

Conceptos Fundamentales del Protocolo Modificado de Plastinación a Temperatura Ambiente con Silicona, con Posterior Pigmentación, y su Aplicación para la Conservación de Placenta Humana

Fundamental Concepts of the Modified Room Temperature Plastination Protocol with Silicone, with Subsequent Pigmentation, and its Application for the Conservation of Human Placenta

Ruth Prieto¹; Claudia Andrea Vargas^{2,3}; Carlos Veuthey⁴; Santiago Aja-Guardiola⁵ & Nicolás Ernesto Ottone^{2,4,6}

PRIETO, R.; VARGAS, C. A.; VEUTHEY, C.; AJA-GUARDIOLA, S. & OTTONE, N. E. Conceptos fundamentales del protocolo modificado de plastinación a temperatura ambiente con silicona, con posterior pigmentación, y su aplicación para la conservación de placenta humana. *Int. J. Morphol* 37(1):369-374, 2019.

RESUMEN: El auge experimentado en los últimos años en la aplicación de las técnicas anatómicas para la conservación de muestras anatómicas está directamente relacionado con la necesidad de preservación de los escasos especímenes con que cuentan las instituciones universitarias en relación a aumentar el tiempo de utilización del mismo. En este sentido, la plastinación es la técnica anatómica que más se destaca y que permite preservar por tiempo indeterminado, sin toxicidad, las preparaciones anatómicas. Presentamos el protocolo modificado de plastinación a temperatura ambiente con silicona, desarrollado en el Laboratorio de Plastinación y Técnicas Anatómicas de la Universidad de La Frontera, con el objetivo de aplicarla a la conservación de una placenta humana, la cual posteriormente fue pigmentada para otorgarle un aspecto más cercano a lo real.

PALABRAS CLAVE: Plastinación; Temperatura ambiente; Silicona; Placenta; Pigmentación; Acrílicos.

INTRODUCCIÓN

La conservación de material cadavérico ha sufrido una verdadera revolución luego de la aparición de la Plastinación, técnica anatómica inventada por el Prof. Gunther von Hagens, en Heidelberg, Alemania, en 1977 (von Hagens, 1979; Ottone, 2013, 2016, 2018a,b). Desde su creación, esta técnica comenzó a desarrollarse en varios laboratorios a nivel mundial, llegando a México en el año 1983, de la mano del Prof. Dr. Santiago Aja Guardiola, mientras que en Sudamérica, fue el Prof. Dr. Carlos Baptista, quien por primera vez aplicó la técnica de plastinación en nuestra región en 1984 (Baptista, 2015).

Nuestra experiencia en particular, comenzó en la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires, en el año 2007, en el Equipo de Disección dirigido por el Prof. Dr. Vicente Hugo Bertone, con puesta en funcionamiento

del primer equipamiento desarrollado totalmente por nosotros en el año 2010, con asesoramiento del Prof. Dr. Santiago Aja Guardiola; y con implementación definitiva de un laboratorio de plastinación en el año 2012, en el Instituto de Morfología J. J. Naón dirigido por el Prof. Dr. Homero Bianchi. En el 2013 se asistió al workshop de plastinación organizado en por el Laboratorio de Plastinación de la University of Toledo, dirigido por el Prof. Dr. Carlos Baptista, adquiriendo conocimientos elementales para el mejoramiento de la aplicación de la técnica en nuestro laboratorio. Finalmente, a partir de 2014 comenzó a desarrollarse el Laboratorio de Plastinación y Técnicas Anatómicas en la Universidad de La Frontera, en la Facultad de Odontología, con apoyo del Doctorado en Ciencias Morfológicas y el Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Qui-

¹ Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

² Programa de Doctorado en Ciencias Morfológicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

³ Departamento de Educación Física, Facultad de Educación, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

⁴ Laboratorio de Plastinación y Técnicas Anatómicas, Centro de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

⁵ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

⁶ Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. Financiado por la Universidad de la Frontera, Proyecto DIUFRO N° DI18-0002

rúrgicos. A partir del 2016 comenzó a funcionar en forma completa el laboratorio, desarrollando todas las técnicas de plastinación existentes. Al mismo tiempo que se desarrollaban publicaciones científicas y proyectos de investigación, tanto internos como externos, se comenzaron a dictar cursos de perfeccionamiento en la técnica de plastinación, Workshop Internacional de Plastinación y Técnicas Anatómicas, con asistencia de académicos de Universidades de la mayor parte de los países de Sudamérica. Este año 2019 se llevará a cabo la tercera versión del Workshop Internacional de Plastinación y Técnicas Anatómicas, mientras que en el 2020, seremos sede de la 20th International Conference on Plastination, en la ciudad de Pucón, Chile, evento que se realiza por primera vez en Sudamérica y en el cual se espera reunir a los mayores expertos en la técnica de plastinación de todo el mundo (Ottone, 2018c).

En paralelo, la necesidad de proveer de material cadavérico humano a los estudiantes de las distintas carreras de las ciencias de la salud, y ante la escasez del mismo y de profesional idóneo en el desarrollo de conservación, disección y desarrollo de técnicas anatómicas, hacen que la plastinación adquiera un valor notable, convirtiéndose en el método de elección para la conservación de muestras durante un tiempo indeterminado, sin toxicidad y totalmente bioseguras en su manipulación (Ottone *et al.*, 2016, 2018c).

El objetivo de este trabajo consistió en adaptar nuestro protocolo de plastinación a temperatura ambiente con silicona modificado (Ottone *et al.*, 2015) para la conservación de una placenta humana, la cual posteriormente fue pigmentada, para otorgarle una coloración y aspecto similar a lo real.

MATERIAL Y MÉTODO

La muestra consistió en una placenta humana fresca, de 380 g, proveniente del Hospital Hernán Henríquez Aravena de Temuco, Región de la Araucanía, Chile. La obtención y utilización de este material anatómico se encuentra aprobado por el Comité de Ética Científica, Servicio Salud Araucanía Sur (marzo 2016).

La placenta, previo a la fijación, fue inyectada por vía arterial y venosa con látex natural (Fig. 1). El látex fue coloreado con pintura acrílica color rojo y azul, para identificar las dos arterias umbilicales y la vena umbilical, respectivamente. La muestra fue colocada en agua durante 24 h, luego de las cuales se procedió a realizar la fijación de la muestra. La fijación fue realizada por inmersión en formalina al 10 %, durante 2 semanas.

Una vez finalizado el proceso de fijación, se comenzó la plastinación. Se implementó la técnica de plastinación a temperatura ambiente, siguiendo el protocolo modificado desarrollado en nuestro Laboratorio (Ottone *et al.*, 2014, 2015) y adaptándolo a la muestra utilizada en este trabajo.

Lavado. La muestra fue colocada en agua corriente durante una semana para favorecer la eliminación de los líquidos de fijación (formalina) utilizados para su conservación inicial.

Deshidratación. La deshidratación tiene como objetivo el reemplazo del formaldehído por un solvente intermediario, miscible en agua, por ejemplo acetona. Estos solventes intermedarios tienen la capacidad de ser extraídos durante la etapa de impregnación forzada, permitiendo de este modo el ingreso de la silicona al preparado.

Para el proceso de deshidratación en nuestro trabajo, se realizaron cuatro baños consecutivos de acetona, al 100 % (a -25 °C). Cada baño de acetona tuvo una duración de siete días, completándose una totalidad de un mes para la deshidratación total de la placenta.

Impregnación forzada. Este es el paso fundamental de la plastinación, en el cual se reemplaza la acetona (solvente intermediario) por la mezcla silicona/catalizador. La impregnación forzada permite extraer la acetona de la estructura celular y el intersticio de la preparación, siendo reemplazada por la mezcla silicona/catalizador. Este proceso se da gracias a la elevada presión de vapor de la acetona en comparación a la baja presión de vapor de la mezcla silicona-catalizador. La acetona (intermediario volátil) que se encuentra dentro del espécimen es removido por una bomba de vacío, en nuestro caso, en forma “activa” y “pasiva”. Conforme la acetona es removida, una diferencia de presión será producida causando que el polímero ingrese en la muestra. La impregnación forzada debe llevarse a cabo lentamente a medida que el polímero es agregado dentro de la muestra donde la acetona cambia de estado líquido a gaseoso y es removida. La velocidad de impregnación es cuidadosamente medida y ajustada mediante la incorporación controlada de aire dentro de la cámara de vacío por medio de una válvula de ajuste.

Por lo tanto, en esta investigación, se sumergió la muestra en una mezcla silicona: catalizador (polidimetilsiloxano:dilaurato de dibutilestano) (100:1) dentro de un contenedor plástico, que se ubica en el interior de la cámara de vacío a temperatura ambiente. Se reduce la presión desde 760 mmHg hasta 20 mmHg, durante 5 días, con períodos activos/pasivos de impregnación (Ottone *et al.*, 2015). En la Tabla I se detalla el protocolo de impregnación forzada.

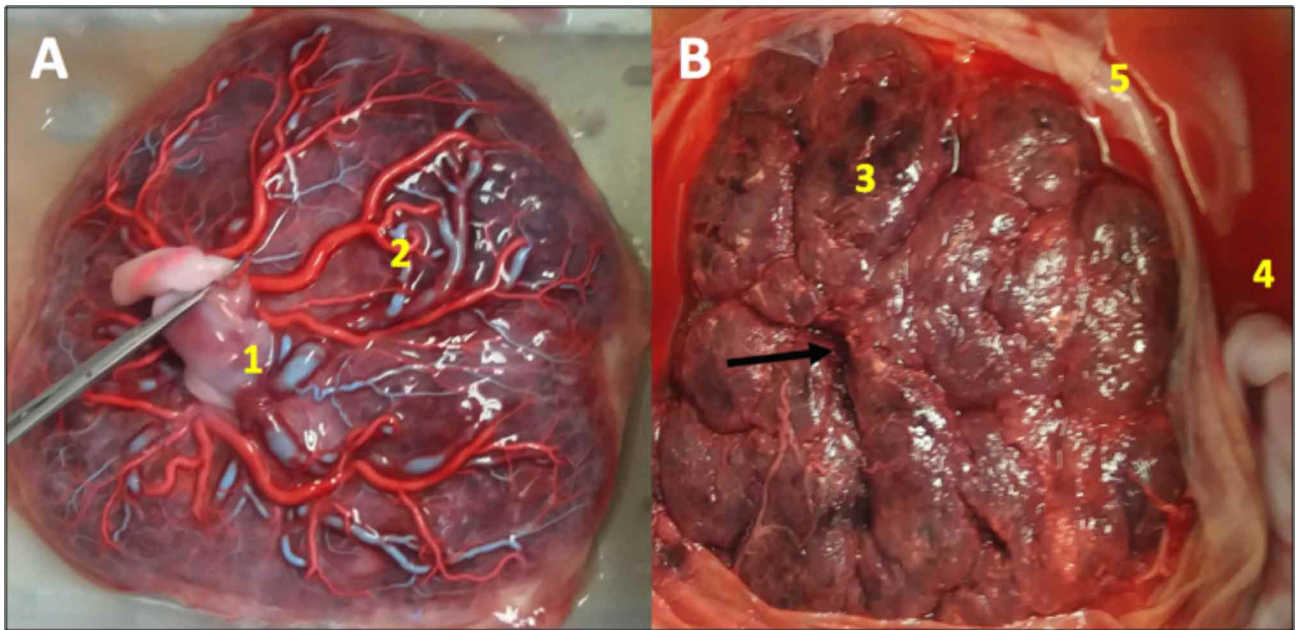


Fig. 1. Placenta de término, con técnica de inyección vascular con látex natural color rojo. A. Cara fetal. 1, Inserción cordón umbilical; 2, arterias y venas de la placa coriónica. B. Cara materna. 3, cotiledón; 4, porción cordón umbilical; 5, membrana amniocorial (flecha negra) surco.

Tabla I. Proceso de impregnación forzada activa y pasiva. En una técnica de cinco días, se combinaron períodos de impregnación forzada activa (8 h cada uno) e impregnación forzada pasiva (16 y 24 horas según el día). El punto aquí es llevar la presión dentro de la cámara de vacío de 760 mmHg a 20 mmHg, y en esta presión final, cuando las burbujas desaparecen, el proceso de impregnación forzada termina.

Días	Impregnación forzada	Presión
1º Día	“Pasiva” (24 h)	760 mmHg
2º Día	“Activa” (8 h)	760 mmHg to 260 mmHg
	“Pasiva” (16 h)	260 mmHg
3º Día	“Activa” (8 h)	260 mmHg to 60 mmHg
	“Pasiva” (16 h)	60 mmHg
4º Día	“Activa” (8 h)	60 mmHg to 40 mmHg
	“Pasiva” (16 h)	40 mmHg
5º Día	“Activa” (8 h)	40 mmHg to 20 mmHg
	“Pasiva” (16 h)	760 mmHg

Curado. La muestra se coloca dentro de la cámara de curado, y se lo somete a un líquido alargador de cadenas, tetraetil ortosilicato (TEOS, S6), que se gasifica sobre la muestra para acelerar el proceso de polimerización de la mezcla silicona:catalizador. Este TEOS, permite la vinculación “lado a lado” de las moléculas de silicona, contribuyendo a aumentar la dureza de la preparación. Una vez finalizado el curado, la muestra resulta seca y sin toxicidad (Fig. 2).

El proceso de curado (polimerización) consiste en el endurecimiento final y secado de la preparación, logrando mantener la silicona dentro del tejido y evitando su salida

del mismo. En la plastinación a temperatura ambiente, el proceso de curado ya se inicia durante la impregnación forzada, a partir de la mezcla del polímero (silicona, poldimetilsiloxano, S10) con el catalizador-elongador de cadenas (dilaurato de dibutilestano, S3). Durante este paso, se buscará principalmente lograr el secado definitivo de la muestra y finalizar con el endurecimiento que comenzó previamente.

Por lo tanto, luego de eliminado el exceso de silicona de la preparación, el espécimen se coloca dentro de una cámara de curado y se lo somete a un compuesto denominado



Fig. 2. Aspecto de la placenta plastinada, previo al proceso de pigmentación.

tetraetil ortosilicato (TEOS, S6). El mismo se coloca dentro de un recipiente y gracias al uso de un motor de pecera, se hace burbujear el TEOs y éste acelera su gasificación, actuando de esta manera sobre la preparación, cuyo objetivo es lograr el endurecimiento final y secado del preparado anatómico. Es importante la colocación dentro de la cámara de curado de un contenedor con cristales de sílice, que actúan absorbiendo la humedad y manteniendo seco el interior de la cámara de curado. Por lo tanto, existen dos etapas de curado: el curado rápido y superficial, que se logra en 2 o

3 días, sometiendo a la muestra al gas del TEOs. Este permite lograr el secado superficial de la muestra. Sin embargo, durante 3 o 4 meses, comienza la segunda etapa, el curado prolongado e interno, por el cual la muestra debe mantenerse dentro de una bolsa plástica para lograr la polimerización final del interior del preparado.

Pigmentación. Dos meses luego de finalizado el proceso de plastinación, y con la placenta totalmente seca, se procedió a realizar la pigmentación de la muestra. Se utilizó pintura acrílica marca “Schmincke”, utilizándose los siguientes colores: rojo bermellón, azul cobalto, amarillo de cadmio medio, tierra de sombra tostada, violeta y azul cian (Fig. 3).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En relación a la muestra en particular, se logró obtener una placenta que conservó su morfología, con inyección previa del sistema arterial y venoso, con posterior pigmentación para mejorar su aspecto. La aplicación del protocolo de plastinación con silicona a temperatura ambiente propuesto por Ottone *et al.* (2015) resultó muy adecuado para la preservación final de la placenta.

Es importante identificar las modificaciones establecidas en nuestro protocolo de plastinación a temperatura ambiente con silicona (Ottone *et al.*, 2015), que permiten

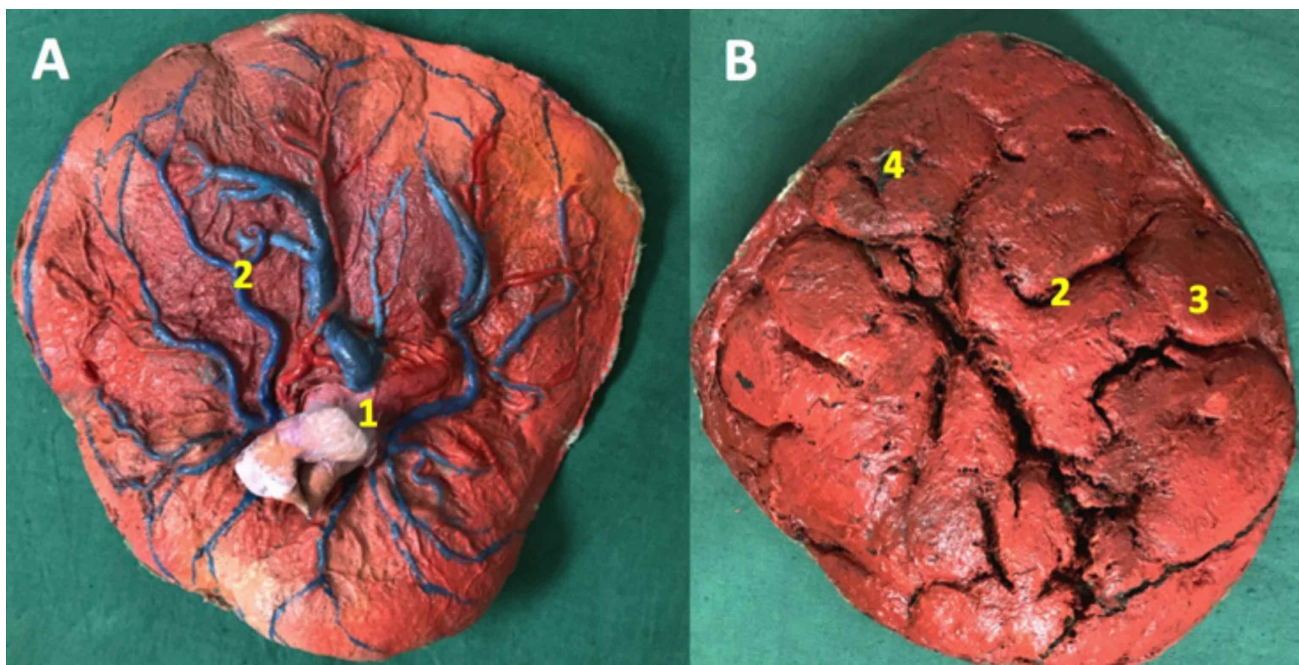


Fig. 3. Placenta de término, plastinada y pigmentada con acrílico. A. Cara fetal (1) cordón umbilical (2) placa coriónica. B. Cara materna (3) cotiledón (2) surco (3) porción vaso coriónico en cara materna.

constituirla como un método alternativo, rápido, seguro y de bajo costo para el desarrollo de la plastinación.

Las diferencias fundamentales establecidas en nuestro protocolo (Ottone *et al.*, 2014, 2015), ocurre durante la impregnación forzada, paso crucial de la plastinación. Y esto tiene que ver, por un lado, con el modo de combinar los reactivos y por el otro lado con el modo en que se lleva a cabo la impregnación forzada.

La plastinación a temperatura ambiente se hace pública en el ámbito científico en 1998, cuando en la revista de la International Society for Plastination se publican dos investigaciones, la primera en formato de artículo original, correspondiente a Zheng *et al.* (1988), y la segunda, a cargo de Roy Glover, de Estados Unidos, en formato de resumen, correspondiente a un trabajo presentado en la 9a Conferencia Internacional de Plastinación, celebrada en Quebec, Canadá (Glover *et al.*, 1988). En esta técnica se mezclan los reactivos para la impregnación forzada combinando la silicona (S10) con el alargador de cadenas (S6), usando como agente curador el S3 (que en la técnica de von Hagens en frío se combina con el S10) (von Hagens, 1986, 1987; Baptista *et al.*, 1988). De esta manera también se modifica el curado, siendo a temperatura ambiente con el uso del S3, el cual se pincela o rocía sobre la muestra, distinto a lo que ocurre en frío, en la cual el curado se realiza dentro de una cámara de curado dentro de la cual se coloca la muestra y se gasifica con S6. En nuestro protocolo, a temperatura ambiente, adaptamos reactivos genéricos, comercializados por distintas empresas proveedoras de estos componentes, no creados especialmente para la plastinación, combinando la silicona (polidimetilsiloxano), S10 de von Hagens, con el S6 (dilaurato de dibutilestano), 100:1, respectivamente. Es decir, combinamos los reactivos de la misma manera que en la técnica de plastinación en frío, pero a temperatura ambiente. Y el proceso de curado también es similar al empleado en la técnica en frío, sometiendo a los especímenes a una gasificación por parte del S3 (tetraetil ortosilicato, TEOS), diferenciándonos de la técnica clásica de plastinación a temperatura ambiente publicada por Glover y Zheng.

La segunda diferencia establecida corresponde al proceso de impregnación forzada en sí, estableciendo un nuevo concepto de impregnación forzada: impregnación forzada “activa” e impregnación forzada “pasiva”. La impregnación forzada activa consiste en la generación de vacío en forma continua, dentro de la cámara de vacío, a través del accionar de una bomba de vacío. Mientras que la impregnación forzada pasiva, consiste en la incorporación de la silicona dentro del espécimen, ocupando el espacio liberado por la acetona, sin el accionar de la bomba de vacío, por simple diferencia de presiones entre el espécimen y

la silicona dentro de la cual se encuentra. Esta nueva modalidad implementada, incorporando períodos intermedios de impregnación forzada pasiva, y evitando el accionar continuo de la bomba de vacío, permite una incorporación más lenta y uniforme de la silicona dentro del espécimen, evitando de este modo la retracción del mismo, sobre todo en preparaciones que clásicamente sufren un alto grado de retracción como es el sistema nervioso central, pero que con esta técnica de impregnado se reduce a menos del 10 % de retracción de su volumen original.

También proponemos un método de pigmentación de las muestras plastinadas, en base a pinturas acrílicas, con el objetivo de darles un aspecto real. Comprobamos que la placenta mantiene, luego de más de 5 meses de realizada la pigmentación, la coloración y características incorporadas durante el pintado de la muestra, asegurando una correcta visualización de las estructuras anatómicas resaltadas e identificadas gracias a la pigmentación.

CONCLUSIONES

El desarrollo de la técnica propuesta permitió lograr un espécimen real seco, inodoro, duradero, bioseguro, que no requiere de gran mantenimiento y no se deterioran con el tiempo (von Hagens, 1979; Bickley *et al.*, 1981; Ottone *et al.*, 2014). Todo esto permite manipularlos sin la necesidad de guantes ni otras medidas de seguridad (Zhang & Lee, 2002). Esta técnica resuelve el problema de la formalina, y su necesidad de mantención y la toxicidad que conlleva su uso (Bickley *et al.*; Ottone *et al.*, 2015, 2018c). El impacto visual de la muerte en los estudiantes de primer año es menos impactante y más amigable (von Hagens *et al.*, 1987; Cook, 1997; Ottone *et al.*, 2014, 2018b,c). Como conclusión, consideramos que el producto final de esta técnica permite al estudiante acceder a una placenta real, para su inspección, análisis y estudio, con todas las ventajas detalladas que otorga la plastinación y resolviendo las desventajas que se presentan con la conservación clásica en formalina o cualquier otro medio de fijación similar.

PRIETO, R.; VARGAS, C. A.; VEUTHEY, C.; AJA-GUARDIOLA, C. & OTTONE, N. E. Fundamental concepts of the modified room temperature plastination protocol with silicone, with subsequent pigmentation, and its application for the conservation of human placenta. *Int. J. Morphol* 37(1):375-376, 2019.

SUMMARY: The surge experienced in recent years in the application of anatomical techniques for the conservation of anatomical samples is directly related to the need to preserve the few specimens that university institutions have in relation to

increase the time of use of the same. In this sense, the plastination is the anatomical technique that stands out and that allows to preserve indefinitely, without toxicity, the anatomical preparations. We present the modified plastination protocol at room temperature with silicone, developed in the Laboratory of Plastination and Anatomical Techniques of the University of La Frontera, with the aim of applying it to the conservation of a human placenta, which was subsequently pigmented to give it an appearance closer to the real.

KEY WORDS: Plastination; Room temperature; Silicone; Placenta; Pigmentation; Acrylics.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baptista, C. A. C. Letter from the president. *J. Plastination*, 27(1):2, 2015.
- Baptista, C. A. C.; Bellm, P.; Plagge, M. S. & Valigosky, M. The use of explosion proof freezers in plastination: are they really necessary? *J. Int. Soc. Plastination*, 6:34-7, 1992.
- Baptista, C. A. C.; Cerqueira, E. P. & Conran, P. B. Impregnation of biological specimens with resins and elastomers: plastination with Biodur S10 resin. *Rev. Bras. Cienc. Morfol.*, 5(1):60-2, 1988.
- Bickley, H. C.; von Hagens, G. & Townsend, F. M. An improved method for the preservation of teaching specimens. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 105(12):674-6, 1981.
- Cook, P. Sheet plastination as a clinically based teaching aid at the University of Auckland. *Acta Anat. (Basel)*, 158:33-6, 1997.
- Glover, R. A.; Henry, R. W. & Wade, R. S. Polymer Preservation Technology: POLY-CUR. A Next Generation Process for Biological Specimen Preservation. Resumen. *J. Int. Soc. Plastination*, 13(2):39, 1998.
- Ottone, N. E. Gunther von Hagens, Creador de la plastinación. Reseña histórica y desarrollo de la técnica. *Rev. Argent. Anat. Online*, 4(2):70-6, 2013.
- Ottone, N. E. Plastination: Techniques fundamentals and implementation at Universidad de La Frontera. *J. Health Med. Sci.*, 4(4):293-302, 2018c.
- Ottone, N. E.; Baptista, C.; Latorre, R.; Bianchi, H. F.; del Sol, M. & Fuentes, R. E12 sheet plastination – Techniques and applications. *Clin. Anat.*, 31(5):742-56, 2018b.
- Ottone, N. E.; Cirigliano, V.; Bianchi, H. F.; Medan, C. D.; Algieri, R. D.; Borges Brum, G. & Fuentes, R. New contributions to the development of a plastination technique at room temperature with silicone. *Anat. Sci. Int.*, 90(2):126-35, 2015.
- Ottone, N. E.; Cirigliano, V.; Lewicki, M.; Bianchi, H. F.; Aja Guardiola, S.; Algieri, R. D.; Cantin, M. & Fuentes, R. Plastination Technique in laboratory rats: An alternative resource for teaching, surgical training and research development. *Int. J. Morphol.*, 32(4):1430-5, 2014.
- Ottone, N. E.; del Sol, M. & Fuentes, R. Report on a sheet plastination technique using commercial epoxy resin. *Int. J. Morphol.*, 34(3):1039-43, 2016.
- Ottone, N. E.; Vargas, C. A.; Veuthey, C.; del Sol, M. & Fuentes, F. Epoxy sheet plastination on a rabbit head—new faster protocol with Biodur® E12/E1. *Int. J. Morphol.*, 36(2):441-6, 2018a.
- von Hagens, G. (Ed.). *Heidelberg Plastination Folder*. Collection of Technical Leaflets of Plastination. Heidelberg, Biodur Products GmbH, 1986.
- von Hagens, G. Impregnation of soft biological specimens with thermosetting resins and elastomers. *Anat. Rec.*, 194(2):247-55, 1979.
- von Hagens, G.; Tiedemann, K. & Kriz, W. The current potential of plastination. *Anat. Embryol. (Berlin)*, 175(4):411-21, 1987.
- Zheng, T.; Liu, J. & Zhu, K. Plastination at room temperature. *J. Int. Soc. Plastination*, 13(2):21-5, 1998.

Dirección para correspondencia:
Dr. Nicolás Ernesto Ottone
Laboratorio de Plastinación y Técnicas Anatómicas
Facultad de Odontología (CICO)
Universidad de La Frontera
Temuco
CHILE

E-mail: nicolas.ottone@ufrontera.cl

Recibido : 10-09-2018

Aceptado: 31-12-2018