 408	0 - 408	0 - 408

**Fuente:** González Fernández J. 2017.

Una vez restaurados, se aplicaron distintos criterios comparando las variables enumeradas en la tabla N° 4, antes y después de la restauración, para determinar si la restauración fue mala, buena o muy buena.

De manera que, si el órgano presenta daño del parénquima posterior a la restauración o si presentaba daño del parénquima desde antes pero no presentó mejoría en su consistencia ni en su coloración se considera que la restauración fue mala.

Por otro lado, si el órgano no presenta daño del parénquima, pero presenta solamente mejoría en una de las variables ya sea color o consistencia, o tiene daño previo del parénquima pero presenta mejoría de 1 o más variables, se considera que la restauración fue buena.

Si el órgano restaurado no presenta daño en el parénquima y mejora el color y la consistencia se considera que la restauración fue muy buena. (Tabla N° 06)

**Tabla 6:** *Criterios para determinar el estado de la restauración de los órganos*

<b>Estado de restauración</b>	<b>Criterios</b>
Mala	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Daño en el parénquima posterior a la restauración.</li> <li>• Daño previo en el parénquima, y sin mejoría en consistencia o coloración.</li> </ul>
Buena	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sin daño en el parénquima, con mejoría de solo una característica (color o consistencia).</li> <li>• Con daño previo en el parénquima y mejoría de ambas características (color y consistencia).</li> <li>• Con daño previo en el parénquima y mejoría de solo una característica (color o consistencia).</li> </ul>
Muy buena	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sin daño en parénquima posterior a la restauración y con mejoría en color y consistencia.</li> </ul>

---

**Fuente:** González Fernández J. 2017.

### ***B. Comparación de las fórmulas para embalsamar***

Una vez seleccionados los cuerpos se procedió a realizar disección por planos de diversas regiones: cuello, tórax, abdomen, oreja, lechos ungueales, cuero cabelludo y genitales. Esto permitió exponer y separar la piel con cuero cabelludo y vello púbico, piel de abdomen, grasa abdominal, músculo oblicuo externo, músculo subclavio, glándulas submandibulares, glándula tiroides, ganglios cervicales, pulmones, corazón, arteria aorta ascendente, esófago (porción intraabdominal), estómago, duodeno, yeyuno, íleon, páncreas, bazo, hígado, vesícula biliar, apéndice vermiforme, ciego, riñones, vejiga, gónadas (testículo), lecho ungueal de al menos 2 dedos de la mano, cartílago y hueso costal, y cartílago auricular.

El embalsamado se realiza por vía arterial (carotídea o femoral) o venosa (femoral), razón por la cual se eligieron órganos y tejidos con grados de perfusión distintos, ya que esto puede influir en el contacto con la solución fijadora.

**Tabla 7:** Numeración de órgano o tejido a evaluar en cada uno de los cuerpos elegidos.

1	Ganglio cervical
2	Pelo de cuero cabelludo
3	Vello púbico
4	Piel de abdomen
5	Grasa de abdomen
6	Músculo Oblicuo Externo
7	Músculo subclavio
8	Lengua
9	Glándula submandibular
10	Glándula tiroides
11	Pulmón Izquierdo
12	Aurícula derecha
13	Hígado
14	Vesícula biliar
15	Cartílago de oreja
16	Arteria Ao Ascendente
17	Testículo
18	Páncreas
19	Bazo
20	Riñón
21	Vejiga
22	Lecho ungueal
23	Cartílago costal
24	Costilla
25	Esófago
26	Estómago
27	Duodeno
28	Yeyuno
29	Ileon
30	Ciego
31	Apéndice Vermiforme

**Fuente:** González Fernández J. 2017.

Se numeró cada órgano o tejido del 1 al 31 como se muestra en la tabla N° 07 y se procedió a realizar la recolección de las variables macroscópicas, moleculares e histológicas.

*Comparación de variables macroscópicas*

La disección por planos en los tres cuerpos fue realizada por la investigadora principal, con el fin de disminuir el sesgo por parte del observador. Todo el proceso fue recopilado por medio de fotografías y anotaciones en la bitácora de trabajo.

Se compararon las variables macroscópicas, que se observan en la tabla N° 08, donde se utilizaron variables cualitativas como la consistencia, coloración y olor, de los tejidos y órganos. Dichas características fueron descritas en la bitácora de trabajo por parte de la investigadora principal, que corresponde al observador 1.

**Tabla 8:** Variables macroscópicas de los órganos y tejidos disecados de los 3 cuerpos evaluados.

<b>Consistencia</b>	<b>Coloración</b>	<b>Olor</b>
No valorable	No valorable	No valorable
Pétreo (indurado)	Negro	Formalina
Duro-elástico	Café oscuro	Químico no identificado
Blando	Café claro	Sin olor
	Blanco	
Como esponja	Amarillo	Alcohol
	Gris	

**Fuente:** González Fernández J. 2017.

Luego de que los cuerpos fueron disecados completamente se solicitó a dos médicos graduados, y docentes del Departamento de Anatomía, que completaran un formulario, en el que se hicieron preguntas sobre las variables macroscópicas antes mencionadas en los cuerpos embalsamados (Anexo 32, 33), para luego comparar los resultados de los 2 observadores externos con los del investigador principal. (Anexo 34, 35 y 36)

Los evaluadores externos (observador 2 y 3) eran médicos graduados de la Universidad de Costa Rica, que han participado a lo largo de su carrera en distintas cirugías y, además, tienen experiencia trabajando en el Departamento de Anatomía de la Escuela de Medicina de la UCR como docentes de tiempo completo.

Se utilizó además el coeficiente Kappa de Cohen como una medida de concordancia entre los observadores, con el fin de validar las variables descritas por el observador 1. Debido a que el coeficiente Kappa de Cohen excluye la concordancia causada al azar; razón por la cual se considera un estudio de concordancia, que busca estimar la coincidencia de las observaciones entre dos observadores, además de utilizar variables de tipo categóricas.<sup>(70,71)</sup>

#### *Análisis genético*

Luego de describir las variables macroscópicas, se procedió a tomar las muestras de ADN de cada uno de los órganos o tejidos. Con material estéril y guantes de nitrilo, tomándose cada una de las 31 muestras de tejido, y colocándose en tubos Eppendorf® de 1.5 ml, los cuales se rotularon y se congelaron a cero grados de forma inmediata.

Se utilizó el Kit “High pure PCR template preparation Kit” (Roche, Mannheim, Germany, número de catálogo 1179628001). Se trabajó acorde a las indicaciones del fabricante. El ADN purificado se cuantificó en Nanodrop TM (Thermo-Scientific).<sup>(72)</sup>

Luego de anotar las variables cuantitativas observadas en la tabla N° 08, se procedió a realizar una electroforesis en gel de agarosa al 1% p/v , para evaluar su integridad. Además, se realizó un análisis de PCR tiempo final, para evaluar la calidad del material extraído y su viabilidad para estudios moleculares posteriores, se amplificó una región del gen codificante para el SCN5A (que codifica la subunidad alfa del canal de sodio cardiaco) utilizando los primers F- 5’GATGCATGGGCAGGGTCTGA-3’ y R- 5’CAGAGTTTGGGACCAGAATT-3’, que generan un amplicón de 467 pb. Tras esto, se anotó si la amplificación del ADN de cada muestra fue positiva o negativa como variables cualitativas (Tabla N° 09).

Como no se logró obtener resultado positivo con la amplificación de las muestras del cuerpo 2 y 3, se realizó una prueba de algunos tejidos del cuerpo 2 y 3, con el gen llamado AMELY, correspondiente al gen de amelogenina, localizado en el cromosoma Y p11.2,<sup>(66,68)</sup> utilizando los primers F- 5’CCCTGGGCTCTGTAAAGAATAGTG-3’ y R- 5’ATCAGAGCTTAAACTGGGAAGCTG-3’ que generan un amplicon de 110 pb, con la finalidad de comprobar si en el primer caso no hubo amplificación porque el ADN no era viable del todo, o porque la molécula de ADN se encontraba muy degradada, a causa del uso del formaldehído en la fijación de las muestras del cuerpo 2 y 3.

**Tabla 9:** Variables moleculares de los órganos y tejidos disecados de los 3 cuerpos evaluados.

Concentración de ADN en ng/μl	Relación 260/280	Amplificación
Resultado numérico	Resultado numérico	Positivo /Negativo

**Fuente:** Wheeler A, Czado N, Gangitano D, Turnbough M, Hughes-Stamm S. Comparison of DNA yield and STR success rates from different tissues in embalmed bodies. Int J Legal Med. 2017;131(1):61–6.

### Comparación de variables histológicas

Por último, se tomaron las muestras de los 93 tejidos y órganos para poder valorar las variables cualitativas a nivel histológico descritas en la tabla N° 10. Las mismas permiten apreciar el estado de conservación del núcleo y el citoplasma de las células, con el fin de valorar el proceso de fijación a nivel histológico.

**Tabla 10:** Variables microscópicas de los órganos y tejidos disecados de los 3 cuerpos evaluados.

Tiempo de fijación			Calidad de fijación									
Núcleo			Citoplasma									
Sin autólisis	Decoloración	Pérdida completa de la basofilia	Vacuolización	Artefacto de retracción	Bordes nucleares borrosos	Alteraciones morfológicas	Artefactos por patología asociada	Patología	Descalcificación excesiva	Orientación pobre de la sección	Pigmentos de formalina	Sobretinción
0-100 %	0-100 %	0-100 %	Si/N o	Si/N o	Si/N o	Si/N o	Si/N o	Nombre de patología	Si/N o	Si/N o	Si/N o	Si/N o

**Fuente:** González Fernández J. 2017.

Una vez tomada la muestra, se fijó con formalina bufferizada de Milloning's<sup>(74)</sup>, colocando las muestras cortadas en cassetes de inclusión de plástico, rotulados previamente, los cuales se sumergieron en un frasco de vidrio, con un volumen aproximadamente 20 veces mayor a las muestras, por un período mínimo de 24 horas. En el caso de las muestras de hueso (costilla), se colocaron en ácido clorhídrico al 10% (v/v), lo que permitió descalcificar el hueso para cortarlo e incluirlo en los cassetes respectivos.

Se procedió a realizar la deshidratación de las muestras en la procesadora automatizada de tejidos Leica TP 1020 y posteriormente se incluyeron en parafina.<sup>(75)</sup> Se cortaron con un micrótopo semi automático pfm Rotary 3005 E, obteniendo muestras de 5mm x 5 mm y 4  $\mu$ M de grosor, colocando los cortes en baño maría TBS DURHAM NC U.S.A. a 47°C, para fijar la muestra en el portaobjetos, y se colocaron en la estufa con el fin de que los tejidos se adhirieran a la lámina, a la vez que se derritió el exceso de parafina, quedando solo el tejido en el portaobjetos.

Posteriormente las láminas fueron colocadas en canastas, y se introdujeron en la teñidora automática marca Leica Stainer XL, la cual realizó el desparafinado y la tinción con Hematoxilina-Eosína (ya estandarizado en el laboratorio de histotecnología de la Escuela de Medicina); se finalizó con el montaje de las láminas.

Se evaluaron las variables cualitativas de los tejidos, al observar las láminas al microscopio por parte de una patóloga quien completó los formularios con las variables ya descritas en la tabla N° 10.<sup>(75)</sup>

### 3.3 Consideraciones estadísticas

A las poblaciones de estudio se les realizó un estudio descriptivo multivariable, tanto en el caso de las 265 muestras restauradas; como de los 93 órganos y tejidos de los tres cuerpos disecados, y se les nominó por medio de variables categóricas multivariable. Se aplicó estadística descriptiva, y el análisis estadístico se llevó a cabo por medio del programa R, versión 3.4, extensión GGLOT2, y el programa permitiendo analizar las variables cualitativas y cuantitativas para la realización de tablas y gráficos, que permitieron comparar la información obtenida.

*A. Proceso de Restauración:* se compararon mediante gráficos de barras, permitiendo comparar la calidad de la restauración con respecto a la cantidad de órganos restaurados, según cada grupo de órganos; y tablas de variables cualitativas y cuantitativas, que permitieron comparar el proceso de restauración con respecto a la calidad de la misma.

*B. Comparación entre las mezclas para embalsamar:* En cuanto a los órganos y tejidos de los tres cuerpos del laboratorio de Morgue y Necrobiología se compararon variables cualitativas y cuantitativas macroscópicas, histológicas y moleculares por medio de tablas comparativas y la aplicación del coeficiente Kappa, que evaluó la concordancia inter-observador en la valoración de las características macroscópicas de los 93 órganos y tejidos. Con la finalidad de juzgar si la apreciación de los 3 observadores tenían una concordancia real o a causa del azar al momento de comparar las variables macroscópicas de los dos cuerpos embalsamados contra la del cuerpo fresco.<sup>(71)</sup>

**Tabla 11:** Valoración de índice Kappa de Cohen<sup>(70)</sup>

Valor Kappa	Fuerza de concordancia
< 0.20	Pobre
0.21 – 0.40	Débil
0.41 – 0.60	Moderada
0.61 – 0.80	Buena
0.81 – 1.00	Muy Buena

**Fuente:** Lopez Galparsoro I, Pita Fernandez S. Medidas de concordancia : el índice de Kappa. Cad Aten Primaria. 1999;6:169–71.

Las variables moleculares se analizaron por medio de tablas comparativas, gráficos de dispersión y barras que permiten valorar los mínimos, máximos y promedios. En las variables histológicas se analizaron por medio de tablas y gráficos comparativos de grupos de muestras específicos que comparan características específicas de las mismas.

### 3.4 Consideraciones bioéticas

Fue valorado por el Comité Ético Científico de la Universidad de Costa Rica, el 19 julio del 2017 y se aprobó durante la sesión **número 69**, se confirmó mediante el **oficio VI-5670-2017** (Anexo 1). Se aprobó por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica el 29 de agosto del 2017 con el **oficio VI-6343-2017**. (Anexo 2)

La investigación contó con el formulario de donación de cada cuerpo utilizado en el estudio (Anexo 3, 4 y 5)

El proyecto está inscrito en la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica con el título: **Estandarización de Técnicas de Preservación, Restauración y Extracción de Piezas Anatómicas y Material**

**Genético de la Morgue y Laboratorio del Departamento de Anatomía de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica; con el número 422-B7-367.**

## Resultados

### 4.1 Restauración de órganos

De los 265 órganos restaurados el 37% que catalogó como muy buena restauración, el 57% como buena y solamente el 6% como mala restauración. De estos el 100% de la lengua, páncreas y testículos presentaron una restauración muy buena, tal como se ejemplifica en el gráfico 1.



**Figura 1:** Imagen que demuestra el estado previo y posterior a la restauración de el bazo, páncreas y la lengua. A= estado previo restauración. B= Estado posterior a la restauración. **Fuente:** LaMoNec 2018.

Otros de los órganos de los cuales se obtuvieron muy buenos resultados en la restauración fueron el útero y pene con un 83% de la muestra catalogada como muy buena restauración.

En el caso del corazón cerrado, cerebro completo, hígado, intestino delgado, riñones y pulmón la restauración fue en su mayoría catalogada solo como buena, según los criterios de la tabla N° 6.

Solamente del intestino grueso se obtuvo una restauración del 100% de la muestra catalogada como mala. En el caso de otros órganos como 6% de los corazones abiertos, 5% de los corazones cerrados, 18% de estómagos, 15% de hígados se obtuvo una mala restauración de los mismos.

En la figura 1 se puede apreciar en la imagen superior los bazos, páncreas y la lengua sin restaurar, con una coloración café y en los cuales no se logra apreciar diferencia alguna entre el parénquima del órgano y la grasa circundante, lo que, si se aprecia en la foto inferior, posterior al proceso de restauración, así como se nota el cambio de coloración de ellos.

Los bazos se sometieron a fase de **macerado** en KOH diluido en agua con un porcentaje de 2% m/v en un promedio de tiempo en horas de 24 horas, no se sometió la fase de **desengrasado** en KOH diluido en OH, la fase de **lavado** se llevó a cabo en NaCl al 1% diluido en H<sub>2</sub>O por un tiempo de 24 horas, para concluir con la fase de **blanqueamiento** con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2% por un período de tiempo que oscila de 2-8 horas. (Tabla N° 12)



**Gráfico 1:** Comparación de la calidad de la restauración con respecto a la cantidad de órganos restaurados por tipo. **Fuente:** LaMoNec 2018.

En el caso del páncreas, los 4 órganos sometidos al proceso, resultaron con una muy buena restauración, en el que el proceso de **maceración** se llevó a cabo en un tiempo de 24 horas con una dilución de KOH en agua al 2% m/v, se sometieron a la fase de **desengrasado** por 1 hora en una dilución de KOH en OH al 2% m/v, la fase de **lavado** se llevó a cabo con NaCl al 1% por un tiempo de 24 horas. Por último, el blanqueamiento se llevó a cabo con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2% diluido en H<sub>2</sub>O por un período de tiempo de 2-8 horas. (Tabla N° 12)

La lengua, fue un órgano que se restauró un solo ejemplar, del cual se obtuvo una restauración muy buena y que se sometió a la fase de **macerado** en KOH diluido

en agua al 2% m/v durante 24 horas, no se sometió a fase de **desengrasado**, la fase de **lavado** se llevó a cabo durante 24 horas con NaCl al 1% m/v diluido en agua, para finalizar con la fase de **blanqueamiento** con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2% m/v por un período de tiempo que oscila entre las 2-8 horas. (Tabla N° 12)

En la figura 2, se observa una fotografía que ejemplifica el estado de los hígados previo al proceso de restauración con una coloración café oscura y una consistencia pétrea; a una coloración más clara y una consistencia duro elástica posterior a la restauración. Reflejando además que el 57% de la muestra obtuvo una restauración buena, un 28% muy buena y solamente un 15% una mala restauración. (Gráfico 1)

Se sometieron a fase de **macerado** durante un tiempo de 24 horas en una dilución de KOH en agua a concentraciones de 2-4 % m/v, sin someterse a fase de **desengrasado**, la fase de **lavado** se llevó a cabo con NaCl al 1% en un período de 24 horas y la fase de **blanqueamiento** se realizó con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2% m/v por un período de tiempo que varía de 2-8 horas. (Tabla N° 12)

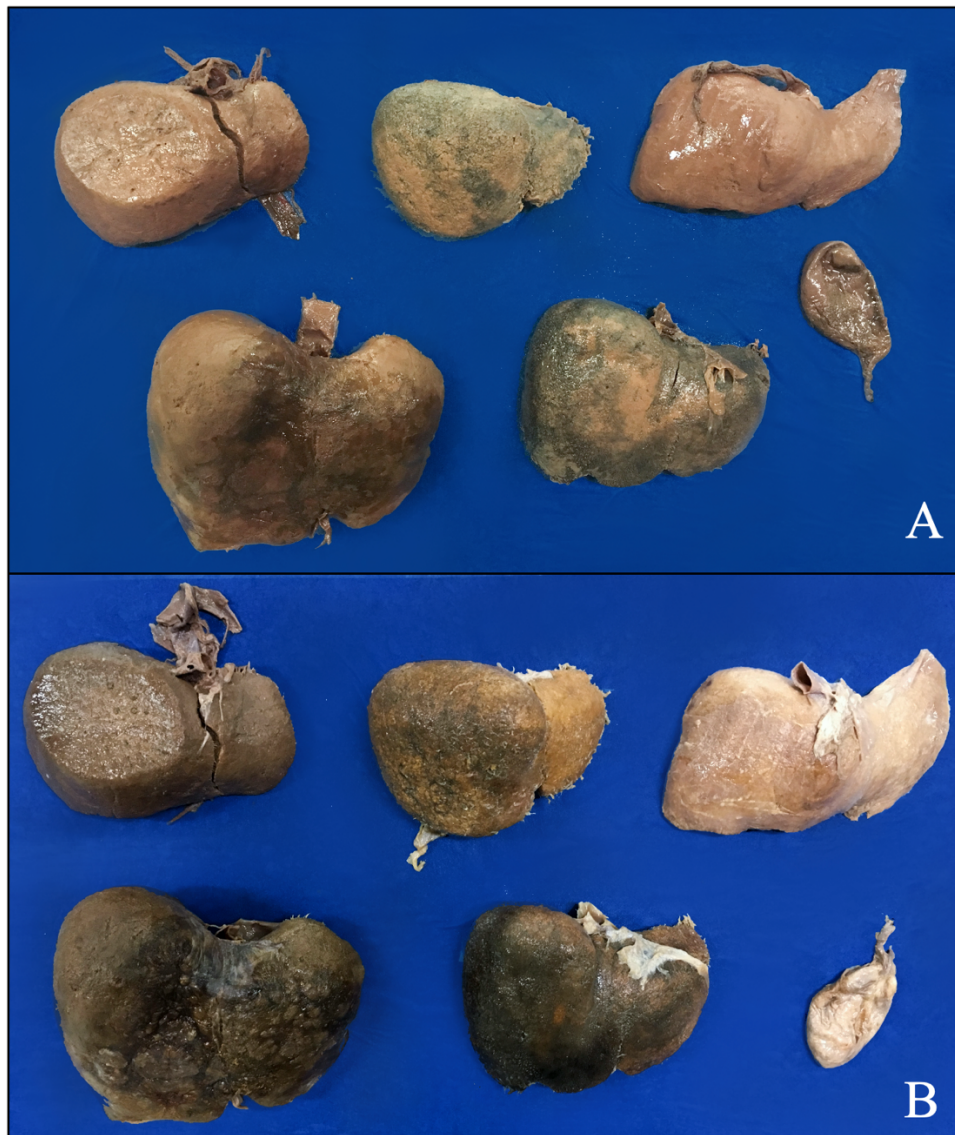
**Tabla 12:** Resumen procedimiento seguido para la restauración según órgano.

Órgano	Restauración			KOH H <sub>2</sub> O		KOH OH		NaCl		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	
	Muy Buena	Buena	Mala	%	Horas	%	Horas	%	Horas	%	Horas
Pulmón	13	15	3	4	24	-	-	1	24	2	2-8
Corazón abierto	6	24	6	2	24	2	12	1	24	2	2-8
Corazón cerrado	17	3	1	2	24	2	20	1	24	2	2-8
Bazo	7	3	0	2	24	-	-	1	24	2	2-8
Hígado	2	4	1	2-4	24	-	-	1	24	2	2-8
Páncreas	4	0	0	2	24	2	1	1	24	2	2-8
Lengua	1	0	0	2	24	-	-	1	24	2	2-8
Estómago	13	1	3	2	24	2	2	1	24	2	2-8
Intestino delgado	0	4	1	2	24	2	6	1	24	2	2-8
Intestino grueso	0	0	1	2	24	2	7	1	24	2	2-8
Útero	5	1	0	2	24	2	6	1	24	2	2-8
Glándula mamaria	0	4	0	2	24	2	6	1	24	2	2-8
Pene	5	1	0	2	24	2	6	1	24	2	2-8
Testículo	8	0	0	2	24	2	6	1	24	2	2-8
Riñones	7	16	1	2	24	-	-	1	24	2	2-8
Cerebro completo	9	74	0	2	24	-	-	1	24	2	2-8

**Fuente:** LaMoNec 2018.

En la figura 3 se observan los corazones cerrados, la imagen A, ejemplifica los corazones sin restaurar con una coloración café oscura y café claro, sin que se pueda diferenciar el parénquima del órgano, de la grasa y los vasos. En la imagen inferior se observa una muestra de los corazones cerrados posterior al proceso de restauración, en donde se aprecia un cambio de la coloración en la mayoría de la muestra, y se puede diferenciar adecuadamente el tejido graso, de los vasos y el parénquima del órgano.

De estos órganos el 81% de la muestra resultó con una restauración muy buena, el 14% con una restauración buena y solamente el 5% de la muestra resultó en una mala restauración.



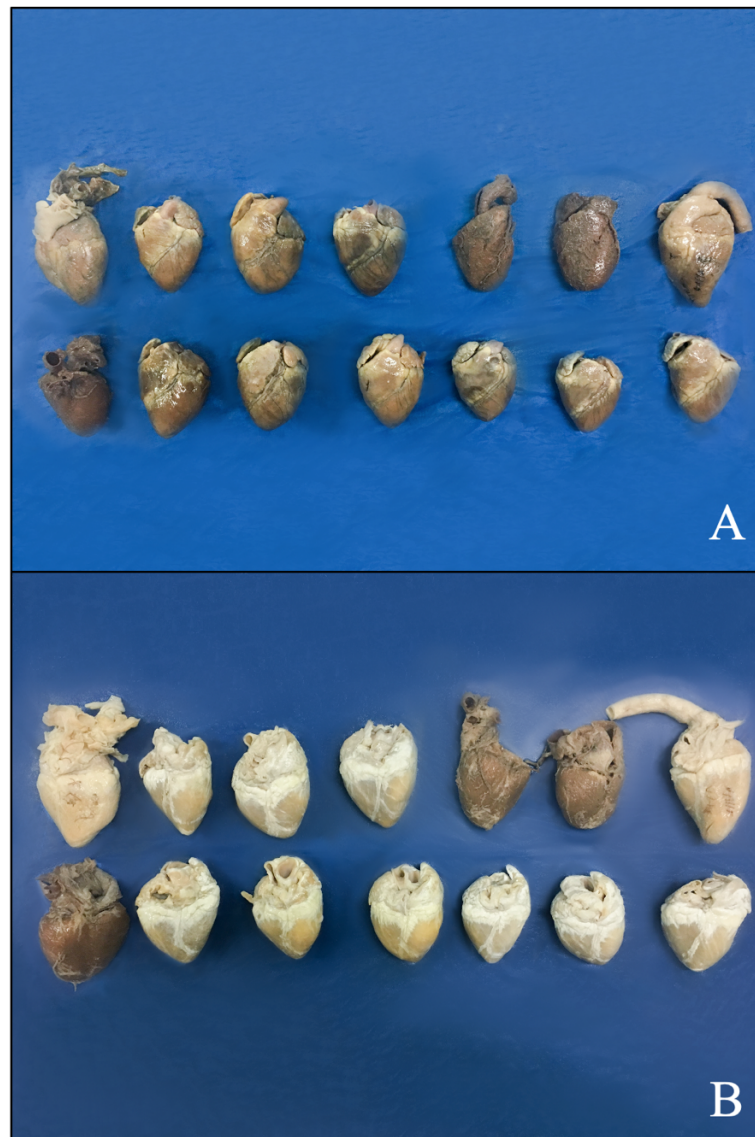
**Figura 2:** Imagen de hígados y una vesícula biliar previo y posterior al proceso de restauración. A= Previo a restauración. B= Posterior a la restauración. **Fuente:** LaMoNec 2018.

Se sometieron a una fase de **macerado** en una solución de KOH diluido en agua al 2% m/v durante 24 horas, fase de **desengrasado** en KOH diluido en OH al 2% durante 20 horas, la fase de **lavado** se llevó a cabo con NaCl al 1% por 24 horas. Y la fase de **blanqueamiento** se realizó con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2% por un tiempo en horas que varía de 2-8 horas.

En la figura 4 se aprecia una muestra de los corazones abiertos, en la imagen A se aprecian los corazones sin restaurar con una coloración café oscura en su mayoría, donde se puede identificar con dificultad diversos componentes como las valvas, parénquima de músculo cardíaco, vasos y grasa.

En la imagen inferior se aprecian corazones abiertos posterior al proceso de restauración con un aclaramiento en su coloración y en los cuales se puede observar de una forma más sencilla el parénquima del músculo cardíaco, vasos sanguíneos, componentes como las válvulas cardíacas y la grasa circundante.

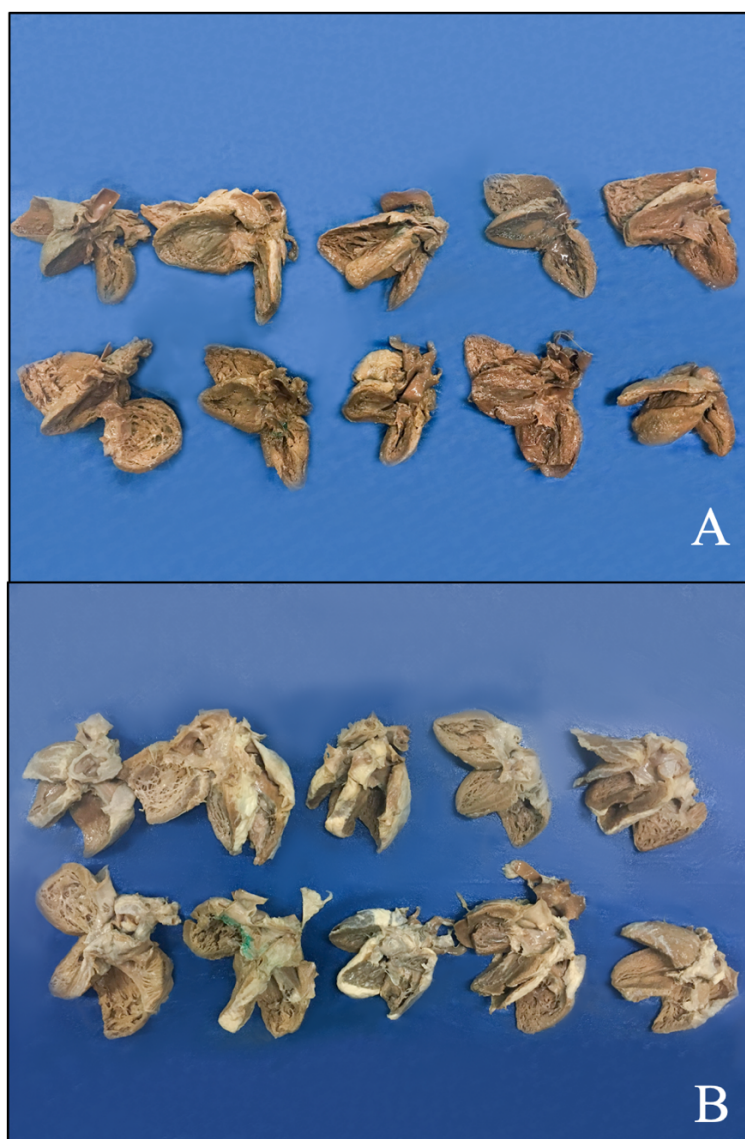
El proceso de restauración al que se sometieron los corazones abiertos fue: **macerado** en KOH diluido en agua a una concentración de 2% m/v por un período de 24 horas, **desengrasado** en KOH diluido en OH a una concentración del 2% por un tiempo promedio de 20 horas, **lavado** con NaCl al 1% por 24 horas y **blanqueamiento** con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2% por un período de 2-8 horas. (Tabla N° 12) Dando como resultado un 16% de la muestra con una restauración catalogada como muy buena, un 68 % como buena y un 16% mala.



**Figura 3:** Imagen de corazones cerrados previo y posterior al proceso de restauración. A= Previo a restauración. B= Posterior a la restauración. **Fuente:** LaMoNec 2018

En la figura 5 se aprecia una comparación de el antes (A) y el después (B) del proceso de restauración en los pulmones, donde se observa una muestra de los órganos con coloraciones predominantemente café oscuro y posterior al proceso de restauración con un **macerado** en KOH diluido en agua al 4% m/v, sin someterse a fase de **desengrasado**, **lavado** con NaCl al 1% durante 24 horas y una fase de

**blanqueamiento** con  $H_2O_2$  al 2% por un período de 2-8 horas dependiendo del órgano; (Tabla N° 12) se obtienen pulmones con una coloración que varía entre gris, blanco y café claro. Resultando en un 42% de la muestra con una restauración muy buena, un 48% con una restauración buena y solamente un 10% de la muestra con una restauración mala. (Gráfico 1)



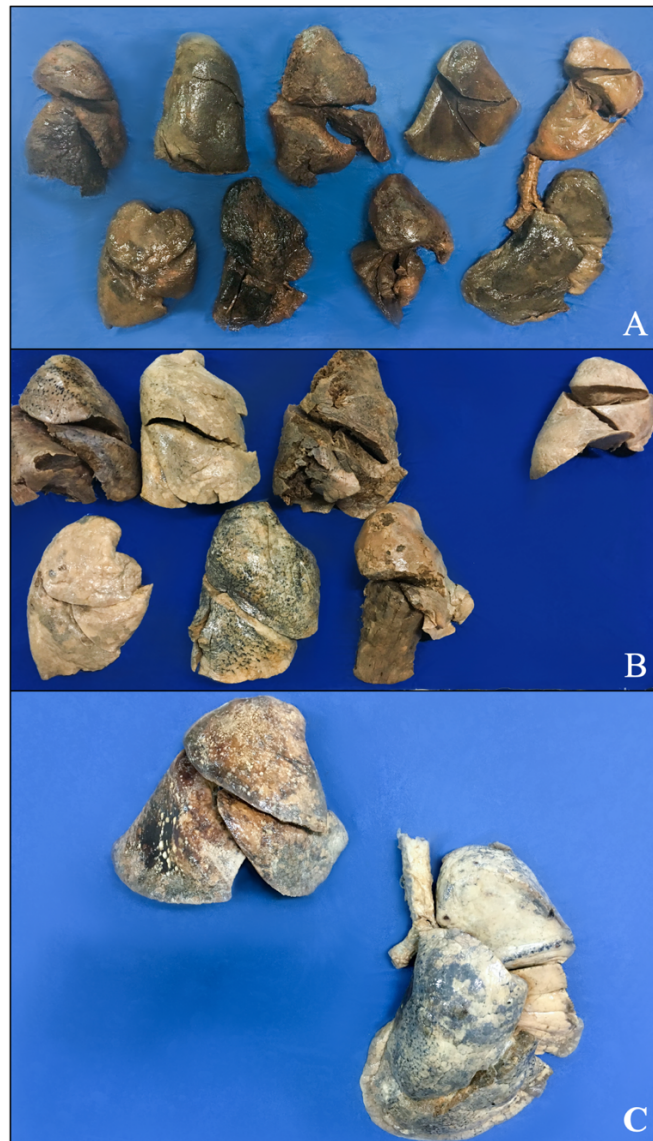
**Figura 4:** Imagen de corazones abiertos previo y posterior al proceso de restauración. A= Previo a restauración. B= Posterior a la restauración. **Fuente:** LaMoNec 2018.

En la figura 6 se aprecia una muestra de los estómagos sometidos al proceso de restauración, en la imagen A se observan los estómagos sin restaurar con una coloración en su mayoría café oscuro y en la imagen B estómagos posterior al proceso de restauración, apreciándose los mismos con una coloración más clara.

El proceso de restauración al que se sometieron consistió en: **maceración** con KOH diluido en agua en una concentración de 2% m/v por un período de 24 horas, **desengrasado** con KOH diluido en OH al 2% por un período de 24 horas, **lavado** con NaCl al 1% por 24 horas y se finalizó con la fase de **blanqueamiento** con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2% por un período de tiempo que osciló entre 2-8 horas. (Tabla N° 12)

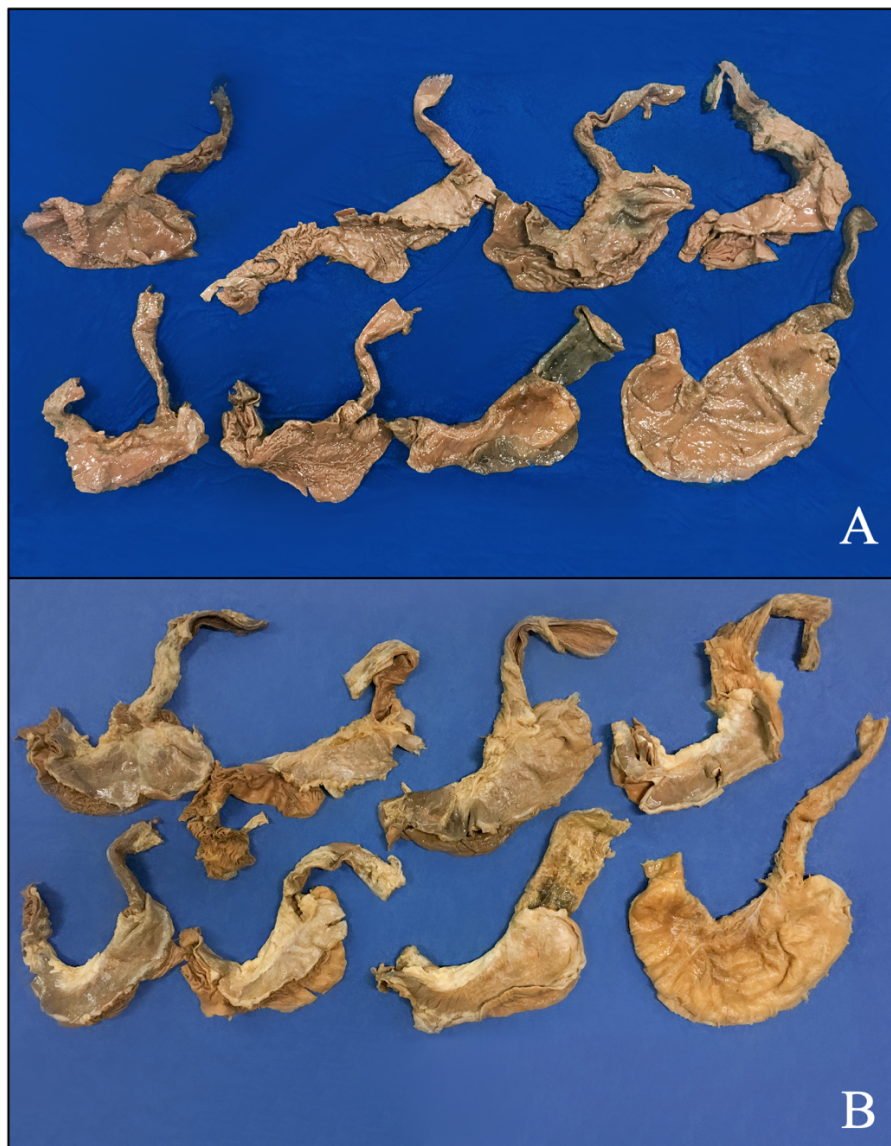
Con lo que se obtuvo una muestra de estómagos con una restauración de muy buena calidad en el 76% de la muestra, 6% buena y solamente un 18% de la muestra se consideró que la restauración fue mala. (Gráfico 1)

En la figura 7 se observa una muestra de los penes, mamas, testículos y úteros sometidos al proceso de restauración; en la imagen A se aprecian los órganos previo a la restauración con una coloración que varió desde negro, café oscuro hasta café claro y en la imagen B los órganos posterior a la restauración con una coloración café claro en casi todas las muestras.

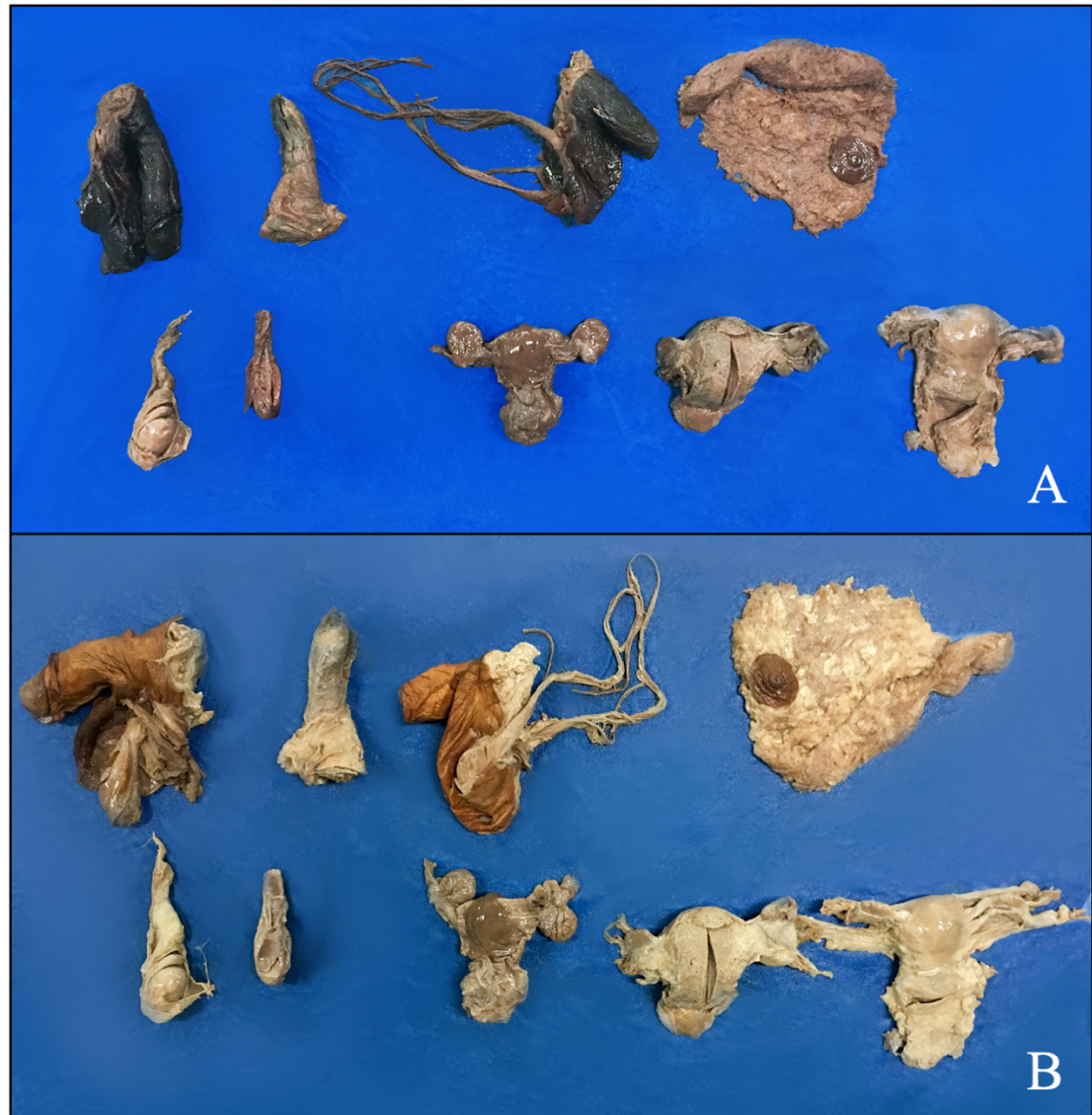


**Figura 5:** Imagen de pulmones previo y posterior al proceso de restauración. A= Previo a restauración. B= Posterior a la restauración. C= Pulmón 4 y 9 post restauración. **Fuente:** LaMoNec 2018.

Estos órganos fueron sometidos a un proceso de restauración que consistió en: **maceración** con una dilución de KOH en agua al 2% m/v por un período de 24 horas, el **desengrasado** con KOH diluido en OH al 2% m/v por un período de 24 horas, el **lavado** con NaCl al 1% durante 24 horas y la fase de **blanqueamiento** con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2% por un período de tiempo que osciló entre 2-8 horas. (Tabla N° 12)



**Figura 6:** Imagen de estómagos previo y posterior al proceso de restauración. A= Previo a restauración. B= Posterior a la restauración. **Fuente:** LaMoNec 2018.



**Figura 7:** Imagen de pene, glándula mamaria, testículo y útero previo y posterior al proceso de restauración. A= Previo a restauración. B= Posterior a la restauración. **Fuente:** LaMoNec 2018.

Luego de este proceso de restauración se obtuvo el 83% de la muestra de los penes con una muy buena restauración y el 17% con una restauración buena, en el caso de las glándulas mamarias el 100% de la muestra se consideró que resultó en una buena restauración, mientras que los testículos se consideró que el 100% de la muestra resultó en una restauración muy buena. (Gráfico 1)

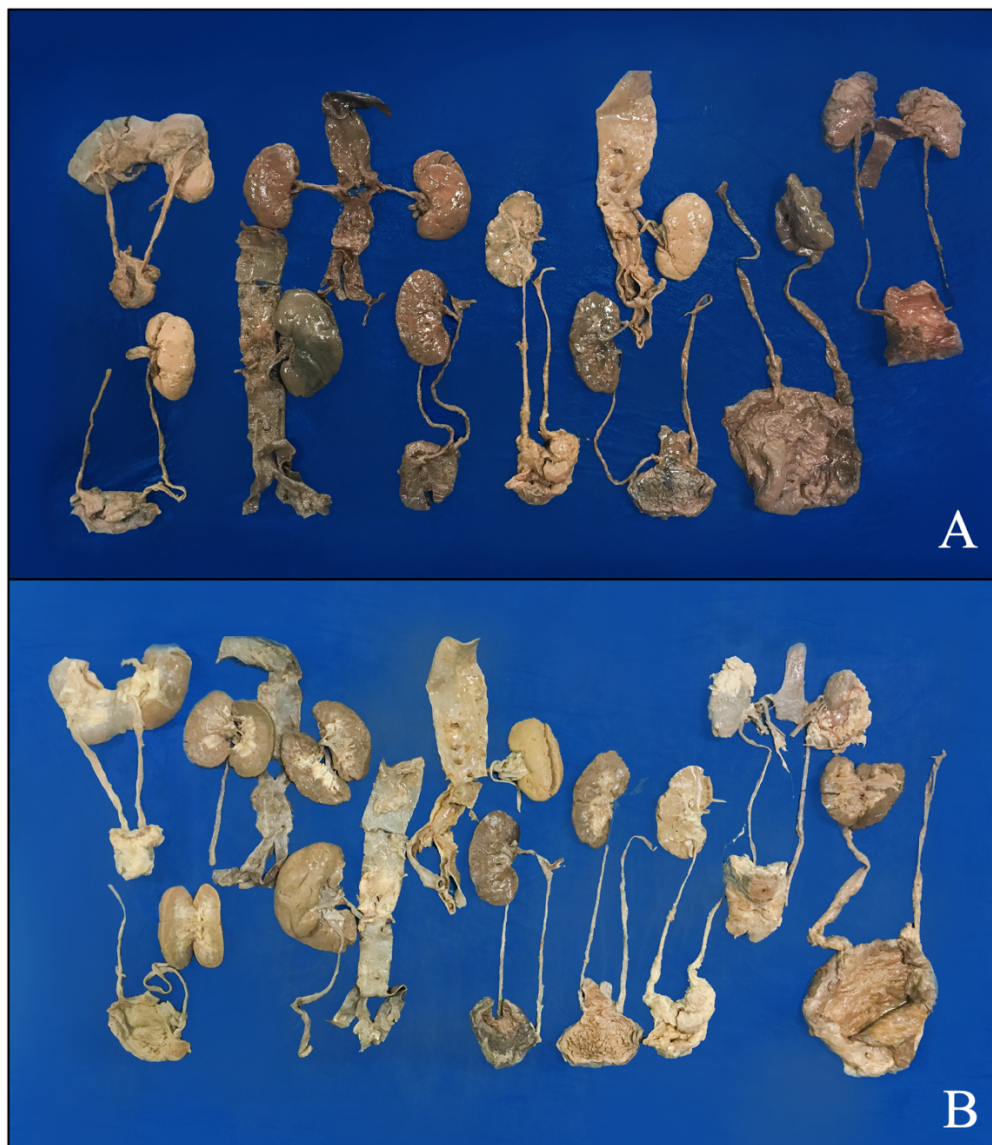
Los riñones en la figura 8, se pueden apreciar en la imagen A previo a la restauración, con una coloración que oscila entre café oscuro y café claro, en la imagen B se observan los mismos riñones posterior al proceso de restauración al que se sometieron, con una coloración predominantemente café clara.

El proceso de restauración involucró una fase de **macerado** con KOH diluido en agua a una concentración al 2% m/v por un período de 24 horas, no se sometieron a la fase de **desengrasado**, la fase de **lavado** se llevó a cabo con NaCl al 1% por un período de 24 horas y al final una fase de **blanqueado** con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2% por un período de tiempo que osciló entre 2-8 horas. (Tabla N° 12)

Con este proceso se obtuvieron un 29 % de la muestra con una restauración catalogada como muy buena, el 67% resultó en una restauración buena y 4% resultó de una mala restauración.

La figura 9 ejemplifica una muestra de los cerebros completos sometidos al proceso de restauración, en la imagen A se observan los cerebros sin restaurar que tienen una coloración que varía de café claro, amarillo hasta gris y en la imagen B se observan los cerebros ya restaurados en los que predomina el color blanco y gris.

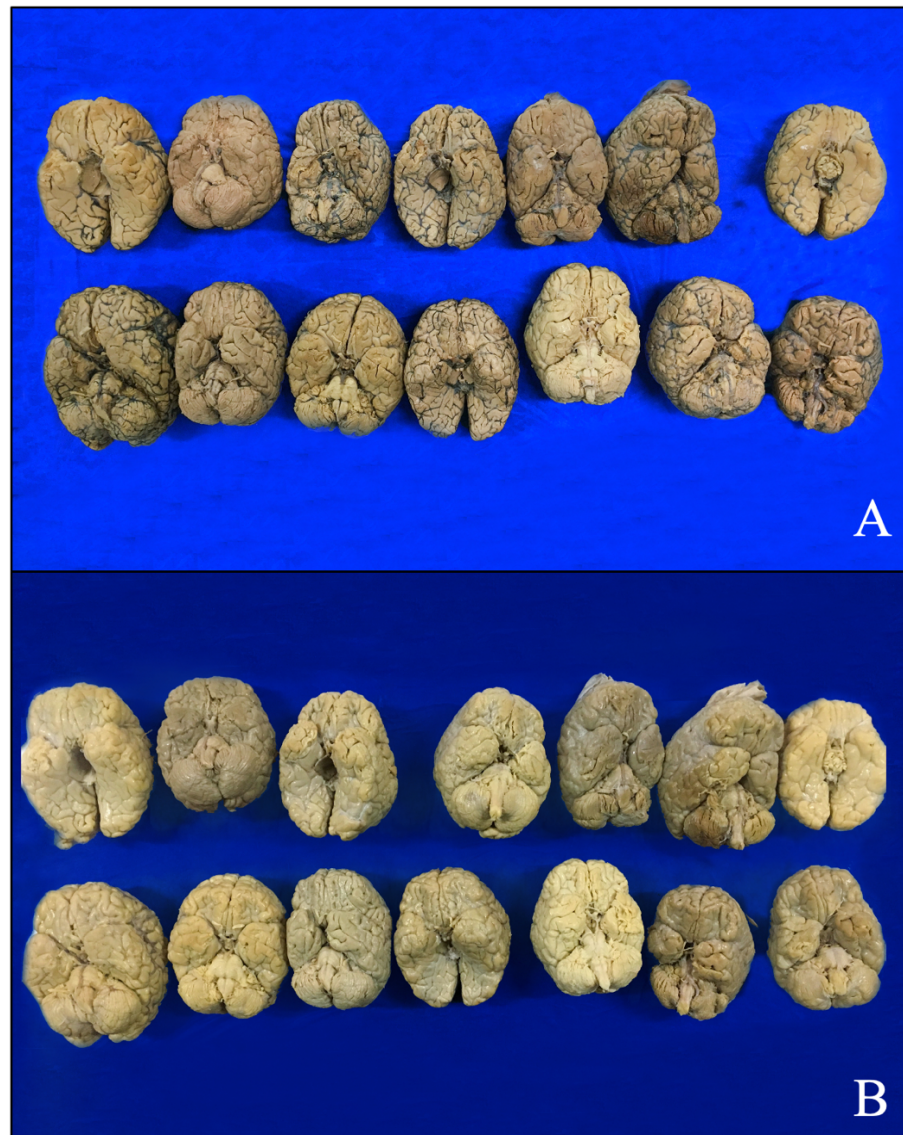
La restauración incluyó una fase de **macerado** con KOH diluido en agua a una concentración del 2% m/v por un período de 24 horas, no se sometió a la fase de **desengrasado**, la fase de **lavado** se llevó a cabo con NaCl al 1% por un período de 24 horas y por último se sometió a la fase de **blanqueamiento** con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2% por un período de tiempo que osciló entre 2-8 horas. (Tabla N° 12)



**Figura 8:** Imagen de riñones previo y posterior al proceso de restauración. A= Previo a restauración. B= Posterior a la restauración. **Fuente:** LaMoNec 2018.

Con este proceso se obtuvo un 11% de la muestra con una restauración catalogada como muy buena y el 89% catalogada como buena.

En la figura 10 se muestra el intestino delgado e intestino grueso, antes y después del proceso de restauración, con una coloración café claro en las imágenes del antes y después de la restauración se observan con coloración amarillas.

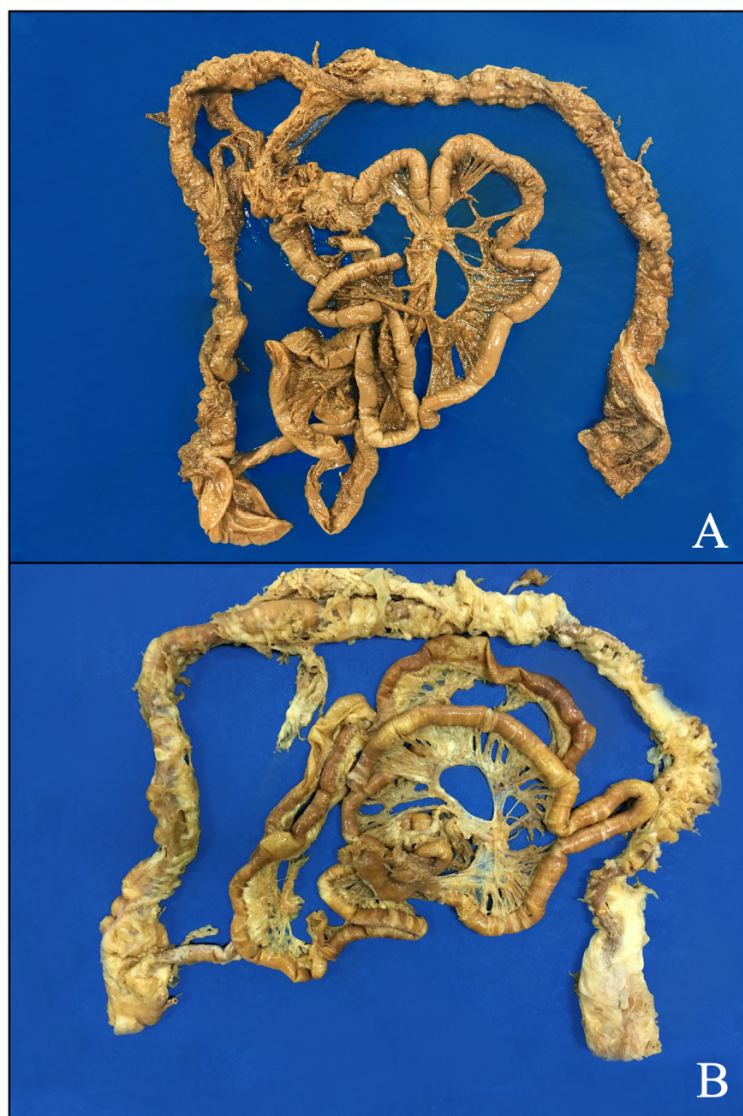


**Figura 9:** Imagen de cerebros previo y posterior al proceso de restauración. *A=* Previo a restauración. *B=* Posterior a la restauración. **Fuente:** LaMoNec 2018.

El intestino delgado se sometió a un proceso de restauración que incluía una fase de **maceración** con KOH diluido en agua al 2% m/v por 24 horas, una fase de **desengrasado** con KOH diluido en OH al 2% m/v por un período de 6 horas, fase de **lavado** con NaCl al 1% por un tiempo de 24 horas y por último la fase de **blanqueamiento** con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 2% por un período de tiempo que osciló entre 2-8 horas. (Tabla N° 12)

Con lo que se obtuvo un 80% de la muestra con una restauración catalogada como buena y un 20% catalogada como mala.

En el caso del intestino grueso, el proceso de restauración fue el mismo, solamente con la variación en la fase de **desengrasado** que se realizó con KOH diluido en OH al 2% pero por 7 horas de tiempo. Y se obtuvo un 100% de la muestra con una mala restauración. (Gráfico 1)



**Figura 10:** Imagen de intestino grueso e intestino delgado previo y posterior al proceso de restauración. A= Previo a restauración. B= Posterior a la restauración.  
**Fuente:** LaMoNec 2018.

Los órganos que obtuvieron una mala restauración fueron en orden creciente: corazones cerrados 4%, riñones 4%, cerebros 6%, pulmones 9%, hígados 14%, corazones abiertos 16%, estómagos 17%, intestino delgado 20% e intestino grueso el 100%. (Gráfico 1)

En los órganos que se realizaron mayor cantidad de distintos procedimientos, variando la concentración de KOH diluido en agua, fueron los pulmones y los cerebros completos, donde se utilizaron concentraciones del 1, 2 y del 4% m/v en los pulmones, y del 1 y 2% m/v en los cerebros; con exposiciones de tiempo de dichos órganos al químico variables; tal como se muestra en la Tabla N° 13.

**Tabla 13:** Cantidad de procedimientos distintos realizados, según los químicos utilizados en cada órgano.

Órgano	HOK en H2O.	HOK en OH	NaCl	H2O2
Pulmón	5	0	6	6
Corazón abierto	1	1	4	4
Corazón cerrado	2	2	3	3
Bazo	2	0	2	3
Hígado	2	0	2	3
Páncreas	1	1	2	2
Lengua	1	0	1	1
Estómago	1	1	2	2
Intestino delgado	1	2	3	3
Intestino grueso	1	1	1	1
Útero	1	2	2	1
Glándula mamaria	1	2	2	1
Pene	1	2	2	1
Testículo	1	2	2	1
Riñones	1	0	1	3
Cerebro completo	6	0	5	4

**Fuente:** LaMoNec 2018.

La Tabla N° 13 muestra además que los pulmones, bazo, hígado, lengua, riñones y cerebro completo no fueron sometidos al proceso de desengrasado con el químico KOH diluido en OH y que el corazón cerrado, intestino delgado, útero, glándula mamaria, pene y testículos fueron sometidos a 2 procedimientos distintos con dicho químico a concentraciones del 2% m/v pero variando el tiempo que se sumergía en la sustancia. Mientras que el intestino grueso fue sometido al desengrasado pero en un solo procedimiento (Anexo 6, 7 y 9)

La mayor cantidad de procedimientos distintos aplicados con el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, fueron 4 y estos variaron en su mayoría en la cantidad de horas que se debió sumergir el órgano en el químico para obtener un adecuado resultado en lo que a la coloración respecta. (Anexo 6, 12 y 13)

En los pulmones no se siguió este patrón y se sometieron a 6 procedimientos distintos, variando no solo el tiempo de sumersión en el químico, sino además la concentración del químico, pues al ser el primer órgano con el que se experimentó, las variables fueron mayores. (Anexo 6)

La comparación entre la restauración adquirida, *muy buena, buena o mala*, según la cantidad de tiempo de sumersión del órgano (Anexo 11) en el cual se aprecia que el tiempo mínimo en días para una restauración muy buena es de 1,25 días en el caso de los cerebros completos y el tiempo máximo de 14 días en el caso de los pulmones y cerebros completos.

El tiempo promedio en la fase de desengrasado para una muy buena y buena restauración es de 24 horas, excepto en el intestino grueso en el que la restauración se consideró mala. (Anexo7)

En el anexo 8 se muestra el tiempo de sumersión en KOH diluido en OH

según el órgano, (fase de desengrasado) en comparación con la restauración obtenida, ya sea esta *muy buena, buena o mala*. Demostrando que hay órganos como el corazón cerrado o abierto y distintos órganos del sistema digestivo como en el caso del estómago, intestino delgado y grueso que al someterse a dicho químico se puede tener un mal resultado a pesar que se sumerja por períodos cortos como lo son 7 horas.

En el caso del sistema digestivo se evidencia que el tiempo promedio para obtener una muy buena restauración es de 2.7 horas en el caso del estómago.

En cuanto a los pulmones se obtuvieron restauraciones muy buenas con una fase de macerado que involucró un porcentaje de KOH diluido en agua con porcentajes mínimo de 1% m/v y uno máximo de 4% m/v, en el caso del hígado también se utilizó un máximo de 4% m/v pero un mínimo de 2% m/v, los cerebros completos utilizaron un mínimo de 1% m/v y un máximo de 2% m/v, el resto de los órganos restaurados con una muy buena restauración utilizaron porcentajes del 2% m/v durante la fase de maceración. (Anexo 8)

Algunos órganos debieron ser sometidos a una segunda ronda de maceración con KOH diluido en H<sub>2</sub>O, como el caso de los pulmones y los cerebros. Y las segundas rondas no requirieron concentraciones mayores a los químicos ya utilizados, lo que deja ver que una segunda ronda solamente implica mayor tiempo de sumersión del órgano en el químico. (Anexo 10 y 11)

La fase de lavado en la mayoría de los casos requirió 1% de NaCl diluido en H<sub>2</sub>O por un período de 24 horas.

La fase de blanqueamiento se valoró según la coloración que se obtuvo del órgano, por lo que se realizan comparaciones entre el porcentaje de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diluido en

H<sub>2</sub>O y el tiempo de sumersión. (Anexo 11 y 12) El color blanco es un color que se busca más en los testículos y los cerebros el cual se puede obtener con concentraciones de 2 % de m/v en ambos tejidos, pero con tiempos mínimos de 6 horas en ambos tejidos y un tiempo máximo de 24 horas en cerebro.

El tejido pulmonar se busca que tengan una coloración café clara o gris, lo cual se logró con un porcentaje mínimo de 2% de m/v en tiempo mínimo de 3 horas, y se presentan tiempos máximos de hasta 120 horas en coloración café clara y 11 horas en la coloración gris. (Anexo 11 y 12)

El músculo cardiaco se desea que tenga una coloración café clara, si se logra un color blanco, es un color fuera de lo normal en dicho tejido, en el caso del corazón cerrado se logró una coloración blanca con un 5% del químico por un período de 24 horas, pero en ese mismo tejido se logró una coloración café clara con porcentaje mínimo del 2% por un período mínimo de exposición de 2 horas y un máximo de 72 horas en corazones abiertos y 3 horas en corazones cerrados. Pero como se nota en el Anexo 11 y 12 solamente 1 corazón abierto duró 72 horas en obtener esa coloración, y el tiempo máximo que presentaron 16 corazones abiertos para lograr un café claro fueron 18 horas.

Los cerebros obtienen una coloración que va de color café claro, gris a amarillo hasta blanco lo cual se consigue con porcentajes de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mínimo de 2% y máximo de 5%, en períodos de tiempo que van desde 6 horas hasta 24 horas. (Anexo 12 y 13)

Órganos del sistema digestivo como el caso del estómago, intestino delgado y grueso se busca que tengan una coloración café clara mas que amarilla, para que tenga un color más similar al real, este color café claro se obtiene con porcentaje de

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 2% m/v, en el caso del intestino grueso solo se realizó la restauración de un órgano en la cual no fue buena y se obtuvo una coloración final amarilla, el tiempo que se dejó en sumersión el intestino delgado y los estómagos para conseguir una coloración café fue de mínimo 5 horas en estómago y 2 horas en intestino delgado. (Anexo 11 y 12)

## **4.2 Órganos o tejidos de cuerpos disecados**

En los resultados obtenidos con los 3 cuerpos disecados, se compararon variables macroscópicas, moleculares y microscópicas con el fin de valorar la calidad del proceso de fijación. Por esta razón se tienen variables de un cuerpo control (cuerpo 1) el cual no fue sometido a ningún proceso de fijación, contra un cuerpo fijado con la solución que utilizaba el Departamento de Anatomía (cuerpo 2) denominada fórmula antigua; y el cuerpo 3 fijado con la solución nueva.

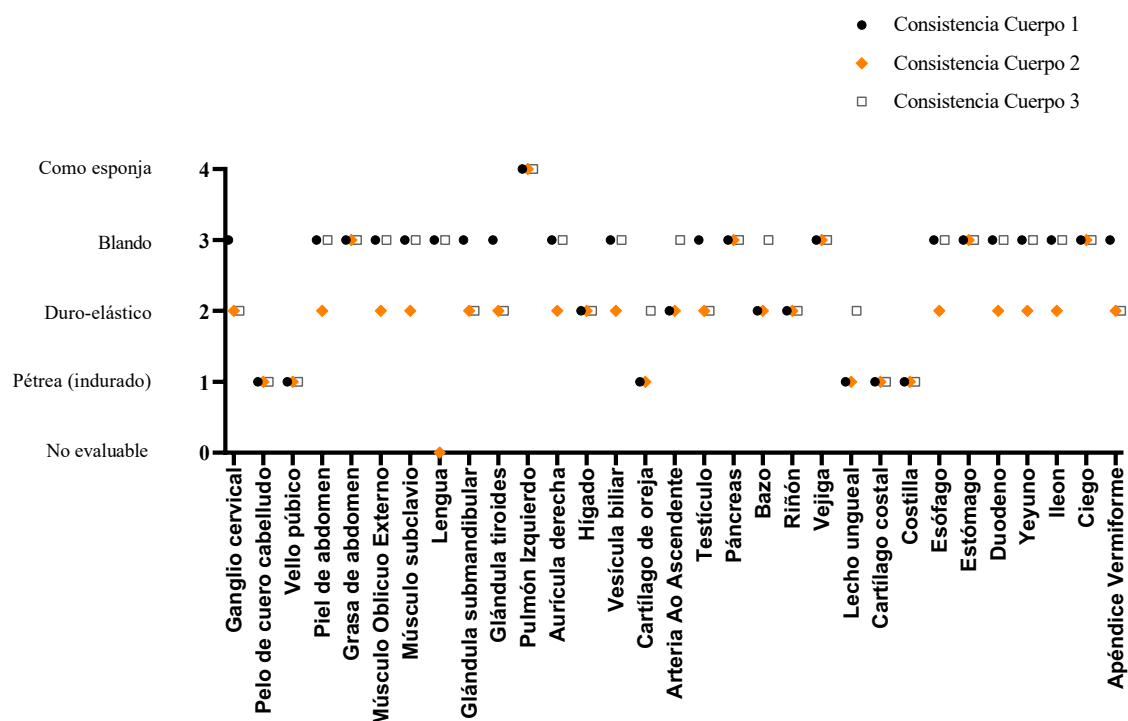
### ***4.2.1 Variables macroscópicas***

#### ***4.2.1.1 Consistencia***

En el gráfico 2 se aprecia la consistencia de los 31 órganos o tejidos de los tres cuerpos evaluados, desde la perspectiva del observador 1, es importante recordar que el cuerpo 1 (círculo negro) se mantuvo fresco a la hora de la evaluación, y esta es la condición ideal que se busca obtener a pesar de los procesos de fijación; por dicha razón se espera tener consistencias lo más similar al cuerpo 1 en los cuerpos 2 (rombo naranja) y 3 (cuadrado blanco).

Este gráfico permite apreciar como el ciego, íleon, yeyuno, duodeno, estómago, esófago, costilla, cartílago costal, vejiga, riñón, páncreas, vesícula biliar,

hígado, aurícula derecha, pulmón izquierdo, lengua, músculo subclavio y músculo oblicuo externo, grasa abdominal, piel de abdomen, vello púbico y pelo de cuero cabelludo tienen concordancia en la consistencia entre el cuerpo 1 y el cuerpo 3, lo que representa una concordancia del 71%, mientras que entre la consistencia de los órganos y tejidos del cuerpo 1 y el 2 presenta una concordancia del 52% (gráfico 3). Dejando ver mayor similitud en la concordancia de la consistencia del cuerpo 3 y el cuerpo 1.

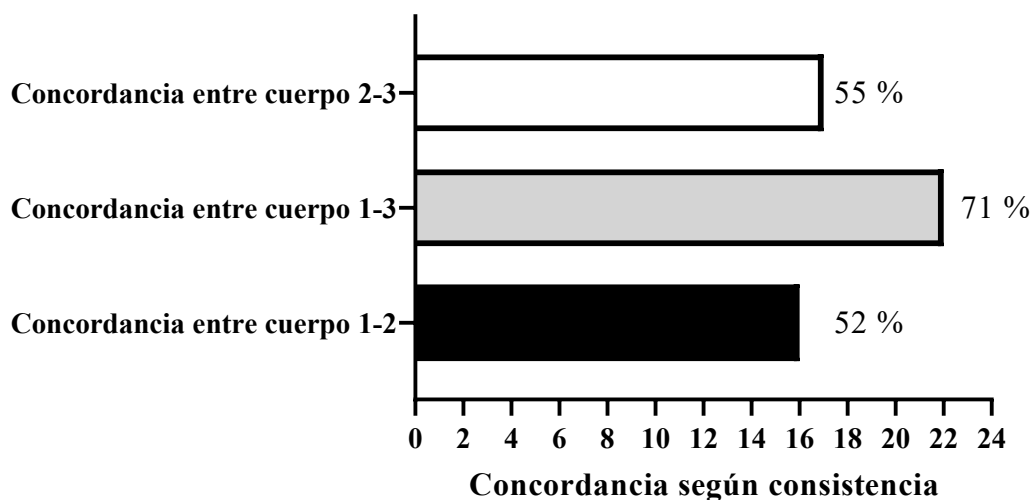


**Gráfico 2:** Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 1, 2 y 3 por parte del observador 1. **Fuente:** LaMoNec 2018.

En el gráfico 2 se observa como solo los pulmones son los órganos que tienen una consistencia como esponja en los tres cuerpos, y solamente el cartílago costal, la costilla, vello púbico, pelo de cuero cabelludo, tienen en los tres cuerpos una consistencia pétrea. En el caso de la apéndice vermiforme, testículo, glándula

submandibular y la glándula tiroides solamente en el cuerpo 1 se palpa con una consistencia blanda, mientras que en el cuerpo 2 y 3 se palpan duro-elásticas.

En el caso de íleon, yeyuno, esófago, vesícula biliar, aurícula derecha, lengua, músculo subclavio, músculo oblicuo externo y piel de abdomen la consistencia del cuerpo 1 y 3 son blandas, mientras que en el cuerpo 2 la consistencia es duro-elástica; excepto en la lengua, en donde no se puede apreciar la consistencia de dicho órgano a causa de la rigidez del cuerpo 2 que impide poder abrir la boca, sin proporcionar un espacio suficiente para poder palpar la lengua, por lo que esta variable en específico es no valorable en dicho cuerpo.



**Gráfico 3:** Evaluación de la concordancia entre la similitud de la consistencia de los cuerpos 1, 2 y 3, según el observador 1 en base a los 31 órganos y tejidos evaluados. Fuente: LaMoNec 2018.

Para poder evaluar si esta concordancia es real y no producto del azar se aplicó el coeficiente Kappa de Cohen a los resultados de consistencia de los 31 órganos o tejidos en el cuerpo 2 y 3 entre las variables anotadas por el observador 1, 2 y 3

En la tabla N° 14 se observa una comparación en el Coeficiente de Kappa Cohen en la consistencia de los 31 órganos y tejidos del cuerpo 2 y 3 entre el observador 1 y 2; 1 y 3 y entre el 2 y 3 respectivamente; obteniéndose valores de 0,48; 0,58 y 0,83 para el cuerpo 2 y valores de 0,62, 0,62 0,76 para el cuerpo 3. (Anexo 13-18)

**Tabla 14:** Comparación del coeficiente de Kappa Cohen para la valoración de la consistencia de los 31 órganos y tejidos del cuerpo 2 y 3 entre los tres observadores entre si.

	1 y 2	1 y 3	2 y 3
Cuerpo 2			
Coeficiente			
Kappa de Cohen	0,48	0,58	0,83
Cuerpo 3			
Coeficiente			
Kappa de Cohen	0,62	0,62	0,76

**Fuente:** LaMoNec 2018.

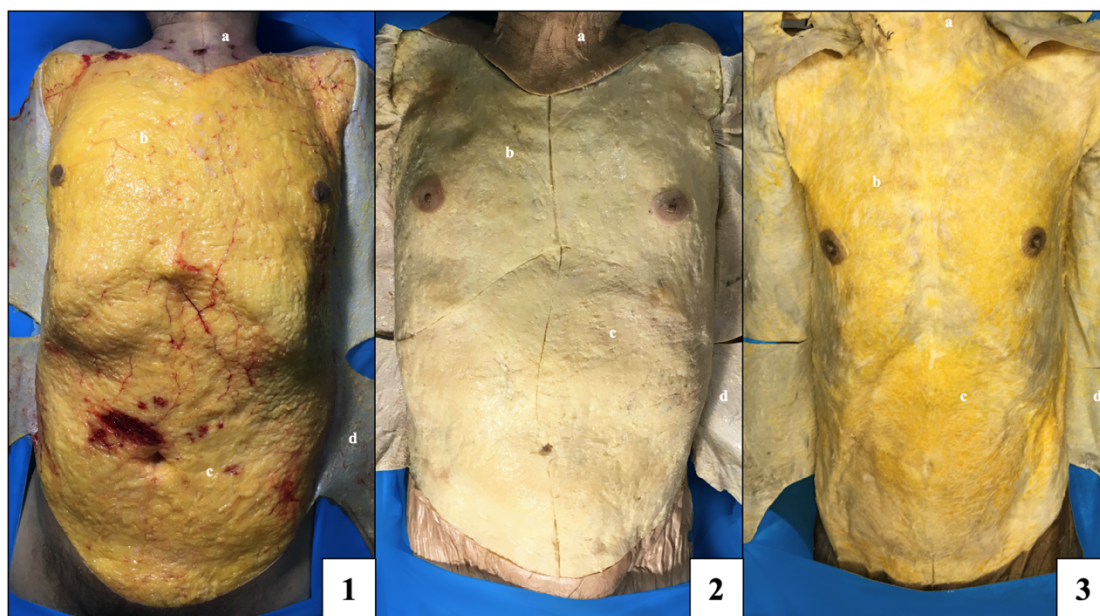
En la tabla 11 se aprecia la estimación del índice Kappa, reflejando que la valoración del cuerpo 2 entre el observador 1 y la de los observadores 2 y 3 es moderada, pues el valor de  $\kappa$  está en el rango de 0,41 - 0,60; mientras que la valoración entre el observador 2 y 3 es muy buena, pues tiene un valor  $\kappa$  que se encuentra entre 0,61- 0,80. (Tabla N° 14)

Mientras que la valoración del cuerpo 3 la fuerza de concordancia entre los tres observadores es buena pues se encuentran entre 0,61- 0,80 del valor  $\kappa$ . (Tabla N° 14)

#### 4.2.1.2 Coloración

En lo que respecta a la valoración de la coloración de los 31 órganos y tejidos de los tres cuerpos evaluados, el observador 1 tomó como referencia el cuerpo número 1 (que no fue sometido a ningún proceso de fijación) contra el cuerpo 2 (fórmula antigua) y el cuerpo 3 (fórmula nueva).

En el gráfico 04 se aprecia como hay más similitud entre la coloración de los órganos y tejidos del cuerpo 2 (rombo naranja) y 3 (cuadrado blanco) que entre los órganos y tejidos del cuerpo 1 (círculo negro). (Figura 11-17)



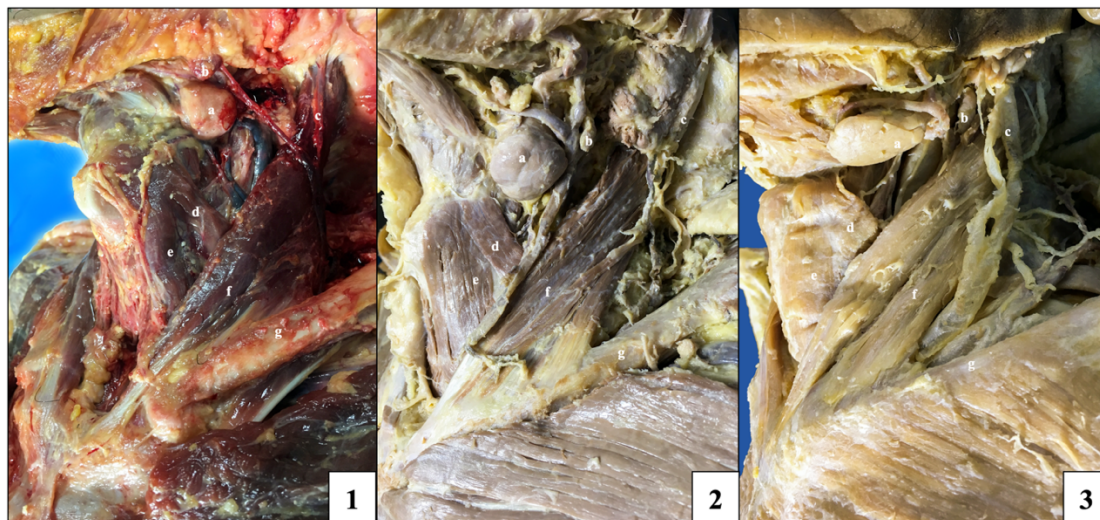
**Figura 11:** Comparación de piel y grasa de los cuerpos 1, 2 y 3. 1:fresco, 2:fijado con fórmula antigua y 3 fijado con fórmula nueva. a: cuello, b: tórax, c: abdomen y d: piel de abdomen. Fuente: LaMoNec 2018.

En el caso de la grasa de abdomen como se puede apreciar en la figura 11, se observa la misma coloración amarilla en los tres cuerpos. En el cuerpo 1 se pueden apreciar los vasos sanguíneos de color rojo por la presencia de sangre al tratarse de un cuerpo fresco, lo cual no se observa en el cuerpo 2 y 3.



**Figura 12:** Comparación de músculo esquelético, grasa y fascias en cuerpos 1, 2 y 3. 1: fresco, 2: fijado con fórmula antigua y 3 fijado con fórmula nueva. a: Músculo pectoral mayor, b Músculo serrato anterior, c: Músculo oblicuo externo. **Fuente:** LaMoNec 2018.

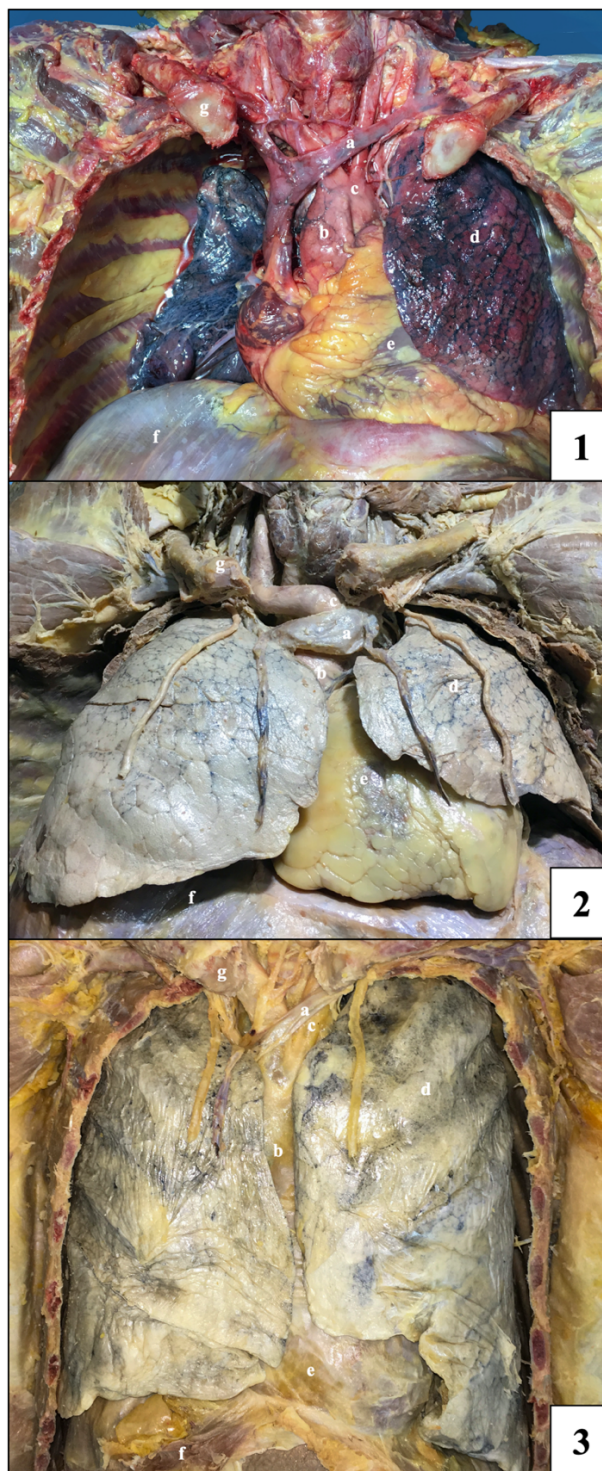
En la figura 12 así como en el gráfico 04 se aprecia como el músculo esquelético del cuerpo 1 es de color rojo, en el cuerpo 2 es de color café oscuro y en el cuerpo 3 es color café claro, en este caso hay mayor similitud entre el cuerpo 2 y 3 que con el cuerpo 1.(Gráfico 4 y Anexo 36)



**Figura 13:** Comparación de estructuras de cuello en cuerpo 1,2 y 3. 1: fresco, 2 fijado con fórmula antigua y 3 Fijado con fórmula nueva. a: Glándula submandibular, b: ganglio cervical, c: Vena yugular externa, d: Vientre superior del Músculo omohioideo, e: Músculo esternotiroideo, f: Músculo esternocleidomastoideo y g: Hueso clavícula. **Fuente:** LaMoNec 2018.

Las glándulas submandibulares en la figura 13 se aprecian de una coloración blanca en el cuerpo 1 y 3, pero se observa de color gris en el cuerpo 2. En el caso del ganglio linfático del cuello en el cuerpo 1 es de color violáceo, en el cuerpo 2 y 3 es de color blanco. En el caso del músculo subclavio en el cuerpo 1 es de color rojo, en el cuerpo 2 de color café oscuro y en el cuerpo 3 de color café claro. (Gráfico 4, Anexo 36)

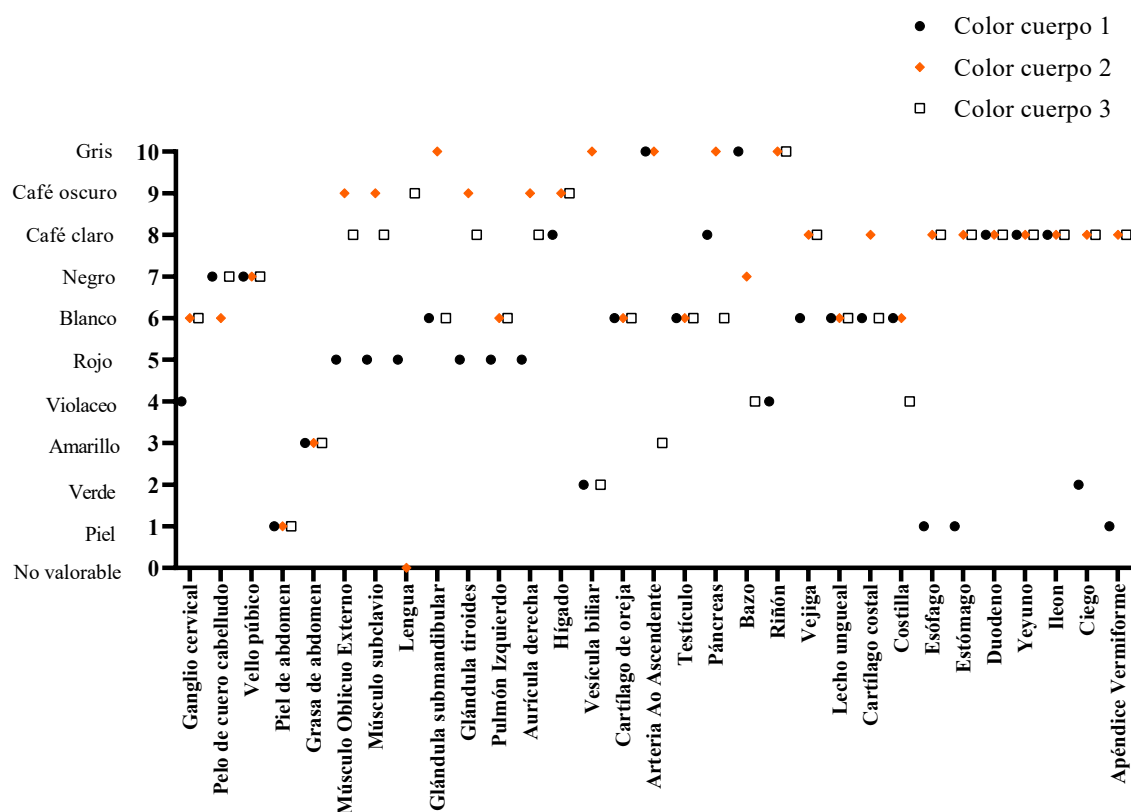
La lengua es un órgano que no pudo ser valorado en el cuerpo 2 a causa de la rigidez de la articulación temporo-mandibular, que imposibilitó abrir la boca para observar bien la coloración del tejido, causado por la fijación con fórmula antigua.



**Figura 14:** Comparación de contenido de mediastino, estructuras de cuello y pulmones de cuerpos 1, 2 y 3. 1: fresco, 2: fijado con fórmula antigua y 3: fijado con fórmula nueva. a: Vena braquiocéfálica izquierda, b: Arteria aorta ascendente, c: Cayado de la aorta, d: Pulmón izquierdo, e: Mediastino medio, f: Músculo diafragma y g: Hueso clavícula derecha. **Fuente:** LaMoNec 2018.

La figura 14 permite ver los pulmones del cuerpo 1 con una coloración roja, mientras que en el cuerpo 2 y 3 se observan de coloración blanca. La aorta torácica ascendente tiene una coloración gris en el cuerpo 1 y 2 mientras que en el cuerpo 3 es de color amarilla. (Gráfico 4, Anexo 36)

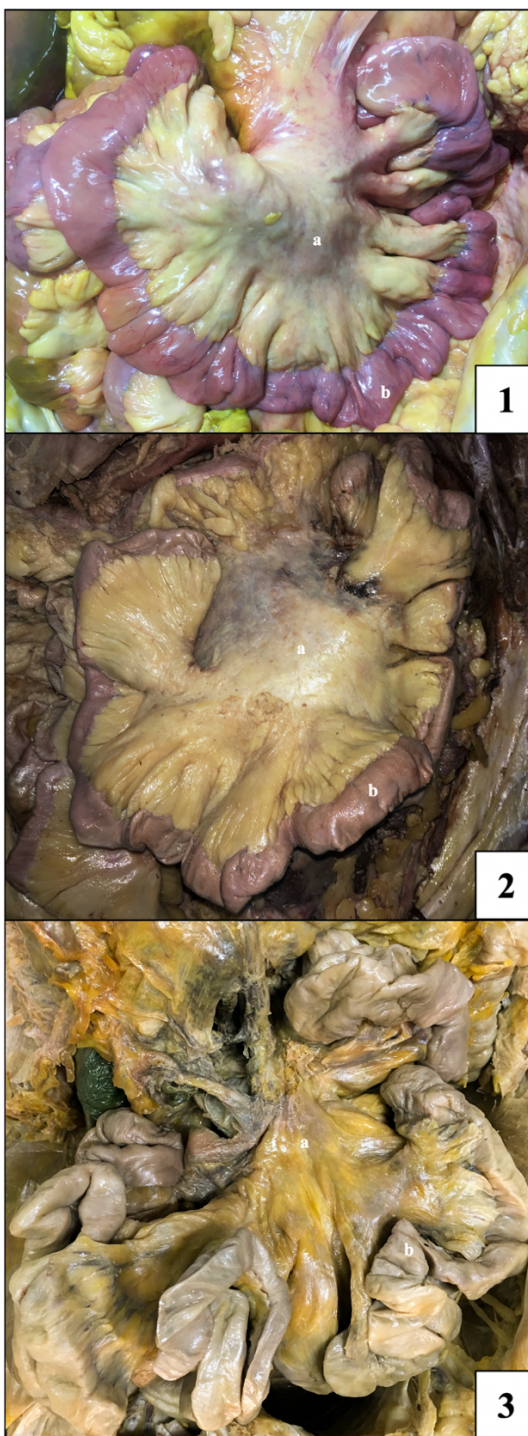
El intestino delgado se puede observar en la figura 15, con una coloración en íleon y yeyuno de color café claro en los tres cuerpos. (Gráfico 4, Anexo 36)



**Gráfico 4:** Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 1, 2 y 3 por parte del observador 1. Fuente: LaMoNec 2018.

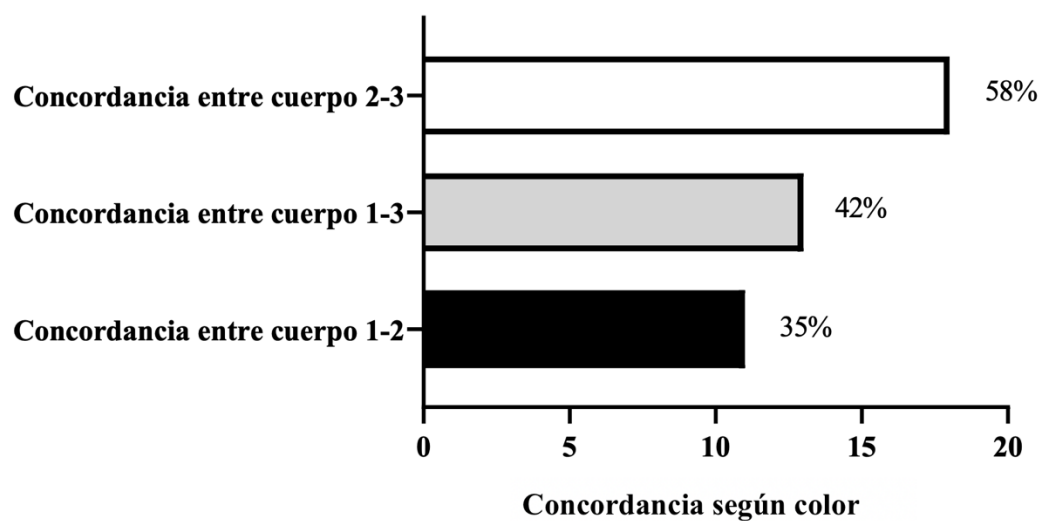
Tal como se observa en el gráfico 4, órganos como yeyuno, íleon, duodeno, cartilago costal, lecho ungueal, testículo, cartilago de oreja, vesícula biliar, glándula

submandibular, grasa de abdomen, piel de abdomen, vello púbico, pelo de cuello  
cabelludo tienen una coloración igual en el cuerpo 1 y el 3.

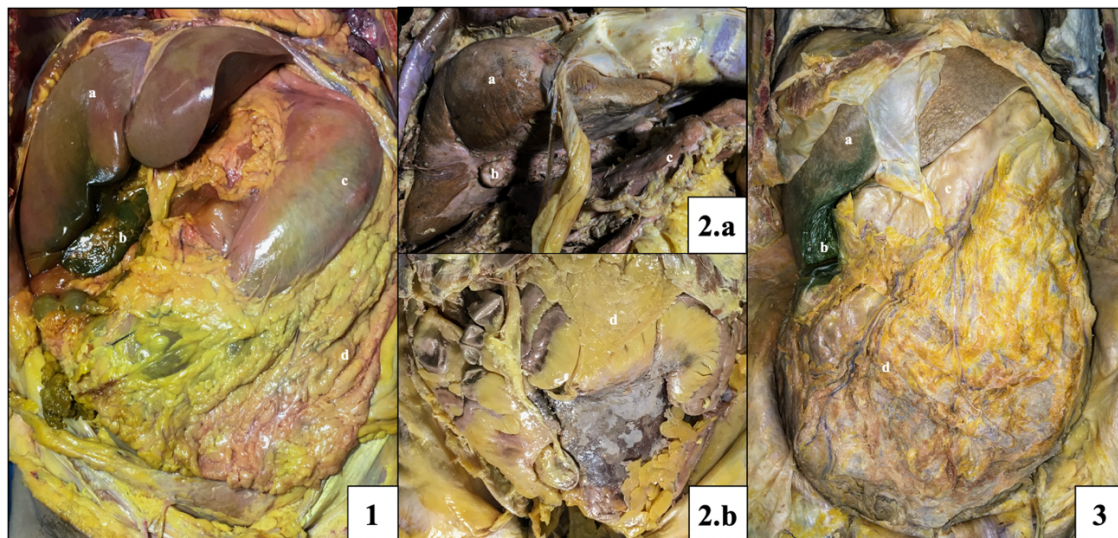


**Figura 15:** Comparación de intestino delgado de los cuerpos 1, 2 y 3. 1: fresco, 2: fijado con fórmula antigua y 3 fijado con fórmula nueva. a: Mesenterio y b: Yeyuno. Fuente: LaMoNec 2018.

En la gráfico 05, se puede observar un gráfico de barras que muestra la concordancia en la similitud de colores es mayor en los órganos de los cuerpos 2 y 3 son de un 58% del total de los 31 órganos; entre el cuerpo 1 y 2 la concordancia es de un 35% y entre el cuerpo 1 y 3 que es un 42 %. Indicando de esta forma que la similitud es mayor entre ambos cuerpos fijados.



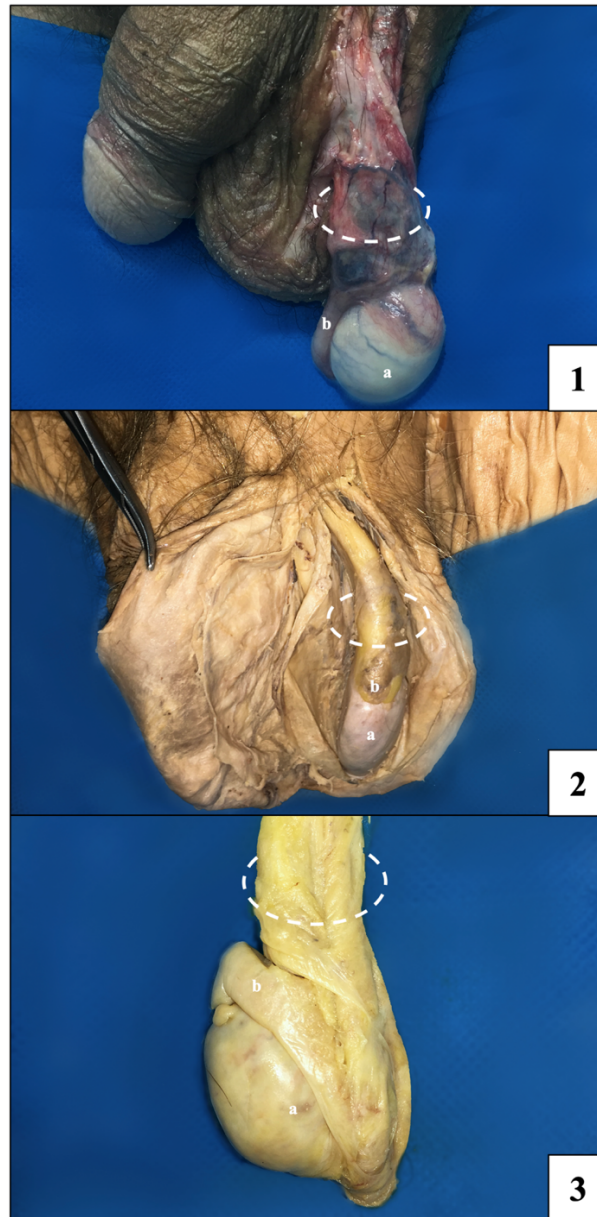
**Gráfico 5:** Evaluación de la concordancia entre la similitud de la coloración de los cuerpos 1,2 y 3, según el observador 1 en base a los 31 órganos y tejidos evaluados. **Fuente:** LaMoNec 2018.



**Figura 16:** Comparación de hígado, vesícula biliar, estómago, epiplón mayor de cuerpos 1,2 y 3. 1: fresco, 2.A, 2.B fijado con fórmula antigua y 3 fijado con fórmula nueva. a: Hígado, b: Vesícula biliar, c: Estómago y d: Epiplón mayor. **Fuente:** LaMoNec 2018.

En la figura 16, se observa el hígado con una coloración café clara en el cuerpo 1 y café oscuro en el cuerpo 2 y 3. La vesícula biliar en el cuerpo 1 y 3 tiene una coloración verde y en el cuerpo 2 una coloración gris. Se observa además en esta figura el estómago que en los tres cuerpos tiene una coloración café clara. (Grafico 4, Anexo 36)

En la figura 17 se aprecia una imagen de los testículos, que en los tres cuerpos tiene una coloración blanquesina. (Anexo 36)



**Figura 17:** Comparación de testículo de los cuerpos 1,2 y 3. 1: fresco, 2: fijado con fórmula antigua y 3: fijado con fórmula nueva. a: Testículo, b: Epidídimo y Línea punteada: Cordón espermático. **Fuente:** LaMoNec 2018.

Se aplica el coeficiente Kappa de Cohen, para poder valorar que las similitudes en la coloración no son producto del azar, comparando la coloración de los 31 órganos y tejidos del cuerpo 2, realizada por el observador 1 y 2 con un coeficiente de Kappa de 0,39; al hacer la comparación de las mismas variables entre

el observador 1 y 3 se obtiene un coeficiente Kappa de 0,49 y entre el observador 2 y 3 se obtiene un coeficiente Kappa de 0,55 tal como se muestra en las tabla N° 15. (Anexo 19-24 y 33-35)

**Tabla 15:** Comparación del coeficiente de Kappa Cohen para la valoración de la coloración de los 31 órganos y tejidos del cuerpo 2 y 3 entre los tres observadores entre si.

	1 y 2	1 y 3	2 y 3
Coeficiente			
Kappa de Cohen	0,39	0,49	0,55
cuerpo 2			
Coeficiente			
Kappa de Cohen	0,45	0,42	0,55
cuerpo 3			

**Fuente:** LaMoNec 2018.

Indicando según la tabla 11, que la fuerza de concordancia es moderada entre el observador 2 y 3 y entre el observador 1 y 3; pero se considera débil entre el observador 1 y 2.

El coeficiente Kappa de Cohen para valorar las similitudes en la coloración entre los 31 órganos y tejidos del cuerpo 3, realizada por el observador 1 y 2 es de 0,45; entre el observador 1 y 3 es 0,42 y entre el observador 2 y 3 es de 0,55 tal como se muestra en la tabla N° 15.

Según la tabla 11 la fuerza de concordancia es moderada entre los 3 observadores. (Anexo 19-24 y 33-35)

#### 4.2.1.3 Olor

Según el observador principal los 31 órganos y tejidos del cuerpo 1 no presentaban olor alguno, los del cuerpo 2 presentaban un olor a formalina y los del cuerpo 3 a otro químico (categoría dentro de la que se encuentra el olor a alcohol). (Anexo 36)

En este caso no hubo concordancia alguna entre las variables a evaluar de los tres cuerpos.

Cuando se aplicó el coeficiente Kappa de Cohen se decidió agrupar las variables de olor a otro químico y el olor a alcohol en una sola categoría denominada olor a otros químicos, para evitar sesgos al respecto, pues podría haber confusión por parte de los observadores.

**Tabla 16:** Comparación del coeficiente de Kappa Cohen para la valoración del olor de los 31 órganos y tejidos del cuerpo 2 y 3 entre los tres observadores entre si.

	1 y 2	1 y 3	2 y 3
Cuerpo 2			
Coeficiente			
Kappa de Cohen	0,03	0	0,86
Cuerpo 3			
Coeficiente			
Kappa de Cohen	1	1	1

**Fuente:** LaMoNec 2018.

En el caso del cuerpo 2 según la tabla N° 16 en la que se compara la concordancia de las apreciaciones realizadas por los tres observadores, se puede

determinar que hay bastante discrepancia entre el observador 1 y los otros 2 observadores, mientras que los 2 observadores externos tienen una concordancia muy buena, pues presentan un coeficiente Kappa de 0,86.

En el caso de las variables del cuerpo 3 los tres observadores tienen un coeficiente Kappa de Cohen de 1 entre si, indicando una fuerza de concordancia muy buena. Con lo que deja claro que el cuerpo 3 fijado con la fórmula nueva no presenta olor a formalina, sino que se percibe un olor a otro químico. (Anexo 25-30 y 33 – 35)

#### ***4.2.2 Variables moleculares***

En los resultados no se incluyeron las muestras de hueso, cartílago de costilla, músculo subclavio, lengua, vello púbico, páncreas y apéndice vermiforme, debido a que se obtuvo muestra insuficiente y no permitió el análisis de las mismas.

Esta situación no fue significativa, pues se contaba con otras muestra que representaban el mismo tipo de tejido propiamente, como el caso de músculo oblicuo externo que representaba el músculo esquelético y sustituía la muestra de lengua y músculo subclavio; cartílago auricular que representaba el tejido cartilaginoso y sustituía el cartilago costal, pelo de cuero cabelludo que representaba la muestra de folículo piloso y sustituía la de vello púbico, otras glándulas como tiroides y glándula submandibular que sustituía el páncreas y por último se contó con muestras de distintas partes del tracto digestivo (duodeno, yeyuno, ileón y ciego) que sustituían la muestra de la apéndice vermiforme.

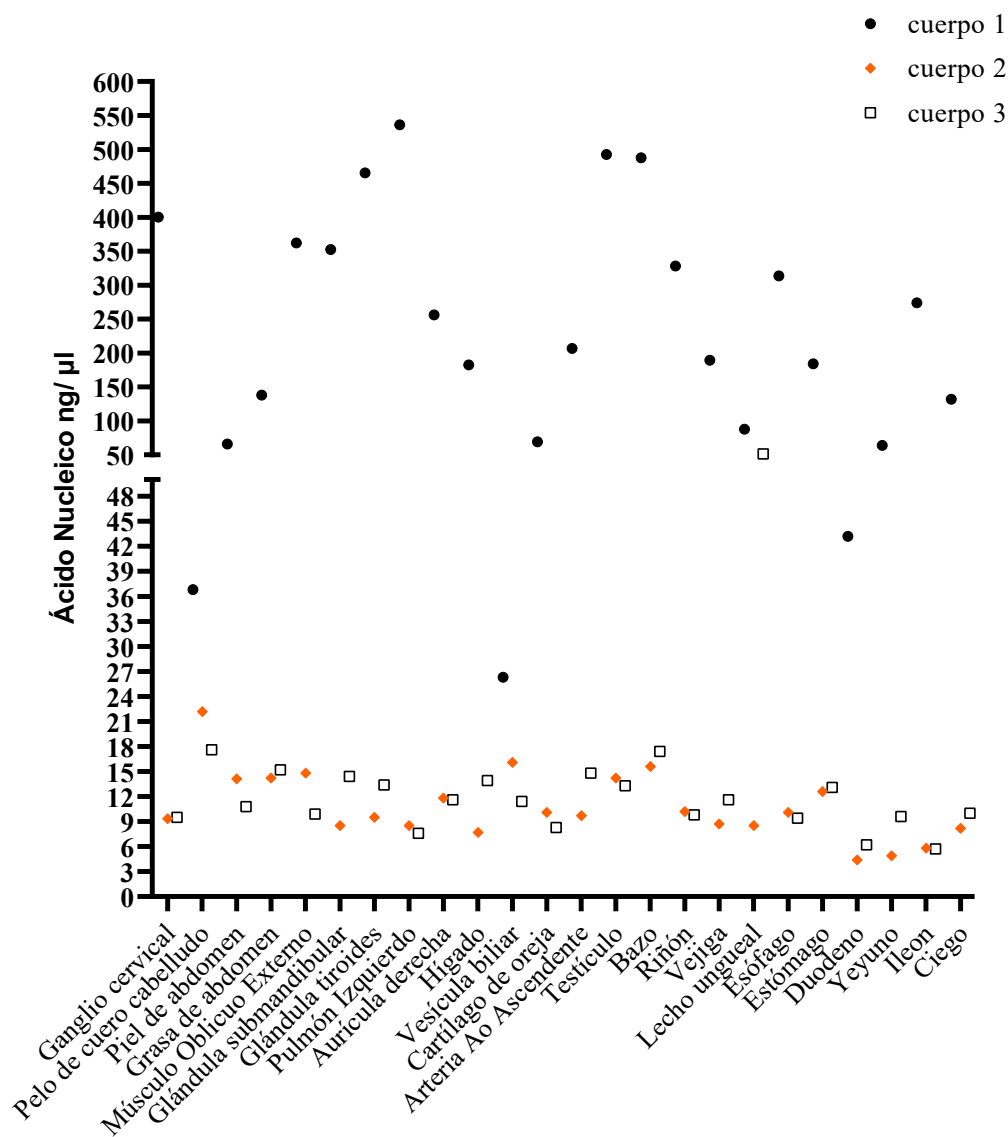
La muestra de hueso no se pudo procesar por dificultades en la pulverización de la misma, para lograr una adecuada extracción de ADN.

**Tabla 17:** Comparación de la extracción de AND de cada órgano o tejido en los 3 cuerpos evaluados.

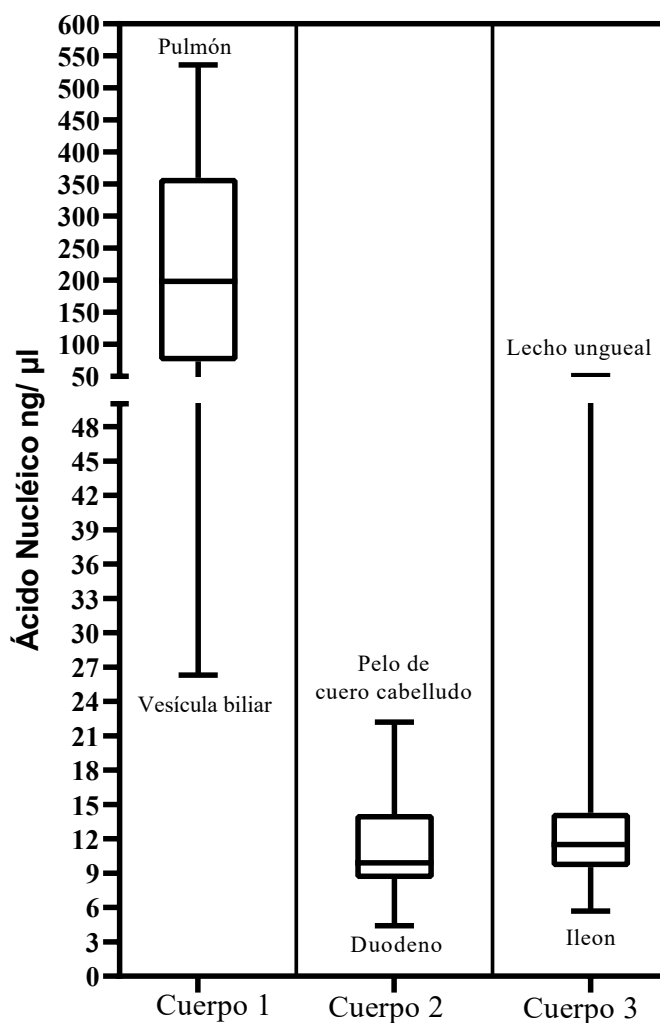
Tejido	Cuerpo 1			Cuerpo 2			Cuerpo 3		
	Concentración de ADN*	260/280	Amplific.	Concentración de ADN*	260/280	Amplific.	Concentración de ADN*	260/280	Amplific.
<b>Ganglio cervical</b>	400,1	1,87	+	9,5	1,39	-	9,5	1,57	-
<b>Pelo de cuero cabelludo</b>	36,8	1,70	+	22,2	1,12	-	17,6	1,40	-
<b>Piel de abdomen</b>	65,9	1,86	+	14,1	1,27	-	10,8	1,50	-
<b>Grasa de abdomen</b>	138,2	1,80	+	14,2	1,35	-	15,2	1,40	-
<b>Músculo Oblicuo Externo</b>	362,2	1,86	+	14,8	1,37	-	9,9	1,46	-
<b>Glándula submandibular</b>	352,6	1,87	+	8,5	1,46	-	14,4	1,48	-
<b>Glándula tiroides</b>	465,3	1,87	+	9,5	0,87	-	13,4	1,43	-
<b>Pulmón Izquierdo</b>	536,1	1,85	+	8,5	1,41	-	7,6	1,58	-
<b>Aurícula derecha</b>	256,3	1,84	+	11,8	1,40	-	11,6	1,41	-
<b>Hígado</b>	182,4	1,86	+	7,7	1,54	-	13,9	1,50	-
<b>Vesícula biliar</b>	26,3	1,53	+	16,1	1,41	-	11,4	1,49	-
<b>Cartílago de oreja</b>	69,1	1,83	+	10,1	1,51	-	8,3	1,48	-
<b>A. Ao Ascendente</b>	207,0	1,85	-	9,7	1,29	-	14,8	1,46	-
<b>Testículo</b>	492,6	1,86	+	14,2	1,34	-	13,3	1,41	-
<b>Bazo</b>	487,6	1,84	+	15,6	1,28	-	17,4	1,37	-
<b>Riñón</b>	328,3	1,84	+	10,2	1,34	-	9,8	1,53	-
<b>Vejiga</b>	189,4	1,85	+	8,7	1,41	-	11,6	1,46	-
<b>Lecho ungueal</b>	87,9	1,85	+	8,5	1,48	-	51,3	1,87	-
<b>Esófago</b>	313,7	1,87	+	10,1	1,46	-	9,4	1,52	-
<b>Estómago</b>	184,3	1,86	+	12,6	1,47	-	13,1	1,67	-
<b>Duodeno</b>	43,2	1,87	+	4,4	1,66	-	6,2	1,67	-
<b>Yeyuno</b>	63,8	1,84	+	4,9	1,43	-	9,6	1,18	-
<b>Ileon</b>	274,0	1,86	+	5,8	1,52	-	5,7	1,53	-
<b>Ciego</b>	131,8	1,83	+	8,2	1,40	-	10,0	1,50	-

*Simbología:* + : positivo, - : negativo, \*: ng/μl ). **Fuente:** LaMoNec 2018.

En la tabla N° 17 y el gráfico 6 se observa la concentración de ADN extraído de los distintos tejidos en los tres cuerpos, observándose que en general la mayor cantidad de ADN se obtuvo de las muestras del cuerpo 1 (fresco) y la menor cantidad se obtuvo de las muestras del cuerpo 2 (fijado con fórmula antigua). (Gráfico 6)



**Gráfico 6:** Concentración de ADN extraído por órgano o tejido en el cuerpo 1, 2 y 3. *Fuente:* LaMoNec 2018.

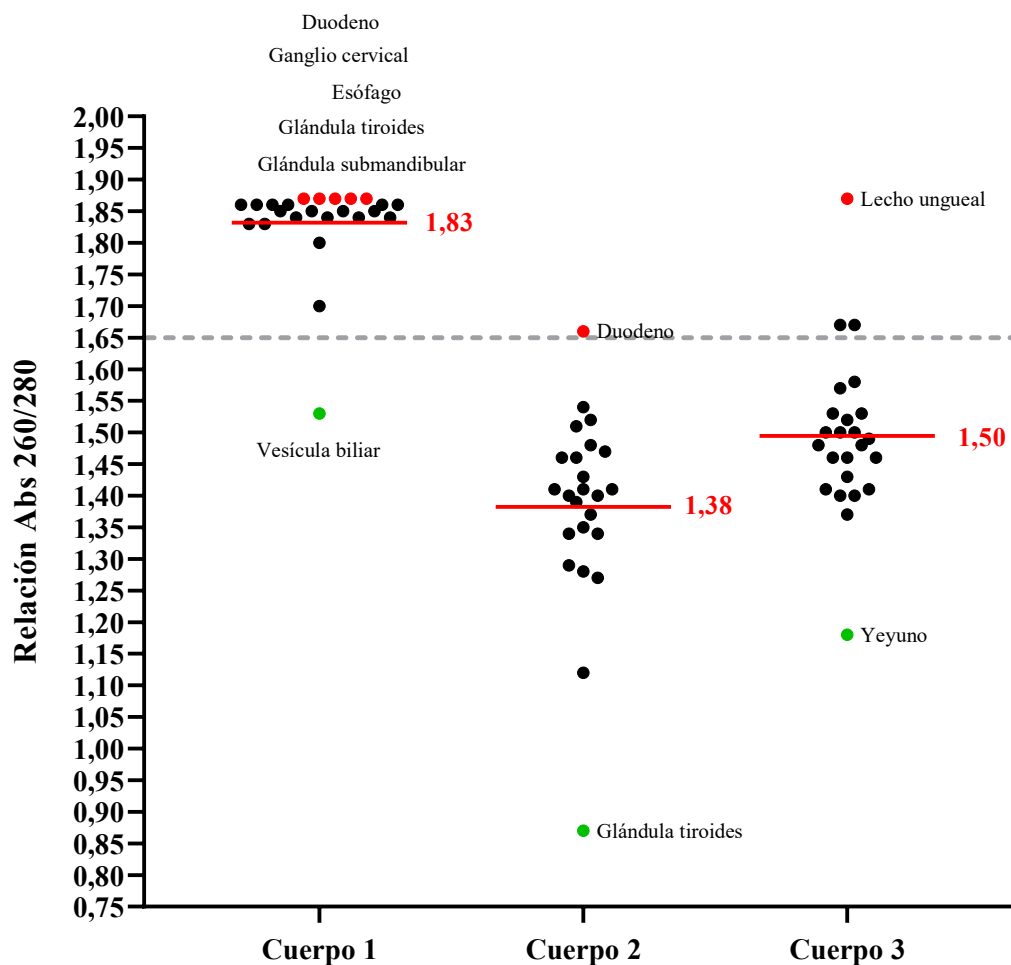


**Gráfico 7:** Representación gráfica del máximo, mínimo y promedio de la concentración de ADN extraído por cuerpo. **Fuente:** LaMoNec 2018.

En el gráfico 7 se aprecia como la cantidad máxima de concentración de ADN extraído en el cuerpo 1 fue de 536.1 ng/μl proveniente del tejido pulmonar y la mínima de 26.3 ng/μl proveniente de la vesícula biliar; en el caso del cuerpo 2, la cantidad máxima de ácido nucleico extraído fue de 22.2 ng/μl proveniente de pelo de cuero cabelludo y la mínima de 4.4 ng/μl obtenida del duodeno; del cuerpo 3 se

obtuvo una cantidad máxima de ácido nucleico de 51.3 ng/ $\mu$ l del lecho ungueal, mientras que la mínima fue de 5.7 ng/ $\mu$ l proveniente del iléon.

En el gráfico 6 queda claro la diferente cantidad de ADN extraído del cuerpo fresco (cuerpo1) en comparación con los dos cuerpos embalsamados, pero también se puede observar que se extrajo en general, más concentración de ADN de los tejidos y órganos del cuerpo 3 que del cuerpo 2.



**Gráfico 8:** Absorbancia del ADN extraído de los órganos y tejidos del cuerpo 1, 2 y 3. En rojo se marca la absorbancia máxima, en verde la absorbancia mínima. La línea roja representa el promedio. La línea punteada gris representa la absorbancia a partir de la cual se considera una muestra pura. **Fuente:** LaMoNec 2018.

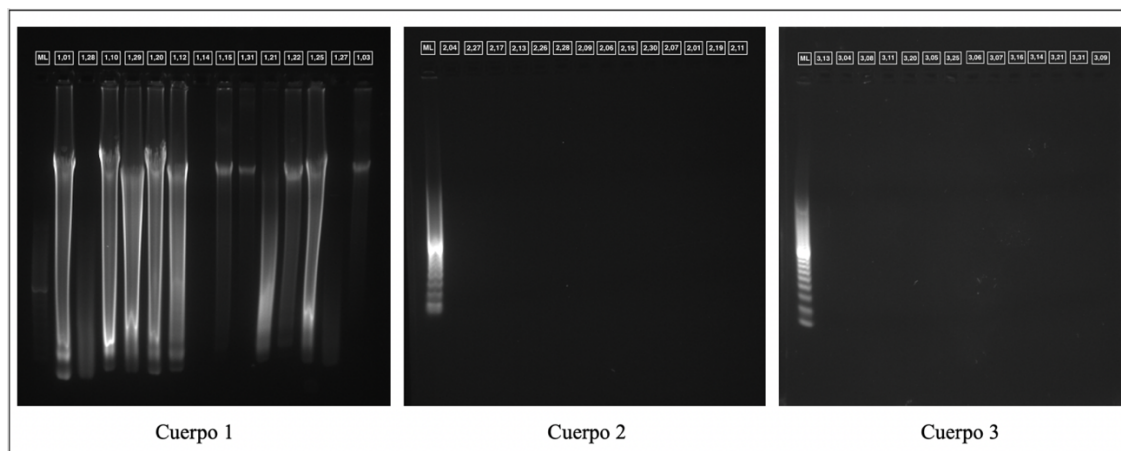
La absorción de luz UV se utilizó para determinar la concentración de la molécula de ADN en los órganos o tejidos estudiados, midiéndose con un espectrofotómetro que calcula la relación de A260/A280, dando esta relación en unidades de densidad óptica (O.D), que indican la pureza del ADN.

Como se observa en el gráfico 8, el cuerpo fresco (cuerpo 1) tiene una absorbancia arriba de 1.7, excepto la vesícula biliar que tiene una absorbancia de 1.53; mientras que el cuerpo embalsamado con la fórmula antigua (cuerpo 2) presenta una absorbancia mínima de 0.87 que corresponde a la muestra de glándula tiroides y una máxima de 1.66 que corresponde al duodeno. En el caso del cuerpo 3 (embalsamado con la fórmula nueva) se aprecia una absorbancia mínima de 1.18 que corresponde a la muestra de tejido yeyunal, y una máxima de 1.87 que corresponde a la muestra de lecho ungueal.

En la figura 18 se aprecia como al realizar la electroforesis en gel de agarosa teñido con gel red, solo se logra apreciar ADN genómico en las muestras del cuerpo 1 (fresco) mientras que en el cuerpo 2 y 3 no se parecía ADN alguno, esto a causa que la cantidad de ADN extraído de estas muestras como ya se observó en el gráfico 6 era muy escaso.

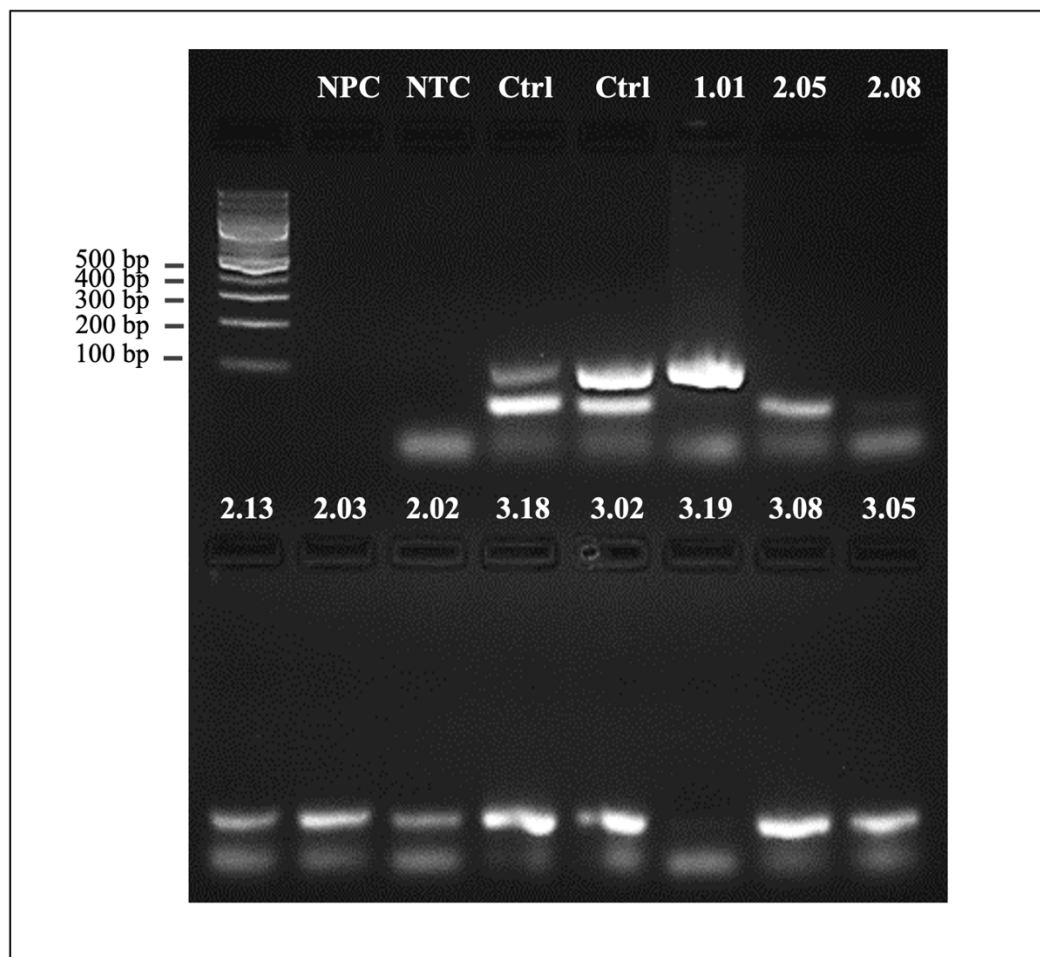
En la tabla 17, se observa además que de los órganos y tejidos del cuerpo 1 presentaron amplificación en el ADN de todas las muestras, excepto el tejido de la Aorta ascendente; y que de la totalidad de los órganos y tejidos del cuerpo 2 y 3 no

se obtuvo amplificación del ADN a pesar de la pureza de las muestras o de la cantidad de ácido nucleico extraído.



**Figura 18:** Electroforesis en gel de agarosa del ADN extraído de los órganos y tejidos del cuerpo 1, 2 y 3 teñido con gel red. Cuerpo 1: Se aprecia ADN genómico y fragmentado. Cuerpo 2 y cuerpo 3 no se observa ADN. ML: Marcador de peso. En el extremo de cada carril se encuentra el código de cada muestra. **Fuente:** LaMoNec 2019.

Como no se obtuvo amplificación de ninguna de las muestras de los órganos y tejidos del cuerpo 2 y 3, con la PCR llevada a cabo con el fragmento del gen SCN5A; por contener un amplicón de mayor cantidad de pares de bases, se procedió a realizar la amplificación del material genético de algunas muestras del cuerpo 2: grasa de abdomen, lengua, hígado, vello púbico y pelo de cuero cabelludo, del cuerpo 3: páncreas, pelo de cuero cabelludo, bazo, lengua y grasa de abdomen y cuerpo 1: ganglio cervical, con el fragmento del gen de AMELY que contiene un amplicón de menor cantidad de pares de bases.(Figura 19)

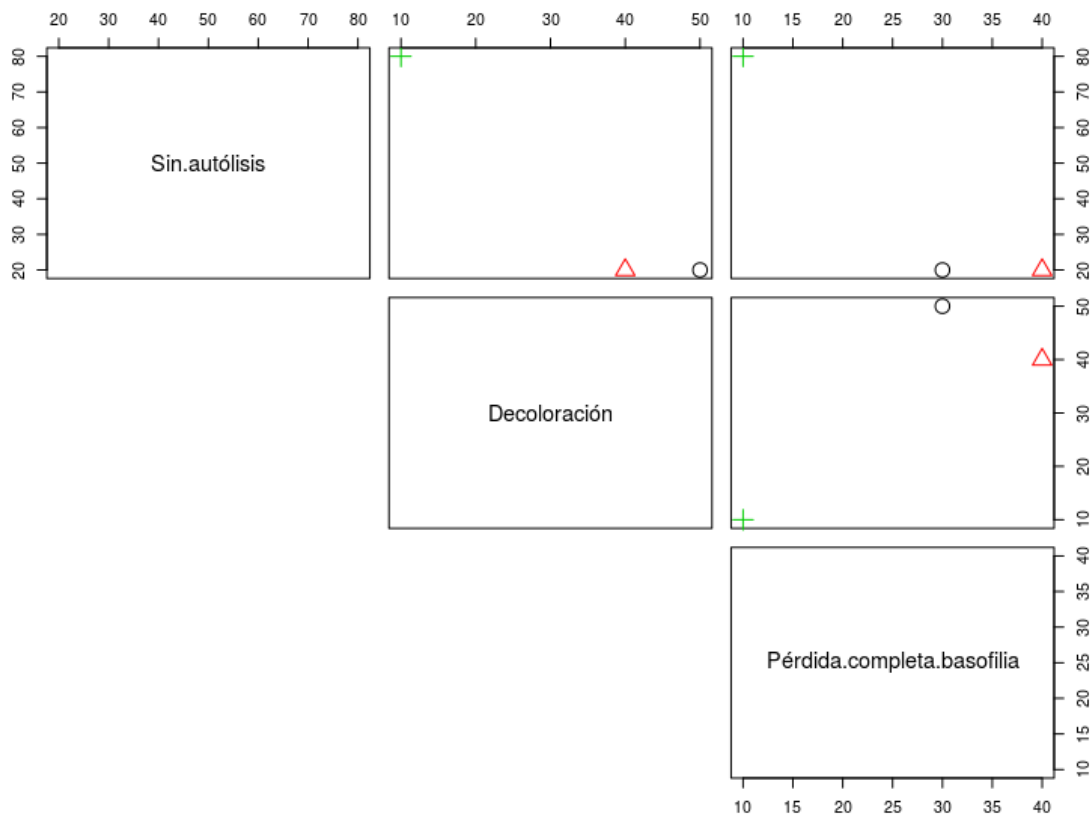


**Figura 19:** Amplificación de ADN de los órganos y tejidos del cuerpo 1, 2 y 3 con el fragmento del gen de Amelogenina, que representa la amplificación positiva con todas las muestras de los tres cuerpos. Muestras del cuerpo 1: 1.01. Muestra del cuerpo 2: 2.05, 2.08, 2.13, 2.03 y 2.02. Muestras del cuerpo 3: 3.18, 3.02, 3.19, 3.08, y 3.05. **Fuente:** LaMoNec 2019

La figura 19 permite ver como se presenta una amplificación exitosa, con el fragmento del gen de amelogenina, para las muestras de los tejidos de los tres cuerpos, siendo estas muestras de tejido tan variable como vello púbico, grasa de abdomen, ganglio cervical, hígado, bazo, lengua o páncreas.

### ***4.2.3 Variables histológicas***

Para poder apreciar si la fijación fue efectiva a nivel microscópico se realizaron cortes histológicos de los 31 órganos o tejidos evaluados en los tres cuerpos, y se valoraron variables que indicaban el grado de descomposición celular de cada uno, comparados por medio de gráficos que representan algunos de los órganos o tejidos más significativos de los 31 en total; en los que se valora si hubo decoloración o pérdida completa de la basofilia, signos que indican descomposición del contenido nuclear y se valoró además si el tejido no presentó autólisis, como un signo que representa el buen estado de conservación del núcleo. Si esta última variable es mayor, indica un mejor estado de conservación de la célula, las tres variables suman el 100 %. Por otro lado se evaluó el estado del citoplasma, para valorar si hubo vacuolización y/o retracción del citoplasma, pues estos son signos de descomposición celular que ayudan a valorar el estado del tejido.<sup>(76-80)</sup>

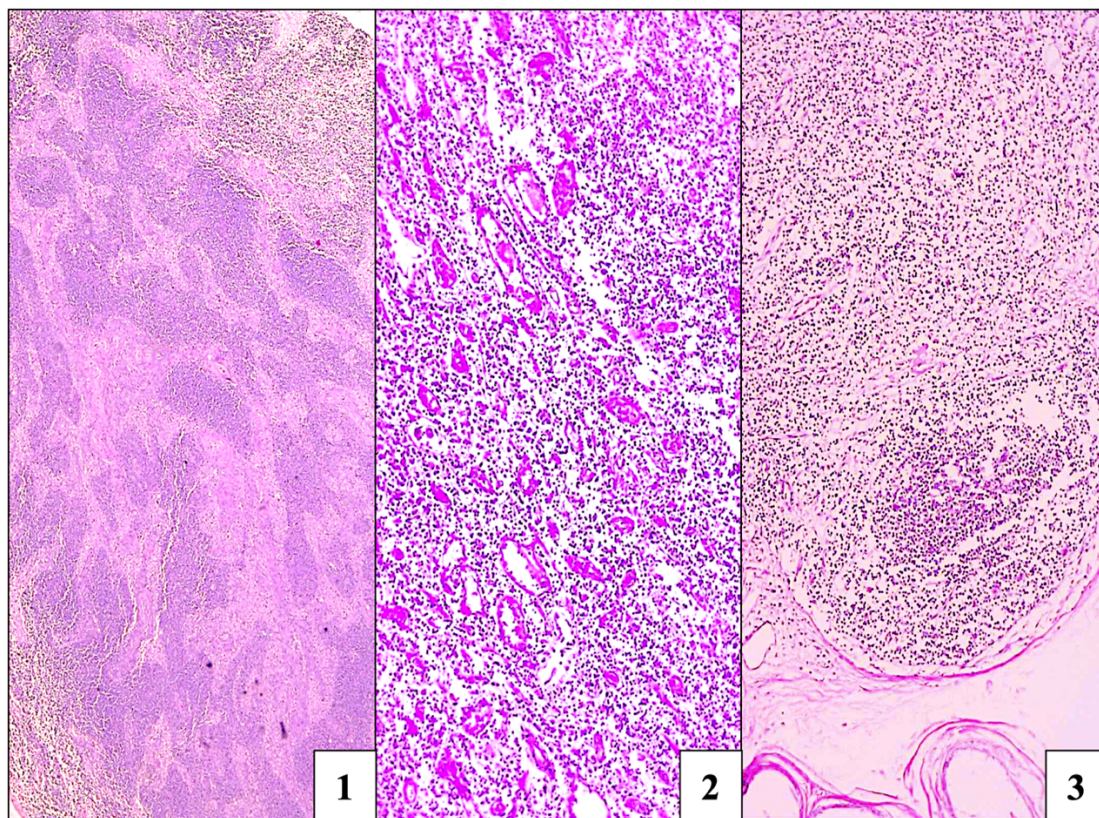


**Gráfico 9:** Comparación del estado de descomposición del epitelio de ganglio linfático en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde). **Fuente:** LaMoNec 2018.

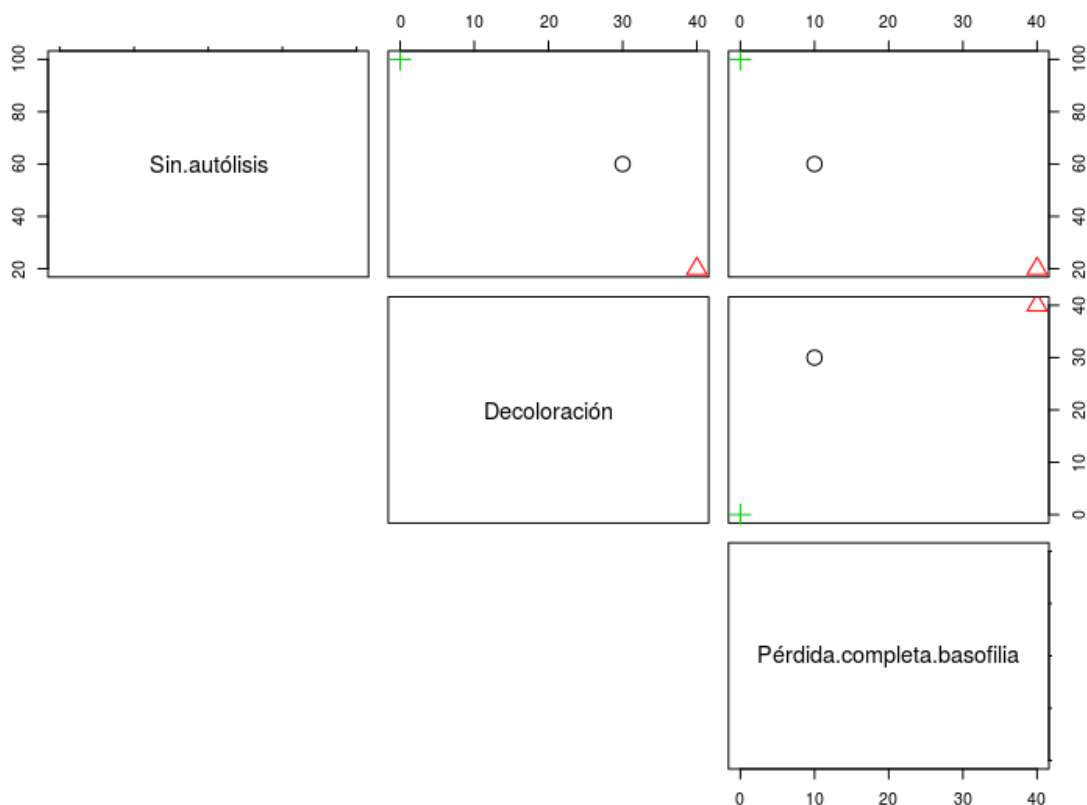
En el gráfico 9 se representa el estado de descomposición del ganglio linfático en los tres cuerpos, y se puede observar como en el cuerpo 3 correspondiente al fijado con la fórmula nueva, presenta un 80% del tejido sin autólisis, con un 10% de decoloración y 10% de pérdida de la basofilia. En el cuerpo 2 el tejido muestra 20% sin autólisis, un 40% de decoloración y un 40% de pérdida de la basofilia, lo que indica que está en un estado de descomposición mayor el ganglio linfático que se fijo con la fórmula antigua (cuerpo 2) que con la fórmula nueva (cuerpo 3). Este tejido en el cuerpo 1, considerado el control y que se

encontraba fresco al momento de tomar la muestra presenta 20% sin autólisis, 50% de decoloración y un 30% de pérdida completa de la basofilia, por lo que se puede observar que del tejido menos descompuesto al más descompuesto se encuentra el ganglio linfático del cuerpo 3, 1 y 2.

En la figura 20 se puede observar una fotografía de la lámina histológica teñida con Hematoxilina-Eosina (HE) de gánglio linfático, mostrando en el cuerpo 1 retracción del citoplasma, mientras en el cuerpo 2 y 3 no se presenta esta retracción, y en el caso del tejido de los tres cuerpos no se aprecia vacuolización. (Anexo 37-39)



**Figura 20:** Comparación de imagen histológica de ganglio linfático con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células. 1=cuerpo 1, 2= cuerpo 2 y 3=cuerpo 3. **Fuente:** LaMoNec 2018.



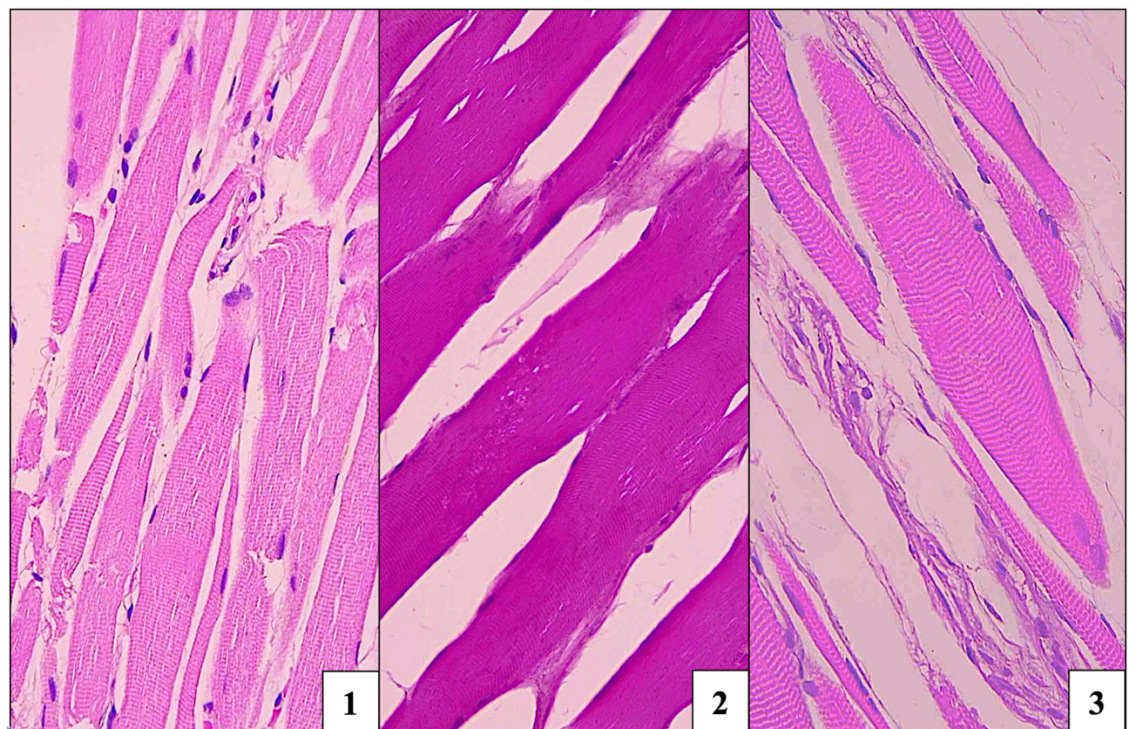
**Gráfico 10:** Comparación del estado de descomposición del epitelio de músculo esquelético (músculo subclavio) en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde). **Fuente:** LaMoNec 2018.

En el gráfico 10, se observa el estado de descomposición que mostró el músculo esquelético (músculo subclavio), en el cuerpo 1 presentó una decoloración del 30%, un 10% de pérdida de la basofilia y un 60% sin autólisis, en el caso del cuerpo fijado con la fórmula antigua (cuerpo 2) presentó 40% de decoloración y pérdida completa de la basofilia y un 20% del tejido sin autólisis. Y el cuerpo 3 el 100% de la muestra se presentó sin autólisis, con 0% de decoloración y pérdida de la basofilia, lo que indica que se encontró adecuadamente conservado.

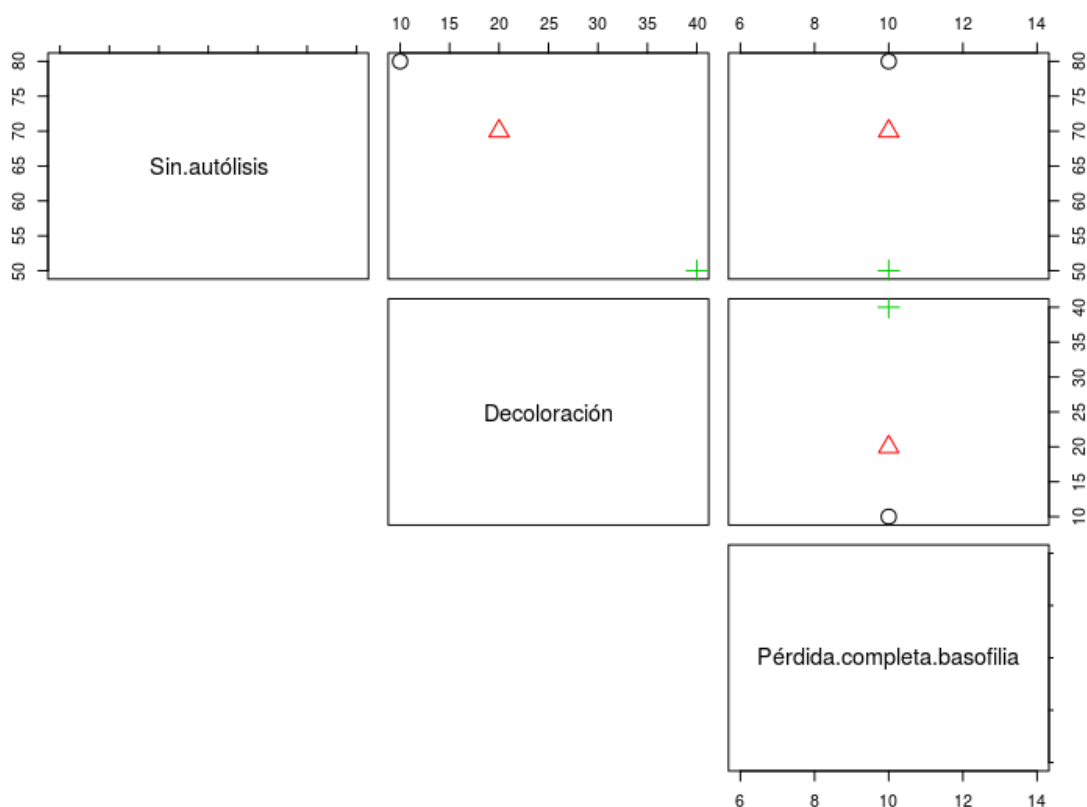
En la figura 21 se aprecia un corte longitudinal de las fibras musculares del músculo subclavio, en donde se observan los núcleos en las periferias de las células,

y en los tres cuerpos no hay presencia de vacuolización ni retracción citoplasmática. (Anexo 37-39), permitiendo establecer que del músculo esquelético de los tres cuerpos, el mejor conservado es el del cuerpo fijado con la fórmula nueva, seguido por el cuerpo fresco y por último por el cuerpo fijado con la fórmula antigua.

Además en el cuerpo 3 se pueden observar una separación mayor entre las fibras de músculo esquelético, lo que hace recordar una imagen de edema.



**Figura 21:** Comparación de imagen histológica de un corte longitudinal de músculo esquelético teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células. 1= cuerpo 1, 2= cuerpo 2 y 3=cuerpo 3. **Fuente:** LaMoNec 2018.

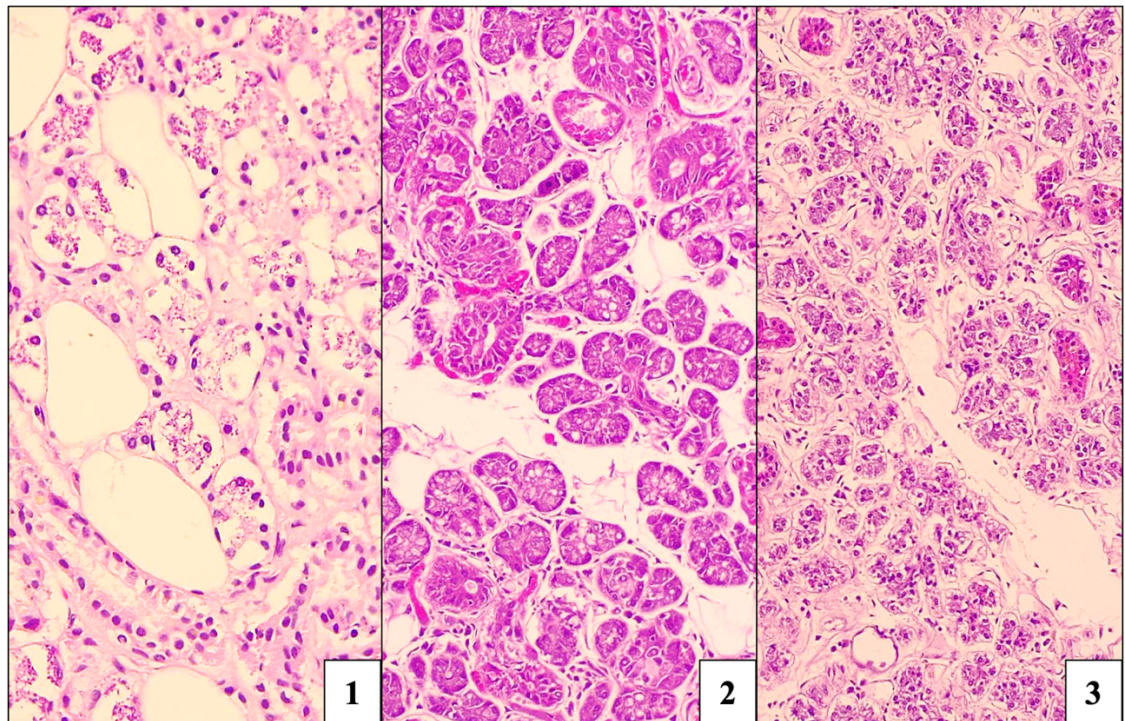


**Gráfico 11:** Comparación del estado de descomposición de el epitelio glandular (glándula submandibular) en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde). **Fuente:** LaMoNec 2018.

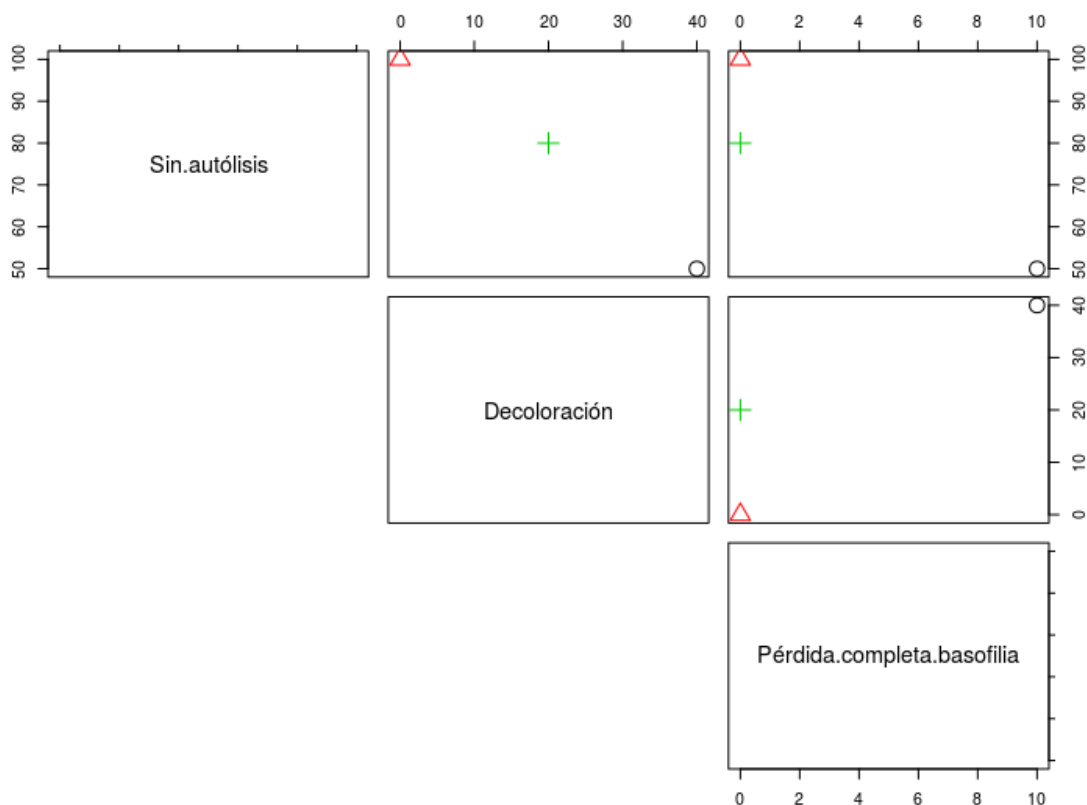
En el caso del epitelio glandular (glándula submandibular) evaluada en el gráfico 11, se aprecia como el cuerpo 1 (fresco) presentó un 10% de pérdida completa de la basofilia y de decoloración, mientras que un 80% del tejido se muestra sin autólisis; en el cuerpo 2 (fijado con fórmula antigua) se presentó un 70% del tejido sin autólisis, un 20 % con decoloración y un 10% con pérdida completa de la basofilia. En el cuerpo 3 (fijado con fórmula nueva) se presentó 50% del tejido sin autólisis, 40% con decoloración y un 10% con pérdida completa de la basofilia, indicando que en este caso, que el epitelio glandular se conservó menos con la fijación de la fórmula nueva (cuerpo 3) que con la fórmula antigua (cuerpo 2); por

otro lado la muestra del cuerpo fresco (Cuerpo 1), presentó una mejor conservación de sus células.

En la figura 22, se muestran fotografías del tejido glandular (glándula submandibular), teñido con hematoxilina eosina, en el que se aprecia como los tres cuerpos presentan vacuolización del citoplasma, pero únicamente el cuerpo 3 presenta además retracción del citoplasma, indicando que no solamente hay mayor degeneración de los núcleos, sino además presenta más signos de descomposición a nivel citoplasmático. (Anexo 37-39)

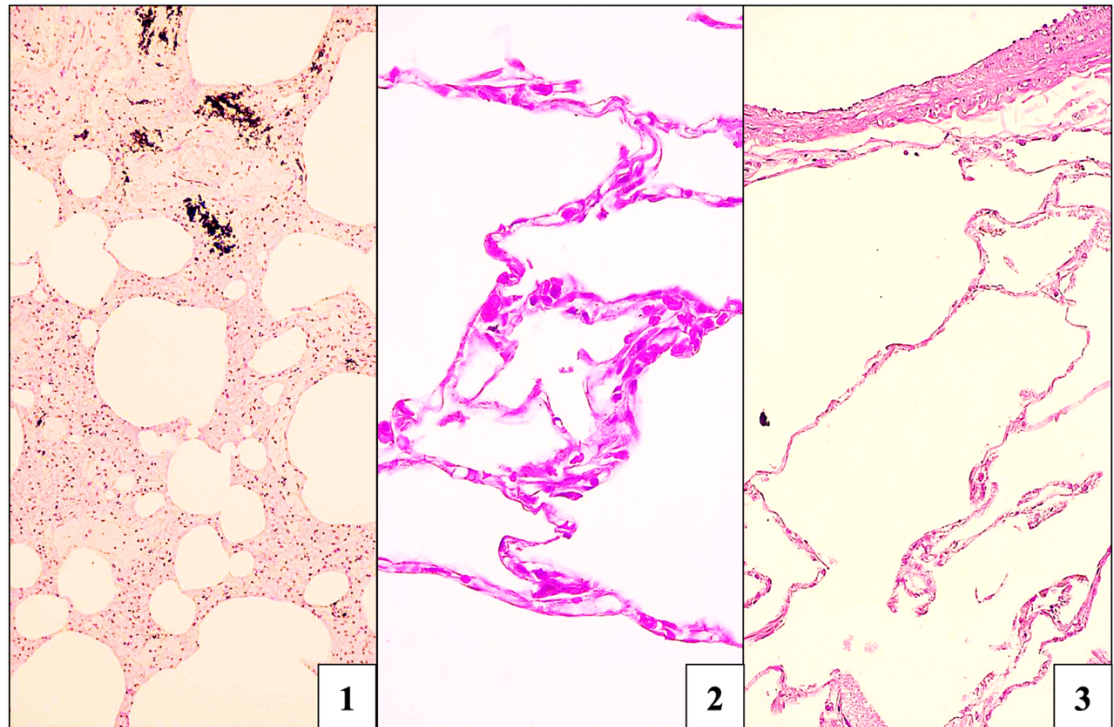


**Figura 22:** Comparación de imagen histológica de glándula submandibular, teñida con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células. 1= cuerpo 1, 2= cuerpo 2 y 3=cuerpo 3. **Fuente:** LaMoNec 2018.



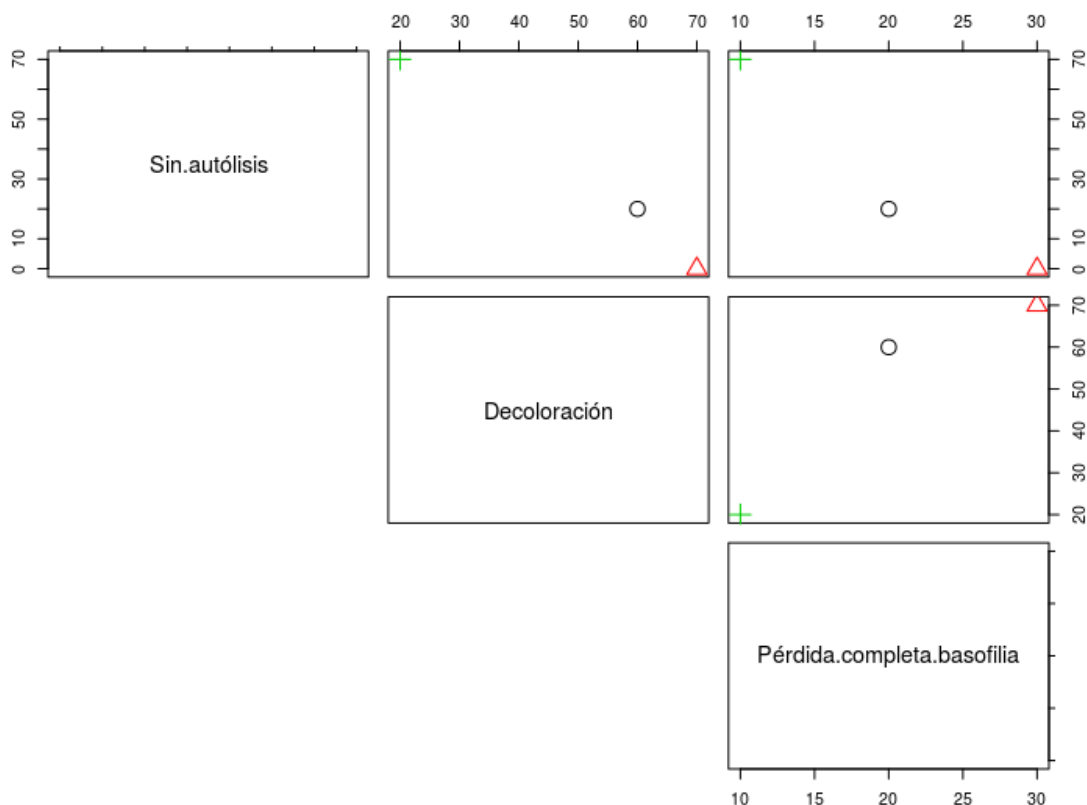
**Gráfico 12:** Comparación del estado de descomposición, de el epitelio pulmonar en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde). Fuente: LaMoNec 2018.

En el gráfico 12 se representa el epitelio pulmonar, donde se observa que dicho epitelio en el cuerpo 1 presentó 50% del tejido sin autólisis, 40% con decoloración y un 10% con pérdida completa de la basofilia. En el cuerpo 2 el 100% de las células se encontraban sin autólisis y en el cuerpo 3 hay un 80% del tejido sin autólisis, un 20% presenta decoloración y no se presentó pérdida de la basofilia, por lo que se apreció que en el cuerpo 3, el epitelio pulmonar se conservó mejor que en el cuerpo 1, pero en el en el cuerpo 2 se logró una conservación del 100% del epitelio a nivel nuclear, mientras que en el citoplasma es el único tejido de los tres que presentó retracción del mismo.



**Figura 23:** Comparación de imagen histológica de epitelio pulmonar, teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células. 1= cuerpo 1, 2= cuerpo 2 y 3=cuerpo 3. **Fuente:** LaMoNec 2018.

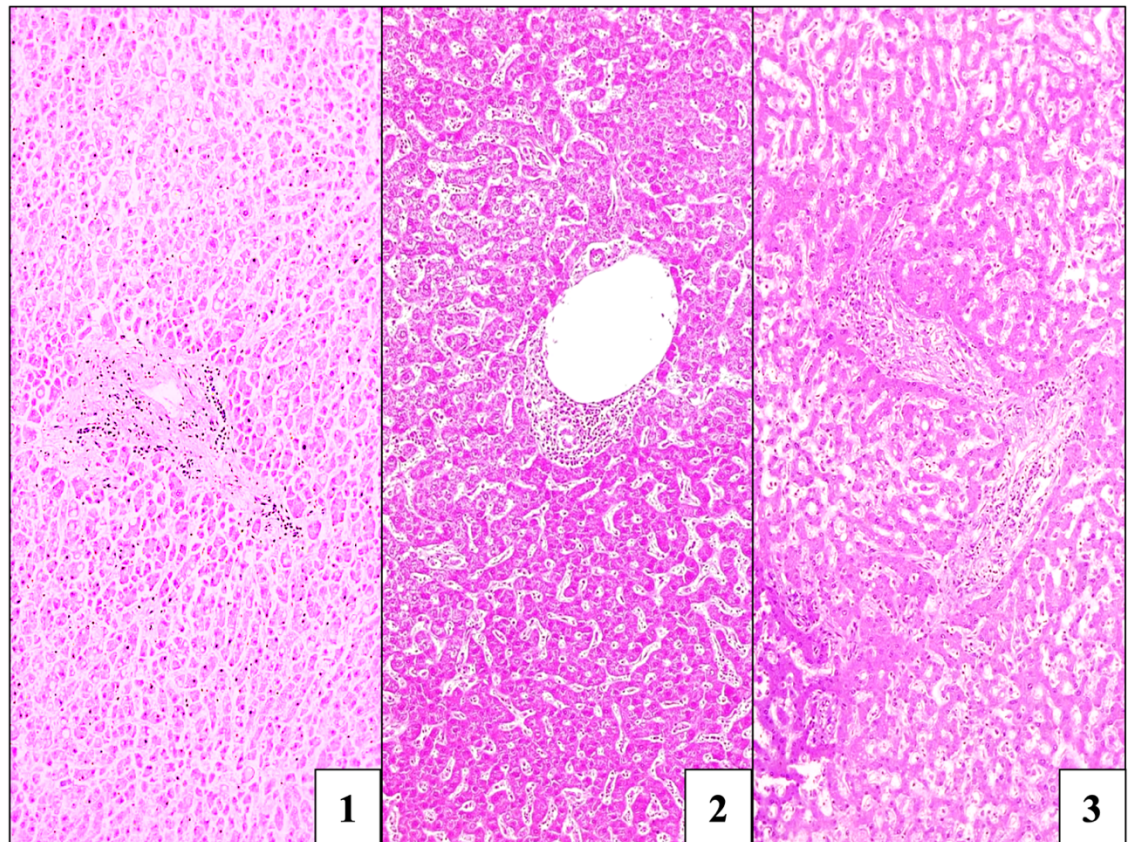
Tanto el cuerpo 1, como el 3 no presentaron ni retracción ni vacuolización del citoplasma. (Figura 23) El tejido pulmonar de los tres cuerpos presentaban enfisema como patología de fondo, y en el cuerpo 1 se puede observar que la patología se encontraba más avanzada. (Anexo 37-39)



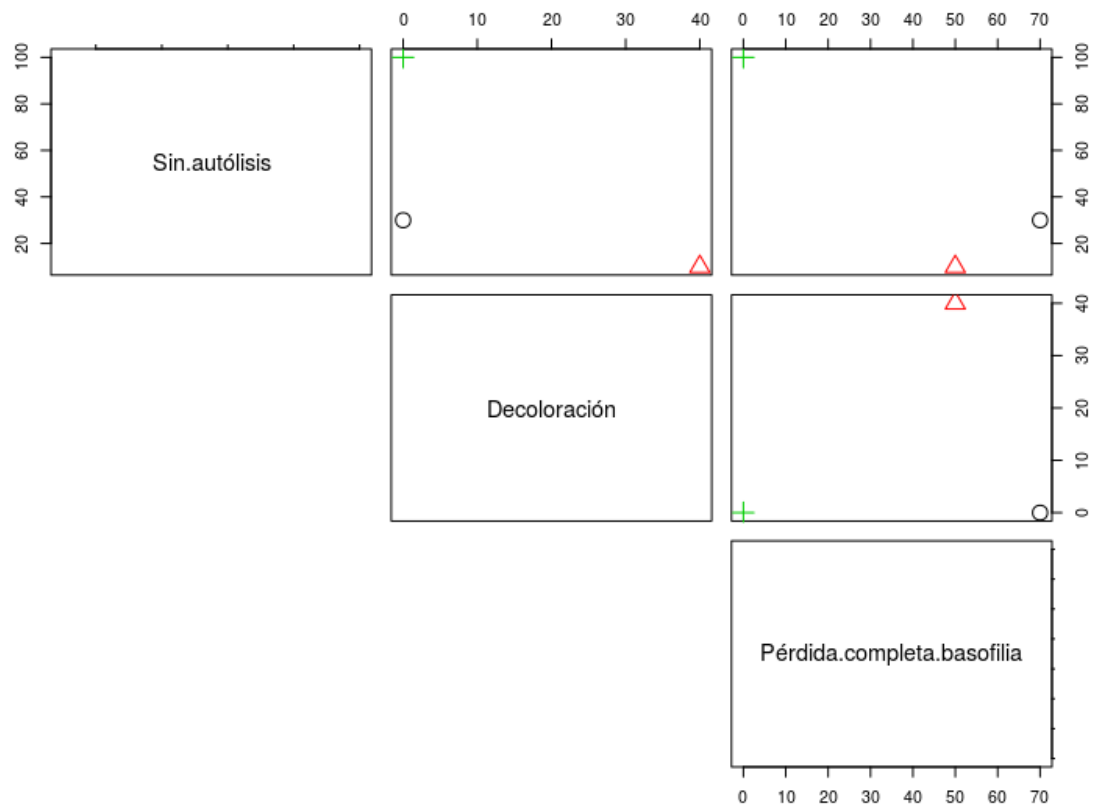
**Gráfico 13:** Comparación del estado de descomposición, de el epitelio hepático en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde). Fuente: LaMoNec 2018.

El epitelio hepático representado en el gráfico 13, se observa como en el cuerpo 1 se mostró un 20% del epitelio sin autólisis, un 60% con decoloración y un 20% con pérdida completa de la basofilia; en el cuerpo 2 se presentó un 70% del epitelio con decoloración y un 30% con pérdida completa de la basofilia y no se observó tejido hepático viable o en buen estado de conservación. En el tejido hepático del cuerpo 3 se presentó un 70% del tejido sin autólisis, un 20% con decoloración y a solo un 10% con pérdida completa de la basofilia. Por lo que el tejido hepático se mostró mejor conservado en el cuerpo 3 y peor conservado en el cuerpo 2.

En la figura 24 se puede observar como además el cuerpo 3 no presenta alteraciones en el citoplasma (no vacuolización, ni retracción del citoplasma), en el cuerpo 2 hay tanto retracción del citoplasma como vacuolización, mientras que en el cuerpo fresco (cuerpo 1) solo se presentó vacuolización del citoplasma, no se observó retracción del mismo. (Anexo 37-39)



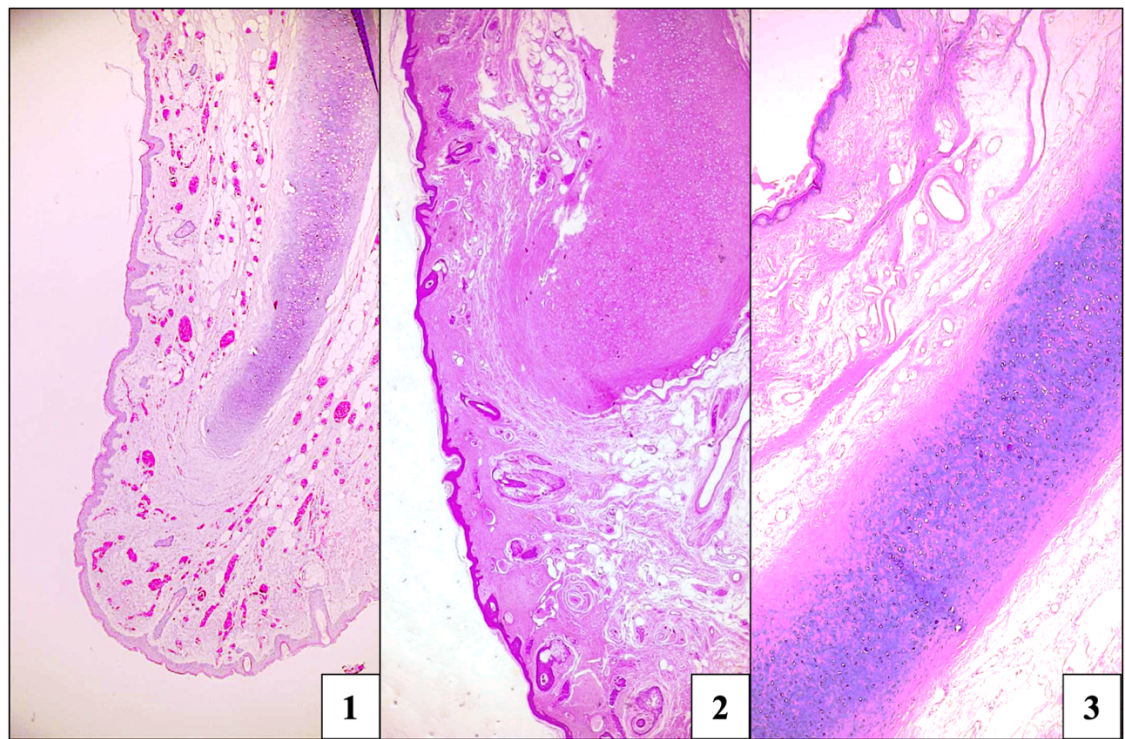
**Figura 24:** Comparación de imagen histológica de epitelio hepático, teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células. 1= cuerpo 1, 2= cuerpo 2 y 3=cuerpo 3. **Fuente:** LaMoNec 2018.



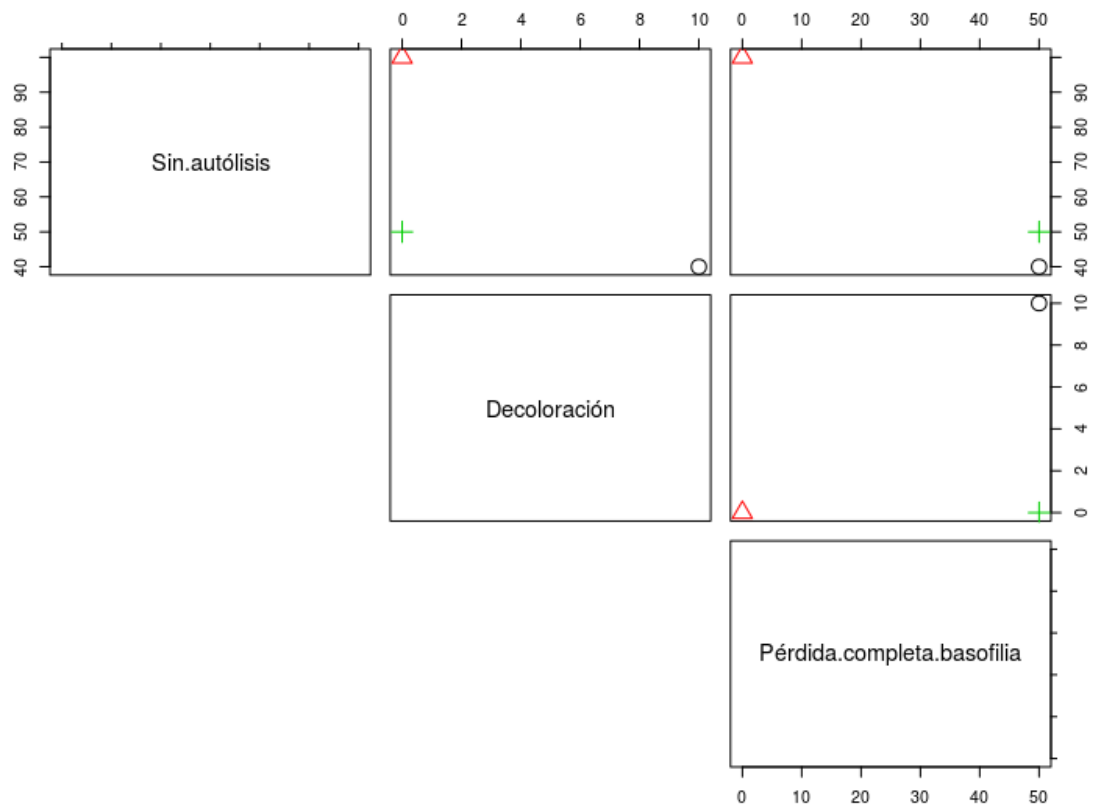
**Gráfico 14:** Comparación del estado de descomposición, de el epitelio cartilaginoso (cartilago de oreja) en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde). **Fuente:** LaMoNec 2018.

En el gráfico 14 se evalúan las muestras de cartilago de oreja, y se apreciar que en el cuerpo 1 se presenta un 70% del epitelio con pérdida completa de la basofilia y apenas un 30% se presenta sin autólisis, no se observa decoloración nuclear de la muestra. En el cuerpo 2 se presentó solamente un 10% del tejido sin autólisis, un 40% con decoloración y un 50% con pérdida completa de la basofilia. En lo que respecta al epitelio cartilaginoso del cuerpo 3 se puede observar que el 100% del tejido se presentó sin autólisis, por lo que es con la fórmula nueva que se conserva mejor este tejido (Cuerpo 3).

En la figura 25 se observa una fotografía de la imagen al microscopio de tejido cartilaginoso teñido con hematoxilina eosina, en ella se percibe que a nivel de citoplasma ninguno de los tres cuerpos presentan signos de descomposición, no se observa ni vacuolización, ni retracción del mismo. Solamente señalar que en la muestra del cuerpo 3 se observa una imagen de fondo a los condrocitos con aumento de la eosinofilia, que no se observa en las otras 2 muestras del cuerpo 1 y 2.(Anexo 37-39)



**Figura 25:** Comparación de imagen histológica de cartílago de oreja, teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células. 1= cuerpo 1, 2= cuerpo 2 y 3=cuerpo 3. **Fuente:** LaMoNec 2018.



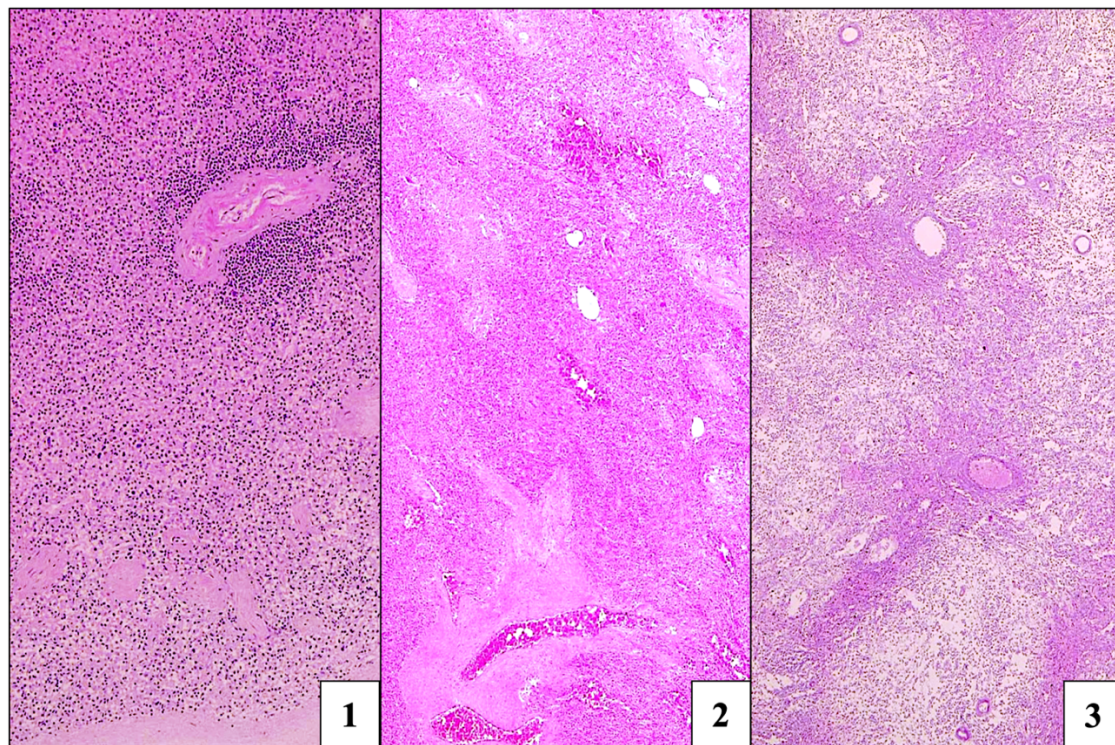
**Gráfico 15:** Comparación del estado de descomposición, de el epitelio esplénico en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde). Fuente: LaMoNec 2018.

En el gráfico 15 donde se representa el epitelio esplénico, se observa como el cuerpo 1 presenta un 40% del epitelio sin autólisis, un 10% con decoloración y un 50% con pérdida completa de la basofilia. En el cuerpo 2 el epitelio se conservó el 100% sin autólisis, y en el cuerpo 3 el 50% del epitelio presentó pérdida completa de la basofilia y el otro 50% se presentó sin autólisis. En este caso el epitelio mejor conservado se encontró en el cuerpo 2 seguido del cuerpo 3 y por último el cuerpo 1.

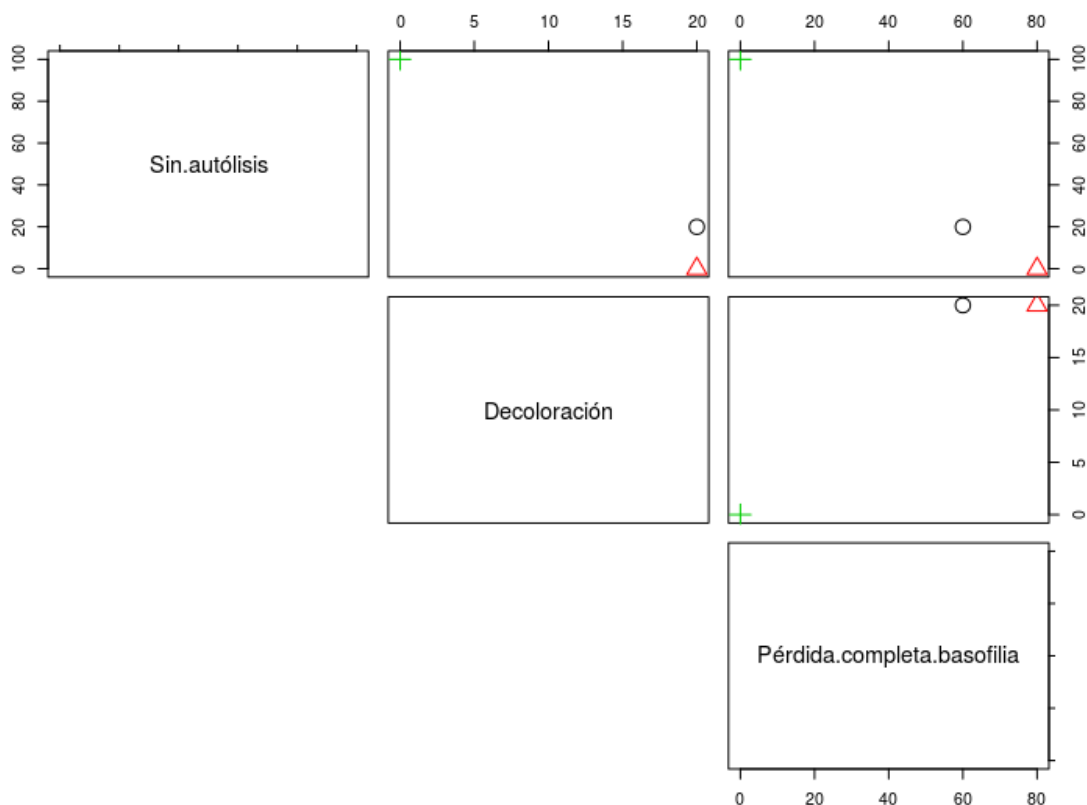
Las tres muestras de bazo, a nivel histológico no presentan alteraciones en la vacuolización ni retracción del citoplasma, tal como se puede observar en la figura

26, y además se observa como la muestra del cuerpo 2, conserva las características histológicas de una muestra preservada tanto a nivel nuclear como citoplasmático.

(Anexo 37-39)



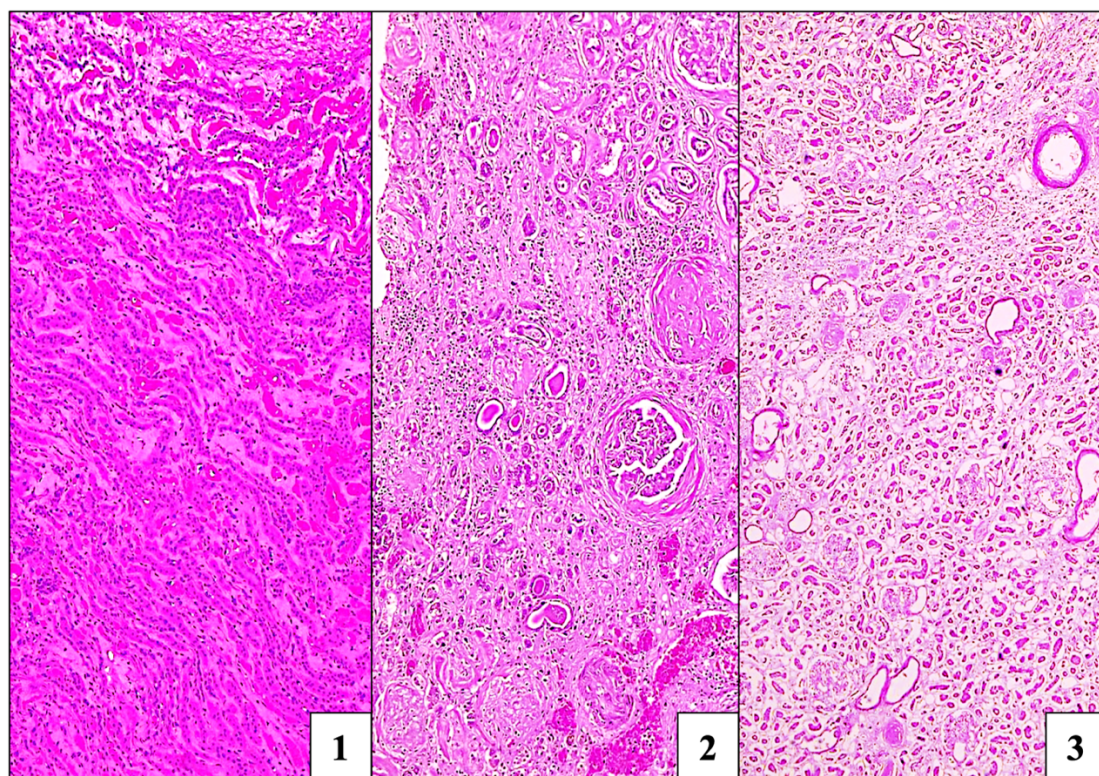
**Figura 26:** Comparación de imagen histológica de bazo, teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células. 1= cuerpo 1, 2= cuerpo 2 y 3=cuerpo 3. **Fuente:** LaMoNec 2018.



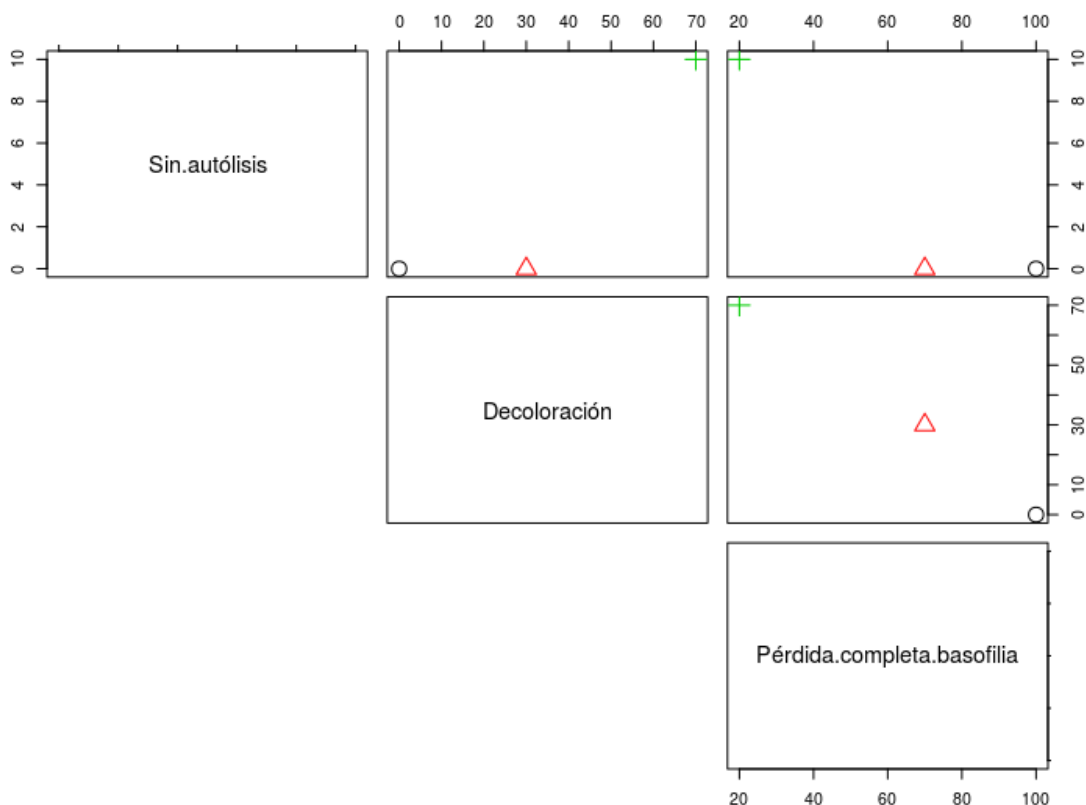
**Gráfico 16:** Comparación del estado de descomposición, del epitelio renal en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde). **Fuente:** LaMoNec 2018.

En el gráfico 16 se representa el estado de descomposición del epitelio renal, y muestra como en el cuerpo 1 un 20% del epitelio se observa sin autólisis, un 20% con decoloración y un 60% con pérdida completa de la basofilia. En el cuerpo 2 se observa un 80% del tejido con pérdida completa de la basofilia y un 20% con decoloración, no se encontró tejido sin autólisis. En cuanto al epitelio del cuerpo 3 se presentó un 100% del epitelio nuclear conservado, sin autólisis. Indicando que el tejido renal se conservó mejor con la fórmula nueva y se conservó menos en el cuerpo 2.

En la siguiente figura 27, se observa la fotografía del tejido renal, de los 3 cuerpos y se aprecia como el tejido renal del cuerpo 3 a pesar de tener una adecuada conservación de su epitelio nuclear, se puede observar retracción del citoplasma, pero sin vacuolización del mismo. Mientras que en el tejido del cuerpo 2 no solamente se observa mayores signos de descomposición a nivel nuclear, sino además presenta vacuolización y retracción del citoplasma. En el tejido del cuerpo 1 no hay alteraciones en el citoplasma. (Anexo 37-39)



**Figura 27:** Comparación de imagen histológica de epitelio renal, teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células. 1= cuerpo 1, 2= cuerpo 2 y 3=cuerpo 3. **Fuente:** LaMoNec 2018.



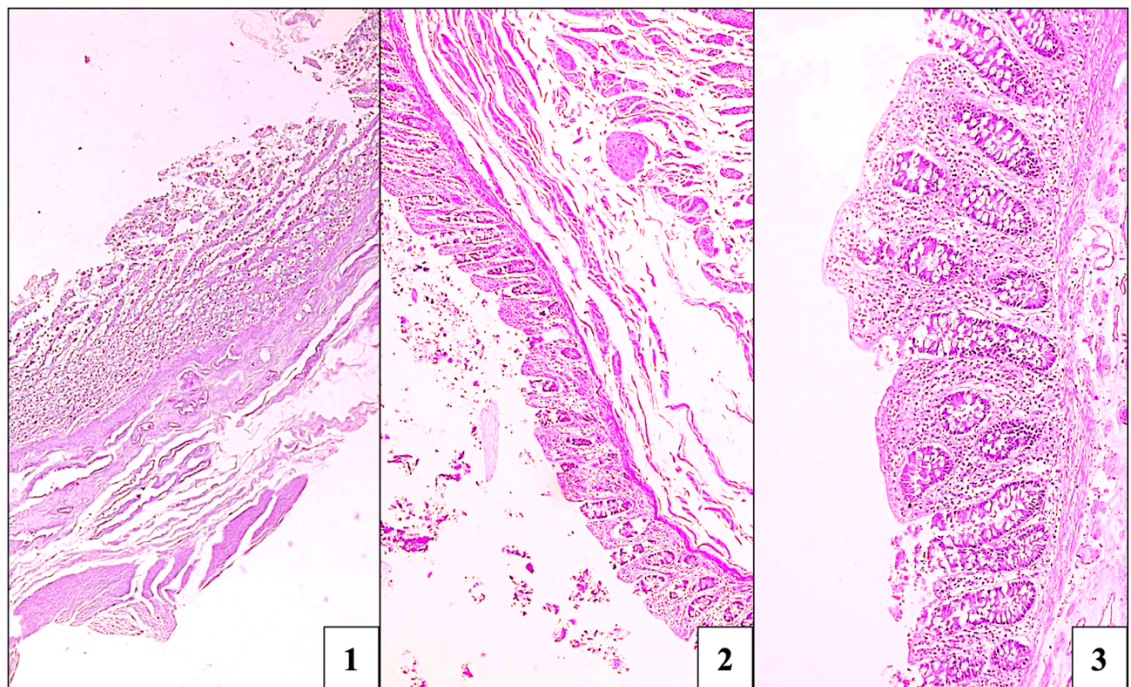
**Gráfico 17:** Comparación del estado de descomposición, de el epitelio intestinal (ciego) en el cuerpo 1 (círculo negro), cuerpo 2 (triángulo rojo) y cuerpo 3 (cruz verde). **Fuente:** LaMoNec 2018.

En lo que respecta el epitelio intestinal, en el grafico 17 se representa el epitelio del ciego; en el cuerpo 1 se observa un 100% de pérdida completa de la basofilia, en el cuerpo 2 el 70% del epitelio presenta pérdida completa de la basofilia y el 30% restante muestra decoloración, no se observó epitelio viable. En el cuerpo 3 un 10% del epitelio se presenta sin autólisis, un 70% con decoloración y el restante 20% presenta pérdida completa de la basofilia; por lo que se observa que el epitelio del ciego se conservó mejor en el cuerpo 3 con la fijación de la fórmula nueva.

En la figura 28 se puede observar la histología del tejido del ciego, y como en el epitelio del cuerpo 3 a pesar de ser el que presenta mejores signos de

conservación a nivel nuclear, en el citoplasma de sus células, se puede observar vacuolización y retracción del citoplasma. Por otro lado que el tejido del cuerpo 2 presenta solamente retracción del citoplasma, y en el tejido del cuerpo 1 no se observa ni retracción del citoplasma ni vacuolización. (Anexo 37-39)

Dejando ver que el epitelio del ciego presenta avanzados signos de descomposición, en las tres muestras evaluadas, patrón que se sigue con todo el epitelio intestinal.



**Figura 28:** Comparación de imagen histológica de ciego, teñido con Hematoxilina Eosina, de los tres cuerpos para evaluar el estado de conservación de las células. 1= cuerpo 1, 2= cuerpo 2 y 3=cuerpo 3. **Fuente:** LaMoNec 2018.

## Discusión

### 4.3.1 Restauración de órganos

La solución de hidróxido de potasio diluido en agua, produce una hidrólisis irreversible en el órgano, donde se descomponen los compuestos orgánicos en otros complejos más sencillos, por medio de la acción del agua. Lisando las cadenas polipeptídicas que ha formado la formalina, con el agua de los tejidos, y que se encuentra rodeando los mismos.<sup>(81-83)</sup> Este proceso se conoce con el nombre de *maceración*, y según los resultados obtenidos se recomienda llevarse a cabo con 2% - 4% del químico por un período de 24 horas. Esto dependerá, si el órgano tiene lesiones previas en el parénquima, o del estado inicial en el que se encuentra el órgano, pues entre más pétreo y de color oscuro se encuentre el órgano a causa de la mala conservación, más tiempo o una mayor concentración del KOH diluido en agua, van a ser necesarias para poder macerar el tejido y obtener una restauración adecuada.

La exposición del tejido al KOH diluido en OH produce una saponificación, que es la hidrólisis de un éster en una solución básica, llevando a la desnaturalización de las proteínas y recibe el nombre de *desengrasado*.<sup>(84,85)</sup> Cuando los órganos: corazón, páncreas, estómago, intestino delgado, intestino grueso; se sometieron a este proceso de saponificación, la desnaturalización de las proteínas llevó a daño del parénquima de los órganos, por lo que se recomienda solamente someter a este proceso a órganos o tejidos ricos en grasas. Y en concentraciones de 2% m/v de KOH diluido en OH, variando el tiempo de exposición según el estado previo del órgano y su cantidad de grasa.

La fase de *lavado*, en donde se disuelve 1% de NaCl en agua, se da por someterse a una sal neutra que permanece con un pH de 7, permitiendo lavar y detener el proceso de hidrólisis por el KOH en agua (maceración) o de la saponificación, según sea el caso. Se recomienda someter los órganos a esta sal por un período de 24 horas.<sup>(84)</sup>

El último paso es el *blanqueamiento*, que se lleva a cabo con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) diluido en agua. Este proceso es rápido, por lo que se pueden utilizar concentraciones de 2% y con tiempos cortos, dependiendo de los resultados que se busquen, pues se pretende lograr un color similar al de un cuerpo fresco, y no un color blanco.

Como resumen se puede decir que el proceso de restauración se lleva a cabo de la siguiente forma:

1. **Macerado:** con KOH diluido en agua, a una concentración de 2% m/v del químico, por un período de 24 horas. En casos de órganos como pulmones o hígado en mal estado de conservación (con características como: una consistencia pétrea y una coloración muy oscura) se puede utilizar al 4% por 24 horas.
2. **Desengrasado:** es utilizado solamente en órganos ricos en grasa, de lo contrario no es necesario realizar este paso y así evitar el daño del parénquima de los mismos. Se recomienda una concentración de 2% m/v del químico diluido en OH y se deja sumergido el órgano por lapsos de tiempo que pueden ir de 6h -24 h, dependiendo del órgano y la cantidad de grasa. También si el órgano tiene lesión en el parénquima de previo, puede causar que sea más friable al proceso de desengrasado.

3. **Lavado:** se realiza con 1% de NaCl diluido en agua por un período de 24 horas.
4. **Blanqueamiento:** Se realiza con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diluido en agua al 2%, por períodos que pueden variar de 2 – 8 horas dependiendo del órgano o tejido y la coloración que se busca obtener.

### 4.3.2 Órganos o tejidos de cuerpos disecados

#### 4.3.2.1 Variables macroscópicas

El formaldehído es un químico que crea enlaces entre un átomo de carbono y 3 de hidrógeno con las proteínas, y algunos de los factores que pueden influenciar la fijación son el tiempo, el pH, la temperatura y la viscosidad.<sup>(83)</sup> En medios alcalinos la fijación de los tejidos se vuelve lenta, mientras que en medios ácidos la misma es una reacción más rápida, así como la presencia de sangre y proteínas en el tejido hacen que el formaldehído libre sea ineficaz, apoyando el acto de realizar exanguinaciones previo al proceso de embalsamado.

El infundir la solución de embalsamado con presiones elevadas, acelera el proceso de fijación, por lo que el embalsamado con la bomba de perfusión garantiza una adecuada perfusión de todos los tejidos siendo un factor que mejora la fijación.<sup>(83)</sup>

Se aconseja utilizar soluciones con volúmenes de formaldehído que vayan de una relación máxima de 1: 25 a mínima de 1:10, con el fin de asegurar la cantidad suficiente del químico para conseguir el embalsamado. En el caso de soluciones fijadoras bajas en concentración de formaldehído, las pocas moléculas de este

químico presentes se va a utilizar en la transformación del metilenglicol hacia formaldehído.<sup>(83)</sup>

El uso de fórmulas de fijación con baja concentración de formalina, son cada vez más utilizadas, pues tal como se demostró en los resultados anteriores, soluciones con bajas concentraciones de formalina, como es el caso del cuerpo 3 embalsamado con la fórmula nueva, se pueden obtener estructuras anatómicas con mayor elasticidad y una consistencia más similar a la de un cuerpo fresco (cuerpo 1). Dando coloraciones más claras de los vasos, los músculos y los nervios que además se hacen más visibles.<sup>(28)</sup> Como se puede apreciar en la figura 12 y 13 en la que se realiza una comparación de la musculatura esquelética de tórax y cuello de los tres cuerpos y se observa como el cuerpo 3 tiene una coloración más clara que la musculatura del cuerpo 2.

La consistencia similar a la de un cuerpo fresco y hasta la flexibilidad en estado pasivo de los cuerpos es dada en el cuerpo 3, por la presencia de alcoholes alifáticos en la solución de embalsamado nueva, químicos que además no producen vapores tóxicos a aire ambiente, razón que explica porque los 31 órganos y tejidos del cuerpo 3 no presentan olor a formalina, sino a un químico que los observadores no logra determinar.<sup>(1)</sup>

Mientras que el cuerpo 2 fijado con la fórmula antigua, considerada un tipo de fijación fuerte por presentar una concentración de formalina mayor, compuesta además en este caso por otros químicos como glicerina, fenol y agua, que provocan una fijación que dura por años, pero además causan que los tejidos tengan una consistencia más rígida, tal como se obtuvo en los resultados anteriores, causando que el tejido no sea tan parecido al de un cuerpo fresco, como se aprecia

en la figura de la 11 a la 17; que permite comparar el la piel y el tejido celular subcutáneo de tórax y abdomen, la musculatura de tórax y abdomen, estructuras superficiales de cuello y en vísceras abdominales.<sup>(28)</sup>

#### ***4.3.2.2 Variables moleculares***

Se obtuvo mayor cantidad de ADN en las muestras del cuerpo 1 (fresco), en el cuerpo 2 y 3 la cantidad recuperada de ADN fue significativamente menor que en el cuerpo 1, la causa más probable de esta disminución importante en la recuperación de ácido nucleico de los dos cuerpos embalsamados, es a causa del formaldehído, químico que produce entrecruzamiento (“cross-linkange”) entre ácidos nucleicos y proteínas, sin importar la concentración del químico, a causa de la hidrólisis de puentes fosfodiéster del ADN y la modificación covalentemente el ARN por adición de grupos mono metilos en las bases, generando problemas en la obtención de material genético de buena calidad, necesario para la aplicación de variadas técnicas moleculares.<sup>(86)</sup> Esto se reafirma con el hecho que en el cuerpo 2 y 3 del tejido que más se recuperó ácido nucleico fue pelo de cuero cabelludo y lecho ungueal, respectivamente, ambos tejidos muy poco vascularizados por lo que la cantidad de fórmula fijadora que logra alcanzar estas células es menor, causando que de este tipo de tejido poco vascularizado se pueda recuperar mayor cantidad de ácido nucleico.<sup>(3)</sup>

Además se puede observar que del cuerpo 2 el tejido del que se recuperó menor cantidad de ácido nucleico fue el duodeno y en el cuerpo 3 fue el íleon, ambos forman parte del sistema digestivo, siendo importante recordar que el cuerpo sufre un proceso de descomposición que se lleva a cabo por medio de dos procesos: 1)

autólisis (en tejido como el cerebro e hígado que son ricos en enzimas hidrolíticas contenidas dentro de las células) y 2) putrefacción (generada por microorganismos como bacterias, hongos y protozoarios provenientes de la biota del ser humano, que degradan el tejido circundante, como sucede en el tracto gastrointestinal).<sup>(78)</sup>

La putrefacción del tejido es otro factor importante que afecta la concentración de ADN extraído de los tejidos, pues en primer instancia los cuerpos se embalsamaron (en el caso del 2 y 3) o las muestras tomadas (en el caso del cuerpo 1) hasta aproximadamente tres semanas posterior a su fallecimiento, dejando claro que el proceso autólisis y putrefacción ya habían iniciado en muchos de los tejidos. Además es importante recalcar que las células epiteliales mueren antes que el tejido conectivo, cartilaginoso y óseo.<sup>(87)</sup> Lo que permite explicar una de las razones por las que se obtuvo mayor cantidad de ADN del pelo de cuero cabelludo y de lecho ungueal en el cuerpo 2 y 3 respectivamente.

Otro de los resultados que se observó fue que la absorbancia media en el cuerpo 1 fue de 1,83; en el cuerpo 2 de 1,38 y en el cuerpo 3 de 1,50. Demostrando que la mayor pureza de las muestras se encuentra en orden decreciente en el cuerpo 1, cuerpo 3 y por último en el cuerpo 2.

La absorción de luz UV se utiliza para determinar la concentración de la molécula de ADN en los órganos o tejidos estudiados, midiéndose con un espectrofotómetro que calcula la relación de A260/A280, una proporción de 1.8 es aceptada como ADN puro, cuando la proporción es inferior se considera que hay presencia de proteínas a causa de autólisis celular.<sup>(88)</sup>

Pues como ya se mencionó el contacto del material genético con el formaldehído sin bufferizar causa degradación de la molécula de ADN y por eso la pureza en las muestras del cuerpo 2 son menores, pues el porcentaje de formaldehído en dicha fórmula es mayor.

De las muestras examinadas en el cuerpo 2 se obtuvo la muestra de duodeno con una pureza de 1.66 y en el cuerpo 3 la muestra de estómago y duodeno tenían una pureza de 1.67 y lecho ungual de 1.87, demostrando alta pureza de dichas muestras.

Al momento de la amplificación con la fracción del gen SNC5A, solamente las muestras del cuerpo 1 amplificaron, la totalidad de las muestras del cuerpo 2 y 3 no presentaron amplificación, dejando ver que el ADN recuperado de ellas, no solo era menos puro, sino que además se encontraba más degradado por el contacto con el formaldehído.

Se realiza la amplificación de algunas muestras del cuerpo 1, 2 y 3 con el fragmento del gen AMELY, con el fin de corroborar que el ADN se encontraba fragmentado, pues dicho cuenta con un amplicón con menor cantidad de pares de bases que el amplicón del fragmento para el gen SNC5A.

Con lo cual se obtuvo una amplificación positiva para todas las muestras examinadas, permitiendo apreciar que el ADN se encontraba fragmentado en las muestras de los 2 cuerpos embalsamados.

Llevando a la interrogante si será necesario el uso de formalina bufferizada para el proceso de embalsamado, pues se sabe este químico sin bufferizar, promueve la acidificación del entorno lesionando la molécula de ADN y fragmentándola, a pesar que el ADN tiene una estabilidad dada por su estructura helicoidal, es

físicamente frágil, por ser una molécula grande, flexible y de peso molecular alto, causando que se separe en fragmentos con facilidad.<sup>(72,89)</sup>

#### ***4.3.2.3 Variables histológicas***

Como resumen de los resultados, se puede observar en 6 de los tejidos evaluados histológicamente de los 31 órganos o tejidos (ganglio linfático, músculo esquelético, cartílago, tejido renal, tejido intestinal, y tejido hepático) que presentaron una mejor conservación en el cuerpo 3 (fórmula nueva), solo en el tejido pulmonar y esplénico se conservó mejor en el cuerpo 2 (fórmula vieja) y únicamente el tejido glandular se conservó mejor en cuerpo 1 (cuerpo fresco).

Mucha de las imágenes histológicas obtenidas se deben a que el tejido analizado tenían un tiempo de fallecimiento de más de 25 días pero menor de 30 días, y las muestras para valorar imágenes histológicas deben de ser fijadas lo más cercano a la muerte del paciente, con el fin de evitar lesiones en el núcleo y el citoplasma. Pero la mayoría de los tejidos analizados del cuerpo 1, presentaron una conservación muy similar a la del cuerpo 3, llevándonos a concluir que los cuerpos fijados con la solución fijadora nueva presenta una fijación adecuada también a nivel histológico y que los cambios celulares presentados se deben a cambios por el proceso de autólisis de los tejidos durante la descomposición.

Como ya se menciona la autólisis es un proceso de destrucción celular que inicia en tejidos metabólicamente más activos y ricos en agua, lisosomas y enzimas hidrolíticas, como el hígado y cerebro. A causa de la condición anaeróbica dentro del cadáver, las células recurren al glicólisis como una fuente alternativa de energía y produce dióxido de carbono y lactato, llevando a un descenso del pH celular

causando lesión en las membranas y por ende liberación de las enzimas, liberando energía y nutrientes que son utilizados en las reacciones microbiológicas posteriores y el proceso de putrefacción.<sup>(77,78)</sup>

Esto explica que las glándulas muestren autólisis de su tejido de diferentes grados; en el caso de el tejido pulmonar con más de 5 días de fallecido presenta autólisis casi completa del tejido, mientras que el tejido hepático con fechas de fallecimiento entre los 5-22 días se presenta importante retracción del citoplasma.<sup>(77)</sup>

En el caso de las muestras analizadas, concuerda con la destrucción casi total del tejido digestivo en los tres cuerpos, con una leve mejora en la conservación en el tejido del cuerpo 3.<sup>(77)</sup>

Desde 1975 Muller<sup>(77)</sup> describió el orden y la causa por la que los distintos órganos llevan a cabo su proceso de descomposición de forma distinta, y son los órganos con un mayor contenido de enzimas líticas los que se autolizan horas después de la muerte, al igual que la mucosa del sistema digestivo, a diferencia de los tejidos ricos en colágeno en donde la autólisis se lleva a cabo a un tiempo más lento. Mismo patrón que se observó en las muestras analizadas.

En el caso específico del tejido pulmonar los tres cuerpos presentaban enfisema como patología de fondo, ocasionando que procesos infecciosos aceleren el proceso de autólisis, y en este tejido la solución fijadora nueva no fuera suficiente para lograr una conservación mejor del tejido pulmonar, como si lo presentó la fórmula vieja.<sup>(77)</sup>

## Conclusiones

- El proceso de restauración por medio del macerado con hidróxido de potasio diluido en agua, es un proceso adecuado para lograr dar una mayor vida útil al material biológico.
- La fase de desengrasado con hidróxido de potasio diluido en alcohol, durante la restauración no debe de aplicarse a todos los órganos, solamente a los que son muy ricos en tejido graso.
- El proceso de restauración para la mayoría de los órganos lleva las siguientes fases: **Macerado** con KOH diluido en H<sub>2</sub>O, a una concentración de 2 - 4% m/v del químico, por un período de 24 horas. **Lavado** con NaCl diluido en H<sub>2</sub>O utilizando 1% del químico por un período de 24 horas. **Blanqueamiento** con peróxido de hidrógeno diluido en H<sub>2</sub>O utilizando 2% del químico por un período de tiempo de 2 – 8 horas según el color deseado en el órgano.
- Con la aplicación del proceso de restauración a distintas piezas anatómicas, se logra aumentar el la vida útil de cada pieza, mejorando además significativamente la apariencia de las mismas.
- La fijación con la fórmula nueva es adecuada para mantener características como textura o consistencia en los tejidos, de forma similar a la de un cuerpo fresco además con disminución del olor a formalina.
- La fijación con la fórmula antigua permite una adecuada fijación macroscópica del tejido, pero con una consistencia distintas a las de un cuerpo fresco, con persistencia de un olor a formalina.

- La coloración del tejido varía según la fórmula de embalsamado y el tejido u órgano evaluado, pero hay mayor similitud en la coloración de los tejidos embalsamados con fórmula nueva y un cuerpo fresco que los embalsamados con fórmula antigua y un cuerpo fresco.
- La fijación con fórmula nueva presenta una adecuada fijación de los tejidos, desde el punto de vista macroscópico.
- La fijación con fórmula nueva presenta una adecuada fijación de los tejidos a nivel histológico, conservando la morfología de los tejidos en la mayoría de los casos estudiados, en comparación con las láminas histológicas de tejidos del cuerpo fresco o fijado con fórmula antigua.
- La fijación con la fórmula nueva, crea una imagen eosinófilica de fondo que se observa mayoritariamente en tejido cartilaginoso, no observable en los cuerpos fijados con fórmula antigua o el cuerpo fresco.
- La fórmula nueva no solamente trae ventajas en las características de cada pieza anatómica una vez fijada, sino que además es una fórmula que no requiere sumerción en fosas con soluciones químicas, la pieza anatómica o el cuerpo puede ser utilizado a las 48 horas de embalsamado y puede ser almacenado en racks verticales, lo que conlleva a menor contaminación ambiental por menor uso de químicos y supresión de las fosas de embalsamado y menor riesgo laboral al ser una formulación con menor concentración de formalina.

- Es posible crear un banco de tejidos con el material anatómico ya existente en la Escuela de Medicina por medio de el procedimiento descrito, y lograr a travez de el mismo la identificación de donantes no identificados.
- El protocolo de extracción de ADN y su respectiva PCR debe ser un protocolo que se adapta de la extracción de tejido en seres vivos, a un protocolo específico para cadaver.
- Se recomienda la utilización de amplificaciones pequeñas (aproximadamenrte 100 pb) para la amplicifación de ADN en tejido de cadáveres embalsamados.
- Se recomienda el uso de formalina bufferizada para el embalsamado de los cuerpos, lo cual permite disminuir los efectos en el daño del tejido histológico y en el material genético a causa de el ambiente ácido que genera la formalina sin bufferizar.

**Glosario:**

<b>Blanqueamiento</b>	Proceso químico realizado con $H_2O_2$ diluido en agua para lograr el aclaramiento deseado en el material biológico
<b>Cuerpo 1</b>	Cuerpo fresco, sin ningún proceso de fijación
<b>Cuerpo 2</b>	Cuerpo fijado con fórmula antigua, con concentración de formaldehído del 10 % diluida en agua.
<b>Cuerpo 3</b>	Cuerpo fijado con fórmula nueva, con una concentración de formaldehído menor del 6%, con una fórmula a base de alcoholes.
<b>Desengrasado</b>	Proceso químico de saponificación llevado a cabo con KOH diluido en OH.
<b>Disección</b>	Proceso por el cual se separan por planos distintas estructuras del cuerpo humano (piel, grasa, tejido muscular, arterias y/o nervios)
<b>Embalsamar</b>	Proceso por el cual se infunde por vía arterial en el cuerpo una solución fijadora que evita el proceso de descomposición y putrefacción celular.
<b>Fórmula antigua</b>	Fórmula de embalsamado con una concentración de formalina de 10% m/v, diluido en agua
<b>Fórmula nueva</b>	Fórmula de embalsamado con una concentración de formalina menor al 6% m/v, con una fórmula a base de alcoholes.
<b>Lavado</b>	Proceso químico llevado a cabo con NaCl diluido en agua
<b>Macerado</b>	Proceso químico llevado a cabo con KOH diluido en agua
<b>Observador 1</b>	Investigador
<b>Observador 2</b>	Docente del Departamento de Anatomía.
<b>Observador 3</b>	Docente del Departamento de Anatomía.

**Bibliografía:**

1. Balta Jy, Cronin M, Cryan Jf, O'mahony Sm. Human preservation techniques in anatomy: A 21st century medical education perspective. *Clin Anat* [Internet]. 2015 Sep;28(6):725–34. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ca.22585>
2. Davidson SS, Benjamin WH. Risk of infection and tracking of work-related infectious diseases in the funeral industry. *Am J Infect Control*. 2006;34(10):655–60.
3. Wheeler A, Czado N, Gangitano D, Turnbough M, Hughes-Stamm S. Comparison of DNA yield and STR success rates from different tissues in embalmed bodies. *Int J Legal Med* [Internet]. 2017 Jan 23;131(1):61–6. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00414-016-1405-5>
4. Ghosh SK. Paying respect to human cadavers: We owe this to the first teacher in anatomy. *Ann Anat* [Internet]. 2017;211:129–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aanat.2017.02.004>
5. Beltrán JA. Historia de la preservación de cadáveres humanos. *Morfología*. 2009;3:5–10.
6. Saeed M, Rufai AA, Elsayed SE. Mummification to plastination. *Saudi Med J*. 2001;22(11):956–9.
7. Blessing A, Olubunmi E, Abidemi O. Human Embalming Techniques : A Review. *Am Journal of Biomed Sci*. 2018;10(2):82–95.
8. Brenner E. Human body preservation - old and new techniques. *J Anat*. 2014;224(3):316–44.

9. Duque JE, Barco J, Morales G. La Disección In vivo (Vivisección): Una Visión Histórica. *Int J Morphol* [Internet]. 2014;32(1):101–5. Available from: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-95022014000100017&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022014000100017&lng=en&nrm=iso&tlng=en)
10. Balta JY, Cryan JF, O'Mahony SM. The Antimicrobial Capacity of Embalming Solutions: A Comparative Study. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2018;0–3. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jam.14191>
11. Loukas M, Hanna M, Alsaiegh N, Shoja MM, Tubbs RS. Clinical anatomy as practiced by ancient Egyptians. *Clin Anat*. 2011;24(4):409–15.
12. Téllez E. El uso de los animales en la educación. Un análisis bioético. *Murmillos filosóficos*. 2012 Aug;52–9.
13. Rosell W, Paneque E, Gómez M. Evolución histórica de la Morfología. *Educ Med Sup*. 2005;19(1).
14. Enrique R, Omaña E, Ángeles MDL, Rodríguez G, Morales JA. Ética, filosofía e historia de la medicina El arte de la disección a través del tiempo. 2006;8(33):254–8.
15. Romero A, Ramírez J, López R, Cuevas G, Orta JFD la, Trejo LF, et al. Galeno de Pérgamo: Pionero en la historia de la ciencia que introduce los fundamentos científicos de la medicina. *An Med (Mex ...* [Internet]. 2011;56(4):218–25. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/abc/bc-2011/bc114g.pdf>
16. García Guerrero M. Medicina y arte. La revolución de la anatomía en el Renacimiento. *Rev Cient la Soc Esp Enferm Neurol* [Internet]. 2012;2012(35):25–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/S2013->

5246(12)70015-6

17. Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado Mexico. Leonardo da Vinci en la medicina. *Rev Espec Médico -Quirúrgicas*. 2003;8(3):24.
18. Mandressi R. La mirada del anatomista. Disecciones e invención del cuerpo en occidente. Ciudad de México; 2012. 9–328 p.
19. Romero R. Andreas Vesalius (1514-1564). Fundador de la Anatomía Humana Moderna. *Int J Morphol* [Internet]. 2007;25(4):847–50. Available from: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-95022007000400026&script=sci\\_arttext&tIng=pt%5Cnhttp://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-95022007000400026&Ing=es&nrm=iso&tIng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-95022007000400026&script=sci_arttext&tIng=pt%5Cnhttp://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022007000400026&Ing=es&nrm=iso&tIng=es)
20. Wilcox RR, Muska J. Comparing Correlation Coefficients. *Commun Stat - Simul Comput* [Internet]. 2002;31(1):49–59. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1081/SAC-9687281>
21. Sánchez Carpio C, Andromaco M, Páez R, Barello M del R, Pedernera G. Estudio de nuevas técnicas para conservación de piezas anatómicas , Plastinación. *Rev Salud Publica*. 2012;3(XVI):27–32.
22. San Mauro M. Evaluación alejada y comparada de los resultados del método de enseñanza de la anatomía normal en cada una de las tres Cátedras De La Facultad De Ciencias Medicas De La UNLP. Universidad Nacional de la Plata; 2007.
23. Alvermann D, Mittenzwei J. The Anatomical Institute at the University of Greifswald during National Socialism: The procurement of bodies and their

- use for anatomical purposes. *Ann Anat* [Internet]. 2016;205:103–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aanat.2016.02.006>
24. Wolff D, Villa P, Neirreitter A, Ruibal C, Ugon GA, Salgado G, et al. Estudio Comparativo entre Soluciones Conservadoras con y sin Formol en Placenta Humana Comparative Study between Conservative Solutions with and without Formaldehyde in Human Placenta. *Int J Morphol*. 2012;30(2):432–8.
  25. Tompsett DH. *Anatomical techniques*. 2º ed. Edinburgh and London; 1970. 283 p.
  26. Coleman R, Kogan I. An improved low-formaldehyde embalming fluid to preserve cadavers for anatomy teaching [3]. *J Anat*. 1998;192(3):443–6.
  27. Muñetón CA, Ortiz JA. Conservación y elaboración de piezas anatómicas con sustancias diferentes al formol en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de La Salle \*. *Rev Med Vet (Toulouse)*. 2011;29(2):531–6.
  28. Kalanjati V, Prasetiowati L, Alimsardjono H. The use of lower formalin-containing embalming solution for anatomy cadaver preparation. *Med J Indones*. 2012;21:203–7.
  29. Muñetón Gómez CA, Ortiz JA. Preparation in Glycerin: A Technique for Prolonged Preservation of Bodies in Veterinary Anatomy. *Rev Med Vet (Bogota)*. 2013;(26):115–22.
  30. Fonseca-Matheus J, Rojas E, Peraza M. Efecto de una solución a base de sulfato de cobre y baja concentración de formol en la preparación de animales para disección. *Gac Ciencias Vet*. 2013;18:41–6.
  31. Hayashi S, Naito M, Kawata S, Qu N, Hatayama N, Hirai S, et al. History

- and future of human cadaver preservation for surgical training: from formalin to saturated salt solution method. *Anat Sci Int*. 2016;91(1):1–7.
32. Dixit D, Athavia PD, Pathak HM. Toxic effects of embalming fluid on medical students and professionals. 2005;27(4):971–3.
  33. Saowakon N, Ngernsoungnern P, Watcharavitoon P, Ngernsoungnern A, Kosanlavit R. Formaldehyde exposure in gross anatomy laboratory of Suranaree University of Technology: a comparison of area and personal sampling. *Environ Sci Pollut Res*. 2015;22(23):19002–12.
  34. Al-Hayani AA, Hamdy RM, Abd El-Aziz GS, Badawoud MH, Aldaqal S, Bedir Y. Shellac: A non-toxic preservative for human embalming techniques. Vol. 10, *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2011. p. 1561–7.
  35. Harison R, LaDou J. Chemicals. In: McGraw-Hill Education, editor. *CURRENT Diagnosis & Treatment: Occupational & Environmental Medicine* [Internet]. 5<sup>o</sup> ed. New York; 2013. Available from: <http://accessmedicine.mhmedical.com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr:2048/content.aspx?bookid=1186&sectionid=66483018>.
  36. U.S. Environmental Protection Agency Washington D.C. *TOXICOLOGICAL REVIEW OF Phenol. Assessment*. Washington D.C.; 2002.
  37. Pines E. *The Chemistry of Phenols*, Chapter 7. 2003. 1–198 p.
  38. Tomalty D, Pang SC, Ellis RE. Preservation of neural tissue with a formaldehyde-free phenol-based embalming protocol. *Clin Anat*. 2018;1–18.
  39. Weisburger JH. Chapter 3: Mutagenic, Carcinogenic, and Chemopreventive Effects of Phenols and Catechols. In: *In Phenolic Compounds in Food and*

- Their Effects on Health II [Internet]. Washington D.C.; 1992. p. 35–47.  
Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-1992-0507.ch003>
40. Zumreoglu-Karan B, Kose DA. Boric acid: A simple molecule of physiologic, therapeutic and prebiotic significance. *Pure Appl Chem.* 2015;87(2):155–62.
  41. The Soap and Detergent Association (SDA). Glycerine: an overview terms technical data properties performance. New York; 1990.
  42. Columbus Chemical Industries I. Glycerin. Material Safety Data Sheet. Columbus; 2009. Report No.: 314.
  43. rams-Martínez S. Agua oxigenada FDS. 2007;34–7. Available from: [https://www.javeriana.edu.co/documents/4486808/5015300/AGUA+OXIGENADA\\_T3QUIMICA.pdf/a345235b-b568-4339-a341-304d1d36c3c2?version=1.0](https://www.javeriana.edu.co/documents/4486808/5015300/AGUA+OXIGENADA_T3QUIMICA.pdf/a345235b-b568-4339-a341-304d1d36c3c2?version=1.0)
  44. Aris industrial. Peroxido de hidrogeno. 2011. p. 7473.
  45. ATSDR. PERÓXIDO DE HIDRÓGENO (Hydrogen Peroxide) CAS # 7722-84-1 División de Toxicología ToxFAQs TM [Internet]. 2002. p. 1–2. Available from: [www.atsdr.gov/es/](http://www.atsdr.gov/es/)
  46. PROQUIMORT. Hoja de datos de seguridad hidroxido de potasio [Internet]. 2012. p. 1–4. Available from: [https://www.javeriana.edu.co/documents/4486808/5015300/HIDROXIDO+DE+POTASIO+85%25\\_CC\\_S.pdf/8b6496a3-8dbe-421b-aaf1-390b7db596df?version=1.0](https://www.javeriana.edu.co/documents/4486808/5015300/HIDROXIDO+DE+POTASIO+85%25_CC_S.pdf/8b6496a3-8dbe-421b-aaf1-390b7db596df?version=1.0)
  47. Escuela de Química UN. Hoja De Datos De Seguridad Cloruro De Sodio [Internet]. Ctr Scientific. 2016. p. 1–5. Available from:

<https://www.ctr.com.mx/pdfcert/Cloruro de Sodio.pdf>

48. Franco Castillo JC. Restauración de piezas anatómicas humanas, Universidad Nacional de Colombia. 2013 [Internet]. Universidad Nacional de Colombia; 2014. Available from: <http://www.bdigital.unal.edu.co/44115/>
49. Rojas JD. Comunicación personal. 2017.
50. Rojas JD. Más Alla de la Fijación y Conservación de Componentes Anatómicos Humanos. In: Bernal M, editor. VII Congreso Colombiano de Morfología. Tunja/Boyacá; 2012. p. 49–50.
51. Pineda D. 1er Curso de conservación de cadáveres y otras técnicas de preservación anatómica. 2016.
52. Pineda D, Valencia L, Rodríguez O. Manual 2º Curso de Conservación de Cadáveres y Otras Técnicas de Preservación Anatómica. Ciudad de México; 2017.
53. Alanís-Mendizábal J, Estrada-León R, Ordóñez-Velázquez S, De Jesús-Luis A, Vallarta-Compeán S, Valencia-Caballero L, et al. Técnica de Restauración Aplicada a Fetos. In: XXII Reunión Nacional de Morfología. México; 2017. p. 117.
54. Pineda D. Taller: La Docencia en Anatomía, un Enfoque Integral Desde la Disección Hasta los Salones de Clase. UNAM: Ciudad de México; 2017.
55. Álvarez Herrera L, Sánchez Calvo JC. Formalina: características y mecanismos de control ante la exposición del personal en los servicios de anatomía patológica a nivel hospitalario. Rev Med Costa Rica [Internet]. 2012;34(602):235–9. Available from: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/602/art14.pdf>

56. Del Valle C, Rodríguez A, Espinoza M. Comparación de tres métodos de extracción de ADN a partir de restos óseos. *Rev Biol Trop*. 2004;52(3):717–25.
57. Jiménez-Arce G, Morera-Brenes B. Revisión sobre la extracción de ADN partir de huesos humanos. *Medicina Legal de Costa Rica* [Internet]. 1999 Sep;16. Available from: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1409-00151999000200004](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00151999000200004)
58. Forense A. Personas Desaparecidas Análisis Forense De Adn E Identificación De Restos Humanos. *Com Int Geneve* [Internet]. 2010;52. Available from: [https://www.icrc.org/spa/assets/files/other/icrc\\_003\\_4010.pdf](https://www.icrc.org/spa/assets/files/other/icrc_003_4010.pdf)
59. Da Silva RHA, Sales-Peres A, De Oliveira RN, De Oliveira FT, Sales-Peres SHDC. Use of DNA technology in forensic dentistry. *J Appl Oral Sci*. 2007;15(3):156–61.
60. Jeffreys. A. J., Wilson. V. TSL. Individual-specific “fingerprints” of human DNA. *Nature*. 1985;316:76–9.
61. Reyes Calderón Ja. Efecto del tiempo y la temperatura en la viabilidad del ADN en Archivos de Criminología, Seguridad Privada y Criminalística. 2014;IV(july 2015):1–14.
62. Patricia García M.1 2, Felipe Benavente M.1 2, A.1 AM, Iván Roa E.1 3, S.1 JCR. Efecto de la fijación en la calidad del ADN: estudio controlado con cinco fijadores. *Rev Esp Patol* [Internet]. 2006;39(3):175–9. Available from: <http://www.elsevier.es>

63. Ben-Ezra J, Johnson DA, Rossi J, Cook N, Wu A. Effect of fixation on the amplification of nucleic acids from paraffin-embedded material by the polymerase chain reaction. *J Histochem Cytochem.* 1991;39(3):351–4.
64. Butler JM. Introduction and issue summary: New trends in forensic genetics. *Forensic Sci Int Genet.* 2015;18(2015):1–3.
65. Rica C. Proteínas de matriz de esmalte (AMELOGENINA) Revisión Bibliográfica. *Rev Científica Odontológica.* 2005;1(1):27–35.
66. Salvador Velarde-Félix J, Molina-Benítez CE, Del S, Solórzano-Rosales R, Guadalupe Cázarez-Salazar S, Rendón-Aguilar H, et al. Identificación del sexo mediante análisis molecular del gen de la amelogenina Artemisa medigraphic en línea. *Rev Mex Patol Clin [Internet].* 2008;55(1):17–20. Available from: [www.medigraphic.com](http://www.medigraphic.com)
67. Gibson CW, Collier PM, Yuan ZA, Chen E. DNA sequences of amelogenin genes provide clues to regulation of expression. *Eur J Oral Sci.* 1998;106(S1):292–8.
68. Sasaki S, Shimokawa H. The amelogenin gene. *Int J Dev Biol.* 1995;39(1):127–33.
69. Hernández Ó. La Estadística, el Muestreo Probabilístico y la Recolección de Datos. In: UCR, editor. *Estadística Elemental para Ciencias Sociales.* 4º ed. San José. Costa Rica; 2016. p. 1–60.
70. Lopez Galparsoro I, Pita Fernandez S. Medidas de concordancia : el índice de Kappa. *Cad Aten Primaria.* 1999;6:169–71.
71. Cerda J, Villarroel del P L. Evaluación de la concordancia inter-observador en investigación pediátrica : Coeficiente de Kappa. *Rev Chil Pediatr.*


- 2008;79(1):54–8.
72. Lourdes Prieto S. Estudio de polimorfismos de ADN en restos humanos antiguos y muestras forenses críticas. Valoración de estrategias y resultados. Universidad Complutense De Madrid; 2002.
  73. Wheeler A, Czado N, Gangitano D, Turnbough M, Hughes-Stamm S. Comparison of DNA yield and STR success rates from different tissues in embalmed bodies. *Int J Legal Med.* 2017;131(1):61–6.
  74. Carson FL, Martin JH, Lynn JA. Formalin Fixation for Electron Microscopy : A Re-evaluation. *AJCP.* 1973;59(Marzo):365–73.
  75. Terán SLV, Fierros LM, Botello NRR, Hernández ALG, Molina MO, Aguirre AM, et al. *Histología e Inmunohistoquímica. Manual de métodos* [Internet]. MC José Jaime Ávila Valdivieso, editor. Ciudad de México; 2013. 44 p. Available from: <http://antares.iztacala.unam.mx/papime/wp-content/uploads/2014/10/Histologia1.pdf>
  76. Prophet E, Mills B, Arrington J, Sobin L. *Métodos Histotecnólogos.* 1º ed. Washington; 1995. 1–280 p.
  77. Cocariu EA ndra, Mageriu V, Stăniceanu F, Bastian A, Socoliuc C, Zurac S. Correlations Between the Autolytic Changes and Postmortem Interval in Refrigerated Cadavers. *Rom J Intern Med.* 2016;54(2):105–12.
  78. Hau TC, Hamzah NH, Lian HH, Amir Hamzah SPA. Decomposition process and post mortem changes: Review. *Sains Malaysiana.* 2014;43(12):1873–82.
  79. Cairns FJ. *Forensic Histopathology.* *Pathology.* 2016;18(1):173.
  80. Nadol JB, Burgess B. A study of postmortem autolysis in the human organ of corti. *J Comp Neurol.* 1985;237(3):333–42.

81. Rueda Esteban RJ, López McCormick JS, Martínez Prieto DR, Hernández Restrepo JD. Corrosion Casting, a Known Technique for the Study and Teaching of Vascular and Duct Structure in Anatomy. *Int J Morphol.* 2017;35(3):1147–53.
82. Rueda-Esteban RJ, Palacio Varona J, López-McCormick JS, Hernández Restrepo JD. Diaphanization: A Standardized Protocol for Non-Fetal Tissue Preservation. *Int J Morphol.* 2017;35(2):547–51.
83. Thavarajah R, Mudimbaimannar V, Rao U, Ranganathan K, Elizabeth J. Chemical and physical basics of routine formaldehyde fixation. *J Oral Maxillofac Pathol* [Internet]. 2012;16(3):400. Available from: <http://www.jomfp.in/text.asp?2012/16/3/400/102496>
84. Yurkanis Bruice P. Jabones, detergentes y micelas. In: *Fundamentos de química orgánica*. 1º Edición. México: Pearson Educacion; 2007. p. 624.
85. Proaño F, Stuart JR, Chongo B, Flores L, Herrera M, Medina Y, et al. Evaluación de tres métodos de saponificación en dos tipos de grasas como protección ante la degradación ruminal bovina. *Rev Cuba Cienc Agrícola.* 2015;49(1):35–40.
86. Patricia García M.1 2, Felipe Benavente M.1 2, A.1 AM, Iván Roa E.1 3, S.1 JCR. Efecto de la fijación en la calidad del ADN: estudio controlado con cinco fijadores. *Rev Esp Patol* [Internet]. 2006;39(3):175–9. Available from: <http://www.elsevier.es>
87. Dettmeyer RB. Histothanatology: Autolysis, Putrefaction, Mummification. In: Springer Science & Business Media, editor. *Forensic Histopathology*. Berlin; 2011. p. 401–12.

88. Alejos L, Aragón M, Cornejo A. Extracción y purificación de ADN. *Herramientas moleculares aplicadas en ecología*. 2008;1–26.
89. Daza C, Guillen J, Rey J, Ruiz V. Evaluación De Un Método De Extracción Y Purificación De Dna a Partir De Tejido Muscular Fijado En Formaldehido De Cadáveres No Identificados Evaluation of a Method of Extracting and Purifying Dna From Muscle Tissue Fixed in Formaldehyde Unidentified Bodie. *Rev Med Rev* [Internet]. 2014;22(1):42–9. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/med/v22n1/v22n1a06.pdf>

**Anexos**

## Anexo 1: Comité ético Científico, Sesión número 69, Oficio: VI-5670-2017



UNIVERSIDAD DE  
COSTA RICA

**VI** Vicerrectoría de  
Investigación

17 de agosto de 2017  
VI-5670-2017

**Escuela de Medicina**

Registro N° 1234

Fecha: \_\_\_\_\_

Trámite a realizar, por sección

Administrativa ( )

Estudiantil ( )

Dirección ( )

Firma: \_\_\_\_\_

UCR EN 12:07 AG02211


Juan Madrigal Sánchez  
Investigador  
Escuela de Medicina

El Comité Ético Científico (CEC) en su sesión No.69, celebrada el 19 de julio de 2017 sometió a consideración el Proyecto de Investigación "Estandarización de técnicas de preservación, restauración y extracción de piezas anatómicas y material genético de la morgue y laboratorio del Departamento de Anatomía de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica".


Después del análisis y la deliberación correspondientes, el Comité acuerda:

**Acuerdo N°17:** Declarar aprobado el Proyecto de investigación "Estandarización de técnicas de preservación, restauración y extracción de piezas anatómicas y material genético de la morgue y laboratorio del Departamento de Anatomía de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica", del Investigador Juan Madrigal Sánchez.


Quedamos en la entera disposición de colaborar ante cualquier consulta.  
Sin más por el momento, se suscribe cordialmente,



M.Sc. Alfonso Chacón Mata  
Presidente Comité Ético Científico




Lic. Carlos Alberto Fonseca Zamora, Decano Escuela de Medicina  
 M.Sc. Darío Hernández, Gestor de proyectos VI  
 Archivo/consecutivo.



---

Tel: 2511-1350 | Fax: (506) 2224-9367 | Correo electrónico: vi@vinv.ucr.ac.cr | Portal de Investigación: www.vinv.ucr.ac.cr. Dirección: Cuarto piso de la Biblioteca Demetrio Tinoco. Sede Rodrigo Facio.

**Anexo 1: Vicerrectoría de Investigación, Oficio VI-6343-2017, aprobación del proyecto.**

 <p>UNIVERSIDAD DE COSTA RICA</p>	<p><b>VI</b> Vicerrectoría de Investigación</p>
<p>29 de agosto de 2017 VI-6343-2017</p>	<p>R/UPNCY 5-9-</p>
<p>Dr. Juan José Madrigal Sánchez Investigador Escuela de Medicina</p>	
<p>Estimado señor:</p>	
<p>Nos complace comunicarle que esta Vicerrectoría ha aprobado la inscripción y ejecución del proyecto, COMPROMISO-2018, denominado "Estandarización de técnicas de preservación, restauración y extracción de piezas anatómicas y material genético de la morgue y laboratorio del Departamento de Anatomía de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica", con el código N° 422-B7-367, el cual se registrará bajo las siguientes condiciones:</p>	
<p><b>VIGENCIA:</b> Del 01 de agosto de 2017 al 31 de enero de 2019.</p>	
<p><b>PRESUPUESTO:</b> Se le recuerda al investigador que la inscripción de la propuesta no implica compromiso presupuestaria para el 2018, por lo que previo a la asignación de fondos mediará un concurso que discriminará por calidad las propuestas para tal efecto.</p>	
<p><b>PRESENTACIÓN DE INFORMES:</b> Los formularios y guías para la presentación de informes los puede obtener en la dirección electrónica: <a href="http://www.vinv.ucr.ac.cr">www.vinv.ucr.ac.cr</a> en el módulo INVESTIGADORES. Para el presente proyecto se establecen las siguientes fechas para su presentación:</p>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Informe parcial: 31 de julio de 2018</li> <li>• Informe final: 31 de enero de 2019</li> </ul>	
<p>Le solicitamos que tome en consideración que, parte fundamental de sus obligaciones laborales y académicas es presentar los informes debidamente aprobados por las comisiones de investigación y/o consejos científicos oportunamente en las fechas asignadas, tal como lo estipula esta Vicerrectoría en la Resolución VI-6835-2015. No obstante, le sugerimos que, en caso de que se le presente algún inconveniente para la presentación de sus informes, nos notifique con suficiente anticipación con el aval de la dirección de la unidad de adscripción del proyecto; o bien, de no ser posible, en un plazo no mayor a quince días posterior a la fecha asignada para la presentación del informe, con el fin de encontrar una solución conjunta.</p>	
<p>Le recordamos que el fin principal de todo proceso de investigación es la búsqueda sistemática de conocimientos que repercutan en la docencia y la acción social; por lo que, consideramos conveniente que los resultados sean divulgados ampliamente por todos los medio académicos y extraacadémicos de conocido impacto nacional y/o internacional. La Vicerrectoría valorará estas acciones en la inscripción futura de nuevas propuestas.</p>	
<p>El/la director(a) de su unidad tiene la obligación de velar por la buena marcha de esta investigación; por lo tanto, los informes deben ser presentados a la Vicerrectoría a través de la Dirección, previa aprobación de la comisión de investigación o el consejo científico; en caso de incumplimiento o informes insatisfactorios, esta Vicerrectoría se reserva el derecho de suspender la autorización para seguir ejecutando el proceso de investigación en referencia y de aplicar la normativa universitaria correspondiente.</p>	
<p>Tel: 2511-1350   Fax: (506) 2224-9367   Correo electrónico: <a href="mailto:vi@vinv.ucr.ac.cr">vi@vinv.ucr.ac.cr</a>   Portal de Investigación: <a href="http://www.vinv.ucr.ac.cr">www.vinv.ucr.ac.cr</a>. Dirección: Cuarto piso de la Biblioteca Demetrio Tinoco. Sede Rodrigo Facio.</p>	



UNIVERSIDAD DE  
COSTA RICA

VI Vicerrectoría de  
Investigación

VI-6343-2017

Página 2

**INVESTIGADORES PARTICIPANTES:**

- Juan José Madrigal Sánchez, Investigador principal, sin carga.
- Jessica González Fernández, Investigadora asociada, sin carga.

**AVAL COMITÉ ÉTICO CIENTÍFICO:**

Este proyecto fue evaluado y aprobado por el Comité Ético Científico, según oficio VI-5670-2017, en la sesión N° 69, del 19 de julio del año en curso.

**AUSENCIA DE CONFLICTOS DE INTERÉS**

Con la aceptación de estas condiciones, está usted aceptando que no se presenta por su parte o algunos de los colaboradores de la investigación un conflicto de interés directo, indirecto, familiar, empresarial o de cualquier naturaleza que pueda afectar la objetividad del proceso de investigación que se está aprobando. En caso contrario, por favor comuníquese inmediatamente con la Vicerrectoría para realizar una declaración jurada de los conflictos existentes y tomar decisiones al respecto.

En caso de que usted no esté de acuerdo con alguna de las condiciones antes señaladas, le solicitamos comunicarse por escrito con la Vicerrectoría en un plazo máximo a los quince días hábiles siguientes al recibo de esta comunicación. En caso de no recibir una solicitud formal de modificación de condiciones en dicho plazo, damos por aceptadas con total conformidad dichas condiciones.

Atentamente,



UNIVERSIDAD DE  
COSTA RICA



*Fernando García Santamaría*

Dr. Fernando García Santamaría  
Vicerrector de Investigación

FGS/DHC

- C. Dra. Lisbeth Salazar Sánchez, Directora, Escuela de Medicina  
Dra. Jessica González Fernández Escuela de Medicina  
Comisión de Investigación, Escuela de Medicina  
SIP /Archivo

**Anexo 2:Formulario de donación cuerpo 1.**

 <p><b>UNIVERSIDAD DE COSTA RICA</b></p>	<p><b>FACULTAD DE MEDICINA ESCUELA DE MEDICINA</b></p> <p><small>Escuela de Medicina: Baluarte en la formación de médicos para la sociedad costarricense</small></p>	<p><b>DEPARTAMENTO DE ANATOMIA</b></p>
---	--	--

---

*19 de febrero de 2015*  
**EM-DA-145-02-2015**

*Doctora  
Cristina Vásquez Evangeliti  
Directora Médica  
Clínica Carlos Durán*

*Estimada señora:*

*Agradezco la comunicación sobre la entrega de un cadáver, de quien en vida se llamó **Identidad protegida**. De acuerdo con lo establecido, se dedicará para fines docentes de la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica.*

*Para hacer efectiva esta entrega, se autoriza al funcionario Alejandro Martínez Obando, cédula de identidad N° 1-0514-0981, a recibir y trasladar el cadáver, de dicho Hospital hacia nuestro Departamento.*

*Reitero mi agradecimiento, por el valioso apoyo en el proceso de aprendizaje de los estudiantes de Medicina de esta Unidad Académica.*

*Cordialmente,*



*Dra. Lizbeth Salazar Sánchez*  
Directora a.i.  
Escuela de Medicina





*Alejandro Martínez Obando*

---

Teléfono: 2511-4488	Fax: 2511-4488	E-mail: anatomia.em@ucr.ac.cr
---------------------	----------------	-------------------------------

### Anexo 3:Formulario de donación de cuerpo 2.

	UNIVERSIDAD DE COSTA RICA	DEPARTAMENTO DE ANATOMIA	EM Escuela de Medicina
--	------------------------------	-----------------------------	---------------------------

1° de febrero del 2018  
EM-DA-009-02-2018

Dr. Ernesto Jiménez Montero  
Jefe, Servicio de Patología  
Hospital San Juan de Dios

Estimado señor:

Quiero agradecer su amabilidad al comunicarnos la donación por parte del Hospital San Juan de Dios, de los siguientes cuerpos:

NOMBRE	CERTIFICADO DE DEFUNCION	FECHA DE FALLECIMIENTO
<b>Identidad protegida</b>		

Así como el cuerpo que se había recibido de donación en el 2017 (XXX), que se había dejado en el Hospital San Juan de Dios, para los estudiantes de Ortopedia.

Como es de su conocimiento y de acuerdo con lo establecido, éstos cadáveres, se dedicará para fines docentes en la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica.

Asimismo, le informo que el Sr. Francisco Camacho Pereira, portador de la cédula de identidad N° 3-0298-0694 y funcionario del Departamento de Anatomía, es el responsable de recibir y trasladar los cadáveres de la Morgue del Hospital hacia la Universidad de Costa Rica.

Reitero mi agradecimiento, ya que sin lugar a dudas, ésta donación fortalece el aprendizaje de la anatomía, tanto para los estudiantes de la carrera de Medicina, como los estudiantes de los cursos de servicio que se imparten a otras Unidades Académicas.

Cordialmente,

Dr. Maikel Vargas Sanabria  
Director

Teléfono: 2511-8264 / 2511-4488

<http://www.medic.ucr.ac.cr>

Email: [anatomia.em@ucr.ac.cr](mailto:anatomia.em@ucr.ac.cr)

## Anexo 4:Formulario de donación de cuerpo 3.

	UNIVERSIDAD DE COSTA RICA	DEPARTAMENTO DE ANATOMIA	<b>EM</b> Escuela de Medicina
--	------------------------------	-----------------------------	----------------------------------

1\* de febrero del 2018  
EM-DA-009-02-2018

Dr. Ernesto Jiménez Montero  
Jefe, Servicio de Patología  
Hospital San Juan de Dios

Estimado señor:

Quiero agradecer su amabilidad al comunicarnos la donación por parte del Hospital San Juan de Dios, de los siguientes cuerpos:

NOMBRE	CERTIFICADO DE DEFUNCION	FECHA DE FALLECIMIENTO
<b>Identidad protegida</b>		

Así como el cuerpo que se había recibido de donación en el 2017 (XXX), que se había dejado en el Hospital San Juan de Dios, para los estudiantes de Ortopedia.

Como es de su conocimiento y de acuerdo con lo establecido, éstos cadáveres, se dedicará para fines docentes en la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica.

Asimismo, le informo que el Sr. Francisco Camacho Pereira, portador de la cédula de identidad N° 3-0298-0694 y funcionario del Departamento de Anatomía, es el responsable de recibir y trasladar los cadáveres de la Morgue del Hospital hacia la Universidad de Costa Rica.

Reitero mi agradecimiento, ya que sin lugar a dudas, ésta donación fortalece el aprendizaje de la anatomía, tanto para los estudiantes de la carrera de Medicina, como los estudiantes de los cursos de servicio que se imparten a otras Unidades Académicas.

Cordialmente,

Dr. Maikel Vargas Sanabria  
Director

Teléfono: 2511-8264 / 2511-4488

<http://www.medic.ucr.ac.cr>

Email: [anatomia.em@ucr.ac.cr](mailto:anatomia.em@ucr.ac.cr)

**Anexo 5: Tiempo de procedimiento en horas de sumersión en KOH diluido en H<sub>2</sub>O.**

**Tabla N° 18:** Tiempo de procedimiento en horas de sumersión en KOH diluido en H<sub>2</sub>O.

Cód	Órgano	Restauración Muy buena			Restauración Buena			Restauración mala		
		Tmin	Tmax	Tprom	Tmin	Tmax	Tprom	Tmin	Tmax	Tprom
1	Pulmón	24	192	79.2	24	194	67	24	216	122.3
2	Corazón abierto	24	24	24	24	24	24	24	24	24
3	Corazón cerrado	24	24	24	24	24	24	24	24	24
4	Bazo	24	48	24	24	24	24	-	-	-
5	Hígado	24	168	96	24	24	24	168	168	168
6	Páncreas	24	24	24	-	-	-	-	-	-
7	Lengua	24	24	24	-	-	-	-	-	-
8	Estómago	24	24	24	24	24	24	24	24	24
9	Intestino delgado	-	-	-	24	24	24	24	24	24
10	Intestino grueso	-	-	-	-	-	-	24	24	24
11	Útero	24	24	24	24	24	24	-	-	-
12	Glándula mamaria	-	-	-	24	24	24	-	-	-
13	Pene	24	24	24	24	24	24	-	-	-
14	Testículo	24	24	24	-	-	-	-	-	-
15	Riñones	24	24	24	24	24	24	-	-	-
16	Cerebro completo	9	96	21.5	9	24	21.96	15	24	22.2

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 6: Tiempo de procedimiento en horas de sumersión en KOH diluido en alcohol.**

**Tabla N° 19:** Tiempo de procedimiento en horas de sumersión en KOH diluido en alcohol.

Cód	Órgano	Restauración Muy buena			Restauración Buena			Restauración mala		
		Tmi n	Tma x	Tpro m	Tmi n	Tma x	Tpro m	Tmi n	Tma x	Tpro m
1	Pulmón	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Corazón abierto	0	24	12	0	24	17.28	0	24	20
3	Corazón cerrado	0	24	19.76	0	0	0	24	24	24
4	Bazo	0	0	0	0	0	0	-	-	-
5	Hígado	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	Páncreas	0	5	1.25	-	-	-	-	-	-
7	Lengua	0	0	0	-	-	-	-	-	-
8	Estómago	0	7	2.7	0	0	0	7	7	7
9	Intestino delgado	-	-	-	0	24	6	7	7	7
10	Intestino grueso	-	-	-	-	-	-	7	7	7
11	Útero	5	7	5.8	7	7	7	-	-	-
12	Glándula mamaria	-	-	-	5	7	5.5	-	-	-
13	Pene	5	7	5.8	7	7	7	-	-	-
14	Testículo	5	7	5.5	-	-	-	-	-	-
15	Riñones	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	Cerebro completo	0	0	0	0	0	0	0	0	0

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 7: Porcentaje de KOH diluido en agua según la calidad de restauración del órgano en una primera ronda.**

**Tabla N° 20:** Porcentaje de KOH diluido en agua según la calidad de restauración del órgano en una primera ronda.

Cód.	Órgano	Restauración Muy buena		Restauración Buena		Restauración mala	
		% mín	% máx	% mín	% máx	% mín	% máx
1	Pulmón	1	4	1	4	1	4
2	Corazón abierto	2	2	2	2	2	2
3	Corazón cerrado	2	2	2	2	4	2
4	Bazo	2	2	2	2	-	-
5	Hígado	2	4	4	4	2	2
6	Páncreas	2	2	-	-	-	-
7	Lengua	2	2	-	-	-	-
8	Estómago	2	2	2	2	2	2
9	Intestino delgado	-	-	2	2	2	2
10	Intestino grueso	-	-	-	-	2	2
11	Útero	2	2	2	2	-	-
12	Glándula mamaria	-	-	2	2	-	-
13	Pene	2	2	2	2	-	-
14	Testículo	2	2	-	-	-	-
15	Riñones	2	2	2	2	2	2
16	Cerebro completo	0	2	0	2	1	2

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 8: Porcentaje de KOH diluido en agua según la calidad de restauración del órgano en una segunda ronda.**

**Tabla N° 21:** Porcentaje de KOH diluido en agua según la calidad de restauración del órgano en una segunda ronda.

Cód.	Órgano	Restauración Muy buena		Restauración Buena		Restauración mala	
		% mín	% máx	% mín	% máx	% mín	% máx
1	Pulmón	0	4	2	4	2	4
2	Corazón abierto	-	-	-	-	-	-
3	Corazón cerrado	-	-	-	-	-	-
4	Bazo	-	-	-	-	-	-
5	Hígado	-	-	-	-	-	-
6	Páncreas	-	-	-	-	-	-
7	Lengua	-	-	-	-	-	-
8	Estómago	-	-	-	-	-	-
9	Intestino delgado	-	-	-	-	-	-
10	Intestino grueso	-	-	-	-	-	-
11	Útero	-	-	-	-	-	-
12	Glándula mamaria	-	-	-	-	-	-
13	Pene	-	-	-	-	-	-
14	Testículo	-	-	-	-	-	-
15	Riñones	-	-	-	-	-	-
16	Cerebro completo	1	2	-	-	-	-

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 9: Duración total del procedimiento (en días) según calidad de restauración por órgano.**

**Tabla N° 22:** Duración total del procedimiento (en días) según calidad de restauración por órgano.

Cód.	Órgano	Restauración Muy buena		Restauración Buena		Restauración mala	
		T mín	T máx	T mín	T máx	T mín	T máx
1	Pulmón	2.3	14	2.3	17.04	2.3	19
2	Corazón abierto	2.375	5	2.375	3.08	2.375	3.08
3	Corazón cerrado	2.375	2.5	2.5	2.5	4	4
4	Bazo	1.5	15	1.5	1.5	-	-
5	Hígado	3.2	14	3.2	3.2	15	15
6	Páncreas	1.5	2.125	-	-	-	-
7	Lengua	1.5	1.5	-	-	-	-
8	Estómago	3.08	3.5	3.08	3.08	3.5	3.5
9	Intestino delgado	-	-	2.375	3.08	3.5	3.5
10	Intestino grueso	-	-	-	-	3.5	3.5
11	Útero	2.125	3.54	3.54	3.54	-	-
12	Glándula mamaria	-	-	2.125	3.54	-	-
13	Pene	2.125	3.54	3.54	3.54	-	-
14	Testículo	2.125	3.54	-	-	-	-
15	Riñones	2.25	2.33	2.25	2.29	2.25	2.25
16	Cerebro completo	1.25	14	1.25	2.625	1.83	2.625

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 10: Porcentaje de peróxido de hidrógeno por color post-restauración.****Tabla N° 23:** Porcentaje de peróxido de hidrógeno por color post-restauración.

Cód	Órgano	Negro		Café oscuro		Café claro		Blanco		Amarillo		Gris	
		% mín	% máx	% mín	% máx	% mín	% máx	% mín	% máx	% mín	% máx	% mín	% máx
1	Pulmón	5	5	2	2	2	5	2	5	-	-	2	2
2	Corazón abierto	-	-	2	2	2	5	-	-	-	-	-	-
3	Corazón cerrado	-	-	2	2	2	2	5	5	-	-	-	-
4	Bazo	-	-	2	2	2	5	-	-	-	-	2	2
5	Hígado	2	2	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-
6	Páncreas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
7	Lengua	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	-
8	Estómago	-	-	2	2	2	2	-	-	2	2	-	-
9	Intestino delgado	-	-	-	-	2	2	-	-	2	2	-	-
10	Intestino grueso	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	-
11	Útero	-	-	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-
12	Glándula mamaria	-	-	-	-	2	2	-	-	2	2	-	-
13	Pene	-	-	-	-	2	2	-	-	2	2	2	2
14	Testículo	-	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
15	Riñones	-	-	2	2	2	2	-	-	2	2	-	-
16	Cerebro completo	-	-	-	-	2	2	2	2	2	5	2	2

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 11: Tiempo en horas de sumersión en peróxido de hidrógeno por color post-restauración.**

**Tabla N° 24:** Tiempo en horas de sumersión en peróxido de hidrógeno por color post-restauración.

Cód	Órgano	Negro		Café oscuro		Café claro		Blanco		Amarillo		Gris	
		T mín	T máx	T mín	T máx	T mín	T máx	T mín	T máx	T mín	T máx	T mín	T máx
1	Pulmón	19	19	2	11	3	12	3	12	-	-	3	11
		3	3				0		0				
2	Corazón abierto	-	-	2	18	2	72	-	-	-	-	-	-
3	Corazón cerrado	-	-	2	3	2	3	24	24	-	-	-	-
4	Bazo	-	-	5	5	5	21	-	-	-	-	5	5
							6						
5	Hígado	5	5	5	5	5	72	-	-	-	-	-	-
6	Páncreas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	6
7	Lengua	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5	-	-
8	Estómago	-	-	17	17	5	17	-	-	17	17	-	-
9	Intestino delgado	-	-	-	-	2	27	-	-	5	5	-	-
10	Intestino grueso	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5	-	-
11	Útero	-	-	6	6	6	6	-	-	-	-	-	-
12	Glándula mamaria	-	-	-	-	6	6	-	-	6	6	-	-
13	Pene	-	-	-	-	6	6	-	-	6	6	6	6
14	Testículo	-	-	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
15	Riñones	-	-	6	8	6	8	-	-	7	8	-	-
16	Cerebro completo	-	-	-	-	6	6	6	24	6	24	6	24

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 12: Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 1 y 2.**

**Tabla N° 25:** Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 1 y 2.

<b>Evaluador 1</b>	<b>Evaluador 2</b>					<b>Total</b>
	<i>No valorable</i>	<i>Pétreo (indurado)</i>	<i>Duro-elástico</i>	<i>Blando</i>	<i>Como esponja</i>	
<i>No valorable</i>	1	0	0	0	0	<b>1</b>
<i>Pétreo (indurado)</i>	0	3	1	2	0	<b>6</b>
<i>Duro-elástico</i>	0	1	8	9	0	<b>18</b>
<i>Blando</i>	0	0	2	3	0	<b>5</b>
<i>Como esponja</i>	0	0	0	0	1	<b>1</b>
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>11</b>	<b>14</b>	<b>1</b>	<b>31</b>

Coefficiente Kappa de Cohen: 0.48

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 13: Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 1 y 3.**

**Tabla N° 26:** Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 1 y 3

<b>Evaluador 1</b>	<b>Evaluador 3</b>					<b>Total</b>
	<i>No valorable</i>	<i>Pétreo (indurado)</i>	<i>Duro-elástico</i>	<i>Blando</i>	<i>Como esponja</i>	
<i>No valorable</i>	1	0	0	0	0	<b>1</b>
<i>Pétreo (indurado)</i>	0	3	3	0	0	<b>6</b>
<i>Duro-elástico</i>	0	1	11	6	0	<b>18</b>
<i>Blando</i>	0	0	2	3	0	<b>5</b>
<i>Como esponja</i>	0	0	0	0	1	<b>1</b>
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>16</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>31</b>

Coefficiente Kappa de Cohen: 0.58

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 14: Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 2 y 3.**

**Tabla N° 27:** Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 2 y 3.

Evaluador 2	Evaluador 3					Total
	<i>No valorable</i>	<i>Pétrea (indurado)</i>	<i>Duro-elástico</i>	<i>Blando</i>	<i>Como esponja</i>	
<i>No valorable</i>	1	0	0	0	0	1
<i>Pétrea (indurado)</i>	0	4	0	0	0	4
<i>Duro-elástico</i>	0	0	11	0	0	11
<i>Blando</i>	0	0	5	9	0	14
<i>Como esponja</i>	0	0	0	0	1	1
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>16</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>31</b>

Coeficiente Kappa de Cohen: 0.83

Fuente: LaMoNec 2018.

**Anexo 15: Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 1 y 2.**

**Tabla N° 28:** Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 1 y 2.

Evaluador 1	Evaluador 2					Total
	<i>No valorable</i>	<i>Pétrea (indurado)</i>	<i>Duro-elástico</i>	<i>Blando</i>	<i>Como esponja</i>	
<i>No valorable</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Pétrea (indurado)</i>	0	1	2	1	0	4
<i>Duro-elástico</i>	0	1	4	3	1	9
<i>Blando</i>	0	0	3	14	0	17
<i>Como esponja</i>	0	0	0	0	1	1
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>9</b>	<b>18</b>	<b>2</b>	<b>31</b>

Coeficiente Kappa de Cohen: 0.62

Fuente: LaMoNec 2018.

**Anexo 16: Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 1 y 3.**

**Tabla N° 29:** Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 1 y 3.

Evaluador 1	Evaluador 3					Total
	<i>No valorable</i>	<i>Pétrea (indurado)</i>	<i>Duro-elástico</i>	<i>Blando</i>	<i>Como esponja</i>	
<i>No valorable</i>	0	1	3	0	0	4
<i>Pétrea (indurado)</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Duro-elástico</i>	0	1	6	2	0	9
<i>Blando</i>	0	0	3	13	1	17
<i>Como esponja</i>	0	0	0	0	1	1
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>12</b>	<b>15</b>	<b>2</b>	<b>31</b>

Coeficiente Kappa de Cohen: 0.62

Fuente: LaMoNec 2018.

**Anexo 17: Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 2 y 3.**

**Tabla N° 30:** Evaluación de consistencia en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 2 y 3.

Evaluado r 2	Evaluador 3					Total
	<i>No valorable</i>	<i>Pétrea (indurado)</i>	<i>Duro-elástico</i>	<i>Blando</i>	<i>Como esponja</i>	
<i>No valorable</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Pétrea (indurado)</i>	0	2	0	0	0	2
<i>Duro-elástico</i>	0	0	8	1	0	9
<i>Blando</i>	0	0	4	13	1	18
<i>Como esponja</i>	0	0	0	1	1	2
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>12</b>	<b>15</b>	<b>2</b>	<b>31</b>

Coeficiente Kappa de Cohen: 0.76

Fuente: LaMoNec 2018.

**Anexo 18: Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 1 y 2.**

**Tabla N° 31:** Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 1 y 2.

Evaluador 1	Evaluador 2											Total
	<i>No valorable</i>	<i>Piel</i>	<i>Verde</i>	<i>Amarillo</i>	<i>Violáceo</i>	<i>Rojo</i>	<i>Blanco</i>	<i>Negro</i>	<i>Café claro</i>	<i>Café oscuro</i>	<i>Gris</i>	
<i>No valorable</i>	<b>1</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>
<i>Piel</i>	0	<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	<b>1</b>
<i>Verde</i>	0	0	<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Amarillo</i>	0	0	0	<b>0</b>	0	0	1	0	0	0	0	<b>1</b>
<i>Violáceo</i>	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Rojo</i>	0	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Blanco</i>	0	0	0	0	0	0	<b>3</b>	0	4	0	0	<b>7</b>
<i>Negro</i>	0	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>	0	1	0	<b>2</b>
<i>Café claro</i>	0	0	0	0	0	0	3	0	<b>3</b>	3	0	<b>9</b>
<i>Café oscuro</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	<b>4</b>	0	<b>5</b>
<i>Gris</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	3	1	<b>0</b>	<b>5</b>
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>11</b>	<b>9</b>	<b>0</b>	<b>31</b>

Coeficiente Kappa de Cohen: 0,386

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 19: Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 1 y 3.**

**Tabla N° 32:** Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 1 y 3.

Evaluador 1	Evaluador 3											Total
	<i>No valorable</i>	<i>Piel</i>	<i>Verde</i>	<i>Amarillo</i>	<i>Violaceo</i>	<i>Rojo</i>	<i>Blanco</i>	<i>Negro</i>	<i>Café claro</i>	<i>Café oscuro</i>	<i>Gris</i>	
<i>No valorable</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Piel</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
<i>Verde</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Amarillo</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Violaceo</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rojo</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Blanco</i>	0	0	0	0	0	0	3	1	1	1	1	7
<i>Negro</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	2
<i>Café claro</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	7	2	0	9
<i>Café oscuro</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	0	5
<i>Gris</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	2	2	0	5
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>12</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>31</b>

Coeficiente Kappa de Cohen: 0,4833

Fuente: LaMoNec 2018.

**Anexo 20: Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 2 y 3.**

**Tabla N° 33:** Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 2 y 3.

<b>Evaluador 3</b>	<b>Evaluador 2</b>											<b>Total</b>
	<i>No valorable</i>	<i>Piel</i>	<i>Verde</i>	<i>Amarillo</i>	<i>Violáceo</i>	<i>Rojo</i>	<i>Blanco</i>	<i>Negro</i>	<i>Café claro</i>	<i>Café oscuro</i>	<i>Gris</i>	
<i>No valorable</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	<b>1</b>
<i>Piel</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Verde</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>
<i>Amarillo</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Violáceo</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Rojo</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Blanco</i>	0	0	1	0	0	0	<b>3</b>	1	3	1	0	<b>9</b>
<i>Negro</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Café claro</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	7	2	1	<b>11</b>
<i>Café oscuro</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	7	0	<b>9</b>
<i>Gris</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>12</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>31</b>

Coeficiente Kappa de Cohen: 0,548

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 21: Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 1 y 2.**

**Tabla N° 34:** Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 1 y 2.

<b>Evaluador 1</b>	<b>Evaluador 2</b>											<b>Total</b>
	<i>No valorable</i>	<i>Piel</i>	<i>Verde</i>	<i>Amarillo</i>	<i>Violaceo</i>	<i>Rojo</i>	<i>Blanco</i>	<i>Negro</i>	<i>Café claro</i>	<i>Café oscuro</i>	<i>Gris</i>	
<i>No valorable</i>	<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Piel</i>	0	<b>0</b>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	<b>1</b>
<i>Verde</i>	0	0	<b>1</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>
<i>Amarillo</i>	0	0	0	<b>2</b>	0	0	0	0	0	0	0	<b>2</b>
<i>Violaceo</i>	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0	0	1	0	1	<b>2</b>
<i>Rojo</i>	0	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Blanco</i>	0	0	0	0	0	0	<b>8</b>	0	0	0	0	<b>8</b>
<i>Negro</i>	0	0	0	0	0	0	2	<b>0</b>	0	0	0	<b>2</b>
<i>Café claro</i>	0	1	1	0	0	0	4	0	<b>3</b>	3	0	<b>12</b>
<i>Café oscuro</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	1	<b>0</b>	0	<b>2</b>
<i>Gris</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	<b>0</b>	<b>1</b>
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>17</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>31</b>

Coeficiente Kappa de Cohen: 0,4516

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 22: Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 1 y 3.**

**Tabla N° 35:** Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 1 y 3.

Evaluador 1	Evaluador 3											TOTAL
	<i>No valorable</i>	<i>Piel</i>	<i>Verde</i>	<i>Amarillo</i>	<i>Violaceo</i>	<i>Rojo</i>	<i>Blanco</i>	<i>Negro</i>	<i>Café claro</i>	<i>Café oscuro</i>	<i>Gris</i>	
<i>No valorable</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Piel</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Verde</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Amarillo</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Violaceo</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
<i>Rojo</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Blanco</i>	0	0	0	0	0	0	7	0	1	0	0	8
<i>Negro</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2
<i>Café claro</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	1	9	1	12
<i>Café oscuro</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2
<i>Gris</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>11</b>	<b>3</b>	<b>31</b>

Coeficiente Kappa de Cohen: 0,419

Fuente: LaMoNec 2018.

**Anexo 23: Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 2 y 3.**

**Tabla N° 36: Evaluación de la coloración en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 2 y 3.**

<b>Evaluador 2</b>	<b>Evaluador 3</b>											<b>TOTAL</b>
	<i>No valorable</i>	<i>Piel</i>	<i>Verde</i>	<i>Amarillo</i>	<i>Violaceo</i>	<i>Rojo</i>	<i>Blanco</i>	<i>Negro</i>	<i>Café claro</i>	<i>Café oscuro</i>	<i>Gris</i>	
<i>No valorable</i>	<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Piel</i>	0	<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	<b>1</b>
<i>Verde</i>	0	0	<b>0</b>	2	0	0	0	0	0	0	0	<b>2</b>
<i>Amarillo</i>	0	0	0	<b>2</b>	0	0	0	0	0	0	0	<b>2</b>
<i>Violaceo</i>	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Rojo</i>	0	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Blanco</i>	0	0	0	0	0	0	<b>10</b>	1	1	3	2	<b>17</b>
<i>Negro</i>	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0	0	<b>0</b>
<i>Café claro</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>	4	0	<b>5</b>
<i>Café oscuro</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>3</b>	0	<b>3</b>
<i>Gris</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>	<b>1</b>
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>11</b>	<b>3</b>	<b>31</b>

Coefficiente Kappa de Cohen: 0,548

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 24: Evaluación del olor en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 1 y 2**

**Tabla N° 37:** Evaluación del olor en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 1 y 2.

Evaluador 1	Evaluador 2				Total
	<i>No valorable</i>	<i>Formalina</i>	<i>Otros químicos</i>	<i>Putrefacción</i>	
<i>No valorable</i>	0	0	0	0	0
<i>Formalina</i>	1	3	27	0	31
<i>Otros químicos</i>	0	0	0	0	0
<i>Putrefacción</i>	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>27</b>	<b>0</b>	<b>31</b>

Coefficiente Kappa de Cohen: 0,03

Fuente: LaMoNec 2018.

**Anexo 25: Evaluación del olor en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 1 y 3**

**Tabla N° 38:** Evaluación del olor en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 1 y 3.

Evaluador 1	Evaluador 3				Total
	<i>No valorable</i>	<i>Formalina</i>	<i>Otros químicos</i>	<i>Putrefacción</i>	
<i>No valorable</i>	0	0	0	0	0
<i>Formalina</i>	0	0	30	1	31
<i>Otros químicos</i>	0	0	0	0	0
<i>Putrefacción</i>	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>30</b>	<b>1</b>	<b>31</b>

Coefficiente Kappa de Cohen: 0

Fuente: LaMoNec 2018.

**Anexo 26: Evaluación del olor en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 2 y 3.**

**Tabla N° 39:** Evaluación del olor en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 2 por parte del observador 2 y 3.

Evaluador 2	Evaluador 3				Total
	<i>No valorable</i>	<i>Formalina</i>	<i>Otros químicos</i>	<i>Putrefacción</i>	
<i>No valorable</i>	0	0	0	0	0
<i>Formalina</i>	0	0	3	0	3
<i>Otros químicos</i>	0	0	27	1	28
<i>Putrefacci ón</i>	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>30</b>	<b>1</b>	<b>31</b>

Coefficiente Kappa de Cohen: 0,86

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 27: Evaluación del olor en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 1 y 2**

**Tabla N° 40:** Evaluación del olor en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 1 y 2.

Evaluador 1	Evaluador 2				Total
	<i>No valorable</i>	<i>Formalina</i>	<i>Otros químicos</i>	<i>Putrefacció n</i>	
<i>No valorable</i>	0	0	0	0	0
<i>Formalina</i>	0	0	0	0	0
<i>Otros químicos</i>	0	0	31	0	31
<i>Putrefacci ón</i>	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>31</b>	<b>0</b>	<b>31</b>

Coefficiente Kappa de Cohen: 1

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 28: Evaluación del olor en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 1 y 3.**

**Tabla N° 41:** Evaluación del olor en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 1 y 3.

Evaluador 1	No valorable	Evaluador 3			Total
		Formalina	Otros químicos	Putrefacción n	
No valorable	0	0	0	0	0
Formalina	0	0	0	0	0
Otros químicos	0	0	31	0	31
Putrefacción	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>31</b>	<b>0</b>	<b>31</b>

Coefficiente Kappa de Cohen: 1

Fuente: LaMoNec 2018.

**Anexo 29: Evaluación del olor en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 2 y 3.**

**Tabla N° 42:** Evaluación del olor en los 31 órganos y tejidos del cuerpo N° 3 por parte del observador 2 y 3.

Evaluador 2	No valorable	Evaluador 3			Total
		Formalina	Otros químicos	Putrefacción n	
No valorable	0	0	0	0	0
Formalina	0	0	0	0	0
Otros químicos	0	0	31	0	26
Putrefacción	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>31</b>	<b>0</b>	<b>31</b>

Coefficiente Kappa de Cohen: 1

Fuente: LaMoNec 2018.



Número de Cuerpo: 2 3 X  
 Nombre: Observador 2

Encuesta órganos y tejidos de cuerpos disecados																					
Número	Órgano	Consistencia					Coloración							Olor							
		Pétreo (indurado) (como tocar madera)	Duro-elástico (como tocarse la punta de la nariz)	Blando (como tocarse el lóbulo de la oreja)	Como esponja (como una espuma)	Piel	Verde	Amarillo	Violáceo	Rojo	Blanco	Negro	Café claro	Café oscuro	Gris	Formalina	Químico no identificado	Sin olor	Alcohol	Putrefacción	
1	Ganglio cervical			X								X								X	
2	Pelo de cuero cabelludo			X								X								X	
3	Vello púbico			X								X								X	
4	Piel de abdomen			X								X								X	
5	Grasa de abdomen			X						X										X	
6	Músculo Oblicuo Externo			X								X					X				
7	Músculo subclavio		X									X					X				
8	Lengua			X								X					X				
9	Glándula submandibular					X						X					X				
10	Glándula tiroides		X									X					X				
11	Pulmón izquierdo					X						X					X				
12	Aurícula derecha		X									X					X				
13	Hígado		X									X					X				
14	Vesícula biliar			X				X									X				
15	Cartilago de oreja		X									X					X				
16	Arteria Ao Ascendente			X						X							X				
17	Testículo		X									X					X				
18	Páncreas			X								X					X				
19	Bazo			X								X				X	X				
20	Riñón		X									X					X				
21	Vejiga			X								X					X				
22	Lecho ungual	X										X					X				
23	Cartilago costal		X									X					X				
24	Costilla	X										X					X				
25	Esófago			X								X					X				
26	Estómago			X								X					X				
27	Duodeno			X								X					X				
28	Yeyuno			X					X								X				
29	Ileon		X														X				
30	Ciego			X													X				
31	Apéndice Vermiforme			X													X				

Aunque hay estructuras que se sienten blandas en ambos, en este cuerpo son aún más suaves, sin llegar a esponjas se sienten más reales.  
 El olor no incomoda ni imita.

**Anexo 31: Formulario de valoración de características macroscópicas según el observador 3, en el cuerpo 2 y 3 respectivamente.**

Número de Cuerpo: 2  3

Nombre: Observador 3

Encuesta órganos y tejidos de cuerpos disecados																				
Número	Órgano	Consistencia				Coloración							Olor							
		Pétreo (indurado) (como tocar madera)	Duro-elástico (como tocar la punta de la nariz)	Blandito (como tocar el lóbulo de la oreja)	Como esponja (como una esponja)	Piel	Verde	Amarillo	Violáceo	Rojizo	Blanco	Negro	Café claro	Café oscuro	Gris	Formalina	Químico no identificado	Sin olor	Alcohol	Putrefacción
1	Ganglio cervical		X									X							X	
2	Pelo de cuero cabelludo											X							X	
3	Vello púbico											X							X	
4	Piel de abdomen			X							X	X							X	
5	Grasa de abdomen		X							X									X	
6	Músculo Oblicuo Externo			X								X							X	
7	Músculo subclavio			X								X							X	
8	Lengua	No se pudo tocar								X									X	
9	Glándula submandibular		X									X							X	
10	Glándula tiroideas		X									X							X	
11	Pulmón izquierdo				X					X									X	
12	Aurícula derecha		X									X							X	
13	Hígado	X										X							X	
14	Vesícula biliar			X								X							X	
15	Cartilago de oreja		X							X									X	
16	Arteria Ao Ascendente		X			X													X	
17	Testículo		X											X					X	
18	Páncreas		X									X							X	
19	Bazo		X									X							X	
20	Riñón		X									X							X	
21	Vejiga		X		X							X							X	
22	Lecho ungueal	X	X								X								X	
23	Cartilago costal	X	X									X							X	
24	Costilla	X	X									X							X	
25	Esófago				X							X							X	
26	Estómago				X							X							X	
27	Duodeno				X							X							X	
28	Yeyuno		X									X							X	
29	Ileon		X									X							X	
30	Ciego				X							X							X	
31	Apéndice Vermiforme		X									X							X	

Este írnta mucosas.  
 más olor a formalina  
 a/3

Número de Cuerpo : 2 3 X  
 Nombre: Observador 3

Encuesta órganos y tejidos de cuerpos disecados																				
Número	Órgano	Consistencia					Coloración							Olor						
		Piétreo (indurado) (como tocar madera)	Duro-elástico (como tocar la punta de la nariz)	Blando (como tocar el lóbulo de la oreja)	Como esponja (como una esponja)	Piel	Verde	Amarillo	Violeta	Rojo	Blanco	Negro	Café claro	Café oscuro	Gris	Formalina	Químico no identificado	Sin olor	Alcohol	Putrefacción
1	Ganglio cervical			X							X						X			
2	Pelo de cuero cabelludo	<i>del nacimiento</i>	X														X			
3	Vello púbico	<i>de la</i>	X														X			
4	Piel de abdomen			X									X				X			
5	Grasa de abdomen			X					X								X			
6	Músculo Oblicuo Externo			X										X			X			
7	Músculo subclavio			X										X			X			
8	Lengua					X						X					X			
9	Glándula submandibular			X								X						X		
10	Glándula tiroides		X											X				X		
11	Pulmón Izquierdo					X						X							X	
12	Aurícula derecha		X											X				X		
13	Higado		X											X				X		
14	Vesícula biliar			X				X										X		
15	Cartilago de oreja		X									X						X		
16	Arteria Ao Ascendente			X					X									X		
17	Testículo		X									X						X		
18	Páncreas			X								X						X		
19	Bazo		X									X						X		
20	Riñón		X											X				X		
21	Vejiça			X										X				X		
22	Lecho ungueal	X										X						X		
23	Cartilago costal		X											X				X		
24	Costilla	X												X				X		
25	Esófago			X										X				X		
26	Estómago			X										X				X		
27	Duodeno			X				X						X				X		
28	Yeyuno			X										X				X		
29	Ileon		X											X				X		
30	Ciego			X										X				X		
31	Apéndice Vermiforme		X											X			X			

NO me gusta el olor. Huele mucho agrasa  
 sin embargo no irrita las mucosas.  
 La mayoría de texturas son suaves  
 con respecto a otros  
 cadáveres que he disecado.  
 Mas parecido a la vida real

**Anexo 32: Comparación de variables macroscópicas de los tres observadores en los órganos y tejidos del cuerpo 1.**

**Tabla N° 43:** Comparación de variables macroscópicas de los tres observadores en los órganos y tejidos del cuerpo 1.

Cuerpo	Órgano o tejido	Macroscopico observador 1			Macroscopico observador 2			Macroscopico observador 3		
		Consistencia	Coloración	Olor	Consistencia	Coloración	Olor	Consistencia	Coloración	Olor
1	1.1	3	4	3	no	no	no	no	no	no
1	1.2	1	7	3	no	no	no	no	no	no
1	1.3	1	7	3	no	no	no	no	no	no
1	1.4	3	1	3	no	no	no	no	no	no
1	1.5	3	3	3	no	no	no	no	no	no
1	1.6	3	5	3	no	no	no	no	no	no
1	1.7	3	5	3	no	no	no	no	no	no
1	1.8	3	5	3	no	no	no	no	no	no
1	1.9	3	6	3	no	no	no	no	no	no
1	1.10	3	5	3	no	no	no	no	no	no
1	1.11	4	5	3	no	no	no	no	no	no
1	1.12	3	5	3	no	no	no	no	no	no
1	1.13	2	8	3	no	no	no	no	no	no
1	1.14	3	2	3	no	no	no	no	no	no
1	1.15	1	6	3	no	no	no	no	no	no
1	1.16	2	10	3	no	no	no	no	no	no
1	1.17	3	6	3	no	no	no	no	no	no
1	1.18	3	8	3	no	no	no	no	no	no
1	1.19	2	10	3	no	no	no	no	no	no
1	1.20	2	4	3	no	no	no	no	no	no
1	1.21	3	6	3	no	no	no	no	no	no
1	1.22	1	6	3	no	no	no	no	no	no
1	1.23	1	6	3	no	no	no	no	no	no
1	1.24	1	6	3	no	no	no	no	no	no
1	1.25	3	1	3	no	no	no	no	no	no
1	1.26	3	1	3	no	no	no	no	no	no
1	1.27	3	8	3	no	no	no	no	no	no
1	1.28	3	8	3	no	no	no	no	no	no
1	1.29	3	8	3	no	no	no	no	no	no
1	1.30	3	2	3	no	no	no	no	no	no
1	1.31	3	1	3	no	no	no	no	no	no

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 33: Comparación de variables macroscópicas de los tres observadores en los órganos y tejidos del cuerpo 2.**

**Tabla N° 44:** Comparación de variables macroscópicas de los tres observadores en los órganos y tejidos del cuerpo 2.

Cuerpo	Órgano o tejido	Macroscopico observador 1			Macroscopico observador 2			Macroscopico observador 3		
		Consistencia	Coloración	Olor	Consistencia	Coloración	Olor	Consistencia	Coloración	Olor
2	2.1	2	6	1	2	8	4	2	8	4
2	2.2	1	6	1	3	8	4	2	7	4
2	2.3	1	7	1	3	6	2	2	7	4
2	2.4	2	1	1	3	8	2	3	8	4
2	2.5	3	3	1	2	6	2	2	2	4
2	2.6	2	9	1	3	9	2	3	9	4
2	2.7	2	9	1	3	9	2	3	9	4
2	2.8	0	0	1	0	0	0	0	6	4
2	2.9	2	10	1	2	8	2	2	8	4
2	2.10	2	9	1	2	9	2	2	9	4
2	2.11	4	6	1	4	6	2	4	6	4
2	2.12	2	9	1	3	6	2	2	8	4
2	2.13	2	9	1	1	9	2	1	9	4
2	2.14	2	10	1	3	8	2	3	9	4
2	2.15	1	6	1	2	6	2	2	6	5
2	2.16	2	10	1	3	2	2	2	1	4
2	2.17	2	6	1	2	8	2	2	10	2
2	2.18	3	10	1	2	8	1	2	8	2
2	2.19	2	7	1	2	9	2	2	9	4
2	2.20	2	10	1	2	9	1	2	9	2
2	2.21	3	8	1	3	6	1	3	8	2
2	2.22	1	6	1	1	6	2	1	6	4
2	2.23	1	8	1	1	6	4	1	8	4
2	2.24	1	6	1	1	8	4	1	9	4
2	2.25	2	8	1	3	8	2	3	8	4
2	2.26	3	8	1	3	6	2	3	9	4
2	2.27	2	8	1	3	9	2	3	9	4
2	2.28	2	8	1	3	9	2	2	8	4
2	2.29	2	8	1	2	9	2	2	8	4
2	2.30	3	8	1	3	8	2	3	8	4
2	2.31	2	8	1	2	8	2	2	8	4

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 34: Comparación de variables macroscópicas de los tres observadores en los órganos y tejidos del cuerpo 3.**

**Tabla N° 45:** Comparación de variables macroscópicas de los tres observadores en los órganos y tejidos del cuerpo 3.

Cuerpo	Órgano o tejido	Macroscopico observador 1			Macroscopico observador 2			Macroscopico observador 3		
		Consistencia	Coloración	Olor	Consistencia	Coloración	Olor	Consistencia	Coloración	Olor
3.1	2	6	4	3	6	4	3	6	2	3
3.2	1	7	4	2	6	4	2	7	2	3
3.3	1	7	4	3	6	4	2	6	2	3
3.4	3	1	4	3	6	4	3	6	2	3
3.5	3	3	4	3	3	4	3	3	2	3
3.6	3	8	4	3	8	2	3	9	2	3
3.7	3	8	4	2	8	2	3	9	2	3
3.8	3	9	4	3	6	2	4	6	2	3
3.9	2	6	4	4	6	2	3	6	3	3
3.10	2	8	4	2	8	2	2	8	3	3
3.11	4	6	4	4	6	2	4	6	3	3
3.12	3	8	4	2	6	2	2	9	3	3
3.13	2	9	4	2	8	2	2	9	3	3
3.14	3	2	4	3	2	2	3	3	2	3
3.15	2	6	4	2	6	2	2	6	3	3
3.16	3	3	4	3	3	2	3	3	3	3
3.17	2	6	4	3	6	2	2	6	3	3
3.18	3	6	4	3	6	2	3	6	3	3
3.19	3	4	4	3	10	2	2	10	3	3
3.20	2	10	4	2	6	2	2	10	3	3
3.21	3	8	4	3	6	2	3	10	3	3
3.22	2	6	4	1	6	2	1	6	3	3
3.23	1	6	4	2	6	2	2	8	3	3
3.24	1	4	4	1	8	2	1	9	3	3
3.25	3	8	4	3	6	2	3	9	3	3
3.26	3	8	4	3	6	2	3	9	3	3
3.27	3	8	4	3	2	2	3	3	3	3
3.28	3	8	4	3	1	2	3	9	3	3
3.29	3	8	4	2	9	2	2	9	3	3
3.30	3	8	4	3	9	2	3	9	2	3
3.31	2	8	4	3	9	2	2	9	2	3

**Fuente:** LaMoNec 2018.

## Anexo 35: Comparación de los resultados del proceso de restauración de los órganos.

**Tabla N° 46:** Comparación de los resultados del proceso de restauración de los órganos.

Numero	Órgano	Número asignado	Lado	Consistencia Pre restauración	Coloración Pre restauración	Olor Pre restauración	Consistencia Post restauración	Coloración Post restauración	Olor Post restauración	Daño en el órgano (Previo proceso)	Daño en el órgano (Post proceso)	Restauración	% de KOH en H2O (1 ronda)	T en horas en KOH en H2O (1 ronda)	% de KOH en H2O (2 ronda)	T en horas en KOH en H2O (2 ronda)	% de KOH en OH a 195%	T en horas en KOH en OH al 95%	% de NaCl en H2O	T en horas en NaCl en H2O	% de NaCl en H2O(2 ronda)	T en horas en NaCl en H2O(2 ronda)	de peróxido% de hidrógeno (ronda 1)	T en horas en peróxido de hidrógeno (ronda 1)	% de peróxido de hidrógeno (ronda 2)	T en horas en peróxido de hidrógeno (ronda 2)	Total de días en el proceso
1	1	1.1	1	1	1	1	4	1	3	1	1	2	1	120	2	72	9	0	1	24	9	0	5	169	8	24	17.04
2	1	1.2	2	1	2	1	4	4	3	2	2	1	1	120	2	72	9	0	1	24	9	0	5	120	9	0	14.00
3	1	1.3	2	1	2	1	4	4	3	2	1	3	1	120	2	96	9	0	1	120	9	0	5	120	9	0	19.00
4	1	1.4	1	1	2	1	4	3	3	1	1	2	1	120	2	72	9	0	1	24	9	0	5	120	9	0	14.00
5	1	1.5	1	1	2	1	4	2	3	1	1	2	2	120	4	7	9	0	1	16	9	0	2	11	9	0	6.42
6	1	1.6	1	1	2	1	4	6	3	2	2	1	2	120	4	7	9	0	1	16	9	0	2	11	9	0	6.42
7	1	1.7	1	1	2	1	4	2	3	1	1	2	2	120	4	7	9	0	1	16	9	0	2	11	9	0	6.42
8	1	1.8	1	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	120	4	24	9	0	1	48	9	0	2	5	9	0	8.21
9	1	1.9	1	1	2	1	4	6	3	2	2	1	2	120	4	7	9	0	1	16	9	0	2	11	9	0	6.42
10	1	1.10	1	1	2	1	4	6	3	2	2	1	2	120	4	7	9	0	1	16	9	0	2	11	9	0	6.42
11	1	1.11	1	1	2	1	4	6	3	1	2	3	2	120	4	7	9	0	1	16	9	0	2	11	9	0	6.42
12	1	1.12	1	1	2	1	4	2	3	1	1	2	2	120	4	7	9	0	1	16	9	0	2	11	9	0	6.42
13	1	1.13	1	1	2	1	4	6	3	2	2	1	2	120	4	24	9	0	1	48	9	0	2	5	9	0	8.21
14	1	1.14	2	2	2	1	4	6	3	1	1	1	4	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
15	1	1.15	2	2	2	1	4	2	3	2	2	2	4	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
16	1	1.16	2	2	2	1	4	4	3	2	2	1	4	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
17	1	1.17	2	1	2	1	4	6	3	2	2	1	4	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
18	1	1.18	2	1	2	1	4	2	3	1	1	2	4	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
19	1	1.19	2	1	2	1	4	2	3	2	1	3	4	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
20	1	1.20	2	2	2	1	4	4	3	1	1	2	4	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
21	1	1.21	2	2	2	1	4	6	3	2	2	1	4	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
22	1	1.22	1	2	2	1	4	3	3	1	1	2	4	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
23	1	1.23	2	2	2	1	4	3	3	1	1	2	4	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
24	1	1.24	1	1	2	1	4	3	3	1	1	2	4	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
25	1	1.25	3	1	3	1	4	4	3	2	2	1	4	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
26	1	1.26	3	1	2	1	4	6	3	2	2	1	4	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
27	1	1.27	4	1	2	1	4	6	3	1	1	2	4	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
28	1	1.28	4	1	2	1	4	4	3	1	1	2	4	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
29	1	1.29	4	1	2	1	4	6	3	1	1	2	4	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
30	1	1.30	4	1	2	1	4	6	3	1	1	2	4	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
31	1	1.31	3	1	2	1	4	6	3	2	2	1	4	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
32	2	2.1	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	1	24	9	0	5	72	9	0	5.00

33	2	2.2	6	1	2	1	3	2	3	1	1	2	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
34	2	2.3	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
35	2	2.4	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
36	2	2.5	6	1	2	1	3	2	3	2	1	3	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
37	2	2.6	6	1	2	1	3	3	3	1	1	2	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
38	2	2.7	6	1	2	1	3	3	3	1	1	2	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
39	2	2.8	6	1	2	1	3	2	3	1	1	2	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
40	2	2.9	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
41	2	2.10	6	1	2	1	3	3	3	1	1	2	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
42	2	2.11	6	1	2	1	3	3	3	1	1	2	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
43	2	2.12	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
44	2	2.13	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
45	2	2.14	6	1	2	1	3	2	3	1	1	2	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
46	2	2.15	6	1	2	1	3	2	3	2	1	3	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
47	2	2.16	6	1	2	1	3	3	3	2	1	3	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
48	2	2.17	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
49	2	2.18	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
50	2	2.19	6	1	2	1	3	3	3	1	1	2	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
51	2	2.20	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
52	2	2.21	6	1	2	1	3	2	3	2	1	3	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
53	2	2.22	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
54	2	2.23	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
55	2	2.24	6	1	2	1	3	3	3	1	1	2	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
56	2	2.25	6	1	2	1	3	2	3	2	1	3	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
57	2	2.26	6	1	2	1	3	3	3	1	1	2	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
58	2	2.27	6	1	2	1	3	2	3	1	1	2	2	24	9	0	2	24	2	8	9	0	2	18	9	0	3.08
59	2	2.28	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
60	2	2.29	6	1	2	1	3	2	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
61	2	2.30	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
62	2	2.31	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
63	2	2.32	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
64	2	2.33	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
65	2	2.34	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
66	2	2.35	6	1	2	1	3	3	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
67	2	2.36	6	1	2	1	3	3	3	2	1	3	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
68	2	2.37	6	1	2	1	3	3	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
69	3	3.1	6	3	3	1	3	4	3	2	1	3	4	24	9	0	4	24	1	24	9	0	5	24	9	0	4.00
70	3	3.2	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
71	3	3.3	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
72	3	3.4	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
73	3	3.5	6	1	1	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
74	3	3.6	6	1	1	1	3	2	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
75	3	3.7	6	1	1	1	3	2	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38

76	3	3.8	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
77	3	3.9	6	1	1	1	3	2	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
78	3	3.10	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
79	3	3.11	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
80	3	3.12	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
81	3	3.13	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
82	3	3.14	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
83	3	3.15	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	24	1	7	9	0	2	2	9	0	2.38
84	3	3.16	6	1	2	1	3	2	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
85	3	3.17	6	1	2	1	3	3	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
86	3	3.18	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
87	3	3.19	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
88	3	3.20	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
89	3	3.21	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	3	9	0	2.50
90	4	4.1	6	1	1	1	3	3	3	2	2	1	2	48	9	0	9	0	1	96	9	0	5	216	9	0	15.0 0
91	4	4.2	6	1	1	1	3	3	3	1	1	1	2	48	9	0	9	0	1	96	9	0	5	168	9	0	13.0 0
92	4	4.3	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	1	7	9	0	2	5	9	0	1.50
93	4	4.4	6	1	2	1	3	2	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	1	7	9	0	2	5	9	0	1.50
94	4	4.5	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	1	7	9	0	2	5	9	0	1.50
95	4	4.6	6	1	6	1	3	6	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	1	7	9	0	2	5	9	0	1.50
96	4	4.7	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	1	7	9	0	2	5	9	0	1.50
97	4	4.8	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	1	7	9	0	2	5	9	0	1.50
98	4	4.9	6	1	1	1	3	6	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	1	7	9	0	2	5	9	0	1.50
99	4	4.10	6	1	2	1	3	6	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	1	7	9	0	2	5	9	0	1.50
100	5	5.1	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	168	9	0	9	0	1	120	9	0	5	48	9	0	14.0 0
101	5	5.2	6	1	2	1	3	3	3	2	1	3	2	168	9	0	9	0	1	120	9	0	5	72	9	0	15.0 0
102	5	5.3	6	1	2	1	3	2	3	1	1	2	4	24	9	0	9	0	1	48	9	0	2	5	9	0	3.21
103	5	5.4	6	1	6	1	3	3	3	1	1	2	4	24	9	0	9	0	1	48	9	0	2	5	9	0	3.21
104	5	5.5	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	4	24	9	0	9	0	1	48	9	0	2	5	9	0	3.21
105	5	5.6	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	4	24	9	0	9	0	1	48	9	0	2	5	9	0	3.21
106	5	5.7	6	1	1	1	3	1	3	1	1	2	4	24	9	0	9	0	1	48	9	0	2	5	9	0	3.21
107	6	6.1	6	1	2	1	3	6	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	1	7	9	0	2	5	9	0	1.50
108	6	6.2	6	1	2	1	3	6	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	1	7	9	0	2	5	9	0	1.50
109	6	6.3	6	1	2	1	3	6	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	1	7	9	0	2	5	9	0	1.50
110	6	6.4	6	1	2	1	3	6	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
111	7	7.1	6	1	3	1	3	5	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	1	7	9	0	2	5	9	0	1.50
112	8	8.1	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	5	9	0	3.50
113	8	8.2	6	1	2	1	3	3	3	2	1	3	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	5	9	0	3.50
114	8	8.3	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	5	9	0	3.50
115	8	8.4	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	5	9	0	3.50
116	8	8.5	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	5	9	0	3.50
117	8	8.6	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	5	9	0	3.50
118	8	8.7	6	1	2	1	3	3	3	2	1	3	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	5	9	0	3.50

119	8	8.8	6	3	2	1	3	3	3	2	1	3	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	5	9	0	3.50
120	8	8.9	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	17	9	0	3.08
121	8	8.10	6	1	2	1	3	5	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	17	9	0	3.08
122	8	8.11	6	1	1	1	3	2	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	17	9	0	3.08
123	8	8.12	6	1	2	1	3	2	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	17	9	0	3.08
124	8	8.13	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	17	9	0	3.08
125	8	8.14	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	17	9	0	3.08
126	8	8.15	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	17	9	0	3.08
127	8	8.16	6	1	2	1	3	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	17	9	0	3.08
128	8	8.17	6	1	2	1	3	5	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	17	9	0	3.08
129	9	9.1	6	3	3	1	3	5	3	2	1	3	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	5	9	0	3.50
130	9	9.2	6	1	6	1	3	3	3	2	2	2	2	24	9	0	2	24	2	7	9	0	2	2	9	0	2.38
131	9	9.3	6	3	5	1	3	3	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	17	9	0	3.08
132	9	9.4	6	2	2	1	3	3	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	17	9	0	3.08
133	9	9.5	6	3	2	1	3	3	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	33	9	0	2	17	9	0	3.08
134	10	10.1	6	3	3	1	3	5	3	2	1	3	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	5	9	0	3.50
135	11	11.1	6	1	2	1	2	2	3	2	2	2	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	6	9	0	3.54
136	11	11.2	6	1	2	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	6	9	0	3.54
137	11	11.3	6	1	2	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	6	9	0	3.54
138	11	11.4	6	1	5	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
139	11	11.5	6	1	2	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
140	11	11.6	6	1	5	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
141	12	12.1	5	3	2	1	3	3	3	2	2	2	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	6	9	0	3.54
142	12	12.2	5	3	2	1	3	5	3	2	2	2	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
143	12	12.3	5	3	2	1	3	5	3	2	2	2	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
144	12	12.4	5	3	2	1	3	3	3	2	2	2	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
145	13	13.1	6	1	1	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	6	9	0	3.54
146	13	13.2	6	1	6	1	2	6	3	2	2	2	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	6	9	0	3.54
147	13	13.3	6	1	1	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	6	9	0	3.54
148	13	13.4	6	1	1	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
149	13	13.5	6	1	1	1	2	5	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
150	13	13.6	6	1	1	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
151	14	14.1	5	1	2	1	2	5	3	2	2	1	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	6	9	0	3.54
152	14	14.2	5	1	3	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	7	1	48	9	0	2	6	9	0	3.54
153	14	14.3	5	1	1	1	2	2	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
154	14	14.4	5	1	2	1	2	6	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
155	14	14.5	5	1	1	1	2	2	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
156	14	14.6	5	1	2	1	2	4	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
157	14	14.7	5	1	1	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
158	14	14.8	5	1	2	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	2	5	2	16	9	0	2	6	9	0	2.13
159	15	15.1	3	1	2	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	7	9	0	2.29
160	15	15.2	3	1	3	1	2	3	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	7	9	0	2.29
161	15	15.3	3	1	5	1	2	5	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	7	9	0	2.29

162	15	15.4	3	1	3	1	2	3	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	7	9	0	2.29
163	15	15.5	3	1	3	1	2	3	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
164	15	15.6	3	1	2	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
165	15	15.7	5	1	3	1	2	5	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
166	15	15.8	3	1	2	1	2	3	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
167	15	15.9	5	1	3	1	2	5	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
168	15	15.1	5	1	2	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
169	15	15.1	5	1	2	1	2	2	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
170	15	15.1	5	1	3	1	2	3	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
171	15	15.1	5	1	2	1	2	5	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
172	15	15.1	5	1	2	1	2	2	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
173	15	15.1	3	1	3	1	2	3	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
174	15	15.1	3	1	3	1	2	2	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
175	15	15.1	5	1	3	1	2	3	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
176	15	15.1	3	1	2	1	2	2	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
177	15	15.1	3	1	2	1	2	3	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
178	15	15.2	5	1	2	1	2	3	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
179	15	15.2	5	1	2	1	2	3	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
180	15	15.2	3	1	3	1	2	2	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
181	15	15.2	5	1	2	1	2	3	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
182	15	15.2	3	1	2	1	2	2	3	2	1	3	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
183	16	16.1	6	1	3	1	3	5	3	2	2	1	2	72	2	24	9	0	1	72	1	144	5	24	9	0	14.0
184	16	16.2	6	1	3	1	3	5	3	2	2	1	2	72	2	24	9	0	1	72	1	144	5	24	9	0	14.0
185	16	16.3	6	2	3	1	3	6	3	2	2	1	1	9	9	0	9	0	1	15	9	0	2	6	9	0	1.25
186	16	16.4	6	2	5	1	3	4	3	2	2	1	1	9	9	0	9	0	1	15	9	0	2	6	9	0	1.25
187	16	16.5	6	2	5	1	3	4	3	2	2	1	1	9	9	0	9	0	1	15	9	0	2	6	9	0	1.25
188	16	16.6	6	2	5	1	3	6	3	2	2	2	1	9	9	0	9	0	1	15	9	0	2	6	9	0	1.25
189	16	16.7	6	2	5	1	3	6	3	2	2	2	1	9	1	9	9	0	1	15	1	14	2	6	9	0	2.21
190	16	16.8	6	2	5	1	3	5	3	2	2	2	1	9	9	0	9	0	1	15	9	0	2	6	9	0	1.25
191	16	16.9	6	2	3	1	3	5	3	2	2	1	1	9	9	0	9	0	1	15	9	0	2	6	9	0	1.25
192	16	16.1	6	2	5	1	3	4	3	2	2	1	1	9	9	0	9	0	1	15	9	0	2	6	9	0	1.25
193	16	16.1	6	2	4	1	3	6	3	2	2	2	1	9	1	9	9	0	1	15	1	14	2	6	9	0	2.21
194	16	16.1	6	2	5	1	3	4	3	2	2	1	1	9	1	9	9	0	1	15	1	14	2	6	9	0	2.21
195	16	16.1	6	2	5	1	3	4	3	2	2	1	1	9	9	0	9	0	1	15	9	0	2	6	9	0	1.25
196	16	16.1	6	2	5	1	3	4	3	2	2	1	1	9	1	9	9	0	1	15	1	14	2	6	9	0	2.21
197	16	16.1	6	2	3	1	3	4	3	2	2	1	1	24	9	0	9	0	1	14	9	0	2	6	9	0	1.83
198	16	16.1	6	2	5	1	3	6	3	2	2	2	1	24	9	0	9	0	1	14	9	0	2	6	9	0	1.83
199	16	16.1	6	2	3	1	3	5	3	2	1	3	1	24	9	0	9	0	1	14	9	0	2	6	9	0	1.83
200	16	16.1	6	2	3	1	3	3	3	1	1	2	1	24	9	0	9	0	1	14	9	0	2	6	9	0	1.83
201	16	16.1	6	2	5	1	3	5	3	1	1	2	1	24	9	0	9	0	1	14	9	0	2	6	9	0	1.83
202	16	16.2	6	2	6	1	3	4	3	1	1	2	1	15	9	0	9	0	2	24	9	0	2	24	9	0	2.63
203	16	16.2	6	2	3	1	3	4	3	2	2	1	1	15	9	0	9	0	2	24	9	0	2	24	9	0	2.63
204	16	16.2	6	2	3	1	3	6	3	2	2	1	1	15	9	0	9	0	2	24	9	0	2	24	9	0	2.63

205	16	16.2 3	6	2	3	1	3	6	3	2	2	1	1	15	9	0	9	0	2	24	9	0	2	24	9	0	2.63
206	16	16.2 4	6	2	6	1	3	6	3	2	2	2	1	15	9	0	9	0	2	24	9	0	2	24	9	0	2.63
207	16	16.2 5	6	2	6	1	3	4	3	2	2	1	1	15	9	0	9	0	2	24	9	0	2	24	9	0	2.63
208	16	16.2 6	6	2	6	1	3	6	3	2	1	3	1	15	9	0	9	0	2	24	9	0	2	24	9	0	2.63
209	16	16.2 7	6	2	6	1	3	4	3	2	2	1	1	15	9	0	9	0	2	24	9	0	2	24	9	0	2.63
210	16	16.2 8	6	2	4	1	3	4	3	2	2	2	1	15	9	0	9	0	2	24	9	0	2	24	9	0	2.63
211	16	16.2 9	6	2	4	1	3	4	3	2	2	2	1	15	9	0	9	0	2	24	9	0	2	24	9	0	2.63
212	16	16.3 0	6	2	6	1	3	4	3	1	1	2	1	15	9	0	9	0	2	24	9	0	2	24	9	0	2.63
213	16	16.3 1	6	2	3	1	3	4	3	1	1	2	1	15	9	0	9	0	2	24	9	0	2	24	9	0	2.63
214	16	16.3 2	6	2	4	1	3	4	3	1	1	2	1	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
215	16	16.3 3	6	1	3	1	3	6	3	2	2	1	1	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
216	16	16.3 4	6	2	6	1	3	6	3	2	2	2	1	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
217	16	16.3 5	6	2	6	1	3	6	3	1	1	2	1	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
218	16	16.3 6	6	2	4	1	3	4	3	2	2	2	1	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
219	16	16.3 7	6	2	6	1	3	6	3	2	2	2	1	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
220	16	16.3 8	6	2	6	1	3	6	3	2	2	2	1	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
221	16	16.3 9	6	2	6	1	3	6	3	2	2	2	1	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
222	16	16.4 0	6	1	3	1	3	4	3	2	2	1	1	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
223	16	16.4 1	6	2	3	1	3	6	3	1	1	2	1	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
224	16	16.4 2	6	2	4	1	3	4	3	2	1	3	1	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
225	16	16.4 3	6	2	3	1	3	4	3	1	1	2	1	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
226	16	16.4 4	6	2	3	1	3	6	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
227	16	16.4 5	6	1	3	1	3	6	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
228	16	16.4 6	6	2	4	1	3	5	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
229	16	16.4 7	6	2	6	1	3	6	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
230	16	16.4 8	6	1	3	1	3	6	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
231	16	16.4 9	6	2	6	1	3	6	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
232	16	16.5 0	6	2	6	1	3	6	3	2	1	3	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
233	16	16.5 1	6	2	6	1	3	6	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
234	16	16.5 2	6	2	6	1	3	6	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
235	16	16.5 3	6	2	4	1	3	5	3	2	1	3	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
236	16	16.5 4	6	1	3	1	3	6	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
237	16	16.5 5	6	2	6	1	3	6	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
238	16	16.5 6	6	2	3	1	3	6	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
239	16	16.5 7	6	2	3	1	3	5	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
240	16	16.5 8	6	2	3	1	3	3	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
241	16	16.5 9	6	2	3	1	3	6	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
242	16	16.6 0	6	2	4	1	3	4	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
243	16	16.6 1	6	2	4	1	3	4	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
244	16	16.6 2	6	2	6	1	3	6	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
245	16	16.6 3	6	1	6	1	3	6	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
246	16	16.6 4	6	2	3	1	3	3	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
247	16	16.6 5	6	2	3	1	3	3	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25

248	16	16.6 6	6	2	3	1	3	4	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
249	16	16.6 7	6	2	5	1	3	3	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
250	16	16.6 8	6	2	3	1	3	6	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
251	16	16.6 9	6	2	5	1	3	4	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
252	16	16.7 0	6	2	3	1	3	6	3	1	1	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
253	16	16.7 1	6	2	6	1	3	6	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	6	9	0	2.25
254	16	16.7 2	6	2	3	1	3	3	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
255	16	16.7 3	6	2	4	1	3	4	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
256	16	16.7 4	6	2	4	1	3	4	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
257	16	16.7 5	6	2	3	1	3	4	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
258	16	16.7 6	6	2	4	1	3	4	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
259	16	16.7 7	6	2	3	1	3	4	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
260	16	16.7 8	6	2	4	1	3	4	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
261	16	16.7 9	6	2	4	1	3	4	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
262	16	16.8 0	6	2	4	1	3	4	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
263	16	16.8 1	6	1	3	1	3	3	3	2	2	2	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
264	16	16.8 2	6	2	4	1	3	4	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33
265	16	16.8 3	6	2	4	1	3	4	3	2	2	1	2	24	9	0	9	0	2	24	9	0	2	8	9	0	2.33

---

Fuente: LaMoNec 2018.

### Anexo 36: Variables histológicas evaluadas en los 31 órganos o tejidos del cuerpo 1

**Tabla 47:** Variables histológicas evaluadas en los 31 órganos o tejidos del cuerpo 1

Órgano	Cuerpo 1												
	Tiempo de fijación				Calidad de fijación								
	Núcleo		Citoplasma		Patología								
Sin autólisis	Decoloración	Pérdida completa de la basofilia	Vacuolización	Artefacto de retracción	Bordes nucleares borrosos	Alteraciones morfológicas	Artefactos por patología asociada	Patología	Descalcificación excesiva	Orientación pobre de la sección	Pigmentos de formalina	Sobre tinción	
1.1	20	50	30	2	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.2	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.3	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.4	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.5	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.6	80	10	10	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.7	60	30	10	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.8	90	5	5	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.9	80	10	10	1	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.10	65	30	5	2	1	2	2	1	Tiroiditis	2	2	2	2
1.11	50	40	10	2	2	2	2	1	Enfisema	2	2	2	2
1.12	80	10	10	2	2	2	2	1	Arterioesclerosis	2	2	2	2
1.13	20	60	20	1	2	2	2	1	Esteatosis hepática micro y macro vacuolar	2	2	2	2
1.14	0	0	100	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.15	30	0	70	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.16	80	0	20	2	2	2	2	1	Arterioesclerosis	2	2	2	2
1.17	20	50	30	1	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.18	0	0	100	2	2	2	2	1	Necrosis grasa premortem	2	2	2	2
1.19	40	10	50	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.20	20	20	60	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.21	999	999	999	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2
1.22	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.23	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	1
1.24	100	0	0	2	2	2	2	1	Cambios degenerativos	1	2	2	2
1.25	0	0	100	2	2	2	2	2	Ninguna	2	1	2	2
1.26	0	0	100	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.27	0	0	100	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.28	0	0	100	2	2	2	2	2	Ninguna	2	1	2	2
1.29	0	0	100	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.30	0	0	100	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
1.31	999	999	999	0	0	2	2	1	Obliteración fibrosa	2	2	2	2

**Fuente:** LaMoNec 2018.

### Anexo 37: Variables histológicas evaluadas en los 31 órganos o tejidos del cuerpo 2.

**Tabla 48:** Variables histológicas evaluadas en los 31 órganos o tejidos del cuerpo 2.

ÓRGANO	Tiempo de fijación								Calidad de fijación				
	Nucleo			Citoplasma					Patología	Descalcificación excesiva	Orientación libre de la sección	Pigmentos de formalina	Sobre tinción
	Sin autólisis	Decoloración	Pérdida de la basofilia	Vacuolización	Artefacto de retracción	Bordes celulares borrosos	Alteraciones morfológicas	Artefactos por tinción asociada					
2.1	20	40	40	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.2	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.3	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.4	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.5	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.6	60	20	20	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.7	20	40	40	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.8	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.9	70	20	10	1	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.10	100	0	0	2	2	2	2	1	Bocio multinodular	2	2	2	2
2.11	100	0	0	2	2	2	2	1	Enfisema	2	2	2	2
2.12	0	20	80	2	1	2	2	1	Arterioesclerosis	2	2	2	2
2.13	0	70	30	1	1	2	2	1	Dilatación sinusoidal, congestión	2	2	2	2
2.14	0	60	40	1	1	2	2	1	Colesistitis crónica	2	2	2	2
2.15	10	40	50	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.16	999	999	999	0	0	2	2	1	Arterioesclerosis	2	2	2	2
2.17	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.18	10	20	70	1	2	2	2	1	Necrosis grasa premortem	2	2	2	2
2.19	100	0	0	2	2	2	2	1	Congestivo	2	2	2	2
2.20	0	20	80	1	1	2	2	1	Pielonefritis crónica, glomerulo esclerosis	2	2	2	2
2.21	999	999	999	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2
2.22	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.23	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	1
2.24	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.25	0	20	80	2	1	2	2	2	Ninguna	2	1	2	2
2.26	0	30	70	2	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.27	0	20	80	2	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.28	0	30	70	2	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.29	0	20	80	2	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.30	0	30	70	2	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
2.31	999	999	999	0	0	0	0	1	Obliteración fibrosa	0	2	2	2

**Fuente:** LaMoNec 2018.

**Anexo 38: Variables histológicas evaluadas en los 31 órganos o tejidos del cuerpo 3.**

**Tabla 49: Variables histológicas evaluadas en los 31 órganos o tejidos del cuerpo 3.**

Cuerpo 3													
Órgano	Tiempo de fijación					Calidad de fijación							
	Nucleo		Citoplasma			Bordes nucleares borrosos	Alteraciones morfológicas	Artefactos por patología asociada	Patología	Descalcificación excesiva	Orientación pobre de la sección	Pigmentos de formalina	Sobre tinción
	Sin autólisis	Decoloración	Pérdida de la basofilia	Vacuolización	Artefacto de retracción								
3.1	80	10	10	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.2	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.3	100	0	0	1	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.4	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.5	100	0	0	2	2	2	1	2	Ninguna	2	2	2	2
3.6	100	0	0	2	2	2	1	2	Ninguna	2	2	2	2
3.7	100	0	0	2	2	2	1	2	Ninguna	2	2	2	2
3.8	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.9	50	40	10	1	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.10	40	20	40	2	1	2	2	1	Atrofia, Tiroiditis crónica	2	2	2	2
3.11	80	20	0	2	2	2	2	1	Enfisema	2	2	2	2
3.12	80	20	0	2	2	2	1	1	Arterioesclerosis	2	2	2	2
3.13	70	20	10	2	2	2	1	1	Congestión, colestasis, fibrosis portal leve	2	2	2	2
3.14	0	40	60	1	2	2	2	1	Colecistitis crónica	2	2	2	2
3.15	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	1
3.16	95	0	5	1	1	1	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.17	30	50	20	1	1	2	2	1	Atrofia	2	2	2	2
3.18	0	0	100	1	1	2	2	1	Necrosis grasa	2	2	2	2
3.19	50	0	50	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.20	100	0	0	2	1	2	2	1	Glomerulo esclerósico	2	2	2	2
3.21	100	0	0	2	2	2	1	2	Ninguna	2	2	2	2
3.22	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.23	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	2	2	2	1
3.24	100	0	0	2	2	2	2	2	Ninguna	1	2	2	2
3.25	0	20	80	1	1	2	2	2	Ninguna	2	1	2	2
3.26	25	50	25	1	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.27	0	0	100	2	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.28	30	60	10	1	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.29	30	60	10	1	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.30	10	70	20	1	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2
3.31	0	60	40	2	1	2	2	2	Ninguna	2	2	2	2

**Fuente:** LaMoNec 2018.