

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM PATOLOGIA**

RONIVALDO DE OLIVEIRA BARROS

**ESTUDO EXPERIMENTAL DE NOVA ABORDAGEM PARA
REMOÇÃO E FIXAÇÃO DO ENCÉFALO EM CADÁVERES
HUMANOS**

**RECIFE
2007**

RONIVALDO DE OLIVEIRA BARROS

**ESTUDO EXPERIMENTAL DE NOVA ABORDAGEM PARA
REMOÇÃO E FIXAÇÃO DO ENCÉFALO EM CADÁVERES
HUMANOS**

**Dissertação apresentada ao Mestrado em
Patologia do Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Pernambuco, como
parte dos requisitos para obtenção do título de
Mestre em Patologia, área de concentração
Patologia Geral.**

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. PALOMA LYS DE MEDEIROS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. ROBERTO JOSÉ VIEIRA DE MELO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE

**RECIFE
2007**

Barros, Ronivaldo de Oliveira

Estudo experimental de nova abordagem para remoção e fixação do encéfalo em cadáveres humanos / Ronivaldo de Oliveira Barros. – Recife: O Autor, 2007.

viii, 51 folhas : il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia, 2007.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Encéfalo – Fixação. 2. Encéfalo - Remoção. I.

Título.

611.81
611.8

CDU (2.ed.)
CDD (20.ed.)

UFPE
CCS2007-130



Universidade Federal de Pernambuco
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

AUTOR: RONIVALDO DE OLIVEIRA BARROS

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PATOLOGIA GERAL

NOME DA TESE: "ESTUDO EXPERIMENTAL DE NOVA ABORDAGEM PARA
EXTRAÇÃO E FIXAÇÃO DO ENCÉFALO"

ORIENTADOR: PALOMA LYS DE MEDEIROS

TESE DEFENDIDA E APROVADA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
PATOLOGIA.

DATA: 24/08/2007

BANCA EXAMINADORA:

PROFº ROBERTO JOSÉ VIEIRA DE MELLO

PROFº ADELMAR AFONSO AMORIM JÚNIOR

PROFª PATRÍCIA MOREIRA RABELLO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
REITOR
Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR
Prof. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Prof. Dr. José Thadeu Pineiro

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DIRETORA SUPERINTENDENTE
Prof. Dr. George da Silva Telles

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA
CHEFE
Profa. Dra. Adriana Maria da Silva Telles

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA
MESTRADO EM PATOLOGIA
COORDENADOR
Prof. Dr. Roberto José Vieira de Mello

VICE-COORDENADORA
Profa. Dra. Silvia Regina Arruda de Moraes

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus filhos, Pedro Ivo e Natália, e a minha esposa, Valquíria, dos quais tantas horas de convívio foram subtraídas. Aos meus pais, Assis e Inez, que com amor deram-me uma existência feliz e profícua. Aos meus irmãos, Rainildo, Rafael e Rusthênia, companheiros, que mesmo à distância, sempre foram fonte de incentivo.

AGRADECIMENTOS

- A Deus;
- A Profa. Dra. Paloma Lys de Medeiros, minha especial homenagem, pelo empenho e dedicação na orientação deste trabalho;
- Ao Prof. Dr. Roberto José Vieira de Melo, por ter dedicado tantas horas do seu precioso tempo para a análise do material do experimento, bem como pela co-orientação;
- A Sylvania Tavares Paz, técnica do Laboratório de Histotecnologia do Mestrado em Patologia da UFPE, que não mediu esforços no preparo do material da pesquisa;
- Ao Dr. Antonio Albuquerque Toscano, Diretor do Instituto de Polícia Científica da Paraíba (IML-PB), e à Dra. Maria do Socorro Dantas de Araújo, Diretora do Instituto de Medicina Legal da Paraíba, por terem viabilizado todo o aparato institucional necessário à coleta dos dados;
- A Dr. Verônica Cândida M. de Lucena Santos, minha parceira de plantão no IML-PB, que, além de prestar inestimável ajuda na coleta do material da pesquisa, tem me ensinado, com o seu exemplo, a ser comedido;
- Aos demais médicos e funcionários do IML-PB, sem os quais a realização do experimento não teria tido êxito;
- As estudantes de medicina Danielle Cartaxo Jácome e Ricella Maria Souza da Silva pela essencial e inestimável colaboração, tornando possível a realização deste trabalho;
- A todos que compõem o Departamento de Patologia da UFPE, pela amizade que foi construída neste período, o que levarei para sempre;
- Aos colegas de Mestrado, pela convivência e companheirismo;
- A todos aqueles que direta ou indiretamente tiveram uma parcela de participação no desenvolvimento deste trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS

CPC	Código de processo penal
DP	Desvio Padrão
IML	Instituto de Medicina Legal
LAD	Lesão Axonal Difusa
M	Média
SVO	Serviço de Verificação de Óbito
SNC	Sistema Nervoso Central
TCE	Traumatismo Crânio-Encefálico
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Figura 5.1 - Calvária de Baltazar modificada, posicionada para a abertura do crânio.....	19
Figura 5.2 - Calvária serrada no plano horizontal. Vista lateral (A) e vista anterior (B).....	19
Figura 5.3 - Secção horizontal <i>in situ</i> do encéfalo do grupo experimental (A) e segmentos superior e inferior do encéfalo, <i>in situ</i> (B).....	20
Figura 5.4 - Encéfalo do grupo experimental. Superfície de corte do segmento superior (A) e inferior (B).....	20
Figura 5.5 - Encéfalo do grupo controle após a retirada da calota craniana (A) e durante dissecação da dura-máter (B).....	21
Figura 5.6 - Encéfalo do grupo experimental. Segmentos do encéfalo (superior e inferior) são observados repousando sobre o fundo do recipiente para fixação.....	22
Figura 5.7 - Encéfalo do grupo experimental. Plano de corte horizontal: segmento superior: cúpula (A) e superfície de corte (B). Segmento inferior: base (C) e superfície de corte (D).....	23
Figura 5.8 - Fatias de encéfalo do grupo experimental.....	24
Figura 6.1 - Fotomicrografias de preparações dos grupos experimental e controle coradas com hematoxilina-eosina. Lobo frontal superficial – A (grupo experimental) e B (grupo controle); putâmem – C (grupo experimental) D (grupo controle); periventricular – E (grupo experimental) e F (grupo controle); cúpula G (grupo experimental) e H (grupo controle).....	38

LISTA DE TABELAS

	Páginas
Tabela 6.1 - Percentagem da faixa etária do grupo experimental.....	28
Tabela 6.2 - Percentagem da faixa etária do grupo controle.....	29
Tabela 6.3 - Percentagem do sexo no grupo experimental e controle.....	29
Tabela 6.4 - Percentagem do tempo de fixação dos encéfalos no grupo experimental.....	29
Tabela 6.5 - Percentagem do tempo de fixação dos encéfalos no grupo controle.....	30
Tabela 6.6 - Tempo médio (<i>M</i>) de fixação dos encéfalos nos grupos experimental e controle.....	30
Tabela 6.7 - Percentagem da causa do óbito nos grupos experimental e controle.....	31
Tabela 6.8 - Pontuação média das notas atribuídas no exame macroscópico dos encéfalos no grupo experimental e controle.	32
Tabela 6.9 - Escores médios da nota da <i>integridade das estruturas</i> em função dos grupos experimental e controle.....	33
Tabela 6.10 - Escores médios da nota atribuída à <i>fixação</i> em função dos grupos experimental e controle.....	33
Tabela 6.11 - Pontuação média das notas atribuídas por fragmento.....	34
Tabela 6.12 - Caracterização dos argumentos utilizados na atribuição das notas às preparações do grupo experimental.....	35
Tabela 6.13 - Caracterização dos argumentos utilizados na atribuição das notas às preparações do grupo controle.....	35
Tabela 6.14 - Escores médios das notas atribuídas às preparações nos grupos experimental e controle.....	35
Tabela 6.15 - Escores médios das notas atribuídas às preparações por fragmento nos dos grupos experimental e controle.....	37

RESUMO

O exame neuropatológico do encéfalo humano é uma etapa fundamental nas necropsias clínicas e médico-legais. Esse exame é mais efetivo quando realizado por neuropatologista e após fixação do encéfalo. Todavia, o menor tempo exigido para a fixação pela técnica padrão é de duas semanas, o que, nos casos de necropsia médico-legal, inviabiliza a entrega do laudo pericial dentro do prazo legal de dez dias. Assim, este estudo objetivou desenvolver uma nova abordagem para acelerar a fixação do encéfalo sem prejuízo ao exame macroscópico e microscópico. O material utilizado na pesquisa constituiu-se de 30 encéfalos removidos de cadáveres de indivíduos com idade entre 12 e 68 anos, de ambos os sexos, que não tiveram como causa da morte traumatismo crânio-encefálico e cuja necropsia foi realizada nas primeiras 24 horas após o óbito. O material foi dividido para o estudo em um grupo controle (Grupo C) e um grupo experimental (Grupo E), cada um com 15 encéfalos. No grupo experimental os encéfalos foram cortados *in situ*, com o uso de instrumento cortante, ao nível do plano horizontal de abertura da calvária, o que separou o encéfalo em dois segmentos: o superior e o inferior. Esses segmentos foram fixados com as superfícies planas, de corte, repousando sobre o fundo plano de recipiente contendo a solução fixadora. No grupo controle, os encéfalos foram removidos e fixados pela técnica padrão. Em ambos os grupos utilizaram-se como fixador formalina a 3,74%, na quantidade de cinco litros. Os encéfalos dos grupos controle e experimental foram submetidos ao exame macroscópico, com realização de cortes horizontais. Do hemisfério cerebral direito de ambos os grupos, foram coletados fragmentos de tecido nervoso, cujas preparações foram examinadas por especialista. As análises estatísticas dos escores obtidos no exame macroscópico e microscópico não revelaram diferenças significativas entre os grupos. O resultado obtido é atribuído ao fato de que a secção horizontal *in situ* do encéfalo, durante a sua remoção, diminui a espessura do órgão, acelerando a sua fixação, o que permite o exame entre o oitavo e décimo dia de fixação. Assim, a abordagem proposta acelera a fixação do encéfalo sem prejuízo ao exame macroscópico e microscópico, permitindo a elaboração do laudo nas necropsias médico-legais dentro do prazo legal.

Palavras-chave: Encéfalo; exame neuropatológico; fixação; necropsia.

ABSTRACT

The neuropathological human brain examination is a basic stage in the clinical and legal medicine autopsies. This examination is more effective when carried through for neuropathologist and after brain fixation. However, the small time of two weeks demanded for the fixation technique standard, in cases of legal medicine autopsy, makes impracticable the delivery of the expert report of the legal stated period of ten days. So, this study it objectified to develop a new boarding to speed up the brain fixation without damage to its macroscopic and microscopical examination. The material used in the research consisted of 30 encephala removed of corpses with age between 12 and 68 years, of both the sexes, that had not as death cause skull-encephalic traumatism, and whose autopsy was carried through in first the 24 hours after the death. The encephalo had been divided in a control group (Group C) and an experimental group (Group E), each one with 15 brains. In the control group the brains had been removed and fixed by the technique standard. In the experimental group the brains had been cut in situ, with the use of cutting instrument, consisting of blade and handle, to the level of the horizontal plan of opening of the skull, what separated brain in two segments: the superior and the inferior. These segments had been fixed with the plain surfaces, of cut, resting on the deep plan of container with the fixing solution. In both groups had been used as fixing formalin 3,74% in the amount of five liters. The brains of the control and experimental groups had been submitted to the macroscopic examination, with accomplishment of horizontal cuts. Of the right cerebral hemisphere of all the brains of both groups, had been collected fragments of nervous tissue, whose preparations had been examined by specialist. The statistical analyses of scores gotten in the macroscopic and microscopical examination had not disclosed significant differences between the groups. The results are attributed to the fact of the horizontal section in situ of the brain, during its removal, diminishes the thickness of the organ, speeding up its fixation, what it makes possible the examination of the brain between the eighth and tenth day. Then, the boarding proposal speeds up the fixation without damage to the macroscopic and microscopical examination of the brain, allowing the precocious delivery of the report in the legal medicine autopsy cases.

Key-words: Brain; neuropathological examination; fixation; autopsy.

SUMÁRIO

	Páginas
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	03
2.1. A Necropsia.....	03
2.2. O Exame Neuropatológico.....	05
2.3. O Exame do Encéfalo na Medicina Legal.....	07
2.4. Fixação do Encéfalo.....	08
2.5. Alternativas para Acelerar a Fixação do Encéfalo.....	11
3. JUSTIFICATIVA.....	14
4. OBJETIVOS.....	16
4.1. Objetivo Geral.....	15
4.2. Objetivos Específicos.....	15
5. MATERIAL E MÉTODO.....	17
5.1. Delineamento.....	17
5.2. Hipóteses.....	18
5.3 Procedimento.....	18
5.3.1 Remoção do Encéfalo.....	18
5.3.2 Fixação do Encéfalo.....	21
5.4 Exame Macroscópico.....	22
5.5 Exame Microscópico.....	24
5.6 Instrumento.....	24
5.7 Análise dos Dados	25
5.8 Aspectos Éticos.....	25
6. RESULTADOS.....	28
6.1 Amostra.....	28
6.2 Exame Macroscópico.....	31
6.3 Exame Microscópico.....	33
7. DISCUSSÃO.....	39
8. CONCLUSÕES.....	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
ANEXOS.....	50

1. INTRODUÇÃO

O exame neuropatológico do encéfalo é uma etapa fundamental nas necropsias anatomopatológicas e médico-legais, em função da grande incidência dos agravos neurológicos, enquanto fatores de morbidade (BRASIL, 2006), aumentando a probabilidade do diagnóstico, em especial quando realizado por neuropatologista (SHARMA; GRIEVE, 2006).

A técnica padrão para exame do encéfalo consiste em sua cuidadosa retirada da cavidade craniana e posterior fixação por imersão em solução de formalina a 3,74%, por um período de duas a quatro semanas. Essa abordagem aumenta a probabilidade de detecção de agravos neurológicos, devendo ser indicada rotineiramente nos casos suspeitos de comprometimento encefálico (KATELARIS et al., 1994).

A necropsia médico-legal, a qual visa a atender a interesses da justiça, esclarecendo acerca da ocorrência de crimes, serve não apenas para determinar a causa médica da morte, mas também para elucidar a sua causalidade jurídica. Tal objetivo só é alcançado através de um exame externo minucioso, metódico, bem conduzido e de um exame interno completo, com abertura, pelo menos, das três grandes cavidades - crânio, tórax e abdome (FÁVERO, 1991).

Nestas necropsias o laudo pericial com suas conclusões tem que ser emitido no prazo legal de dez dias (CAPEZ, 2002). No Brasil, é pouco freqüente o envio do encéfalo para exame, após fixação, em necropsias dessa natureza, uma vez que a técnica padrão de preparo do encéfalo requer um período mínimo de quinze dias, o que retarda a emissão do Laudo Pericial, prejudicando demasiadamente o andamento do inquérito policial, com prejuízos na apuração dos crimes.

Em razão disso, o encéfalo tem sido rotineiramente examinado a fresco pelo próprio médico legista, no momento da realização da necropsia, conduta que diminui a possibilidade de um diagnóstico mais preciso (KATELARIS et al., 1994).

Tal conduta não oferece prejuízo na maior parte dos casos, pois a abertura da cavidade craniana é procedida, muitas vezes, em casos de

traumatismos cranianos, em que as lesões são facilmente diagnosticadas em encéfalos não fixados. Outras vezes, para atender a uma rotina que visa a confirmar a ausência de achados intracranianos e encefálicos em casos insuspeitos de tais comprometimentos (KATELARIS et al., 1994).

Todavia, nos casos em que existe suspeita de agravos encefálicos não traumáticos, o exame a fresco, uma vez executado, inviabiliza a apreciação posterior por neuropatologista, uma vez que toda a arquitetura do órgão é destruída.

A partir destas constatações, é premente a necessidade de se buscar uma alternativa para o processo de fixação padrão do encéfalo, a qual acelere esse procedimento, de forma a permitir um exame neuropatológico mais precoce, sem prejuízo da qualidade desse exame, no seu aspecto microscópico e macroscópico.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. A Necropsia

A necropsia consiste em uma série ordenada de procedimentos que, através da observação e o estudo dos tecidos orgânicos, superficiais e profundos, visam a diagnosticar todos os tipos de lesões e de estados patológicos associados com a morte (FANEGO, 2000; FRANÇA, 2004; MICHALANY, 2005; VANRELL, 2007).

A sua importância, como meio de se determinar a causa da morte, não pode ser menosprezada, pois apesar do uso de todos os meios propedêuticos disponíveis, invasivos ou não, muitas vezes o diagnóstico não é alcançado em vida. Além disso, vários avanços, em especial na área da patologia, foram possíveis, a partir de informações colhidas de tais exames (PORTNOI, 1980; GOLDMAN; SAYSON; ROBBINS et al., 1983; KAUFMAN, 1996; VANRELL, 2007).

Análises da concordância entre os diagnósticos clínicos e os achados anatomopatológicos obtidos por meio do exame necroscópico, em 680 casos de necropsias realizadas no Hospital de Base do Distrito Federal, Brasil, no período de janeiro de 1997 a dezembro de 2002, demonstraram a significativa discordância entre esses diagnósticos. Isso evidencia que a necropsia ainda é um procedimento importante para o esclarecimento diagnóstico, bem como para a melhoria dos serviços de saúde. (SEGURA et al., 2006).

Estudos também indicam a gradual e persistente redução na taxa de necropsias anatomopatológicas, o que se acentuou nas últimas décadas do século 20. Essa situação é justificada pela necessidade de se ter a autorização dos familiares para realização do exame necroscópico, exigência que inicialmente não era observada (BURTON; UNDERWOOD, 2003; SHARMA; GRIEVE, 2006).

O exame necroscópico é realizado, na maior parte das vezes, para atender aos interesses médico-sanitários (epidemiológicos) e médico-legais, permitindo a determinação da causa da morte em um grande número de casos, desde que realizado dentro de padrões técnicos rigorosos (SHARMA; GRIEVE,

2006). Todavia, com menor freqüência, esse exame é realizado com objetivos didáticos ou de pesquisa (LUDWIG, 1972; BENBOW, 1990).

Do ponto de vista médico-sanitário, o exame necroscópico visa a atender interesses sociais dos mais relevantes. Informa acerca das doenças que acometem determinada população, com suas respectivas incidências e permite o planejamento de políticas públicas em saúde. É de fundamental interesse, também, nos casos de doenças com potencial de contágio, permitindo a implementação de medidas profiláticas e terapêuticas que protejam os demais membros de uma população da disseminação ou dos efeitos de determinada patologia (BURROWS, 1975; FÁVERO, 1991; VANRELL, 2007).

Por sua vez, no âmbito da Medicina Legal, a necropsia tem dois objetivos: determinar a causa médica e, quando possível, a causa jurídica da morte, indicando se a morte se deu por homicídio, suicídio ou acidente (FANEGO, 2000; FRANÇA, 2004; HERCULES, 2005; VANRELL, 2007). Eventualmente, nos casos de cadáver não identificado, cabe à necropsia médico-legal, também, a tarefa de identificação do falecido (FÁVERO, 1991; VANRELL, 2007).

A necropsia pode ainda, seja ela de interesse médico-sanitário ou médico-legal, atender a outros interesses, como o científico, que fornece informações para implementação de projetos de pesquisa, e o acadêmico, que contribui na formação do futuro profissional de saúde, em especial do futuro patologista e médico-legista (LUDWIG, 1972; VANRELL, 2007).

O exame necroscópico que atende a interesses médico-sanitários é realizado mediante autorização da família ou dos responsáveis pelo cadáver, sendo chamada de necropsia clínicas ou anatomopatológica e procedida por médicos patologistas. Esse tipo de necropsia foi responsável historicamente por um grande número de avanços científicos na área médica e permite, atualmente, uma melhor aplicação dos recursos em saúde, na medida em que fornece informações imprescindíveis à formulação de políticas públicas na área de saúde (CHANA et al., 1990; VANRELL, 2007).

Por sua vez, a necropsia que atende aos interesses da justiça é realizada independente da autorização da família, por imperativo de ordem legal, sendo chamada de necropsia médico-legal e procedida por médico-

legista. Contribui na elucidação de vários tipos de delitos, permitindo a aplicação de um grande número de dispositivos legais. Esse exame constitui-se na mais complexa e mais importante das perícias no âmbito médico-legal (GOMES, 2003; VANRELL, 2007).

Atualmente, no Brasil, as necropsias anatomopatológicas são de responsabilidade dos Serviços de Verificação de Óbito e estão indicadas nos casos de mortes naturais. Por sua vez, as médico-legais são de competência dos Institutos de Medicina Legal, sendo obrigatória nos casos de morte violenta ou naquelas que, por suspeita, podem ter decorrido de prática criminosa (CROCE; CROCE J., 2006; VANRELL, 2007).

2.2. O Exame Neuropatológico

O sistema nervoso central (SNC) é sede de um grande número de patologias cuja importância, como fator de morbidade, pode ser observada nas estatísticas nacionais sobre mortalidade (BRASIL, 2006).

O edema cerebral, o aumento da pressão intracraniana, as herniações, a hidrocefalia, as malformações, as doenças cerebrovasculares, desmielinizantes degenerativas e metabólicas, os tumores, a hipóxia e o trauma são exemplos de alterações patológicas do SNC, que podem ser fruto de uma avaliação neuropatológica (FROSCHE; ANTHONY; GIROLAMI, 2005).

O exame do encéfalo é, pois, uma etapa fundamental nas necropsias anatomopatológicas e médico-legais, devido a grande incidência dos agravos neurológicos enquanto fatores de morbidade (KATELARIS; KENCIAN; DUFLOU; HILTON, 1994).

Mesmo o assustador avanço das técnicas diagnósticas não invasivas, em especial os exames radiológicos, não retirou a importância do exame neuropatológico, pois a precisão do diagnóstico de desordens neurológicas por essas técnicas não é absoluta, a exemplo dos distúrbios neurodegenerativos, em que têm efetividade em torno de 70-80 %. (SHARMA; GRIEVE, 2006).

Katellaris et al. (1994) enfatizaram a importância da realização do diagnóstico neuropatológico em necropsias anatomopatológicas e médico-legais e ressaltou a necessidade da participação de neuropatologista nesse exame, o que, segundo suas conclusões, aumenta a efetividade desse exame.

Por sua vez, os neuropatologistas acreditam que o exame do encéfalo procedido após a sua fixação em solução de formalina a 3,74%, por um período de duas a quatro semanas, cria a melhor condição para realização dos cortes no tecido encefálico. Para esses, o exame do encéfalo após fixação é superior, quanto à potencialidade de permitir o diagnóstico, ao exame realizado a fresco, com o encéfalo não fixado, logo após a sua retirada da cavidade craniana, durante a necropsia (KATELARIS et al., 1994).

Nessa mesma linha de pensamento, Sharma & Grieve (2006) afirmaram que o diagnóstico preciso em neuropatologia exige o exame de encéfalos bem fixados, os quais permitem a realização de seções representativas de tecido encefálico.

Apesar do exame neuropatológico do encéfalo após fixação em solução de formalina ser uma técnica considerada como padrão, tal conduta possui o inconveniente de exigir a retenção do órgão, o qual necessita ficar imerso na solução por um período de duas a quatro semanas (BEACH et al., 1987; ADICKES; FOLKERTH; SIMS, 1997; SHARMA; GRIEVE, 2006).

Por sua vez, a retenção de órgãos durante a necropsia, para exame anatomopatológico é outro problema enfrentado nos últimos anos, em grande parte dos países. Isso é conseqüência de questões acerca de mortes de crianças após cirurgias cardíacas no Bristol Royal Hospital, no Reino Unido, no qual houve falhas nas informações prestadas as famílias sobre os procedimentos adotados nas necropsias. Esse evento teve ampla repercussão na mídia, fazendo eclodir uma série de denúncias relativas a outros hospitais, impondo a obrigatoriedade do consentimento dos familiares para a retenção de órgãos. Todavia, essa exigência não evitou a desconfiança da sociedade, que repercutiu em um grande número de recusas e conseqüente diminuição no número de órgãos retidos durante as necropsias (BARRET, 2004).

Essa limitação da técnica de fixação do encéfalo tem forçado uma busca por uma alternativa que viabilize o exame desse órgão de forma mais precoce, o que poderia permitir, em alguns casos, a devolução do órgão ao cadáver antes de sua inumação (ADICKES; FOLKERTH; SIMS, 1997; BURTON; UNDERWOOD, 2003; KATELARIS et al; LOVE, 2004; SHARMA; GRIEVE, 2006).

2.3. O Exame do Encéfalo na Medicina Legal

O encéfalo é um dos órgãos mais vulneráveis a traumatismos. Os traumatismos cranianos com lesão encefálica se constituem na mais importante causa de mortalidade associada aos traumas, sendo, em países europeus, a causa da morte em um terço a metade dos casos associado a esses eventos. Por essa razão, assumem uma importância fundamental no campo da medicina legal (KALIMO, 2004).

No mundo moderno, o traumatismo craniano e crânio-encefálico têm uma grande importância social e econômica, em face da sua grande incidência, pelo grande número de óbitos e seqüelas graves que produz e por atingir principalmente indivíduos jovens. Estima-se que no mundo o traumatismo crânio-encefálico (TCE) seja responsável por 2,5% do total de mortes (SOUZA; REIS; SOUTO, 2001).

Na cidade de Curitiba, no Paraná, Brasil, no período que vai de setembro de 1996 a junho de 1999, em uma estatística de 2000 casos, as causas mais comuns de TCE foram agressão interpessoal (17,9%), quedas de nível (17,4%), acidentes automobilísticos (16,2%), queda ao solo (13,1%) e atropelamento (13%). (BORDIGNON; ARRUDA, 2002).

Pittella & Gusmão (2004) estudaram a distribuição da lesão axonal difusa (LAD) no acidente de trânsito fatal, em indivíduos submetidos à necropsia no Instituto de Medicina Legal de Belo Horizonte, em Minas Gerais, Brasil, entre 1989 e 1993. Em 120 casos estudados, observaram que a LAD esteve presente em 96 dos encéfalos examinados, o que corresponde a 80% do total de casos.

As lesões encontradas nos traumatismos crânio-encefálicos, e, portanto, freqüentemente apresentados à apreciação da medicina legal, podem ser divididas em duas categorias: as injúrias primárias e secundárias. O primeiro grupo se constitui daquelas decorrentes diretamente do evento traumático: fraturas de calvária, hemorragias epidural e subaracnóidea, hematoma subdural, lesão axonal difusa, lacerações e contusões encefálicas e hemorragia intracerebral. Por sua vez, o segundo grupo se constitui das complicações das injúrias primárias: hipóxia e isquemia, edema, aumento da pressão intracraniana, embolismo gorduroso e infecção (PEARL, 1998).

Tamanha a importância dos traumatismos cranianos e crânio-encefálicos no campo da medicina legal que a abertura e exame das estruturas cranianas são consideradas etapas obrigatórias, mesmo nos casos insuspeitos desses traumatismos (FÁVERO, 1991; FRANÇA, 2004; VANRELL, 2007).

Por essas razões, o médico legista tem que possuir conhecimentos mínimos para realizar um diagnóstico macroscópico em neuropatologia, bem como ter conhecimento acerca das técnicas de preparo do órgão para exame neuropatológico. Porém, o exame realizado por um neuropatologista após a fixação adequada do encéfalo em solução de formalina a 3,74% se mostrou como uma abordagem mais eficiente quanto à realização de diagnósticos (KATELARIS et al., 1994).

Apesar de sua importância na medicina legal, o exame do encéfalo, tem sido realizado no Brasil, na grande maioria dos casos, pelo médico legista, já durante o momento da necropsia, com o encéfalo sendo examinado a fresco (FRANÇA, 2004; VANRELL, 2007).

2.4. Fixação do Encéfalo

O procedimento mais utilizado para estudo dos tecidos consiste na realização de cortes para estudo ao microscópio. Todavia, para a maior parte dos tecidos, é inadequado o exame direto no microscópio com o tecido a fresco, sendo necessária a adoção de uma técnica de preparo histológico, que consiste basicamente em três etapas: fixação, inclusão e coloração (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A fixação, como etapa de preparo histológico de tecidos, tem como objetivo impedir a destruição das estruturas celulares (autólise), preservando a sua estrutura e composição, devendo ser procedida o mais rápido possível, após a remoção do tecido do organismo. Essa técnica geralmente é realizada pela exposição dos tecidos a ação de substâncias químicas, nas quais os tecidos são submersos por um período de tempo, até que ocorra a desnaturação das proteínas, com conseqüente estabilização de sua estrutura (MICHALANY, 1998; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Esse processo, destinado a conservar a estrutura das células, para ocorrer de forma adequada, deve observar alguns fatores: o intervalo entre a coleta do material e a fixação;

volume do líquido fixador; espessura da peça; contato das superfícies da peça com o líquido fixador e o tipo de fixador.

O intervalo entre a coleta do material e a sua fixação deve ser o menor possível, de modo a evitar ou diminuir ao máximo a autólise. No caso das necropsias, a retirada dos órgãos deve ocorrer o mais rápido possível após a morte. O volume do líquido fixador deve ser no mínimo 20 vezes o volume do material a ser fixado. No caso do encéfalo, recomenda-se a sua imersão em cinco litros da solução fixadora (MICHALANY, 1998).

O contato das superfícies da peça com o líquido fixador deve ser o maior possível, razão porque, no caso do encéfalo, é recomendável que se evite o contato com as paredes do frasco, o que é feito deixando-o suspenso em meio à solução. A espessura da peça é inversamente proporcional à velocidade de fixação, de forma que o corte do material em fatias menores, recomenda-se até seis milímetros. Esse fator, no caso do encéfalo, uma vez que rotineiramente é fixado inteiro, é responsável pelo grande tempo necessário para a sua fixação, em torno de duas a quatro semanas. Por fim, o tipo do fixador também é fator importante, pois as diferenças de propriedades podem promover a fixação em períodos de tempo diferentes. No nosso meio, o fixador mais utilizado é o formaldeído ou aldeído fórmico, comumente chamado de formalina (MICHALANY, 1998).

A formalina é um líquido cristalino e incolor, que liberta vapores irritantes, decompondo-se facilmente por ação da luz. Esse produto é comercializado em solução aquosa a 37,4%, a qual, nos laboratórios de técnica histológica, é equivocadamente chamada de solução de formalina puro. O preparo da formalina para uso nesses laboratórios é realizado adicionando-se 100 ml de formalina a 37,4% a quantidade de 900 ml de água, de forma que se terá ao final uma solução de 1000 ml de formalina a 3,74%, equivocadamente chamada de solução a 10%. Essa imprecisão deriva do fato, já relatado, de se considerar a formalina a 37,4% como formalina pura (MICHALANY, 1998).

Recomenda-se a neutralização da formalina, antes da sua utilização enquanto fixador, uma vez que a acidez natural dessa substância e de seus compostos derivados prejudicaria algumas técnicas de coloração e provocariam retração nos tecidos. Tal objetivo é conseguido com adição de

solução neutralizantes, em especial do fosfato de sódio monobásico e do fosfato de sódio dibásico neutro (MICHALANY, 1998).

Diante dos vários estudos já realizados, percebe-se que a fixação do encéfalo é tida como uma técnica absolutamente necessária para um adequado exame do órgão. Mesmo no exame das lesões decorrentes de trauma, como é o caso da lesão axonal difusa, a exatidão do diagnóstico é maior quando o exame é realizado após a adequada fixação do órgão (SIMPSON; BERSON, 1987).

Por essa razão, rotineiramente o encéfalo é fixado intacto e suspenso em solução de formalina a 3,74%, por um período de duas a quatro semanas. Esse período é necessário em função da espessura do órgão, que é fixado inteiro, e das propriedades da formalina, que é um fixador lento, promovendo fixação na proporção de 1 mm da peça a cada 8 horas (KATELARIS et al., 1994; MICHALANY, 1998; SHARMA; GRIEVE, 2006).

Apesar de produzir um material adequado para exame neuropatológico, macroscópico e microscópico, essa técnica de preparo do encéfalo possui grandes inconvenientes (LOVE, 2004).

O primeiro deles é a necessidade de retenção de todo o órgão. No exame do encéfalo a fresco, sendo ele muito friável; a coleta de fragmentos para preparações levaria a grandes distorções no tecido, com graves prejuízos ao exame (KATELARIS et al., 1994; ADICKES; FOLKERTH; SIMS, 1997).

Essa necessidade de reter o órgão se confronta algumas vezes com o desejo das famílias de ver os órgãos restituídos ao cadáver antes do funeral, o que se acentuou especialmente após o escândalo envolvendo a subtração de órgãos de cadáveres, sem autorização dos familiares, em alguns hospitais do Reino Unido, que ficou conhecido como o “Escândalo da Retenção de Órgãos”. Esse fato teve ampla divulgação na mídia européia, provocando grande redução no número de necropsias e, conseqüentemente, de exames neuropatológicos, em face da falta de autorização dos familiares para retenção deste órgão (BURTON; UNDERWOOD, 2003; SHARMA; GRIEVE, 2006).

O outro inconveniente é o retardo na elaboração do relatório conclusivo da necropsia, nos casos de necropsias anatomopatológicas, e do laudo pericial, nos casos de necropsias médico-legais (KATELARIS et al., 1994). No que se refere à necropsia clínica, esse fator, na maioria das vezes, não tem

graves repercussões. Todavia, nas hipóteses de necropsia médico-legal os prejuízos podem ter maior significado, uma vez que, tomando-se o Brasil como exemplo, o prazo para entrega do laudo é de 10 dias, em função do que dispõe o parágrafo único do artigo 160, do Código de Processo Penal (CPC) (BRASIL, 2002).

A entrega do laudo fora do prazo legal, além de vulnerar o perito médico-legal a sanções penais, pode causar prejuízos na apuração dos fatos tidos como delituosos e, às vezes, em face do decurso do prazo da prisão preventiva, permitir a libertação de acusados da prática de crime (FRANÇA, 2004; CROCE; CROCE J., 2006; VANRELL, 2007).

2.5. Alternativas para Acelerar a Fixação do Encéfalo

A dificuldade quanto à autorização para retenção de órgãos, nas necropsias anatomopatológicas, e a necessidade da entrega do laudo dentro do prazo legal, ou com a maior celeridade possível, nas necropsias médico-legais, têm justificado pesquisas que visam a desenvolver uma abordagem que diminua o tempo de fixação do encéfalo (BEACH et al., 1987; MORA et al., 1996; ADICKES; FOLKERTH; SIMS, 1997; BURTON; UNDERWOOD, 2003; LOVE, 2004; SHARMA; GRIEVE, 2006).

Basicamente, podemos identificar três linhas de pesquisa visando a acelerar o processo de fixação do encéfalo. Uma primeira concentra suas observações na associação de injeção intravascular da solução fixadora com períodos de fixação por imersão (BEACH et al., 1987; ISTOMIN, 1994; ADICKES; FOLKERTH; SIMS, 1997; SHARMA; GRIEVE, 2006). Uma segunda linha, representada por Mora et al. (1996) e Barret (2004), utiliza um método que consiste em submeter o encéfalo a ciclos de oscilação de temperatura. A terceira linha de pesquisa, que é representada por Love (2004), preconiza a realização de cortes do tecido encefálico a fresco, com posterior seleção de porções do tecido encefálico, para fixação por imersão em solução fixadora.

Beach et al. (1987) estudaram a influência da técnica de aceleração da fixação por perfusão do encéfalo com formalina a 3,74%, comparada com a técnica padrão de fixação por imersão, na imuno-histoquímica. Foram examinados apenas quatro encéfalos no grupo perfundido. Os cortes foram realizados no primeiro, segundo, quarto e oitavo dia e, conforme as conclusões

apresentadas, não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre as duas técnicas.

Adickes, Folkerth & Sims (1997) estudaram uma técnica de perfusão do encéfalo, seguida da sua remoção da cavidade craniana, como forma de acelerar o processo de fixação, permitindo o corte do encéfalo no mesmo dia da necropsia. Segundo esses autores, a perfusão pelas artérias carótidas de 1 litro de solução tamponada de formalina a 3,74%, em um dos hemisférios cerebrais, seria capaz de acelerar a fixação do hemisfério cerebral perfundido, em comparação com o hemisfério cerebral contra-lateral, não perfundido e fixado por imersão em solução idêntica, por duas semanas. Através da análise da coloração das preparações e de análises imuno-histoquímicas, os autores concluíram por não haver diferenças entre uma técnica e outra, quanto aos aspectos analisados.

Na mesma linha, Sharma & Grieve (2006) também pesquisaram a aceleração do processo de fixação em encéfalos perfundidos por solução fixadora. Neste estudo, a solução fixadora foi a formalina a 20%, perfundida através das carótidas e injetadas, por punção, nos ventrículos laterais. Os encéfalos do grupo perfundido foram examinados entre o primeiro e o quarto dia após remoção, sendo os resultados dos escores aplicados à coloração e qualidade das preparações. A comparação entre os grupos experimental e controle não revelou diferenças estatísticas significativas.

Tedeschi (1970) preconizou a técnica de fixação por perfusão intravascular como forma de acelerar a fixação do encéfalo. Para este autor, a injeção do fixador dentro da rede vascular do encéfalo teria também a vantagem de retirar do interior do encéfalo grande quantidade de sangue, o que também favoreceria o processo de fixação.

Não obstante os resultados apresentados, essa técnica de fixação por perfusão, associada ou não a um período de imersão, recebe críticas. Miller (1998), baseado em observações práticas, afirma que é possível realizar cortes de boa qualidade, em encéfalos perfundidos com a solução fixadora, após dois dias de imersão em formalina. Ressalta, todavia, dois problemas relacionados com essa técnica. O primeiro ocorreria quando se usam técnicas específicas de coloração, as quais poderiam gerar artefatos com prejuízo ao diagnóstico. O segundo seria a existência de regiões do encéfalo pobremente irrigadas, em

especial as áreas que sofreram isquemia ou infartos, que não seriam perfundidas e, portanto, não seriam adequadamente fixadas.

Com o objetivo de limitar a exposição à formalina, substância de odor característico e com efeitos lesivos sobre a via aérea, e também visando a acelerar o processo de fixação do encéfalo, Mora et al. (1996) estudou a utilização de uma solução fixadora constituída de formalina, glutaraldeído, ácido sulfúrico, sucrose, glicerol e sódio, combinada com ciclos de oscilação de temperatura, entre 80° e 30° C. Método que ele chamou de fixação eletroquímica. Conforme suas conclusões é possível conseguir, por esse método, uma fixação adequada de todo o encéfalo em 36 horas.

Barret (2004) avaliou o efeito do calor na aceleração do processo de fixação do encéfalo. Utilizou um aparelho emissor de microondas, submetendo o encéfalo a uma temperatura de 50°, por um período de 6 horas. Depois expôs os encéfalos a um período de fixação por imersão em formalina, na temperatura ambiente, por 12 horas. Após esse período os encéfalos foram cortados e os fragmentos submetidos a mais 24 horas de fixação por imersão, antes da inclusão em parafina. O referido pesquisador concluiu que essa técnica permitia realizar cortes adequados do encéfalo, bem como não prejudicava o exame imuno-histoquímico e microscópico.

Love (2004) preconizou a realização de cortes do encéfalo a fresco, com seleção de fatias para fixação. As fatias selecionadas eram então colocadas na solução fixadora e, após três dias, porções menores dessas fatias eram retiradas para o exame microscópico. A seleção das fatias para fixação se baseava na topografia usual dos achados neuropatológicos nas doenças estudadas, distúrbios neurodegenerativos. Segundo o autor, a seleção de fatias do tecido encefálico para fixação, tornava mais fácil a obtenção do consentimento das famílias, uma vez que a maior parte do órgão era restituído ao cadáver já após o exame necroscópico e, portanto, antes da inumação.

A devolução do órgão ao cadáver antes da inumação é sem dúvida um fator importante na época atual, na qual as famílias não têm, com freqüência, autorizado a realização de exames que impliquem na retenção de órgãos. Por outro lado, a confecção do laudo pericial dentro do prazo legal de 10 dias, ou com a maior agilidade possível, também é meta a ser alcançada (KATELARIIS et al., 1994; SHARMA; GRIEVE, 2006).

3. JUSTIFICATIVA

A entrega mais precoce dos resultados do exame neuropatológico é uma necessidade antiga (ADICKES; FOLKERTH; SIMS, 1997).

Nas necropsias anatomopatológicas, em função de abusos quanto à disposição de órgãos retirados de cadáveres (BURTON; UNDERWOOD; 2003) busca-se essa aceleração, uma vez que, em alguns países, as famílias têm exigido a devolução dos órgãos aos cadáveres antes do funeral (SHARMA; GRIEVE, 2006).

Nas necropsias médico-legais essa aceleração visa a permitir a entrega do laudo pericial dentro do prazo previsto na lei, de dez dias, evitando possíveis prejuízos ao andamento dos procedimentos policiais ou judiciais relacionados ao caso.

Nas últimas décadas tem-se observado a partir da publicação de vários estudos relacionados ao processo de fixação do encéfalo, inclusive em publicações recentes (SHARMA; GRIEVE, 2006), uma busca por uma abordagem que possa abreviar o período necessário para a fixação desse órgão, permitindo um exame neuropatológico adequado e mais precoce.

Várias abordagens têm sido propostas para a solução desse problema, entre elas a mais difundida é a combinação da fixação por imersão com a perfusão intravascular da solução de formalina a 3,74% (ADICKES; FOLKERTH; SIMS, 1997; SHARMA; GRIEVE, 2006). Todavia, essa abordagem recebe críticas de parte dos neuropatologistas, a exemplo de MILLER (1998), para quem o método produz grande quantidade de artefatos e não é passível de execução em parte dos cadáveres, em especial naqueles que apresentam alterações nos vasos cerebrais; esta condição compreende uma das principais justificativas do presente estudo.

Assim, o presente estudo propõe uma nova abordagem que, expondo as estruturas médio-encefálicas à ação da solução fixadora, acelera o processo de fixação, permitindo um exame neuropatológico mais precoce, com prejuízo mínimo ou mesmo sem prejuízo ao exame macroscópico e microscópico. Essa abordagem busca permitir a realização do exame neuropatológico no máximo

em dez dias, o que propiciará, nas necropsias médico-legais, a entrega do laudo no prazo de dez dias, como determina a lei.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo Geral

Desenvolver uma nova abordagem para remoção e fixação do encéfalo que possibilite uma aceleração do processo de fixação, sem prejuízo da qualidade do exame neuropatológico, macroscópico e microscópico.

4.2. Objetivos Específicos

1. proceder a uma nova abordagem para remoção e fixação do encéfalo em necropsias médico-legais, que consiste na abertura horizontal da cavidade craniana, com secção horizontal *in situ* do encéfalo;

2. testar o processo de fixação dos segmentos superior e inferior do encéfalo, após imersão em solução de formalina a 3,74%, através de exame neuropatológico macroscópico e microscópico;

3. demonstrar que a abordagem proposta acelera o processo de fixação do encéfalo, permitindo o exame neuropatológico mais precoce.

5. MATERIAL E MÉTODO

5.1. Delineamento

Este estudo consiste em uma pesquisa experimental na qual as relações entre as variáveis são estudadas por meio de observações e mensurações das variáveis de interesse do pesquisador. O método experimental envolve manipulação direta e controle das variáveis, podendo-se, desta forma, inferir que há uma causalidade na relação entre as variáveis; isto é, pode-se dizer que o resultado observado na variável dependente (resposta observada) é causado pela manipulação da variável independente. Para tal, serão utilizados dois grupos: um grupo experimental no qual a variável independente será manipulada pelo pesquisador, remoção do encéfalo pela técnica proposta, e um grupo controle no qual será aplicada uma técnica de remoção e fixação padrão.

O delineamento de pesquisa escolhido está contido nos denominados por Campbell e Stanley (1979) de pesquisas experimentais autênticas consistindo na utilização de um grupo controle e só pós-teste, tal como pode ser observado no diagrama abaixo:

A	X	O1
A		O2

Onde se lê:

A = amostra aleatória

X = administração do tratamento (manipulação da variável independente)

O1 = observação dos resultados no grupo experimental

O2 = observação dos resultados no grupo controle

Assim, nesta pesquisa a variável independente (manipulação) consistiu na retirada do encéfalo da cavidade craniana e sua posterior fixação através da seguinte abordagem: secção horizontal da calvária, com o auxílio de serra manual, seguida da secção horizontal *in situ* do encéfalo, dividindo-o em dois segmentos, um superior e outro inferior, os quais, após removidos

cuidadosamente da cavidade craniana, foram colocados em um recipiente para fixação com as superfícies de corte (planas) dos segmentos repousando sobre o fundo do recipiente, por um período de sete a dez dias.

No grupo controle os encéfalos foram removidos e fixados pela técnica padrão: secção horizontal da calvária, com serra manual, evitando-se lesões das estruturas encefálicas, com sua remoção cuidadosa e colocação suspenso pela artéria basilar em frasco contendo a solução fixadora, evitando-se o contato do encéfalo com as paredes do frasco. No grupo controle o período mínimo de fixação foi de dezessete dias.

Em ambos os grupos a solução fixadora utilizada foi a formalina não tamponada, na quantidade de cinco litros. Essa solução era preparada imediatamente antes da remoção do encéfalo, diluindo-se 500 ml de solução a 37,4% em 4500 ml de água destilada, o que produzia uma solução de formalina não tamponada a 3,7%.

A variável dependente deste estudo refere-se à verificação da qualidade da fixação do tecido encefálico pela técnica proposta, a partir das avaliações por especialista dos resultados do grupo controle e experimental, no exame macro e microscópico do encéfalo.

5.2. Hipóteses

H₀: Não há diferença entre o grupo experimental e controle.

H₁: Há diferença entre o grupo experimental e controle.

H₂: A nova abordagem executada no grupo experimental promove melhores preparações.

H₃: A nova abordagem executada no grupo experimental promove piores preparações.

5.3 Procedimento

5.3.1 Remoção do encéfalo

No grupo controle e no grupo experimento a abertura da cavidade craniana foi procedida em um plano horizontal que passa 02 cm acima da glabella, anteriormente, e 06 cm acima da protuberância occipital,

posteriormente (**Figura 5.1 e 5.2 A e B**). A calvária foi serrada com serra manual até atingir a dura-máter, com auxílio da calvária de Baltazar Modificada (MICHALANY, 2005) (**Figura 5.1**), o que a dividiu em dois segmentos: um superior, correspondendo ao teto da cavidade craniana e um inferior, consistindo na base do crânio (**Figura 5.2 A e B**).

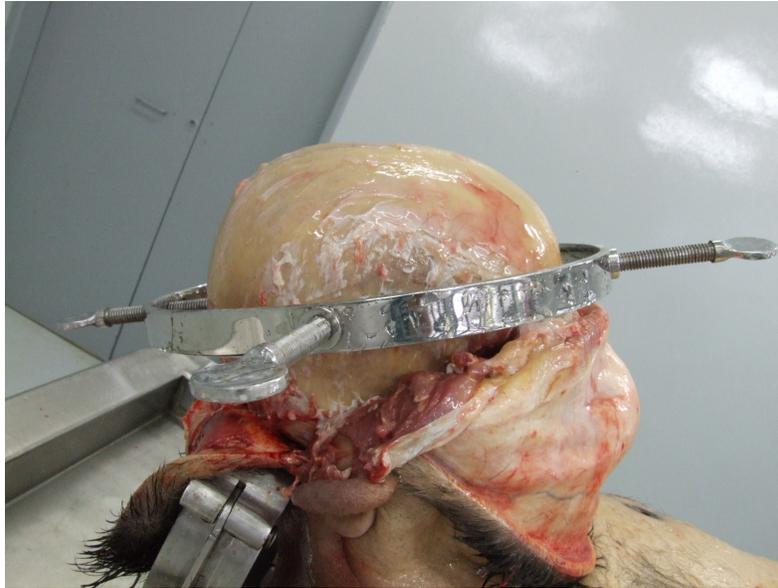


Figura 5.1 - Calvária de Baltazar modificada, posicionada para a abertura do crânio.

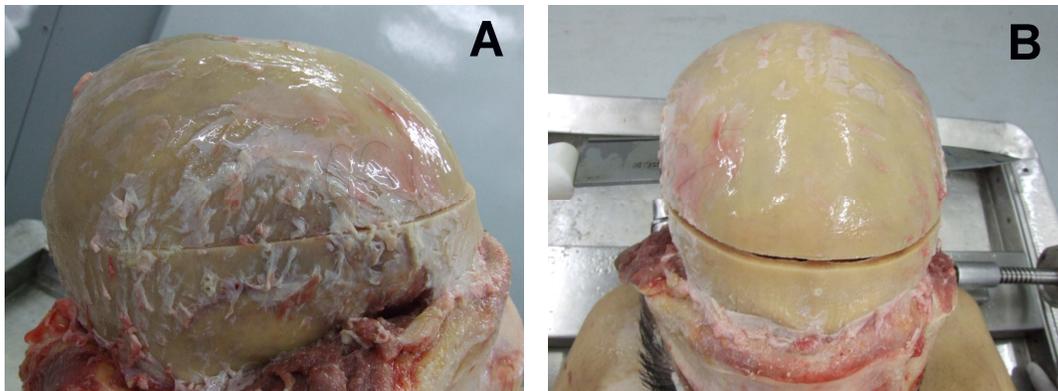


Figura 5.2 - Calvária serrada no plano horizontal. Vista lateral (A) e vista anterior (B).

No grupo experimental o encéfalo foi cortado *in situ*, com o uso de um instrumento cortante, constituído de lâmina com gume único, ao nível do plano de abertura da calvária (**Figura 5.3 A**), o que separou o encéfalo em dois

segmentos: o superior, constituído pelas porções superiores dos hemisférios cerebrais e o inferior, constituído pelas porções inferiores dos hemisférios cerebrais, estruturas diencefálicas e tronco encefálico (**Figura 5.3 B**).

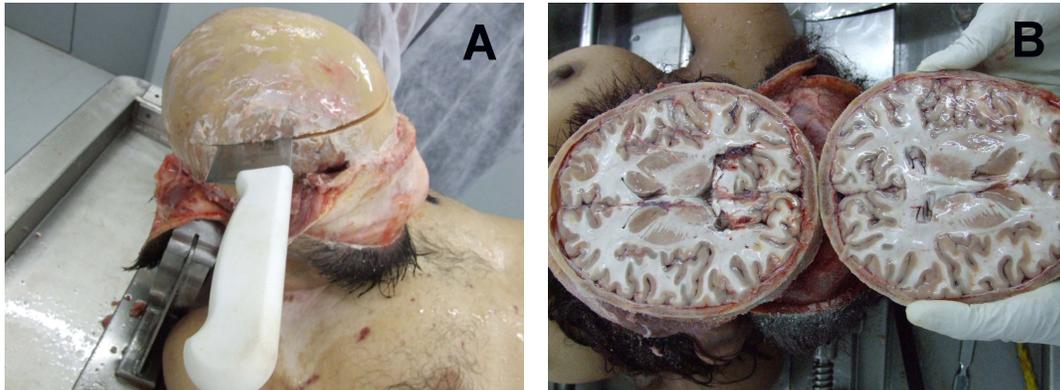


Figura 5.3 - Secção horizontal *in situ* do encéfalo do grupo experimental (A) e segmentos superior e inferior do encéfalo, *in situ* (B).

O segmento superior (**Figura 5.4 A**) foi liberado da dura-máter com manobras de deslizamento dos dedos sob a foixe do cérebro, liberando as granulações aracnóides. O segmento inferior (**Figura 5.4 B**) foi retirado da cavidade craniana, após secção dos nervos e vasos que ligam o encéfalo á base do crânio, abertura da tenda do cerebelo e secção da medula.

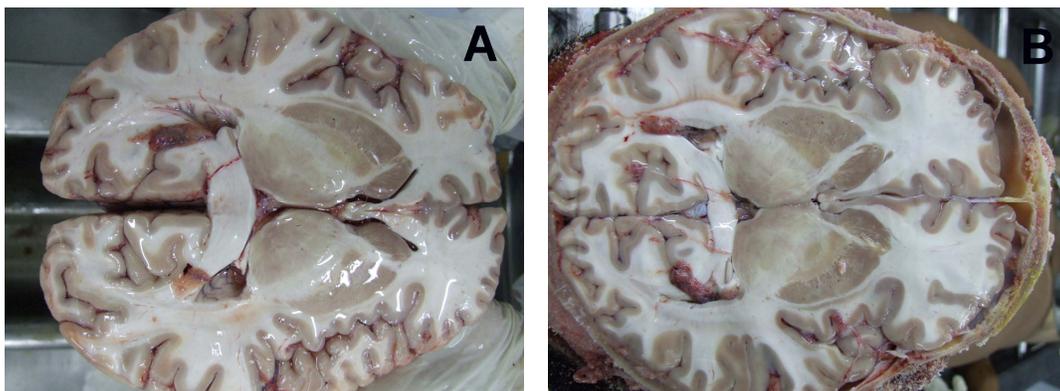


Figura 5.4 - Encéfalo do grupo experimental. Superfície de corte do segmento superior (A) e inferior (B).

No grupo controle, a remoção do encéfalo da cavidade craniana foi procedida pela técnica padrão, retirada da calota craniana (**Figura 5.5 A**), dissecação da dura-máter (**Figura 5.5 B**), secção dos nervos e vasos que ligam o encéfalo á base do crânio, abertura da tenda do cerebelo, secção da medula e retirada do encéfalo intacto.

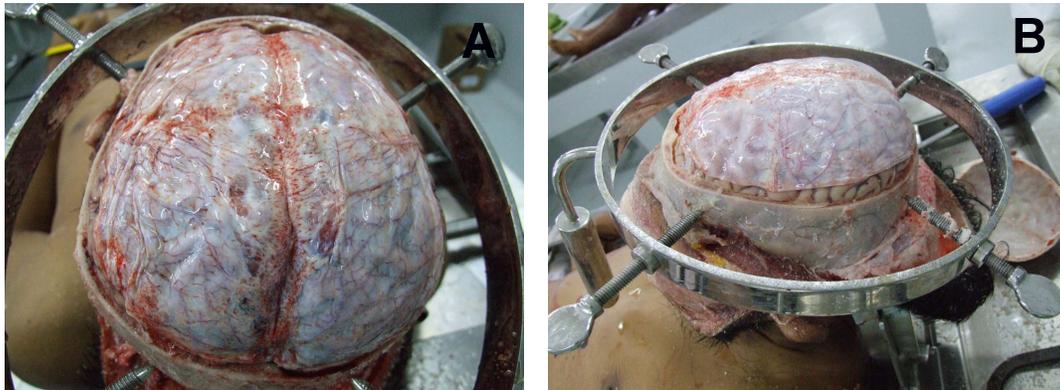


Figura 5.5 - Encéfalo do grupo controle após a retirada da calota craniana (A) e durante dissecação da dura-máter (B).

5.3.2 Fixação do encéfalo

Os encéfalos de ambos os grupos foram fixados em recipientes contendo 5 litros de solução padrão de formalina a 3,74%, permanecendo completamente cobertos pela solução fixadora durante todo o período de fixação.

No grupo experimental os segmentos encefálicos superiores e inferiores foram fixados com as superfícies de corte repousando sobre o fundo do recipiente com fundo plano (**Figura 5.4 A e B e Figura 5.6**), por um período que variou de 8 a 10 dias (Tabela 6.6). O protocolo de pesquisa determinava que o período de fixação neste grupo fosse de no mínimo 7 dias e no máximo dez dias. O período mínimo de 7 dias de fixação foi determinado por observações preliminares que indicaram que períodos inferiores a este não produziam uma fixação adequada. No caso do limite máximo de 10 dias a escolha se deu pela necessidade de se abreviar de forma significativa o tempo para realização do exame neuropatológico.

No grupo controle, os encéfalos foram fixados da forma padrão, suspensos na solução fixadora por um período que variou de 17 a 20 dias (Tabela 6.6). O protocolo de pesquisa determinava que o período de fixação no grupo controle seria de no mínimo 15 dias e no máximo duas semanas, conforme a técnica padrão.



Figura 5.6 – Encéfalo do grupo experimental. Segmentos do encéfalo (superior e inferior) são observados repousando sobre o fundo do recipiente para fixação.

5.4 Exame macroscópico

Os encéfalos do grupo controle e experimental foram submetidos ao exame macroscópico, com realização de cortes horizontais para produção de fatias de tecido encefálico com 1 cm de espessura. No grupo experimento o plano de corte horizontal procedido no momento da remoção (**Figura 5.4 e Figura 5.7 B E D**), serviu de referência para realização dos demais cortes, no segmentos superior e inferior (**Figura 5.7**). O examinador (especialista) tinha conhecimento da técnica utilizada para fixação do órgão.

Do hemisfério cerebral direito dos encéfalos de ambos os grupos, foram coletados quatro fragmentos de tecido encefálico para estudo microscópico. Estes fragmentos foram representativos do lobo frontal superficial (substância

branca e cinzenta), região diencefálica, representada pelo putâmen, área periventricular e cúpula.

A escolha das três primeiras áreas foi norteadada pela necessidade de se analisar porções do encéfalo com graus diferentes de exposição ao fixador, representado, respectivamente, as áreas superficial, média e interna do órgão. No caso da cúpula esperava-se ter um parâmetro de referência, uma vez que essa área, estando bastante exposta ao agente fixador, deveria apresentar em ambos os grupos um bom padrão de fixação.

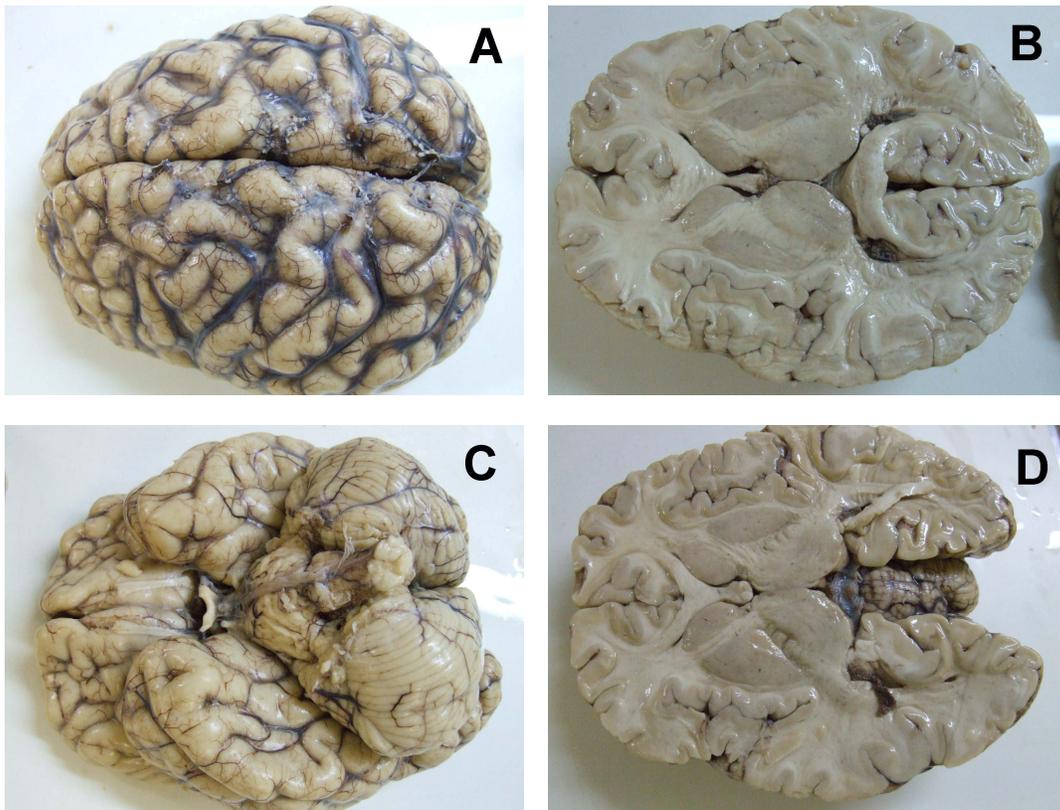


Figura 5.7 - Encéfalo do grupo experimental. Plano de corte horizontal: segmento superior: cúpula (A) e superfície de corte (B). Segmento inferior: base (C) e superfície de corte (D).



Figura 5.8 - Fatias de encéfalo do grupo experimental.

5.5 Exame microscópico

Concluído o exame macroscópico os fragmentos foram colocados em frascos contendo a solução de formalina a 3,74% e conduzidos até o laboratório Histotecnologia do Mestrado em Patologia da UFPE. Os fragmentos foram processados imediatamente após a sua chegada ao laboratório, sendo desidratados em uma bateria crescente de álcoois (85% a 100%), diafanizados em xilol e incluídos em parafina. O período de permanência dos fragmentos na solução de formalina 3,74% não excedeu a 60 minutos.

Para cada fragmento foi processada uma preparação, sendo todas elas coradas pela hematoxilina-eosina.

5.6 Instrumento

Os encéfalos do grupo controle e experimental foram submetidos ao exame macroscópico por examinador conhecedor da técnica usada na fixação. A distribuição dos encéfalos para exame foi aleatória e o examinador atribuiu nota de zero a dez, a cada um dos encéfalos, em relação aos seguintes aspectos: integridade das estruturas, realização dos cortes, disposição anatômica das estruturas e fixação.

As preparações dos indivíduos do grupo controle foram pareadas com as preparações homólogas do grupo experimento, constituindo conjuntos de duas preparações, que foram examinadas por especialista não conhecedor da técnica aplicada para fixação. A distribuição dos conjuntos para avaliação foi aleatória e o examinador atribuiu a cada preparação, isoladamente, uma nota de zero a dez. O aspecto analisado foi reportado com relação à qualidade das preparações em permitir um diagnóstico.

5.7 Análises dos dados

Os escores (notas) obtidos para o grupo controle e o grupo experimental, no exame macroscópico, nos aspectos integridade das estruturas, realização dos cortes, disposição anatômica das estruturas e fixação foram submetidos ao teste *t de student*.

Os escores (notas) obtidos para as preparações do grupo controle e experimental no exame microscópico foram submetidos ao teste *t de student*.

Pretendeu-se verificar se há diferenças significativas entre as médias destes grupos no exame macro e microscópico.

5.8 Aspectos éticos

A utilização de cadáveres, ou órgãos e tecidos deles retirados, para fins de pesquisa é um tema ainda pouco explorado pelas normas e diretrizes que regulamentam estas atividades. A legislação existente no Brasil sobre este tema restringe-se à regulamentação da utilização de cadáver não reclamado para fins de pesquisa e ensino, Lei 8501, de 30 de novembro de 1992, e a normatização da pesquisa em seres humanos, Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (GOLDIM, 1998).

Ainda segundo GOLDIM (1998), esta é uma área de realização de projetos de pesquisa que deveria merecer uma resolução específica, por parte da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), no sentido de estabelecer critérios nacionais e uniformes para a pesquisa em cadáveres ou suas partes.

No tocante à necessidade de consentimento, quando se trata de pesquisa envolvendo cadáveres, entende-se que os parentes têm o direito de concordar ou discordar com a invasão do corpo do falecido. Isso, entretanto, difere do consentimento do sujeito e se aproxima do modelo de propriedade (JONES; GEAR; GALVIN, 2003). Em outras palavras, à família, detentora da propriedade do cadáver, cabe autorizar quaisquer procedimentos sobre o mesmo, seja no sentido de elucidar a causa morte – necropsia, seja visando a permitir intervenções de cunho científico – coleta de materiais para pesquisa.

Todavia, a necropsia médico-legal é um imperativo de ordem pública, em função do que dispõe o art. 158 do Código de Processo Penal, prescindindo de autorização da família, no que difere da necropsia clínica, na qual tal exame só é procedido mediante tal autorização.

Surge, assim, no âmbito dos Institutos de Medicina Legal, situação *sui generis*, na qual o Estado, na defesa do interesse público, detém provisoriamente a posse, do cadáver, para obtenção de um fim específico, o esclarecimento da causa médica e jurídica da morte. Em função disso, os peritos médico-legais não podem, como servidores públicos encarregados de tal mister, sofrer quaisquer restrições.

Porém, uma vez atendido o interesse público, todo e qualquer procedimento ou intervenção realizado no cadáver deve ser pautado na autorização de seus familiares, uma vez que na falta desta estaria configurado uma ofensa ao direito de propriedade da família. Evidentemente esse direito de propriedade não se expressa por um valor patrimonial, mas, sobretudo, pelo seu valor moral, uma vez que reflete o respeito que se tem ao morto.

Assim, sendo o exame da cavidade craniana, com conseqüente exame do encéfalo, etapa obrigatória da necropsia médico-legal (FRANÇA, 2004), a retirada desse órgão e seus exames neuropatológicos, macroscópicos e microscópicos, serão realizados sem o consentimento da família, uma vez que tal procedimento visa ao cumprimento do mister pericial, ou seja, a busca do esclarecimento da causa médica e jurídica da morte.

Por outro lado, a utilização de dados de avaliação qualitativa do exame macroscópico e a confrontação qualitativa das preparações histológicas de

encéfalo, visando a determinar a eficácia e uma técnica de fixação, objeto desse trabalho, fogem a finalidade da necropsia médico-legal, necessitando de consentimento dos familiares.

Assim, o consentimento que foi solicitado aos familiares estava dirigido à utilização dos encéfalos e das preparações histológicas para confrontação qualitativa, conforme metodologia especificada anteriormente, em conformidade com o termo de consentimento contido no apêndice A.

Tal consentimento é *sui generis*, uma vez que não visa a proteger, como ordinariamente acontece, a autonomia e integridade do sujeito da pesquisa, uma vez que se trata de cadáver. Obedece, sobretudo, ao respeito devido ao falecido, que se concretiza nas relações afetivas que este estabeleceu em vida com os seus familiares e com os demais membros da sociedade.

6. RESULTADOS

6.1. Amostra

O material utilizado na pesquisa foi constituído de encéfalos provenientes de necropsias realizadas no Instituto de Medicina Legal de João Pessoa, Paraíba, e submetido a exame neuropatológico no Serviço de Neuropatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, na cidade de Recife. Dois grupos de avaliação foram estabelecidos, um grupo controle (Grupo C) e um grupo experimental (Grupo E), cada um com 15 encéfalos. Todos os encéfalos foram removidos de cadáveres de indivíduos que não tiveram como causa da morte o traumatismo crânio-encefálico, e cuja necropsia foi realizada nas primeiras 24 horas após o óbito.

Com relação à faixa etária da amostra do grupo experimental, 20% dos encéfalos eram de pessoas que tinham entre 20-24 anos, 20% entre 26-30 anos, 33,3% entre 33-39 anos, 20% entre 40-48 anos e apenas 6,7% eram de pessoas a partir de 60 anos, conforme tabela 6.1.

Tabela 6.1 - Percentagem da faixa etária do grupo experimental.

FAIXA ETÁRIA	F	%
20-24 anos	03	20
26-30 anos	03	20
33-39 anos	05	33,3
40-48 anos	03	20
A partir 60 anos	01	6,7
Total	15	100

F-número de casos

No que se refere a faixa etária da amostra do grupo controle, 13,3% dos encéfalos eram de pessoas que tinham entre 12-18 anos, 33,3% entre 20-24 anos, 20% entre 26-30 anos, 13,3% entre 33-39 anos, 6,7% entre 40-48 anos e 13,3% a partir de 60 anos, conforme pode ser verificado na tabela 6.2.

Tabela 6.2 - Percentagem da faixa etária do grupo controle.

FAIXA ETÁRIA	F	%
12-18 anos	02	13,3
20-24 anos	05	33,3
26-30 anos	03	20
33-39 anos	02	13,3
40-48 anos	01	6,7
A partir 60 anos	02	13,3
Total	15	100

F-número de casos

Com relação ao sexo, no grupo experimental 73,3% foram do sexo masculino e 26,7% foram do sexo feminino. Já no grupo controle 93,3% eram do sexo masculino, enquanto 6,7% eram do sexo feminino. Como pode ser verificado na *tabela 6.3*.

Tabela 6.3 - Percentagem do sexo no grupo experimental e controle.

SEXO	Grupo experimental		Grupo controle	
	F	%	F	%
Masculino	11	73,3	14	93,3
Feminino	4	26,7	1	6,7
Total	15	100	14	100

F-número de casos

No que se refere ao tempo de fixação dos encéfalos no grupo experimental (Grupo E), a maioria (60%) passou oito dias para fixar, 26,7% passou 10 dias para fixar, e 13,3% passou 09 dias para fixar, na *tabela 6.4* observam-se esses resultados.

Tabela 6.4 - Percentagem do tempo de fixação dos encéfalos no grupo experimental.

Tempo de fixação	F	%
8 dias	09	60
9 dias	02	13,3
10 dias	04	26,7
Total	15	100

F-número de casos

No tempo de fixação dos encéfalos do grupo controle, a 40% passou 19 dias para fixar, 26,7% passou 20 dias para fixar, 20% passou 17 dias, e 13,3% passou 18 dias, conforme *tabela 6.5*.

Tabela 6.5 - Percentagem do tempo de fixação dos encéfalos no grupo controle.

Tempo de fixação	F	%
17 dias	03	20
18 dias	02	13,3
19 dias	06	40
20 dias	04	26,7
Total	15	100

F-número de casos

Foram calculadas as médias do tempo de fixação tanto no grupo experimental, quanto no grupo controle. No grupo experimental a média do *tempo de fixação (M)* foi de 8,67 dias com desvio-padrão de 0,90 e no grupo controle a média do *tempo de fixação* foi de 18,73 dias com desvio-padrão de 1,10. Esses resultados podem ser observados na *tabela 6.6*.

Tabela 6.6 - Tempo médio (M) de fixação dos encéfalos nos grupos experimental e controle.

Grupos	Tempo de fixação	
	M	DP
Experimental	8,67 horas	0,90
Controle	18,73 dias	1,10

DP - desvio padrão

Com relação à causa do óbito, no grupo experimental, 60% dos óbitos ocorreram por ferimentos por projéteis de fogo, 13,3% por asfixia, 13,3% por acidente de trânsito, 6,7% por ferimento por arma branca, e 6,7% indeterminada (morte súbita). Como pode ser verificado na *tabela 6.7*. Já no grupo controle 33,6% dos óbitos ocorreram devido a ferimento por arma branca, 26,7% por ferimentos de projéteis de arma de fogo, 26,7% por asfixia, 6,7% por acidente de trânsito, e 6,7% por pneumonia bilateral (Tabela 6.7).

Tabela 6.7 - Percentagem da causa do óbito nos grupos experimental e controle.

CAUSA DO ÓBITO	Grupo experimental		Grupo controle	
	F	%	F	%
Ferimento por arma branca	01	6,7	05	33,3
Ferimentos por projéteis de arma de fogo	09	60	04	26,7
Asfixia	02	13,3	04	26,7
Acidente de tráfego	02	13,3	01	6,7
Pneumonia bilateral	0	0	01	6,7
Indeterminada - morte súbita	1	6,7	0	0
Total	15	100	15	100

F-número de casos

6.2. Exame Macroscópico

Através do exame macroscópico dos encéfalos do grupo experimental, verificou-se que o escore médio da *Integridade das Estruturas* foi 10 com desvio-padrão de 0,001, na *Realização do Cortes* a média foi 10 com desvio-padrão de 0,001, na *Disposição Anatômica das Estruturas* a média foi 10 com desvio-padrão de 0,001, e com relação à fixação a média obtida foi 8,93 com desvio-padrão de 1,10. Na *tabela 6.8* podem ser observados os dados descritos. No exame macroscópico dos encéfalos do grupo controle, observou-se que os escores médios da *Integridade das Estruturas* foi 9,33 com desvio-padrão de 1,75, na *Realização do Cortes* a média foi 10 com desvio-padrão de 0,001, na *Disposição Anatômica das Estruturas* a média foi 10 com desvio-padrão de 0,001, e com relação à fixação a média obtida foi 9,20 com desvio-padrão de 1,08.

Tabela 6.8 - Pontuação média das notas atribuídas no exame macroscópico dos encéfalos no grupo experimental e controle

FRAGMENTOS	Grupo experimental		Grupo controle	
	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP
Integridade das Estruturas	10	0,001	9,33	1,75
Realização dos Cortes	10	0,001	10	0,001
Disposição Anatômica das Estruturas	10	0,001	10	0,001
Fixação	8,93	1,10	9,20	1,08

Com o objetivo de verificar se houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e o grupo experimental com relação ao exame macroscópico dos encéfalos, no que diz respeito à nota atribuída à *integridade das estruturas* e à *fixação do encéfalo*, foi realizado um teste-t de *student* para amostras independentes com a finalidade de comparar as médias dos grupos, adotando o critério de $p \leq 0,05$ para que a diferença seja considerada significativa.

O índice médio da nota atribuída a integridade das estruturas foi de 9,67 com um desvio-padrão de 1,26. Quando os escores foram divididos, através do teste-t de *student*, entre os grupos experimental ($M = 10$; $DP = 0,001$) e controle ($M = 9,33$; $DP = 1,75$), observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($t = 1,46$; $p > 0,05$) entre as notas atribuídas ao grupo experimental e ao grupo controle. Conforme *tabela 6.9*.

Tabela 6.9 - Escores médios da nota da *integridade das estruturas* em função dos grupos experimental e controle

Grupos	Média	Desvio Padrão	<i>t</i>
Experimental	10	0,001	1,46 ($p > 0,05$)
Controle	9,33	1,75	

O índice médio da nota atribuída à *fixação* foi de 9,07 com um desvio-padrão de 1,08. Quando os escores foram divididos, através do teste-t de *student*, entre os grupos experimental ($M = 8,93$; $DP = 1,10$) e controle ($M = 9,20$; $DP = 1,08$), observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($t = -0,66$; $p > 0,05$) entre as notas atribuídas ao grupo experimental e ao grupo controle. É o que está demonstrado na *tabela 6.10*.

Tabela 6.10 - Escores médios da nota atribuída à *fixação* em função dos grupos experimental e controle

Grupos	Média	Desvio Padrão	<i>t</i>
Experimental	8,93	1,10	-0,66 ($p > 0,05$)
Controle	9,20	1,08	

6.3 Exame Microscópico

Um dos objetivos do presente estudo foi verificar se ocorreria diferença entre o grupo experimental e o grupo controle com relação ao exame microscópico do encéfalo, um dos critérios utilizados foi uma nota de 0 (zero) a 10 (dez) que foi atribuída às preparações a partir da avaliação feita por um especialista no assunto. Analisando-se as notas atribuídas ao conjunto de preparações dos grupos controle e experimental, sem levar em consideração os segmentos, a média do grupo experimental foi de 9,15 com desvio-padrão de 0,65, e a média do grupo controle foi de 9,23 com desvio-padrão de 0,64.

Com relação à nota atribuída às preparações do encéfalo, também foi calculado o escore médio para cada fragmento (*tabela 6.11*). No lobo frontal superficial a média foi de 9,0 com desvio padrão de 0,78; no putâmen a média foi de 9,4 com desvio-padrão de 0,49; a média da área periventricular foi 9,2 com desvio-padrão de 0,43; e na cúpula a média foi de 9,1 com desvio-padrão de 0,77. Na *tabela 6.11* observa-se os escores médios de cada fragmento.

Tabela 6.11 - Pontuação média das notas atribuídas por fragmento

FRAGMENTOS	MÉDIA	DESVIO-PADRÃO
Lobo frontal superficial	9,0	0,78
Putâmen	9,4	0,49
Área Periventricular	9,2	0,43
Cúpula	9,1	0,77

O avaliador (especialista) seguiu alguns critérios para atribuição das notas. No que se refere à atribuição das notas do grupo experimental os argumentos utilizados foram: excesso de fraturas no tecido (43,3%); ausência de nitidez da substância branca e excesso de fraturas no tecido (6,7%); excesso de dobras no tecido (5%); excesso de dobras e fraturas no tecido (3,3%); ausência de nitidez da substância cinzenta e excesso de fraturas no tecido (1,7%); ausência de nitidez da substância branca e ausência de nitidez da substância cinzenta (1,7%); e sem argumento (28,3%). Esses dados podem ser vistos na *tabela 6.12*.

No grupo controle foram apresentados os seguintes argumentos com relação às análises realizadas: excesso de fraturas no tecido (36,7%); ausência de nitidez da substância branca e excesso de fraturas no tecido (6,7%); ausência de nitidez da substância branca e ausência de nitidez da substância cinzenta (5%); e sem argumento (35%). Na *tabela 6.13* os dados podem ser observados.

Tabela 6.12 - Caracterização dos argumentos utilizados na atribuição das notas às preparações do grupo experimental.

ARGUMENTOS	F	%
Excesso de fraturas no tecido	26	43,3
Ausência nitidez dos núcleos da substância branca / excesso fratura	04	6,7
Excesso de dobras no tecido	03	5,0
Excesso dobras / fraturas	02	3,3
Ausência nitidez dos núcleos da substância cinzenta / excesso fratura	01	1,7
Ausência nitidez dos núcleos da substância branca e dos núcleos da substância cinzenta	01	1,7
Sem argumento	17	28,3
Total	60	100

Tabela 6.13 - Caracterização dos argumentos utilizados na atribuição das notas às preparações do grupo controle

ARGUMENTOS	F	%
Excesso de fraturas no tecido	22	36,7
Ausência nitidez dos núcleos da substância branca / excesso fratura	04	6,7
Ausência nitidez dos núcleos da substância branca e dos núcleos da substância cinzenta	03	5,0
Sem argumento	21	35
Total	60	100

O índice médio das notas atribuídas às preparações foi de 9,19 com um desvio-padrão de 0,65. Quando os escores foram divididos, através do teste-t

de *student*, entre os grupos experimental ($M = 9,15$; $DP = 0,65$) e controle ($M = 9,23$; $DP = 0,64$) (), observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($t = 0,69$; $p > 0,05$) entre as notas atribuídas ao grupo experimental e ao grupo controle, como pode ser verificado na *Tabela 6.14*.

Tabela 6.14 - Escores médios das notas atribuídas às preparações nos grupos experimental e controle

Grupos	Média	Desvio Padrão	<i>t</i>
Experimental	9,15	0,65	0,69 ($p > 0,05$)
Controle	9,23	0,64	

No que diz respeito aos fragmentos dos encéfalos analisados e suas diferenças entre grupos controle e experimental obteve-se os seguintes resultados: o índice médio da nota atribuída ao *lobo frontal superficial* foi de 9,0 com um desvio-padrão de 0,78.

Quando os escores deste fragmento foram divididos, através do teste-t de *student*, entre os grupos experimental ($M = 8,93$; $DP = 0,88$) e controle ($M = 9,07$; $DP = 0,70$), observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($t = 0,45$; $p > 0,05$) entre as notas atribuídas ao grupo experimental e ao grupo controle. O índice médio da nota atribuída ao *putâmen* foi de 9,4 com um desvio-padrão de 0,49. Quando foi dividido, através do teste-t de *student*, entre os grupos experimental ($M = 9,33$; $DP = 0,48$) e controle ($M = 9,47$; $DP = 0,51$), observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($t = 0,72$; $p > 0,05$) entre as notas atribuídas ao grupo experimental e ao grupo controle.

Na *área periventricular* o índice médio foi de 9,2 com um desvio-padrão de 0,43. Quando os escores deste fragmento foram divididos, através do teste-t de *student*, entre os grupos experimental ($M = 9,20$; $DP = 0,45$) e controle ($M = 9,27$; $DP = 0,41$), observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($t = 0,41$; $p > 0,05$) entre as notas atribuídas ao grupo experimental e ao grupo controle.

O índice médio da nota atribuída à cúpula foi de 9,1 com um desvio-padrão de 0,77. Quando este foi dividido, através do teste-t de *student*, entre os grupos experimental ($M = 9,13$; $DP = 0,74$) e controle ($M = 9,13$; $DP = 0,83$), observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($t = 0,001$; $p > 0,05$) entre as notas atribuídas ao grupo experimental e ao grupo controle.

Esses dados podem ser observados na *tabela 6.15* e fotomicrografias de preparações do grupo experimental e controle podem ser vistas na *Figura 6.1*.

Tabela 6.15 - Escores médios das notas atribuídas às preparações por fragmento nos dos grupos experimental e controle.

Preparação	Grupos	Média	Desvio Padrão	<i>t</i>
Lobo frontal superficial	Experimental	8,93	0,88	0,45 ($p > 0,05$)
	Controle	9,07	0,70	
Putâmen	Experimental	9,33	0,48	0,72 ($p > 0,05$)
	Controle	9,47	0,51	
Periventricular	Experimental	9,20	0,45	0,41 ($p > 0,05$)
	Controle	9,27	0,41	
Cúpula	Experimental	9,13	0,74	0,001 ($p > 0,05$)
	Controle	9,13	0,83	

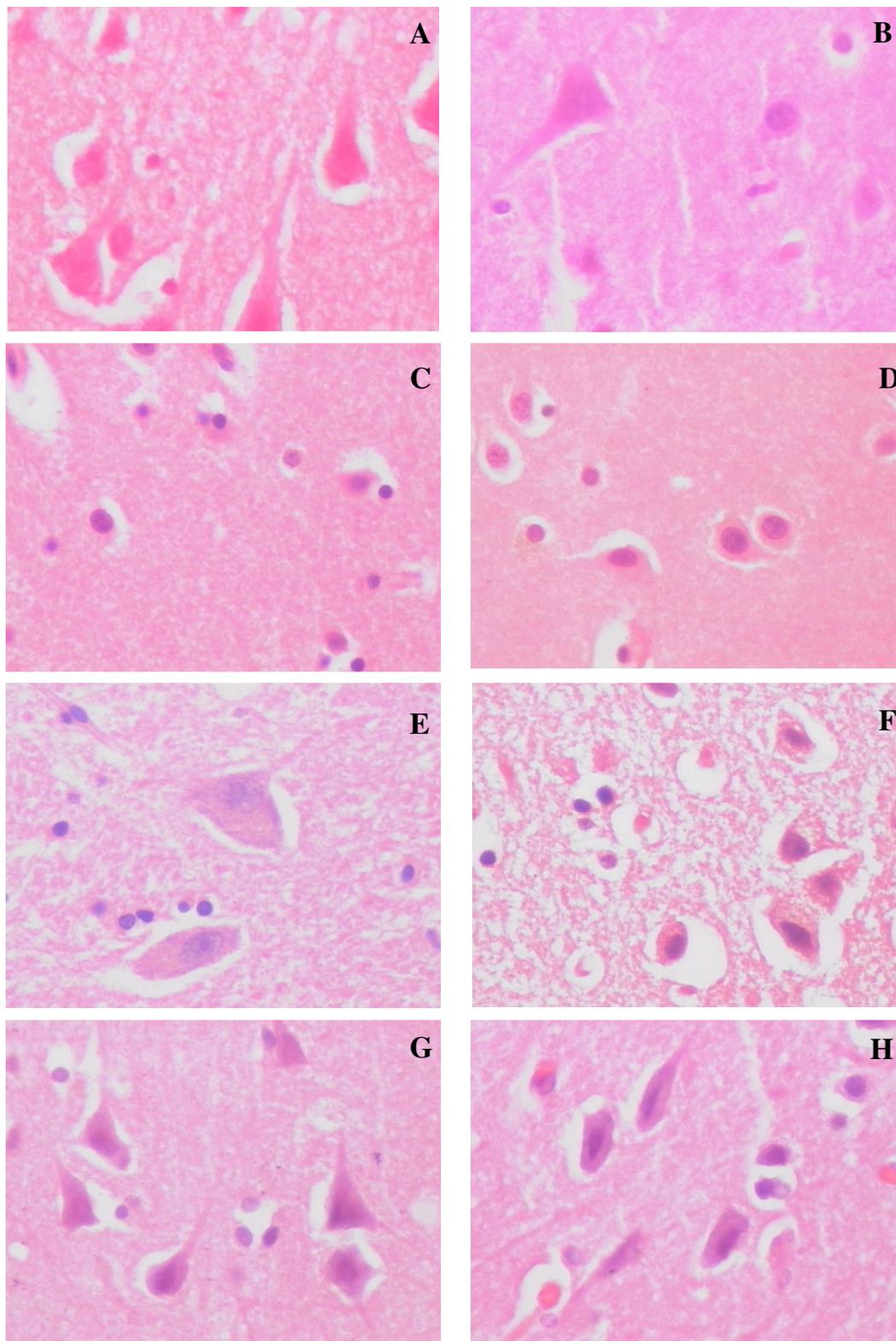


Figura 6.1 – Fotomicrografias de preparações dos grupos experimental e controle coradas com hematoxilina-eosina. Lobo frontal superficial – A (grupo experimental) e B (grupo controle); putâmem – C (grupo experimental) D (grupo controle); periventricular – E (grupo experimental) e F (grupo controle); cúpula G (grupo experimental) e H (grupo controle).

7. DISCUSSÃO

A análise estatística dos escores obtidos no exame macroscópico dos encéfalos não demonstrou diferença significativa entre os grupos controle e experimental. Todavia, nessa avaliação o especialista, quando o encéfalo lhe era apresentado, necessariamente tinha conhecimento da técnica utilizada para remoção, de forma que aspectos subjetivos podem ter influenciado na sua análise.

Os parâmetros utilizados na análise macroscópica foram: integridade das estruturas, realização dos cortes, disposição anatômica das estruturas e fixação. Na análise da *integridade das estruturas* encefálicas foi verificada a presença de eventuais danos ao tecido encefálico decorrentes da técnica de remoção. É sabido que o tecido encefálico é bastante friável e, por isso, muito sujeito a traumatismos durante a sua remoção da caixa craniana. Uma vez que a abordagem proposta implicava em uma secção do encéfalo antes de sua remoção, era importante determinar se essa abordagem provocaria dano ao tecido encefálico, com prejuízo ao exame de suas estruturas. Todavia, não foram observadas diferenças estatísticas significantes na análise desse parâmetro, o que indica que a abordagem proposta não produz dano ao tecido encefálico, demonstrando que, mesmo após a secção do encéfalo no plano horizontal *in situ*, é possível remover os segmentos superior e inferior, resultantes dessa secção, sem dano às estruturas.

Na análise do parâmetro *realização dos cortes* foi verificada a facilidade de seccionar o tecido encefálico em fatias de 1 cm de espessura. Como a fixação do encéfalo obtida pela técnica proposta poderia ser insuficiente, em face do menor tempo de exposição à solução fixadora, a consistência do encéfalo no momento do corte poderia ter influência negativa na realização das secções no tecido encefálico. Nesse parâmetro, as notas atribuídas aos encéfalos de ambos os grupos foram idênticas, com todos os encéfalos recebendo nota máxima (dez), o que revela que a abordagem proposta não dificulta a realização dos cortes no tecido encefálico.

Na análise da *disposição anatômica das estruturas* encefálicas verificou-se a presença de distorções nas relações anatômicas das estruturas que compõem o encéfalo. Na medida em que o encéfalo do grupo experimento foi

seccionado ao meio, produzindo dois segmentos, poderia haver perda do suporte natural do tecido com distorções na sua anatomia habitual, com prejuízos ao exame macroscópico. Nesse parâmetro, as notas atribuídas aos encéfalos de ambos os grupos também foram idênticas, com todos os encéfalos recebendo nota máxima (dez), o que revela que a abordagem proposta não produz distorções anatômicas no encéfalo.

Importante ressaltar que este resultado é conseqüência da forma como os encéfalos foram dispostos para fixação. A colocação das superfícies planas, de corte, dos segmentos encefálicos, no grupo experimental, voltadas para baixo e repousando sobre fundo plano do recipiente é uma condição para evitar a distorção do tecido nervoso. Na técnica padrão o encéfalo fica suspenso em meio à solução fixadora por um fio de algodão que passa pela artéria basilar. Tal conduta visa a evitar o contato do encéfalo com as paredes do frasco, o que faria com que o encéfalo alterasse sua forma.

No grupo experimental, observações preliminares demonstraram que no segmento inferior, quando este era suspenso conforme a técnica padrão, observava-se um dobramento dos dois hemisférios cerebrais em direção a linha média, o que provocava grande distorção das estruturas anatômicas, podendo prejudicar o exame microscópico. Optou-se, então, por repousar as superfícies de corte horizontal dos segmentos encefálicos no fundo do frasco, o que levou aos resultados satisfatórios verificados.

Apesar de não ter sido notado pelo especialista avaliador, percebeu-se que no segmento inferior, havia um afastamento lateral dos lobos occipitais, o que era provocado pela insinuação do cerebelo entre eles. Tal achado, todavia, não interferiu negativamente na avaliação dos encéfalos do grupo experimental, como demonstrado nos resultados estatísticos, não interferindo no exame macroscópico.

Na análise da *fixação do encéfalo* foi verificada a consistência do tecido encefálico após o período de exposição à solução fixadora. O encéfalo foi visto como um todo e depois seccionado, com análise da consistência de cada fatia, na parte periférica e na parte central. A presença de eventuais focos de autólise também foi valorada neste parâmetro. A análise estatística dos resultados dos escores obtidos neste parâmetro, em ambos os grupos, não demonstrou diferenças significativas, demonstrando que a abordagem

proposta promove, em até dez dias, uma fixação que permite a realização de um adequado exame macroscópico. A aceleração do processo de fixação é atribuída ao fato de que a secção do encéfalo ao meio, permite uma diminuição da espessura do encéfalo. Como a difusão da solução fixadora para o interior dos tecidos é inversamente proporcional a sua espessura, a redução desta acelera a difusão do fixador e, por conseguinte, a fixação (MICHALANY, 1998).

Ponto importante e gerador de polêmica na abordagem preconizada neste trabalho é a realização de secção no tecido encefálico a fresco. Tal conduta é apontada como fonte de uma série de dificuldades no exame macroscópico do encéfalo, todos relacionados com a consistência amolecida do tecido nervoso e a sua fragilidade. O corte do tecido encefálico nesta condição acarretaria graves distorções e lesão de estruturas encefálicas com prejuízo ao exame macroscópico (BURTON; UNDERWOOD, 2003; KATELARIS et al., 1994). Todavia, neste aspecto a abordagem proposta é inovadora, uma vez que preconiza o corte do encéfalo *in situ* (Figura X), enquanto este ainda se encontra fixado ao arcabouço ósseo, pelas meninges, vasos e nervos. Esta condição permite uma secção a fresco do encéfalo sem distorções e lesões ao tecido, não prejudicando o exame macroscópico, como demonstrado nos resultados deste trabalho.

A análise estatística dos escores obtidos no exame microscópico das preparações realizadas de fragmentos retirados dos encéfalos dos grupos controle e experimental não demonstrou diferenças significativas entre os grupos. Nessa avaliação o especialista não era conhecedor da técnica pela qual o encéfalo foi removido e fixado, de forma que aspectos subjetivos não influenciaram na sua análise.

O parâmetro utilizado na análise macroscópica foi a qualidade da lâmina, quanto ao potencial em permitir o diagnóstico. A análise foi subjetiva, baseada na experiência profissional do analisador. No momento em que o avaliador atribuía notas abaixo de dez às preparações, ele era indagado acerca do aspecto negativo encontrado na preparação. Em toda a análise foram apontados pelo analisador os seguintes aspectos negativos, isoladamente ou combinados: excesso de fraturas no tecido, excesso de

dobras no tecido, ausência nitidez nos núcleos da substância branca, ausência nitidez nos núcleos da substância cinzenta.

As preparações eram representativas do lobo frontal superficial (substância branca e cinzenta), putâmen, área periventricular e cúpula, todas do hemisfério cerebral direito. A análise estatística levou em consideração cada grupo específico de preparações e as preparações em seu conjunto. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre o grupo experimental e controle na análise dos grupos específicos de preparações e nem quando analisado todas as preparações em conjunto.

Assim, a qualidade do exame microscópico das preparações, de áreas superficiais, médias e profundas, provenientes de encéfalos submetidos à abordagem proposta neste trabalho não é prejudicada. Aspecto a ser salientado na análise microscópica é que os argumentos apresentados como negativos pelo avaliador, na análise das preparações, podem estar ligados a problemas relacionados com técnicas de laboratório, além do que, por si só, não inviabilizam a efetivação do diagnóstico.

A aceleração do processo de fixação já tinha sido alcançada por outras técnicas, em especial pela infusão intravascular da solução fixadora. Essa abordagem permite um exame macroscópico e microscópico em torno do primeiro ao quarto dia, produzindo preparações com melhor coloração (BEACH et al., 1987; SHARMA; GRIEVE, 2006). Adickes, Folkerth e Sims (1997), por sua vez, afirmam que a perfusão do encéfalo com solução fixadora, como alternativa para acelerar a fixação, é de fácil execução e permite o exame neuropatológico entre o terceiro e quarto dia, com preparações superiores em qualidade às obtidas pela técnica padrão. Todavia, para Miller (1998) tal abordagem apresenta limitações, na medida em que dificulta o diagnóstico por provocar artefatos, como retração dos espaços perivasculares e porque a sua realização não é simples.

Love (2004) em estudo no qual preconiza a realização de cortes do encéfalo a fresco com seleção de fatias para fixação por imersão, conseguiu examinar preparações de encéfalo com três dias após a remoção. Essa abordagem foi utilizada em cadáveres de pacientes portadores de doença neurodegenerativa, o que facilitou a seleção dos segmentos a serem examinados, uma vez que as alterações neuropatológicas nesses pacientes

têm sede conhecida. Tal condição não existe rotineiramente. Na grande parte dos exames neuropatológicos não se tem uma suspeita diagnóstica, como também nem todas as doenças tem repercussão topográfica peculiar e conhecida no tecido encefálico, o que não permitiria a coleta a fresco de áreas selecionadas previamente para exame. Todavia, um aspecto positivo da abordagem proposta por Love (2004) refere-se a devolução do órgão ao cadáver logo após a necropsia. Uma vez selecionadas as áreas para exame microscópico, o restante do órgão é devolvido a cavidade craniana e o cadáver liberado para a inumação sem retardo. Neste sentido, essa abordagem mostra-se superior à proposta neste trabalho, pois esta implica na necessidade de retenção do órgão por um período de 8 a 10 dias, o que dificulta a concessão do consentimento pelas famílias, pelo conseqüente atraso do funeral.

Assim, a abordagem aqui proposta foi efetiva em acelerar o processo de fixação do encéfalo, permitindo o seu exame entre o oitavo e décimo dia após o início da fixação. Essa abordagem não se apresenta como solução para os casos onde a família exige a devolução do órgão ao cadáver antes da inumação, pois requer a retenção do órgão por um período mínimo de oito dias, o que levaria a um retardo considerável do funeral. Por outro lado, a remoção e a fixação do encéfalo pela técnica proposta neste trabalho mostram-se vantajosas nas necropsias médico-legais, pois permite a conclusão do exame neuropatológico em até oito dias, permitindo a conclusão do laudo pericial dentro de prazo legal de 10 dias.

8. CONCLUSÕES

- A abordagem proposta para remoção do encéfalo possibilita uma aceleração do processo de fixação, sem prejuízo da qualidade do exame macroscópico do encéfalo.
- As preparações provenientes de encéfalos removidos e fixados pela técnica proposta têm qualidade semelhante as provenientes dos encéfalos removidos e fixados pela técnica padrão.
- A aceleração do processo de fixação obtida com a técnica proposta permite o exame neuropatológico até o décimo dia de fixação, permitindo a conclusão do laudo pericial, nas necropsias médico-legais, dentro do prazo legal de 10 dias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADICKES, E.D.; FOLKERTH, R.D.; SIMS, K.L. Use of Perfusion Fixation for Improved Neuropathologic Examination. **Archives Pathology & Laboratory Medicine**, v. 121. p. 1199-1206, nov. 1997.

BARRETT, C. et al. Heat-Accelerated Fixation and Rapid Dissection of the Difficulties of Organ Retention. **Pediatric and Developmental Pathology**, v. 7, p.595-600, 2004.

BEACH, T.G. et al. Perfusion-Fixation of the Human Brain for Immunohistochemistry: Comparison with Immersion-Fixation. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 19, p.183-192, 1987.

BENBOW, E.W. Medical student's views on necropsies. **Journal Clinical Pathology**, v. 43, p. 969-976, 1990.

BORDIGNON, K.C.; ARRUDA, W.O. CT Scan Findings in Mild Head Trauma: a series of 2.000 patients. **Arq. Neuro-Psiquiatr.**, v. 60, nº 2-A, p. 204-210, 2002.

BRASIL. Constituição federal, Código de processo penal, Código penal. Organizador Luiz Flávio Gomes. 4. ed. rev., atual. e ampl. São Paulo: RT, 2002.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Datasus: informações em saúde. Mortalidade Brasil.** Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obtuf.def>. Acesso em: 18 ago. 2006.

BURROWS, M.D.S. The Postmortem Examination: scientific necessity or folly? **JAMA**, v. 233, nº 5, p. 441-443, 1975.

BURTON, J.L.; UNDERWOOD, J.C.E. Necropsy practice after the “organ retention scandal”: requests, performance, and tissue retention. **Journal Clinical Pathology**, volume 56, p. 537-541, 2003.

CAMPBELL, D.T.; STANLEY, J.C. **Delineamentos experimentais e quase-experimentais de pesquisa**. São Paulo: EPU, 1979.

CAPEZ, F. **Curso de processo penal**. 8. ed., São Paulo: Saraiva, 2002.

CHANA, J. et al. Who ask permission for an autopsy? **Journal of the Royal College of Physicians of London**, v. 24, nº 3, p 185-8, 1990.

CROCE, D.; CROCE JÚNIOR, D. **Manual de Medicina Legal**. 5 ed. São Paulo: Saraiva, 2006.

FÁVERO, F. **Medicina legal**: introdução ao estudo da medicina legal, identidade, traumatologia. 12. ed., Belo Horizonte: Villa Rica, 1991.

FANEGO, H.O.V. **Autopsias médico-legales**. Buenos Aires-Argentina: Ediciones Depalma, 2000.

FRANÇA, G.V. **Medicina Legal**. 7. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

FROSCH. M.P.; ANTHONY, D.C.; GIROLAMI, U. DE. O sistema nervoso central. In: **Patologia: bases patológicas das doenças**. 7. ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. p. 1401 – 1513.

GOLDIM, J.R. **Pesquisa em Cadáveres**. Porto Alegre, 1998. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/bioetica/pesqcada.htm>>. Acesso em: 18 ago. 2006.

GOLDMAN, M.D.L et al. The value of the autopsy in three medical eras. **The New England Journal of Medicine**, v. 308, nº 17, p. 1000-1005, 1983.

GOMES, H. **Medicina legal**. 33. ed, Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 2003.

HÉRCULES, H.C. **Medicina legal – texto e atlas**. São Paulo: Atheneu, 2005.

ISTOMIN, A.A. The use of perfusion for brain fixation. **Arkhiv Patologii**, v. 56, nº 2, p. 78-79, 1994.

JONES, D.G.; GEAR, R.; GALVIN, K.A. Stored human tissue: an ethical perspective on the fate of anonymous, archival material. **Journal of Medical Ethics**, volume 29, p. 343-347, 2003.

JUNQUEIRA, L.C; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2004.

KALIMO, H. Forensic neuropathology: an important heading in legal medicine. **Forensic Science International**, v. 146, p. 71-72, 2004.

KATELARIS, A. et al. Brains at Necropsy: To Fix or Not To Fix? **Journal Clinical Pathology**, volume 47, p. 718-720, 1994.

KAUFMAN, S.R. Autopsy: a crucial component of human clinical investigation. **Archives Pathology & Laboratory Medicine**, v. 120, p. 767-770, 1996.

LOVE, S. Post mortem sampling of the brain and other tissues in neurodegenerative disease. **Histopathology**, v. 44, p. 309-317, 2004.

LUDWIG, J. Autopsies – past, present, and future. In: **Current methods of autopsy practice**. Rochester: W. B. Saunders Company, 1972. p. 307-313.

MICHALANY, J. **Técnica Histológica em Anatomia Patológica:** com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico. 3.ed, São Paulo: Lemos, 1998. p. 01-295.

_____. **Anatomia patológica – prática e propedêutica.** São Paulo: Lemos, 2005.

MILLER, D.C. Use of Perfusion Fixation for Improved Neuropathologic Examination (letters to the editor). **Archives Pathology & Laboratory Medicine**, v. 122, p. 949, 1998.

MORA, P.G. et al. Electrochemical Fixation Techniques. I. Electrochemical Fixation of Human Brain. **Archives of Medical Research**, México, v. 27, nº 1, p. 37-42, 1996.

PEARL, C. S. Traumatic neuropathology. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 18, nº 1, p. 39-65, 1998.

PITTELLA, J.E.H.; GUSMAO, S. N.S. A conformação do encéfalo é um fator importante na distribuição da lesão axonal difusa no acidente de trânsito fatal. **Arq. Neuro-Psiquiatr.**, São Paulo, v. 62, nº. 2b, 2004.

PORTNOI, V.A. Value of the autopsy. **JAMA**, v. 243, nº 11, p. 1132-1133, 1980.

SEGURA, M.E.A. et al. Comparação entre os diagnósticos clínicos e os achados de necropsia: análise retrospectiva de 680 pacientes. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 42, nº. 6, p. 461-467, 2006.

SHARMA, M; GRIEVE, J.H.K. Rapid fixation of brains: a viable alternative? **Journal Clinical Pathology**, v. 59, p. 393-395, 2006.

SIMPSON R.H.; BERSON, S.D. The postmortem diagnosis of diffuse cerebral injuries, with special reference to the importance of brain fixation, **S. Afr. Med. J.**, v. 71, p. 10-14, 1987.

SOUZA, J.M.; REIS, M.; SOUTO, A.A.D. Epidemiologia do Trauma. In. FREIRE, E. **Trauma: a doença dos séculos**. São Paulo: Atheneu, 2001.

TEDESCHI, M.D. **Neuropathology: methods and diagnosis**. Boston: Litte, Brown and Company, 1970.

VANRELL, J.P. **Manual de medicina legal – tanatologia**. Leme: Mizuno, 2007.

ANEXOS

Anexo A
Autorização do Comitê de Ética em Pesquisa


SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N.º 177/2006-CEP/CCS Recife, 27 de setembro de 2006.

Registro do SISNEP FR –104733
CAAE –0194.0.172.000-06
Registro CEP/CCS/UFPE Nº 187/06
Título: “ **Estudo experimental de nova abordagem para extração do encéfalo como alternativa para acelerar a sua fixação.**”

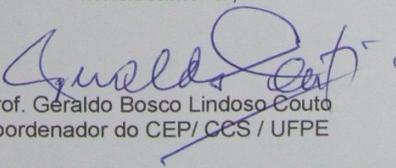
Pesquisador Responsável: Ronivaldo de Oliveira Barros

Senhor Pesquisador:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados em 26 de setembro de 2006.

Ressaltamos que o pesquisador responsável deverá apresentar relatório ao final da pesquisa (30/04/2007).

Atenciosamente,


Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto
Coordenador do CEP/CCS / UFPE

Ao
Mestrando Ronivaldo de Oliveira Barros
Mestrado em Patologia – CCS/UFPE

Av. Prof. Moraes Rego, s/n Cid. Universitária, 50670-901, Recife - PE, Tel/fax: 81 2126 8588. cepccs@ufpe.br

Anexo B
Termo de consentimento livre e esclarecido

Título da Pesquisa: **“ESTUDO EXPERIMENTAL DE NOVA ABORDAGEM PARA REMOÇÃO DO ENCÉFALO COMO ALTERNATIVA PARA ACELERAR A SUA FIXAÇÃO”.**

Nome do Pesquisador: Ronivaldo de Oliveira Barros

Nome da Orientadora: Paloma Lys de Medeiros

Esta pesquisa visa a estudar um método de preparo de fragmentos de tecido nervoso para exame no microscópio, o qual poderá acelerar a liberação dos resultados de exames deste tipo.

Ao permitir que esses fragmentos sejam utilizados, você autoriza que o pesquisador analise esse material e divulgue os resultados, porém essa divulgação será de maneira a evitar a identificação do falecido.

A coleta desse material não adiciona nenhum procedimento específico no cadáver nem lhe causará nenhum tipo de prejuízo estético, como também não promoverá atraso na entrega do cadáver à família.

A autorização para a pesquisa não implicará em nenhum tipo de despesa nem de restituição financeira para seus familiares.

CONSENTIMENTO

Tendo em vista as explicações aqui contidas, eu _____,
 _____ (parentesco com o falecido), residente

de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento para a inclusão na pesquisa do material coletado de:

_____.

 Emitente do Consentimento

 Pesquisador

 Testemunha

 Testemunha

TELEFONES

Pesquisador: (83) 9982-7181 e (83) 32466822

Nome e telefone do Comitê de Ética em Pesquisa: (81) 2126-8588