

Vigencia de los métodos tradicionales de investigación en la anatomía

Validity of traditional research methods in anatomy

Darien Nápoles Vega,¹ Kenia Milagro Sebasco Rodríguez,² Florangel Urrusuno Carvajal³.

¹Doctor en Medicina Veterinaria, Licenciado en Biología, Máster en Educación Superior, Profesor Titular, Investigador Auxiliar. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón" Universidad de Ciencias Médicas de La Habana.

darien.napoles1978@gmail.com

<http://orcid.org/0000-0002-0950-5473>.

² Licenciada en Biología, Máster en Educación Superior, Profesor Auxiliar, Investigadora Agregado. FCM "Manuel Fajardo" Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. skeniamilagro@gmail.com

<http://orcid.org/0000-0002-7908-5508>.

³ Doctora en Medicina. Profesor Auxiliar. Especialista de 2do grado en Medicina General Integral. Dirección Municipal de La Habana del Este. florangel.urrusuno@infomed.sld.cu

<http://orcid.org/0000-003-2955-9695>

Correspondencia: darien.napoles1978@gmail.com

RESUMEN

Desde la antigüedad el hombre se ha ocupado de la conservación y el mantenimiento de los especímenes anatómicos, para lo que ha creado y aplicado diferentes métodos y procedimientos. No es posible formar un profesional de la salud utilizando solo el conocimiento teórico, por esta razón la disección y conservación de tejidos y órganos humanos juega un papel fundamental en la docencia de la Anatomía. En la actualidad, se continúa la exploración y el desarrollo de estas técnicas, recurriendo a licores de conservación diferentes al formaldehído, para minimizar la exposición a riesgos químicos y biológicos. El objetivo del presente trabajo es: Desarrollar una revisión bibliográfica sobre la actualidad del método tradicional en la enseñanza de la Anatomía, empleando técnicas de conservación de piezas anatómicas duraderas y que permiten preservar sus características morfológicas, utilizando tratamientos menos invasivos para la salud humana y ambiental. Por tanto, el presente trabajo constituye una actualización sobre preparados anatómicos de calidad, que apoyan la calidad del proceso de enseñanza aprendizaje y las investigaciones morfológicas con el mínimo riesgo ambiental, lo que contribuye al fortalecimiento de la enseñanza de la anatomía.

Palabras clave: Anatomía; conservación; enseñanza.

ABSTRACT

Since ancient times, man has been concerned with the conservation and maintenance of anatomical specimens, for which he has created and applied different methods and procedures. It is not possible to train a health professional using only theoretical knowledge, for this reason the dissection and conservation of human tissues and organs plays a fundamental role in the teaching of Anatomy. Currently, the exploration and development of these techniques continues, resorting to preservation liquors other than formaldehyde, to minimize exposure to chemical and biological risks. The objective of the present work is: To develop a bibliographic review on the actuality of the traditional method in the teaching of Anatomy, using techniques of conservation of durable anatomical pieces and that allow to preserve their morphological characteristics, using less invasive treatments for human and environmental health. . Therefore, the present work constitutes an update on quality anatomical preparations, which support the quality of the teaching-learning process and morphological investigations with minimal environmental risk, which contributes to the strengthening of anatomy teaching.

Keywords: Anatomy; conservation; teaching.

INTRODUCCIÓN

Desde los egipcios hasta nuestros días se ha utilizado la conservación, preservación y embalsamamiento de cadáveres y órganos, animales y humanos, principalmente para fines religiosos, educativos y culturales; los religiosos comienzan con la momificación de los grandes faraones, habitantes de gran estatus y animales sagrados, favoreciéndolos mucho, el clima, la constitución de los individuos y el terreno; para este proceso extraían con un gancho el cerebro, y después abrían el vientre y extraían los intestinos, lavando con vino de palmera, y luego lo llenaban de mirra, canela y otros aromas. Después tenían al cadáver durante 70 días en una disolución de natrón (sal compuesta de carbonato sódico, bicarbonato sódico, sulfato sódico y cloruro sódico), y luego lo recubrían de telas impregnadas de una goma o materias balsámicas; igualmente con este mismo fin lo realizaron los judíos, los etíopes, los persas, los griegos y los romanos. ¹

El empleo de cadáveres en la enseñanza de la anatomía ha incentivado la necesidad de conservar los tejidos durante largos períodos de tiempo, lo que permite su manipulación y disección sin que ocurra la descomposición de los mismos. Para lograr este objetivo se han creado diferentes técnicas de fijación y conservación para mantener por tiempo prolongado las características morfológicas de los tejidos, en un estado similar al del individuo vivo, para que las estructuras que componen el cuerpo sean visibles durante la disección. Estas técnicas también tienen como finalidad disminuir el riesgo de exposición del personal a los agentes infecciosos presentes en el espécimen a conservar. ²

Desde tiempos remotos se han aplicado diversas técnicas de conservación, las más utilizadas en la actualidad se basan en la perfusión intraarterial de soluciones fijadoras-conservadoras, la

composición de éstas varía en función de las necesidades generadas por diferentes factores como condiciones climáticas del sitio donde está ubicado el laboratorio, disponibilidad de recursos, el uso al que estará destinada la pieza y hasta la preferencia del facultativo.^{3; 4; 5}

La conservación de cadáveres o de estructuras corporales también ha sido empleada para preservar cadáveres que posean alto valor histórico o social, como es el caso de los cuerpos momificados de Vladimir I. Lenin, Eva Perón y otras personalidades no menos importantes, además del estudio de especímenes patológicos, así como para el estudio y enseñanza de la Anatomía. El método de conservación de piezas anatómicas más generalizado se realiza por fijación en formaldehído. No obstante, se considera altamente tóxico y carcinogénico.^{3; 4}

Al revisar la literatura, los autores del presente estudio se percatan, de que existe gran variedad de técnicas orientadas a la conservación de piezas anatómicas, por lo que se proponen como objetivo: Desarrollar revisión bibliográfica sobre la actualidad del método tradicional en la enseñanza de la Anatomía, empleando técnicas de conservación de piezas anatómicas duraderas y que permiten preservar sus características morfológicas, utilizando tratamientos menos invasivos para la salud humana y ambiental.

DESARROLLO

Actualmente existe controversia entre los anatomistas de todo el mundo sobre las mejores metodologías para enseñar anatomía y si el material humano fijado debe seguir siendo el preferido para el aprendizaje de anatomía en los cursos de pregrado, en las últimas décadas han surgido las propuestas de utilización de nuevos métodos y materiales para la enseñanza de la disciplina, entre ellos, los recursos informáticos.

Sin embargo, diversas investigaciones demuestran que la forma tradicional continúa siendo la metodología mejor considerada para el aprendizaje de la anatomía, ningún otro método supera el estudio de casos y el reconocimiento de estructuras en material humano fijado (prosecciones y disección), siendo la principal ventaja de esta última el reconocimiento tridimensional de las estructuras anatómicas y la consecuente consolidación de los conocimientos anatómicos.

La disección del cadáver ha sido la metodología preferida y utilizada clásicamente para el aprendizaje de la anatomía y se considera el método más adecuado para la adquisición de habilidades, el reconocimiento e identificación de estructuras en material humano fijado y para las sesiones de anatomía de superficie.⁶

Antes de la aparición del formaldehído, como fijador y conservante de tejidos, se implementaron otras técnicas para conservar los cadáveres. Éstas comprendían el uso de sustancias como aceites, resinas y hasta vino, que retardaban el proceso de descomposición de los tejidos.^{7; 5} No obstante, la mayoría no permitía mantener adecuadamente las características de los tejidos para el estudio anatómico.

El proceso de conservación de los tejidos humanos se basa en el principio de la fijación, éste consiste en un proceso fisicoquímico gradual que implica la difusión del fijador hacia el interior de

los tejidos, así como una serie de reacciones químicas. Como resultado se producen cambios estructurales que alteran la composición de las proteínas y otras moléculas que finalmente impiden la descomposición. Se recomienda un fijador ideal que produzca cierto endurecimiento de los tejidos, mínima distorsión de su morfología y contribuya a la prevención de la descomposición.

8; 9

El formaldehído cumple con estos requisitos, por esta razón ha sido la sustancia fijadora más utilizada y estudiada durante décadas. Esta sustancia fue descubierta por Butlerov en 1859, pero fue el químico Wilhelm Von Hofmann en 1868, quien desarrolló el método para obtenerlo a partir del metanol. Se utiliza generalmente diluida al 10% para la fijación de los tejidos, lo que corresponde a una concentración final de 4% de formaldehído.^{10; 11}

Un aspecto importante a considerar en la práctica de conservación y disección de cadáveres es el efecto nocivo del formaldehído sobre la salud humana y el medioambiente. Debido a que esta sustancia es la más utilizada en este oficio y que su elevada toxicidad ha sido demostrada, por lo que existen normas que regulan su uso y manejo en la mayoría de los países. Los estudios para determinar los efectos adversos del formaldehído sobre la salud se han realizado desde hace mucho tiempo. Desde el año 2006, en que la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) lo clasificó como cancerígeno para los seres humanos, la preocupación sobre este tema ha promovido el incremento del número de trabajos científicos orientados a establecer estrategias de prevención y control de la exposición de las personas a esta sustancia.¹²

Un ensayo realizado en ratas para estudiar el efecto de la exposición al formaldehído sobre el riñón reveló que produce daño renal. Este efecto adverso del formaldehído fue evaluado mediante la observación de cambios morfológicos de la nefrona; pero también por la medición de diferentes marcadores, que determina la presencia de apoptosis celular. Igualmente el formaldehído tiene efecto tóxico sobre la mucosa de las vías respiratoria y ocular, se ha reportado desde rinitis e irritación ocular hasta cáncer nasofaríngeo. La exposición crónica a esta sustancia produce genotoxicidad y sensibilización cutánea.^{13; 14}

Como norma general las soluciones fijadoras conservadoras son mezclas compuestas por sustancias con diferentes propiedades, estas pueden ser fijadoras de tejidos, conservadoras de humedad, antibacterianas o fungicidas. Entre las sustancias fijadoras también se emplea el alcohol etílico e isopropílico. Otra sustancia que se ha utilizado como fijador de tejidos, que además presenta buenas propiedades conservadoras por su actividad antimicrobiana, es el glutaraldehído.^{15; 16}

En lo que respecta a la conservación de la humedad de los tejidos se emplea la glicerina o el polietilenglicol y como agente fungicida se utiliza el fenol. El efecto antibacteriano de estas soluciones se debe al formaldehído y a los alcoholes, si se requiere puede ser coadyuvado por sustancias antisépticas. El uso de sustancias con propiedades germicidas es necesario para controlar los microorganismos que causan la descomposición de los tejidos y que representan un

riesgo para la salud del personal que utiliza las piezas anatómicas. Adicionalmente, existen reportes de ensayos en los que se ha utilizado sal común y sales de nitrato como componentes principales, el objetivo de incorporar este tipo de sustancias a las soluciones fue reemplazar el efecto fijador y conservador del formaldehído.^{17; 18; 19}

Actualmente existe una tendencia hacia la reducción de la cantidad de formaldehído utilizado en las soluciones fijadoras-conservadoras en la preparación de ejemplares para disección y entrenamiento profesional en investigaciones científicas. Se han reportado ensayos con diferentes mezclas de sustancias que permiten conservar de manera óptima los tejidos, éstas contienen pequeñas cantidades de formaldehído acompañado de sustancias que coadyuvan o reemplazan su función como fijador.^{19; 20}

Existen algunos estudios en los que las fórmulas de las soluciones fijadoras-conservadoras no contienen formaldehído. Una de estas soluciones está compuesta por vinagre blanco, glicerina, etanol, citrato de sodio y verde malaquita. Los tejidos preparados con esta solución mantienen características muy similares al tejido vivo, durante la disección no se observan diferencias con respecto a las piezas preparadas con soluciones que contienen formaldehído.²¹

Como una técnica alternativa de fijación y conservación de estructuras se ha desarrollado el método de Prives, creado en el Laboratorio de Anatomía del Primer Instituto de Medicina de Leningrado, el cual se basa en el principio que una sustancia de alto nivel higroscópico como la glicerina, capta constantemente agua desde la atmósfera que rodea la pieza, por lo que ella no pierde peso, conserva su volumen y toma consistencia blanda, el acetato de potasio que sirve como conservante y regulador de la acidez, mientras que el timol se caracteriza por su poder desinfectante y fungicida.²²

Otra fórmula reportada está compuesta por nitrito de sodio, etanol, polietilenglicol, aceite de orégano y agua destilada. Con esta última se observó que los tejidos pueden ser disecados con mayor facilidad que cuando se utilizan soluciones a base de formaldehído y agua.²³

En un estudio realizado se aplicó una fórmula con bajas concentraciones de formaldehído (1,43%), fenol, glicerina, alcohol isopropílico, grandes cantidades de sal y agua destilada, los resultados fueron buenos desde el punto de vista macroscópico y microscópico. De forma similar, también existen reportes recientes sobre el uso de fórmulas con determinadas concentraciones de formaldehído, en algunos casos combinado con fenol.^{18; 24}

Entre los requisitos más importantes se encuentran la flexibilidad y coloración de los tejidos, lo que representa un reto para los anatomistas encargados de preparar estos ejemplares, ya que los principales efectos del formaldehído son el endurecimiento y cambio de coloración de los tejidos.

La técnica de Thiel se utiliza con frecuencia para preparar piezas destinadas al entrenamiento quirúrgico en medicina, entre sus bondades podemos mencionar que los cadáveres no despiden fetidez, el tejido subcutáneo, la fascia, las vísceras y los músculos mantienen su coloración natural, su consistencia y flexibilidad son muy parecidas a las del tejido vivo. La fórmula que se

emplea en esta técnica consiste en una mezcla de sales y pequeñas cantidades de formaldehído.
25; 26

La constante preocupación respecto a la exposición al formaldehído y al limitado tiempo de vida útil de las preparaciones anatómicas para la enseñanza de la anatomía, condujo a los anatomistas a la búsqueda de técnicas que permitieran obtener preparaciones más duraderas y con menos riesgos para la salud de los usuarios. Fue por esta razón que el doctor Gunther von Hagens creó la técnica de plastinación en 1977.^{27; 28}

El desarrollo de esta técnica comenzó mientras buscaba un método para mejorar la calidad de las preparaciones renales en el laboratorio. Luego de experimentar con diferentes tipos de plástico logró crear las bases del método de plastinación, utilizado en la actualidad.²⁹

En esta técnica el agua y los lípidos de los tejidos son reemplazados por polímeros, éstos luego son sometidos a un proceso de endurecimiento para dar como resultado una pieza seca, sin olor y perdurable. Básicamente, esta técnica consta de los siguientes pasos: 1. fijación (formol al 5%), 2. deshidratación, 3. impregnación forzada y 4. curado o endurecimiento de los polímeros. Las propiedades finales de la pieza dependen del tipo de polímero utilizado. La silicona proporciona piezas flexibles y aporta buenos resultados con requerimientos mínimos de equipamiento. Por su parte, el copolímero silicona-epoxi genera piezas rígidas que pueden ser pulidas pero son susceptibles de sufrir fracturas.³⁰

La clave de todo el proceso es la etapa de impregnación forzada y es la única que está protegida por la patente. En esta etapa, se expone el espécimen saturado de acetona a una reacción mixta en la cual el polímero reemplaza lentamente la acetona mediante la salida de presión en la cámara de vacío. Bajo la presión de este gradiente, el polímero se introduce dentro del espécimen llenando todo el espacio intracelular e intersticial el cual está ocupado por agua en su estado natural.³¹

Se han evidenciado los beneficios en diferentes áreas de la plastinación, como se expone a continuación:

- Los especímenes plastinados se pueden almacenar en lugares pequeños, su transporte no es dificultoso y facilita el manejo en diferentes cursos de anatomía, patología cirugía entre otras.
- No requiere mantenimiento.
- Puede ser fácilmente manipulable en salones y laboratorios ya que no presenta riesgo para los estudiantes ni para el personal de anfiteatro.
- Conserva las estructuras morfológicas por un tiempo más prolongado que el formaldehído, es más resistente a la manipulación y según algunos estudios de percepción en estudiantes, es más agradable de interpretar (se observan mejor las estructuras) por lo cual se hace más amigable estudiar con piezas anatómicas plastinadas además de estar desodorizado con respecto a las piezas formolizadas.

- Especímenes patológicos, tumorales o con fracturas se pueden preservar conservando sus características originales.
- No se presenta deterioro marcado por manipulación ni afectación por hongos u otros microorganismos.³¹

La desventaja de esta técnica es su alto costo, esto se debe a que requiere de un equipamiento costoso y de reactivos especiales como acetona, polímeros, catalizadores para el curado del polímero, refrigeradores y cámara de vacío. No obstante, ya existen reportes de ensayos en los que se han utilizado sustancias alternativas y de menor costo como la glicerina, entre otros, así como procedimientos que no requieren el uso de todo el equipamiento que se emplea en la técnica original descrita por Von Hagens.^{32; 28}

CONCLUSIONES

- A pesar de la tendencia moderna de emplear los medios informáticos en el proceso docente, la disección del cadáver ha sido la metodología preferida y utilizada clásicamente para el aprendizaje de la anatomía y se considera la metodología más adecuada para la adquisición de habilidades, el reconocimiento e identificación de estructuras en el material humano.
- Existe una amplia variedad de técnicas de conservación de cadáveres y piezas anatómicas con fines didácticos e investigativos, que eliminan o reducen el uso del formaldehído en su composición, minimizando los efectos tóxicos de esta sustancia, además de contribuir a la inhibición del crecimiento de microorganismos que pueden afectar la salud del personal que trabaja con este material y de la pieza en cuestión.
- La técnica de plastinación permite obtener un material anatómico de calidad y perdurable a largo plazo, además de constituir un procedimiento inocuo al ser humano. Su principal desventaja consiste en el alto costo del procedimiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Beltran J., (2009) Historia de la preservación de cadáveres humanos revistas.unal.edu.co > Morfolia > Vol. 3, Núm. 1, p 5-10. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/16059/1/10855-22091-1-PB.pdf>
- 2.- Gage GJ, Kipke DR., Shain W. (2012) Whole animal perfusion fixation for rodents. J Vis Exp; 30:(65).
- 3.- Franco PM. (2007) Diligencia de levantamiento de cadáver. Criminalística.com.mx y Criminalistic.org. Disponible en: http://criminalistic.org/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=413 (con acceso 04/06/2020).
- 4.- Bertone V., Blasi E., Ottone N. (2011) Método de Walther Thiel para la Preservación de Cadáveres con Mantenimiento de las Principales Propiedades Físicas del Vivo. Rev. Arg. Anat Online 2(3): 89-92.

- 5.- Oliveira, I., Mindello, M., Martins, Y., & Silva, F. (2013). Analysis of anatomical pieces preservation with polyester resin for human anatomy study. *Revista Colegio Brasileiro de Cirujanos*, 40(1), 76-80. doi:10.1590/S0100-69912013000100014
- 6.- Mompeó B, Pérez L. (2003) Relevancia de la anatomía humana en el ejercicio de la medicina de asistencia primaria y en el estudio de las asignaturas de segundo ciclo de la licenciatura en Medicina. Percepciones de los estudiantes de medicina "nativos digitales" Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria, España.
- 7.- Saeed M., Rufai A., Elsayed S. (2001) Mummification to plastination. *Saudi Med. J*; 22 (11):956-959.
- 8.- Kiernan JA. (2000) Formaldehyde, formalin, paraformaldehyde and glutaraldehyde: What they are and what they do. *Microscopy Today*; 8(1):8-12.
- 9.- Thavarajah R., Mudimbaimannar VK., Elizabeth J, Rao UK., Ranganathan K. (2012) Chemical and physical basics of routine formaldehyde fixation. *J Oral Maxillofac Pathol*; 16(3):400-405.
- 10.- Duque JE., Díaz JJ. (1999) El formol. Su génesis, normas, aplicaciones e incidencia sobre la salud humana. *Medicina UPB. Medellín (Colombia)*; 18(1):35-46.
- 11.- Dixit D. (2008) Role of standardized embalming fluidin reducing the toxic effects of formaldehyde. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*; 2(1).
- 12.- International Agency for Research on Cancer (IARC). (2006) Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert- Butoxypropanol-2-ol. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; 88:39-325.23.
- 13.- Njoya HK., Ofusori DA., Nwangwu SC., Amegor OF., Akinyeye AJ., Abayomi TA. (2009) Histopathological effect of exposure of formaldehyde vapour on the trachea and lung of adult wistar rats. *IJIB*; 7(3):160-165.
- 14.- Hisamitsu M., Okamoto Y., Chazono H., Yonekura S., Sakurai D., Horiguchi S., *et al.* (2011) The influence of environmental exposure to formaldehyde in nasal mucosa of medical students during cadaver dissection. *Allergol Int*; 60(3):373-379.27.
- 15.- Tolhurst DE., Hart J. (1990) Cadaver preservation and dissection. *Eur J Plast Surg*; 13:75-78.
- 16.- Russell AD. (1990) Bacterial spores and chemical sporicidal agents. *Clinical Microbiology Reviews*; 3(2):99-119.
- 17.- Vardaxis NJ., Hoogeveen MM., Boon ME., Hair CG. (1997) Sporicidal activity of chemical and physical tissue fixation methods. *J Clin Pathol*; 50:429-433.
- 18.- Coleman R., Kogan I. (1998) An improved low-formaldehyde embalming fluid to preserve cadavers for anatomy teaching. *J Anat*; 192(3):443-446.
- 19.- Demiryürek D., Bayramoglu A., Ustaçelebi S. (2002) Infective agents in fixed human cadavers: a brief review and suggested guidelines. *Anat Rec*;269(4):194-197.
- 20.- Whitehead MC., Savoia MC. (2008) Evaluation of methods to reduce formaldehyde levels of cadavers in the dissection laboratory. *Clinical Anatomy*; 21:75- 81.

- 21.- Muñetón GC., Ortiz JA. (2011) 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*; 22: 51-55.
- 22.- Correa AF. (2005) Conservación de piezas anatómicas en seco mediante el método de prives. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, VI (5). Disponible en: www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050505/050515.pdf
- 23.- Janczyk P., Weigner J., Luebke-Becker A., Kaessmeyer S., Plendl J. (2011) Nitrite pickling salt as an alternative to formaldehyde for embalming in veterinary anatomy-A study based on histo- and microbiological analyses. *Ann Anat*; 193(1):71-75.
- 24.- Ajayi IE., Shawulu JC., Ghaji A., Omeiza GK., Ode OJ. (2011). Use of formalin and modified gravity-feed embalming technique in veterinary anatomy dissection and practicals. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*; 3(6):79-81.
- 25.- Anderson SD. (2006) Practical light embalming technique for use in the Surgical fresh tissue dissection laboratory. *Clin Anat*; 19(1):8-11.
- 26.- Jaung R., Cook P., Blyth P. (2011) A comparison of embalming fluids for use in surgical workshops. *Clinical Anatomy*; 24:155-161.
- 27.- Pashaei S. (2010) A brief review on the history, methods and applications of plastination. *Int J Morphol*; 28(4):1075-1079.
- 28.- Muñetón GC., Ortiz JA. (2012) Plastinación: un instrumento complementario para el desarrollo del proceso enseñanza-aprendizaje de la anatomía. *Rev Med Vet*; 23: 111-117.
- 29.- Jones DG., Whitaker MI(2009). Engaging with plastination and the Body Worlds phenomenon: A cultural and intellectual challenge for anatomists. *Clin Anat*; 22:770-776.
- 30.- Hagens G., Tiedemann K., Kriz W. (1987) The current potential of plastination. *Anat Embryol*; 175:411-421.
- 31.- Ganesh P., Karkera B., Pandit S., Desai D., & Tonse R. (2015) Preservation of Tissue by Plastination: A Review. *International Journal of Advanced Health Sciences*, 1(11), 27-31.
- 32.- Arias, L. (2009) Exploración de la técnica de plastinación en la preparación de modelos anatómicos como material docente para la enseñanza de la Morfología Humana en la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. (Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia). Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/8938/1/05599078.2012.pdf>