



UFRJ

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

ÁLVARO DE REZENDE TEIXEIRA

Métodos de plastinação como alternativa na produção de peças anatômicas e redução do uso do formaldeído em laboratórios de anatomia humana

Rio de Janeiro

2019



ÁLVARO DE REZENDE TEIXEIRA

Métodos de plastinação como alternativa na produção de peças anatômicas e redução do uso do formaldeído em laboratórios de anatomia humana

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Mestrado Profissional de Formação para a Pesquisa Biomédica do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Daniela Uziel

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Fabio Henriques dos Santos

Rio de Janeiro

2019

CIP - Catalogação na Publicação

T266m Teixeira, Álvaro de Rezende
 Métodos de Plastinação como alternativa na
 produção de peças anatômicas e redução do uso de
 formaldeído em laboratórios de anatomia humana /
 Álvaro de Rezende Teixeira. -- Rio de Janeiro, 2019.
 76 f.

 Orientadora: Daniela Uziel.
 Coorientador: Marcos Fabio dos Santos.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do
Rio de Janeiro, Instituto de Biofísica Carlos Chagas
Filho, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas, 2019.

 1. Plastinação. 2. Anatomia. 3. Anatomia
Transversal. 4. Epóxi. 5. Poliéster. I. Uziel,
Daniela, orient. II. dos Santos, Marcos Fabio,
coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

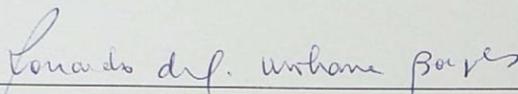
“MÉTODOS DE PLASTINAÇÃO COMO ALTERNATIVA NA PRODUÇÃO DE PEÇAS ANATÔMICAS E REDUÇÃO DO USO DO FORMALDEÍDO EM LABORATÓRIOS DE ANATOMIA HUMANA”

ÁLVARO DE REZENDE TEIXEIRA

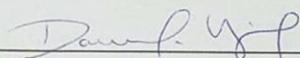
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO PROFISSIONAL DE FORMAÇÃO PARA A PESQUISA BIOMÉDICA
SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO VISANDO A OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRE EM FORMAÇÃO PARA A PESQUISA BIOMÉDICA.

APROVADA POR:

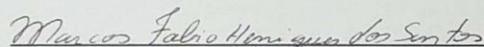
Rio de Janeiro, 12 de Julho de 2019.



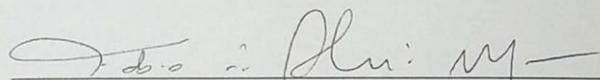
DR. RONALDO DA SILVA MOHANA BORGES (DOUTOR – UFRJ)
(COORDENADOR DO CURSO DE MESTRADO PROFISSIONAL DE FORMAÇÃO PARA PESQUISA BIOMÉDICA)



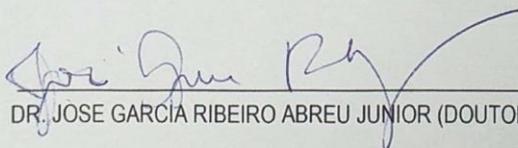
DRA. DANIELA UZIEL (DOUTOR – UFRJ) – ORIENTADORA



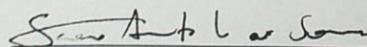
DR. MARCOS FABIO HENRIQUES DOS SANTOS (DOUTOR – UFRJ) – COORIENTADOR



DR. FABIO DE ALMEIDA MENDES (DOUTOR – UFRJ) – REVISOR



DR. JOSE GARCIA RIBEIRO ABREU JUNIOR (DOUTOR – UFRJ)



DR. SERGIO AUGUSTO LOPES DE SOUZA (DOUTOR – UFRJ)

DEDICATÓRIA

Aos mestres Augusto, Tomás, Joseph e
André e Jean.

AGRADECIMENTOS

Esta é uma seção sempre de difícil escrita, uma vez que por vezes a memória falha em nos lembrar aqueles que estiveram presentes direta e indiretamente com contribuições em nossas jornadas. Ainda sim, tento me adequar a esta tradição, por respeito e gratidão aos que de alguma forma permitiram que este trabalho fosse concluído.

Agradeço primeiramente à professora Dr^a Daniela Uziel, que me acolheu como aluno e forneceu as indicações e conselhos necessários para a realização deste trabalho. A professora sempre manteve o desejo de inovação e pioneirismo que é inerente à pesquisa científica, o que certamente contribuiu para a centelha inicial de ideia quanto à realização deste projeto na unidade de Plastinação. À ela a minha sincera gratidão por tudo.

Agradeço ao professor Dr. Marcos Santos que tornou-se também um orientador após sua chegada na Unidade de Plastinação. O prof. Marcos somou muito ao processo de orientação e dividiu ativamente os resultados e perspectivas deste trabalho.

Não poderia deixar de agradecer ao corpo técnico da Unidade de Plastinação: Almir, Genaro e Pether, que em muito colaboraram com sua experiência e prática em suas respectivas áreas. Também se faz necessário honrar a prof^a Susanne Queiroz, que iniciou os trabalhos na Unidade de Plastinação e que, embora não mais tão presente, continua a nos inspirar para que possamos produzir um trabalho digno de seu legado. Gostaria também de agradecer aos professores Athelson Bittencourt e Carlos Baptista, por suas preciosas dicas e conselhos para melhoramento da técnica e do presente trabalho.

Por último, mas não menos importantes, aos familiares e amigos que compreenderam o desgaste da jornada e que tomaram nossa ausência como sentida, mas não desistiram de nossas relações.

Aos mestres do passado, por tudo terem iniciado.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Preparações com corantes especiais para visualização de estruturas do encéfalo.....	6
FIGURA 2	Espécimes plastinados em exposição.....	8
FIGURA 3	Países onde a técnica de plastinação está presente com laboratórios capazes de executar a técnica.....	13
FIGURA 4	Mapa dos centros de plastinação e unidades em implantação da técnica no Brasil.....	14
FIGURA 5	Modelo de câmara plana.....	18
FIGURA 6	Encéfalos após retirada de cadáver.....	24
FIGURA 7	Lavagem e secagem dos cortes anatômicos.....	25
FIGURA 8	Empilhamento dos cortes anatômicos.....	26
FIGURA 9	Recipientes de fechamento hermético para desidratação através de acetona.....	27
FIGURA 10	Densímetro e proveta utilizados para medir a concentração de acetona....	27
FIGURA 11	Recipiente contendo os cortes anatômicos utilizados na técnica de P40....	28
FIGURA 12	Detalhes da câmara de impregnação.....	29
FIGURA 13	Câmara plana para P40.....	30
FIGURA 14	Detalhe da estante com luzes UV para cura das placas de P40.....	30
FIGURA 15	Estante UV durante cura.....	31
FIGURA 16	Cobrir a folha de acetato sobre a placa de vidro com resina epóxi E12. Retirada de bolhas por pressão com auxílio de espátula sobre folha de acetato.....	33
FIGURA 17	Montagem da técnica de E12.....	34
FIGURA 18	Primeiro teste com a resina de P40.....	35
FIGURA 19	Segundo teste com a resina de P40.....	36
FIGURA 20	Terceiro teste com a resina de P40.....	37

FIGURA 21	Quarto e quinto testes com a resina de P40.....	38
FIGURA 22	Últimos espécimes preparados em técnica de P40, em múltiplas comparações.....	39
FIGURA 23	Comparação da coloração e aspecto das substâncias cinzenta e branca em espécime de cortes coronais de encéfalo.....	41
FIGURA 24	Primeiro resultado da técnica de E12.....	42
FIGURA 25	Detalhes de um corte coronal de joelho direito na técnica de E12.....	44
FIGURA 26	Corte transversal de perna no terço proximal preparado pela técnica de E12.....	45
FIGURA 27	Corte sagital de pé na técnica de E12.....	46
FIGURA 28	Comparações usando espécimes preparados em E12.....	47

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Comparação de áreas das secções coronais antes e depois da técnica de P40.....	40
TABELA 2	Comparação de áreas de secções transversas antes e depois da técnica de E12.....	47

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	Comparação entre as principais características dos polímeros mais utilizados em unidades de plastinação.....	21
-----------------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

E12	Resina epóxi 12
EUA	Estados Unidos da América
ICB	Instituto de Ciências Biomédicas
NR15	Norma Reguladora 15
P40	Resina de poliéster 40
RM	Ressonância magnética
S10	Resina de silicone 10
TC	Tomografia Computadorizada
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo
UFF	Universidade Federal Fluminense
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
UP	Unidade de Plastinação
UV	Ultravioleta

RESUMO

TEIXEIRA, Álvaro de Rezende. Métodos de plastinação como alternativa na produção de peças anatômicas e redução do uso do formaldeído em laboratórios de anatomia humana. Rio de Janeiro, 2018. Dissertação (Mestrado Profissional de Formação para a Pesquisa Biomédica) – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Plastinação é um processo de preservação de espécimes anatômicos que consiste na troca de fluidos biológicos por resinas sintéticas. Permite preservar os espécimes por tempo indeterminado e reduzir o uso de fixadores químicos no preparo e conservação. Muitos fixadores químicos são considerados potenciais carcinogênicos ou mutagênicos, além de riscos como inflamabilidade ou irritação de mucosas. Assim, métodos alternativos de preservação são encorajados para a prática anatômica. Para o estudo da anatomia topográfica do corpo, cortes seccionais são de difícil utilização e manutenção com técnicas tradicionais, ainda que sejam considerados parte fundamental do ensino na medida em que métodos de imagem são parte do diagnóstico em medicina. O presente trabalho tem como objetivo implantar as técnicas de plastinação em poliéster e epóxi, P40 e E12 (Biodur®), respectivamente, na Unidade de Plastinação do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB), permitindo a preparação de cortes anatômicos para o ensino de anatomia seccional. O material foi selecionado no acervo do laboratório de anatomia do ICB. Foram produzidos cortes com espessura entre 2mm e 3mm em fatiador de frios para sistema nervoso e em serra linear vertical para regiões corporais, como membros e tronco. Os cortes foram então lavados em água corrente e em seguida desidratados em banhos de acetona 100% a -20°C. Após a desidratação, o material de sistema nervoso foi imerso em um recipiente com resina de poliéster P40; os cortes de outras regiões anatômicas foram colocados em recipiente contendo resina epóxi E12. Após esta etapa, procedeu-se o processo de cura, sob luz ultravioleta para P40 e temperatura ambiente seguida de estufa à 45°C para E12. Para a técnica utilizando poliéster (P40), após melhoramento da mesma, os cortes de encéfalo demonstram um claro contraste entre substância branca e cinzenta sendo considerados ideais para o ensino, uma vez que permitem fácil identificação das estruturas anatômicas. Os cortes impregnados em epóxi (E12) demonstraram transparência adequada e tornaram possível o estudo em detalhes das estruturas ósseas e ótima diferenciação das partes moles adjacentes. Dessa forma, o material biológico seccional está preservado contra danos, tendo ampla durabilidade, conforme descrito na literatura. Os cortes foram usados de forma piloto no curso de Enfermagem e os resultados preliminares sugerem que os mesmos representam uma excelente ferramenta de

ensino, além de permitir aos estudantes um contato inicial com o estudo da anatomia seccional tão usada em exames de diagnóstico por métodos de imagem médica.

Descritores: Anatomia, Plastinação, Anatomia Seccional, Neuroanatomia, Epóxi, Poliéster.

ABSTRACT

TEIXEIRA, Álvaro de Rezende. Métodos de plastinação como alternativa na produção de peças anatômicas e redução do uso do formaldeído em laboratórios de anatomia humana. Rio de Janeiro, 2018. Dissertação (Mestrado Profissional de Formação para a Pesquisa Biomédica) – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Plastination is a process of conservation of anatomical specimen consisting of exchanging biological fluids by synthetic resins. It allows to preserve specimens for an indefinite period of time and to reduce the use of chemical fixatives in its preparation and conservation. Since many chemical fixatives are considered harmful, alternative methods of preservation are encouraged for anatomical practice. For the study of the topographic anatomy of the body, sectional slices are difficult to manipulate and maintain with traditional techniques, although they are considered a fundamental part of the teaching insofar as imaging methods are part of the diagnosis in clinical medicine. The present work aims to introduce the techniques of P40 and E12 (Biodur®) in the Plastination Unit of the Institute of Biomedical Sciences (ICB), allowing the preparation of anatomical sections for the teaching of sectional anatomy. Cadaveric material was selected from the collection of the anatomy laboratory of the ICB. Brain slices were produced using electric slicer with thickness of 2mm to 3mm. Slices of other body parts were obtained using a vertical band saw with a 5mm thickness. After washing, slices were dehydrated in 100% acetone baths at -20 ° C. After dehydration, nervous system material was immersed in a P40 resin container whereas slices of other anatomical regions were placed in container with E12 epoxy resin and its catalyst. The impregnation of the material was performed at room temperature under vacuum to impregnate the specimens. Thereafter, slices with P40 were cured under ultraviolet light whereas E12 impregnated was cured at room temperature and then transferred to an incubator at 45°C for final curing. After improvement of the technique, P40 slices demonstrated a clear contrast between white and gray matter and are suitable for teaching since structures of the brain are clearly identifiable. E12 slices showed adequate transparency what turns detailed study of bone and soft structures possible. Slices biological material is thus preserved against damage, having undetermined durability. The material was preliminary used in anatomical classes for Nursing course and indicated to be an excellent teaching tool, as well as allowing students the initial contact with the study of sectional anatomy used in diagnostic exams.

Keywords: Anatomy, Plastination, Sectional Anatomy, Neuroanatomy, Epoxy, Polyester.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	2
1.1	Considerações iniciais.....	2
1.2	A conservação e a elaboração de peças anatômicas.....	2
1.3	Técnicas de fixação e conservação de espécimes de anatomia seccional.....	5
1.4	Anatomia seccional como ferramenta de ensino vinculada ao diagnóstico.....	6
1.5	Plastinação como alternativa na conservação de cadáveres.....	7
1.6	O estabelecimento de um laboratório de Plastinação.....	8
1.7	Plastinação no mundo.....	11
1.8	Plastinação no Brasil.....	13
1.9	Plastinação na Universidade Federal do Rio de Janeiro.....	15
1.10	A técnica de S10.....	16
1.11	Técnicas de plastinação laminar.....	17
1.11.1	Técnica de P40.....	18
1.11.2	Técnica de E12.....	19
2	JUSTIFICATIVA	22
3	OBJETIVOS	23
3.1	Objetivo geral.....	23
3.2	Objetivos específicos.....	23
4	MÉTODOS	24

4.1	Etapas da técnica de P40.....	24
4.2	Etapas da técnica de E12.....	31
5	RESULTADOS	35
5.1	Técnica de P40.....	35
5.2	Técnica de E12.....	42
6	DISCUSSÃO	48
6.1	Limitantes gerais das técnicas de plastinação.....	48
6.2	Limitantes da técnica de P40.....	49
6.3	Limitantes da técnica de 12.....	52
7	CONCLUSÃO	56
8	REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações iniciais

O ensino da anatomia sempre enfrentou muitos desafios nas universidades. O contato com cadáveres é dificultado na medida em que compostos químicos irritantes ainda são utilizados na preservação cadavérica, impedindo uma experiência mais rica. Assim, alternativas para melhorar as aulas práticas e teórico-expositivas são fundamentais para ampliar os recursos e as possibilidades de ensino. A Plastinação já provou ser uma técnica útil e muito utilizada no laboratório de anatomia da Universidade Federal do Rio de Janeiro e em diversas partes do mundo, seja para aulas práticas ou para exposição científica. Permite um contato mais salubre com o material cadavérico e reduz a necessidade de materiais conservantes e fixadores, estando alinhada com necessidades cada vez maiores de biossegurança para alunos, professores e técnicos. Existem diversas técnicas de plastinação. Assim sendo, ampliar o rol de preparações anatômicas permite agregar ainda mais qualidade e perspectivas em uma disciplina tão importante para a formação do profissional da saúde. Assim, a implantação de novas técnicas na Unidade de Plastinação (UP) do Instituto de Ciências Biomédicas traz inovação e propõe aumentar a experiência anatômica não só dos cursos de graduação em suas disciplinas, como também de visitantes do museu de anatomia e leigos em geral. As técnicas de plastinação laminar trazem um olhar tomográfico que não é desconhecido sobre a anatomia humana, mas negligenciado em grande parte dos estudos de graduação, muito em virtude das dificuldades inerentes ao preparo desse tipo de peça anatômica. Além disso, possibilitam a realização de estudos morfométricos mais apurados, devido ao mínimo grau de retração que proporcionam. Deste modo, estas técnicas podem unir avanços no ensino, pesquisa e extensão, tripé básico da missão universitária.

1.2 A conservação de peças anatômicas

As diversas técnicas de preservação de espécimes anatômicos têm mudado ao longo do avanço científico das sociedades e instituições de ensino em geral. Os processos que começaram com a utilização de soluções alcoólicas de arsênio e diferentes sais nas mais diversas concentrações e sofreram uma revolução com o advento das misturas e métodos de embalsamamento com formaldeído e fenol (NATHAN, 1971). Estes dois compostos,

provando uma sinergia jamais vista (pelo menos até metade do séc. XX) durante a história da preservação cadavérica, logo se espalharam como alternativas de baixo custo e extrema eficiência, promovendo avanços na preservação da estrutura macroscópica quando comparados aos seus antecessores químicos. Diferentes escolas de anatomia começaram a utilizar diferentes concentrações dos compostos, com o objetivo de diminuir os efeitos adversos dos mesmos (LORETI, 1972). Ao longo dos anos, constatou-se que as condições climáticas pouco interferiam no processo de embalsamamento ou conservação dos espécimes, se os cuidados para com os espécimes anatômicos fossem adequados. O sucesso destes compostos pode ser medido por sua permanência nos laboratórios de anatomia até os dias de hoje.

O formaldeído é bactericida, fungicida e um fixador excelente, mantendo o arcabouço estrutural dos tecidos em conformidade com a anatomia própria para o estudo macroscópico. Possui inconvenientes como: rigidez tecidual, descoloração ou alteração da cor do espécime, coagulação do sangue e oxidação, caso a solução não seja renovada. Além disso, é volátil, o que exige sempre a renovação das misturas e soluções de preservação do material cadavérico. Sua presença massiva nos laboratórios brasileiros se dá principalmente pelo baixíssimo custo do litro do fixador, que ainda será diluído numa solução de maior volume (RODRIGUEZ, 2010; OLIVEIRA e ZAIAT, 2005; FOX, 1985).

O fenol, por vezes encontrado sob a forma cristalizada, é extremamente útil como antifúngico, o que torna sua adição em baixas concentrações muito útil em países cujo clima é tropical, como o Brasil, onde a proliferação fúngica pode constituir obstáculo desagradável e por vezes sérios na preservação cadavérica. O controle de sua concentração é difícil de ser realizado quando posteriormente adicionado e, particularmente, quando usado em sua forma cristalizada (RODRIGUEZ, 2010). Há também o álcool, desidratante, usado para a conservação de espécimes. Estes três compostos, juntamente com a glicerina bidestilada, formam a maioria das misturas fixadoras de baixo custo que registramos no país (SILVA *et al.*, 2016). No Instituto de Ciências Biomédicas, da UFRJ, o formaldeído e o fenol são as substâncias químicas disponíveis para a conservação e preservação de cadáveres. Sua utilização por vezes não é controlada e sempre há a necessidade de reposição em virtude da perda de mistura preservadora pelos mais diversos procedimentos técnicos do laboratório.

A utilização destes fixadores tem sido questionada conforme as normas de biossegurança no Brasil são atualizadas (Norma Regulamentadora 15) e novas pesquisas na área confirmam os riscos dos fixadores químicos, em especial o formaldeído (EIROA *et al.*,

2006; OLIVEIRA e ZAIAT, 2005). Em diversos países do mundo a utilização de formaldeído na fixação de espécimes anatômicos tem sido drasticamente reduzida, quando não evitada (KLEIN *et al.*, 2014). Outras soluções, componentes e misturas têm tido preferência por pesquisadores, professores e técnicos. O formaldeído é considerado potencial carcinogênico e neurotóxico por comitês de biossegurança (BOSETTI *et al.*, 2008; DUHAYON *et al.*, 2008; BLAIR, STEWART e HOOVER, 1990), além de possuir efeito irritativo em mucosas, sendo este seu principal inconveniente imediato em laboratórios de anatomia (BACHAND *et al.*, 2010; DIXIT, 2008). Este problema, apesar de simples solução (neutralização de suas características levemente ácidas com sais básicos), é frequentemente registrado nos laboratórios de anatomia (SLEEK *et al.*, 2001; BURKEL *et al.*, 1999). O fenol também apresenta uma relação tóxica diretamente proporcional a sua concentração, podendo causar queimaduras graves, irritação de mucosas e intoxicação. Como é mais solúvel em álcool, misturas que não trazem álcool etílico na sua composição apresentam um risco potencial de dano maior que misturas em que o fenol se encontra melhor dissolvido.

Uma opção ao formaldeído é a glicerina. O uso de glicerina para conservação de peças anatômicas apresenta a vantagem de manter a mobilidade do aparelho locomotor, além de permitir a manutenção, pelo menos parcial, da coloração do espécime. Contudo, sua ação antisséptica é fraca e geralmente não é considerada um motivo plausível para sua escolha quando se deseja realizar uma preparação anatômica. Assim, o formaldeído, álcool, fenol e glicerina são os materiais mais utilizados durante o embalsamamento e conservação do espécime em recipientes adequados, mas mais diversas proporções (RODRIGUEZ, 2010). A necessidade de troca da mistura, seu descarte e reciclagem são tópicos pouco abordados no ambiente universitário, o que contribui para a necessidade de um olhar mais atento para as características pertinentes à biossegurança do local. Instituições ao redor do mundo já eliminaram o formaldeído em especial do processo de conservação, mantendo-o somente no processo inicial de fixação, o embalsamamento. Há ainda as que optam por não utilizar nenhuma substância em desacordo com as rígidas normas de biossegurança que permeiam o ambiente acadêmico ao qual pertencem, necessitando de alternativas pouco prejudiciais à saúde humana e meio ambiente (COLEMAN, 1995; PERKINS e KIMBROUGH, 1985). Há décadas pesquisadores tentam criar misturas que permitam profissionais e estudantes utilizarem peças anatômicas que apresentem textura e coloração mais próxima do aspecto encontrado “in vivo”. Deste modo, diversas técnicas de fixação com diferentes misturas são propostas, descritas em vários trabalhos científicos (LOMBARDERO *et al.*, 2017; JANCZYK

et al., 2011; COLEMAN e KOGAN, 1998; LORETI, 1972; NATHAN, 1970). Entretanto, o emprego de tais técnicas no Brasil tem se mostrado difícil especialmente pelo elevado custo de implementação.

1.3 Técnicas de fixação e conservação de espécimes de anatomia seccional

Apesar de diferenciados, os espécimes que constituem secções transversais, coronais e sagitais de cadáveres, não possuem fixação e preservação diferente da comumente utilizada em espécimes de maior tamanho e cadáveres inteiros, apesar de constituírem um material delicado (JIMENEZ, ARENE e CHAVEZ, 1998). No entanto, há sempre a possibilidade de, diante de um material menor, aplicar detalhamento e colorações diferentes, que evidenciem estruturas específicas em um corte determinado. Como exemplo, pode ser citado o estudo seccional e topográfico da neuroanatomia, com a utilização de corantes para evidenciar a substância cinzenta (Figura 1), por vezes imperceptível em fixações à base de formaldeído ou cujo processo de embalsamamento se mostrou deficiente (BAERES e MØLLER, 2002; TOMPSETT, 1956).

Observa-se que a manipulação frequente dos espécimes para fins didáticos leva a degradação e inutilização a médio prazo. Cortes anatômicos são produzidos em espessuras variadas e isso pode ser um aspecto determinante para sua durabilidade. Secções mais espessas (maiores que 15mm) são úteis somente para o ensino da topografia regional de determinados segmentos como membros superiores e inferiores. Em termos anatômicos, diversas estruturas não serão demonstradas em secções mais espessas pois estão contidas na própria substância do corte anatômico (GROSCURTH *et al*, 2001). Além disso, se o objetivo das mesmas é o ensino da anatomia seccional e correlação com o diagnóstico por imagem, cortes com espessura entre 1 e 3mm são ideais, pois permitem um estudo mais detalhado e próximo dos registros dos exames de tomografia computadorizada e ressonância nuclear magnética. Todavia, esses cortes até 10 vezes mais finos se degradam facilmente: a fáscia e o tecido conjuntivo se separam com facilidade, distorcendo as relações anatômicas e criando pequenos espaços virtuais que em nada remetem a anatomia real (PERUMAL, 2018). Assim, faz-se necessária a obtenção de cortes mais rígidos, menos deformáveis ou passíveis de danos, possibilitando sua manipulação para fins de ensino.

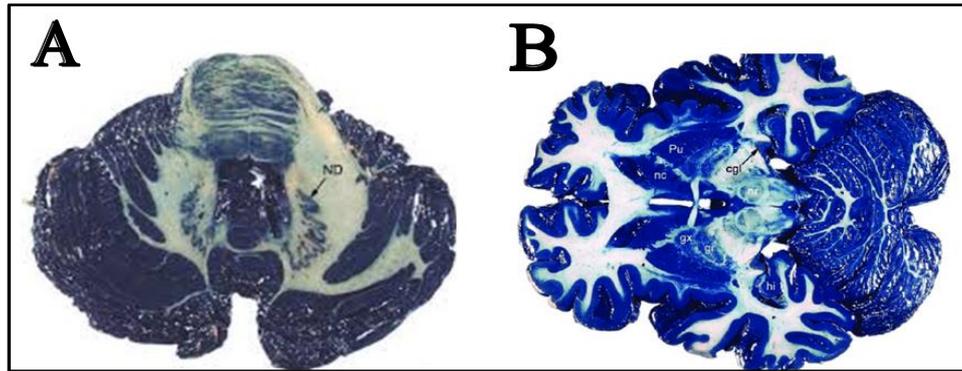


Figura 1: Preparações com corantes especiais para identificação e individualização de estruturas do encéfalo. **A)** Coloração de Mulligan aplicada ao cerebelo. **B)** Coloração de Mulligan em encéfalo. Adaptado de Baeres e Møller, 2002.

1.4 Anatomia seccional como ferramenta de ensino vinculada ao diagnóstico

Assim como o ensino macroscópico correlaciona-se diretamente à clínica médica e semiologia, a anatomia seccional está diretamente ligada ao diagnóstico por imagem (ESTAI e BUNT, 2016; JACK; BURBRIDGE, 2012). Com a intensificação do uso destas técnicas diagnósticas, é inevitável que as disciplinas de anatomia deixem de considerar a anatomia tomográfica e seccional como um módulo pequeno e restrito e forneçam mais enfoque nesta área do conhecimento (MILES, 2005). Muitas instituições de ensino já perceberam esta necessidade e, desde 2000, estudos são publicados para averiguar como alguns países têm efetuado esta mudança curricular nos cursos de ciências da saúde (CRAIG *et al.*, 2010; MITCHELL e WILLIAMS, 2002; HOLT, 2001). O Brasil, infelizmente, não dispõe de trabalhos semelhantes e ainda apresenta uma heterogeneidade nas ementas das disciplinas de anatomia. A dificuldade de implementação de módulos em anatomia seccional se dá principalmente pelo fato já discutido anteriormente, que é a elaboração de material adequado para estudo, além de outros fatores (menor carga horária da disciplina, se comparada com tempos passados, integração em módulos com outras disciplinas). Assim, nota-se um distanciamento entre a disciplina básica de anatomia e as disciplinas de diagnóstico por imagem (Radiologia), sendo responsabilidade majoritária do aluno integrar o conhecimento obtido com imagens bidimensionais dos métodos de diagnóstico (SEMPERE *et al.*, 2011). Heptonstall (2016) demonstrou que é mais fácil para o estudante aprender a interpretar um exame de imagem com o estudo da anatomia seccional previamente ao estudo da imagem radiológica. A importância desta correlação é demonstrada na medida em que, mesmo após as disciplinas de anatomia e diagnóstico por imagem, estudantes utilizam bancos de imagem de

anatomia seccional como meios de reforço e aprendizado adicional durante toda a graduação (PERUMAL, 2018). Além disso, os resultados de estudantes que têm acesso a estes recursos de ensino é melhor quando comparado com os resultados de estudantes que apenas dispuseram de atlas de anatomia ou não tiveram nenhum recurso (PHILLIPS, SMITH e STRAUS, 2013).

1.5 Plastinação como alternativa na conservação de cadáveres

A técnica de plastinação foi criada em 1978 em Heidelberg, Alemanha, pelo Dr. Gunther Von Hagens. Consiste na troca de fluidos biológicos por uma resina sintética, sendo a mais conhecida a resina de silicone (S10 Biodur®), responsável pelos espécimes presentes em muitas exposições de anatomia. Apesar de hoje encontrarmos diferentes tipos de resinas disponíveis, o processo utiliza o mesmo princípio para todas: o material fixado passa por uma série de banhos em acetona visando sua desidratação para posteriormente ser levado a uma câmara de vácuo para o processo conhecido como “impregnação forçada” (VON HAGENS, 1986; OOSTROM, 1987). Esta etapa representa o ponto mais importante da técnica e é caracterizada pela troca da acetona pela resina desejada, misturada ou não previamente a um catalisador ou outros estabilizadores químicos. Após este procedimento, o material agora impregnado de resina passa então por um processo de cura, que pode ser realizado com auxílio de um catalisador ou não. Assim, o material que antes se encontrava preservado imerso em uma solução fixadora ganha grande durabilidade por esta técnica, não dependendo mais de submersão em substâncias químicas para sua conservação. A peça ainda pode ser tratada esteticamente com corantes e produtos que possibilitem melhor identificação de estruturas e promovam a visualização de determinadas estruturas. Não obstante, espécimes plastinados são hoje o material ideal para grandes exposições científicas de ciências naturais e anatomia humana e comparada (Figura 2), bem como são encontrados em museus e acervos de laboratórios de anatomia (JONES, 2016; COHN, 2002; LOZANOFF, 2002). No museu do laboratório de anatomia da UFRJ não é diferente, com espécimes que podem ser vistos com uma simples visita ao local. Além deste uso, preparações em resina S10 de membros, segmentos corporais, neuroanatomia e esplancnologia são utilizadas em aulas práticas de anatomia, possibilitando aos alunos um ambiente mais seguro e salubre, além de proporcionar um contato mais ativo dos mesmos com o material anatômico. O único inconveniente da

técnica é a rigidez das preparações em virtude da cura da resina sintética, impossibilitando movimentos e manobras nos espécimes anatômicos (VON HAGENS, 1986). No entanto, preparações adicionais e sequenciais demonstrando outros planos de um mesmo segmento corpóreo utilizado nos estudos podem suprir esta necessidade. Além disso, a eliminação da necessidade de conservação cadavérica molhada aliada à praticidade imposta pelo uso de material plastinado colocou esta técnica na mais alta colocação das preferências discentes e docentes em relação ao método de ensino nas aulas práticas (FONSECA *et al.*, 2016).

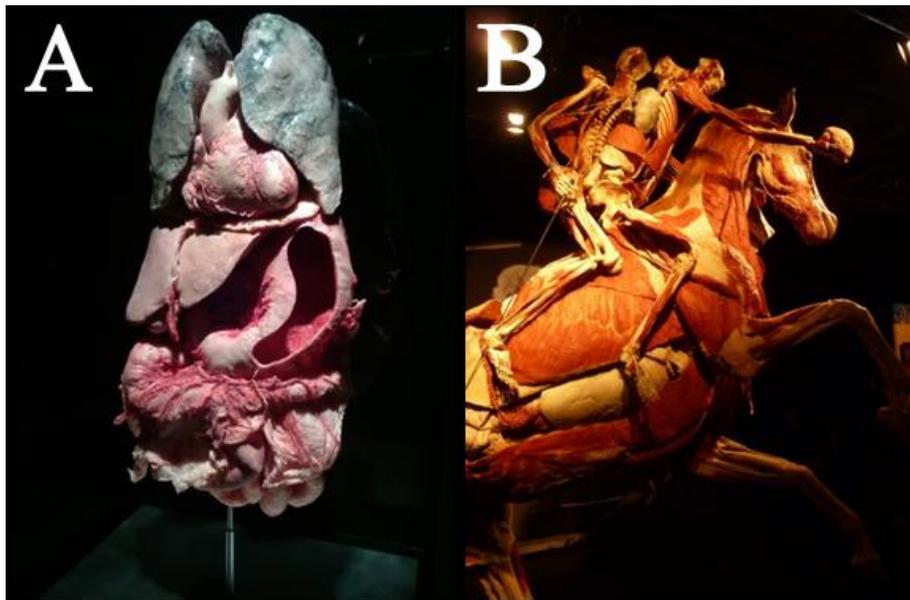


Figura 2: Espécimes plastinados em exposição. **A)** Vísceras plastinadas em resina sintética através do processo de plastinação. **B)** Espécimes plastinados através da técnica de S10. Disponível em: <https://bodyworlds.com>. Acesso em 15 de junho de 2017.

1.6 O estabelecimento de um laboratório de Plastinação

Antes de iniciar a técnica, faz-se necessário pontuar alguns dos requisitos básicos para iniciar os procedimentos, isto é, as necessidades básicas para converter salas que por ventura possam estar disponíveis em um laboratório completo de plastinação. Para a montagem desse tipo de laboratório, são necessárias adequações nas instalações e aquisições de equipamentos para realização dos dois processos essenciais da técnica de plastinação: a desidratação e a impregnação forçada. Assim, o laboratório deve idealmente dispor de, no mínimo, duas salas separadas para abrigar os dois processos (LISCHKA, 1987). Deste modo, uma sala será

disposta para as etapas de desidratação do espécime, onde é feita a manipulação de acetona. Na sala de impregnação será feita a manipulação da resina, para a realização do processo serão necessárias câmaras de impregnação. Assim, devemos considerar as necessidades particulares de cada um desses ambientes (PENTEA *et al.*, 2016; GUBBINS, 1990).

Para a sala onde ocorrerá a desidratação, o primeiro empecilho é o tamanho da mesma. Deve-se ter em mente que serão necessários alocar recipientes capazes de receber os espécimes que se deseja plastinar, além de acetona suficiente para que seu volume seja 10 vezes o do(s) espécime(s), no total. Portanto, os recipientes podem ocupar espaço considerável se o laboratório deseja trabalhar com a plastinação de espécimes grandes ou cadáveres inteiros. Além deste fator, a qualidade dos recipientes importa de sobremaneira: estes devem ser resistentes e não reagir com o desidratante, além de possuir uma vedação eficiente que impeça a evaporação. Portanto, o ideal é que sejam feitos de aço inoxidável ou polietileno de alta densidade, com vedação formada por perfis de borracha de silicone. Também é útil que os recipientes apresentem dreno adequado para eliminação da solução desidratante utilizada, que ao longo do tempo se tornará ineficaz para o processo devido a hidratação sucessiva e acumulação de debris (VON HAGENS, 1986).

Para a aferição adequada da concentração de acetona de cada banho de desidratação, são necessários acetonômetros calibrados e com termômetros acoplados, pois a densidade da acetona é alterada com a temperatura e os termômetros podem indicar se estamos utilizando os parâmetros corretos para medição. Os acetonômetros estão usualmente calibrados para uma temperatura de 20°C, fazendo com que a acetona necessite estar nesta temperatura no momento da aferição da concentração. A acetona possui densidade específica idêntica ao álcool, então densímetros utilizados para medir concentrações de álcool também podem ser utilizados no processo.

Pode-se realizar a etapa de desidratação em uma sala adequadamente refrigerada ou os recipientes para impregnação (hermeticamente fechados) podem estar contidos em uma câmara frigorífica ou freezer (SAWAD e AL-ASADI, 2014). Todavia, é de vital importância que freezers ou a sala que abriga os recipientes de desidratação não possuam circuitos elétricos ou que estes estejam isolados de contatos realizados a partir do ambiente interno da sala. Deste modo, a desidratação deve ser realizada em ambiente isolado, sem conter fontes potenciais de ignição. A desidratação deve preferencialmente ser realizada em uma sala anti-explosão preparada para este fim. Também é necessário manter saídas de ventilação através de exaustores, que podem ser programados para diferentes velocidades de vazão em função da

necessidade. Eles são especialmente úteis para manter os níveis de acetona sempre abaixo do nível mínimo de risco de explosão, que corresponde a 2.5% do volume de vapor contido numa área (SCHILL, 2018). Se comparada ao álcool, a acetona possui um intervalo de risco de explosão mais facilmente atingível pois possui maior pressão de vapor (246hPA contra 58hPA). Roupas constituídas de fibras sintéticas devem ser evitadas pelos operadores da técnica, visto que há probabilidade de ocorrer eletricidade estática na fricção desses materiais com outros. Se usados desengordurantes, é fundamental a utilização de capelas de exaustão, pois estes compostos emitem vapores muito prejudiciais à saúde (HOLLADAY *et al.*, 2001). As capelas não devem estar localizadas na sala de desidratação, a menos que seu mecanismo elétrico esteja completamente isolado.

Na sala de impregnação, o tamanho da mesma também deve ser considerado. O local adequado para câmara de impregnação variará conforme o tamanho do espécime a ser impregnado. A câmara deve ser constituída de aço inoxidável, com tampa transparente de vidro temperado ou policarbonato espessura superior a 1,5cm, para resistir ao vácuo que será gerado internamente (HENRY, 2005). A Biodur® dispõe de muitos modelos em seu catálogo, mas o pesquisador, possuindo recursos, pode elaborar uma câmara customizada para suas necessidades (Biodur Katalog, BIODUR®, Alemanha). Se desejado, a impregnação pode se dar em uma câmara frigorífica (o que necessitará de alterações especiais na infraestrutura) ou o recipiente de impregnação pode estar contido em um freezer, caso este disponha de volume suficiente. Se deste modo, faz-se necessário o isolamento de qualquer circuito elétrico da câmara ou freezer, visto que o espécime disposto para a impregnação ainda contém acetona, mesmo que em baixa concentração em relação à resina (DEJONG e HENRY, 2007, BAPTISTA *et al.*, 1992).

Para o controle da pressão um manômetro é necessário. Apesar dos manômetros analógicos serem os ideais, a utilização de manômetros digitais não limita de forma alguma a técnica. Válvulas de ajuste fino também podem ser acopladas à saídas na câmara de impregnação para realizarem um ajuste fino da pressão interna. Também é necessário um planejamento prévio para a localização da bomba de vácuo, que deve ser a óleo. A bomba deve ser proporcional à câmara de impregnação, assim, câmaras maiores necessitam de bombas mais potentes (HENRY, 2005). É útil manter algum espaço para manipulação da resina e de seus componentes catalisadores ou endurecedores, que podem ser dispostos na própria sala de impregnação. Além destes, a exaustão do ambiente é necessária, principalmente se a manipulação da resina se dá com frequência. Normas de biossegurança de

laboratório básicas, como evitar a utilização de equipamentos e aparelhos eletrônicos ou mesmo impedir a entrada dos mesmos no ambiente laboratorial, utilização de luvas de borracha butílica, aventais e máscaras faciais completas são parâmetros básicos para a funcionalidade adequada do usuário do laboratório. Normas específicas conforme portarias reguladoras, legislação estadual e municipal, bem como regras e orientações de organizações internacionais podem ajudar no estabelecimento de um ambiente seguro (Brasil, 1978; NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH, 1976).

Outros passos da técnica podem ser efetuados em outras salas ou seções do laboratório, não necessariamente ligados a Unidade de Plastinação, conforme citado anteriormente. A fixação possivelmente dependerá dos recursos do laboratório e do protocolo utilizado, bem como a preservação cadavérica. A dissecação dependerá majoritariamente da habilidade técnica dos responsáveis e do objetivo pretendido na preparação do espécime. Para a montagem do material, os equipamentos necessários variam conforme a técnica de plastinação, aspectos que serão detalhados nos próximos tópicos dessa dissertação. De qualquer modo, pelo menos para a técnica do S10, a montagem e cura devem ser realizadas em ambiente que possam contornar possíveis acidentes na manipulação do material com resina. É possível montar câmaras de cura para o processo do S10, feitas de plástico transparente, onde internamente será volatilizado com uma bomba de ar comprimido um composto que favorecerá a cura do material (VON HAGENS, 1986). Para as técnicas de plastinação laminar, é necessária uma estante para banhos em luz UV (para a técnica de P40) e uma estufa (para a técnica de E12) (HENRY e LATORRE, 2007; SORA e COOK, 2007). Todos esses equipamentos podem estar presentes na sala de impregnação, embora seja útil dispor de mais um cômodo para sequenciar adequadamente as etapas.

1.7 Plastinação no mundo

A técnica tornou-se conhecida somente a partir da década de 1980, embora sua criação tenha se dado anos antes (1978). Trabalhando no setor de anatomia e patologia da Universidade de Heidelberg, o Professor Von Hagens elaborou a técnica baseando-se no processo de impregnação de materiais biológicos para a elaboração de cortes histológicos. No entanto, percebeu a aplicabilidade de sua ideia inicial para a manutenção da estrutura macroscópica de órgãos e tecidos, principalmente a partir de polímeros plásticos. Assim, após

uma pequena série de testes (que ainda podem ser encontrados no centro de plastinação de Heidelberg), o Professor Von Hagens criou e patenteou a técnica (OTTONE, 2013). Promoveu conferências internacionais nos Estados Unidos em 1982 e 1984, a fim de promover a técnica. Criou posteriormente a *International Society for Plastination* durante a terceira conferência internacional (1986). Na década de 1990, fundou a empresa Biodur® e em 1995 criou a exposição *Body Worlds*. Esta exposição itinerante foi responsável direta pela difusão dos resultados e possibilidades de técnica e impressionou grandemente o público por onde passou, tendo sido frequentada por mais de 30 milhões de pessoas, ainda que tenha despertado algumas preocupações bioéticas (FONSECA e FINN, 2016). Hoje a exposição possui mostras fixas em capitais europeias (Londres, Berlim, Amsterdã) e estadunidenses. A própria universidade de Heidelberg possui o Instituto para Plastinação, que é responsável por financiar três centros de plastinação em países diferentes (Alemanha, Quirguistão e China).

A difusão da técnica logo atraiu a atenção de outras universidades de prestígio no cenário acadêmico mundial (Figura 3). Com mais pesquisadores se dedicando ao assunto, o processo foi amplamente explorado e modificações foram sugeridas e propostas, seguindo diferentes necessidades. A impregnação forçada da resina S10, a técnica mais utilizada, que foi originalmente desenvolvida para ocorrer à temperatura de -20°C, foi posteriormente testada em temperatura ambiente, adaptação que provou-se possível, produzindo resultados considerados satisfatórios (TIANZHONG e KEMING, 1998; GLOVER *et al.*, 1998). A técnica evoluiu e as possibilidades de aplicação também. Hoje, mais de 400 instituições em pelo menos 40 países utilizam a técnica em maior ou menor grau para a conservação de espécimes anatômicos, e a Biodur® ainda é a maior distribuidora e produtora de materiais envolvidos na técnica, apesar do mercado atual oferecer algumas alternativas.

universidade, bem como nos cursos de anatomia, a instituição não realiza mais a técnica, relegando à UFRJ o título de único centro de plastinação brasileiro até o início do século XXI.

Em 2013, houve uma importante mudança no panorama da técnica no Brasil com o estabelecimento de uma nova Unidade de Plastinação na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), através do Professor Athelson Bittencourt. Este pôde, através de seus esforços, oferecer workshops bianuais que visavam promover a técnica para diferentes profissionais de muitos centros acadêmicos no Brasil, bem como aumentar a divulgação científica da técnica através de exposições. Além disso, a UFES sediou em 2015 a 11ª Conferência Internacional Interina de Plastinação, evento ocorrido pela primeira vez na América Latina. Este evento foi importante para, a partir desta data, auxiliar representantes de centros universitários que antes somente dispunham das técnicas tradicionais de conservação de cadáveres a experimentar e aprender, em maior ou menor grau, as transformações que a técnica permite em termos de inovação e praticidade no ensino da anatomia. Embora não sejam considerados centros de plastinação no presente momento, por ainda não possuírem todas as instalações que caracterizam um laboratório de plastinação, muitas das instituições cujos participantes estiveram presentes neste evento hoje são locais que contam com a técnica sendo realizada com resultados satisfatórios para seus objetivos. Outros centros já possuem unidades de plastinação em implantação, como se observa na Figura 4.

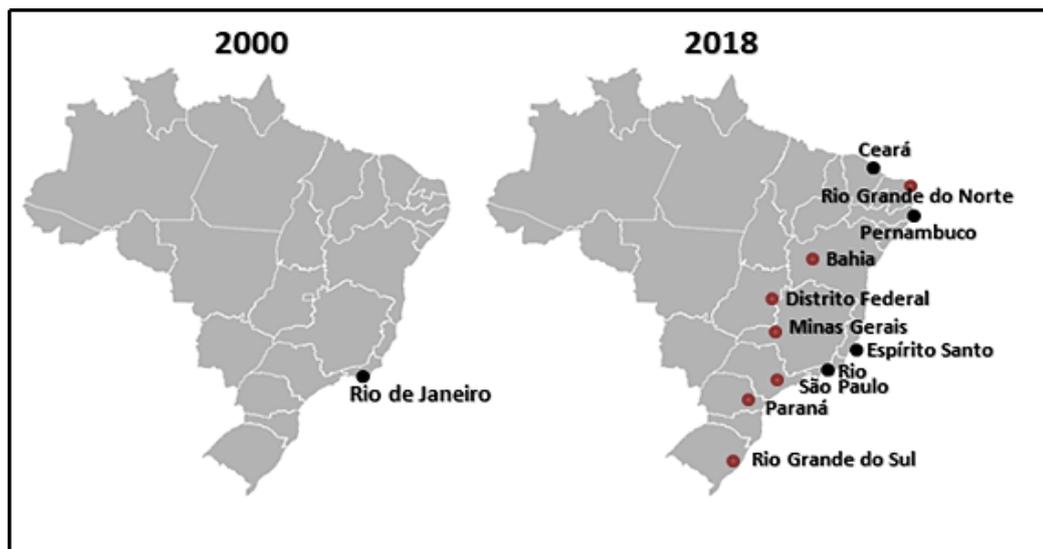


Figura 4: Mapa dos centros de plastinação e unidades em implantação da técnica no Brasil. Note a grande difusão das técnicas de plastinação entre os anos 2000 e 2018. Fonte: elaboração própria.

1.9 Plastinação na Universidade Federal do Rio de Janeiro

Conforme explorado anteriormente, a história da plastinação no Brasil está intrinsecamente ligada à história da plastinação na UFRJ. Após o curso ministrado pelo Professor Von Hagens, ainda na década de 1990, a Professora Queiroz recebeu equipamentos e material doado pelo mesmo, o que possibilitou um pioneirismo na técnica em território nacional. A Unidade de Plastinação foi criada e ampliada ao longo do tempo. As dificuldades futuras viriam conforme mais material e resina eram necessários para a produção de mais preparações. Ajustando detalhes técnicos, a Professora Susanne Queiroz e colaboradores foram capazes de reproduzir a técnica de S10 na UFRJ, o que possibilitou um avanço jamais visto no ensino em anatomia da instituição.

Ao longo do tempo, foram produzidas mais de 1000 preparações plastinadas, dentre as quais pelo menos 800 delas fazem parte do acervo do laboratório de anatomia humana do ICB da UFRJ. Estas preparações demonstram a habilidade e os conhecimentos anatômicos de seus dissecadores, permitindo que detalhes e estruturas de difícil preservação sejam mantidos e estudados adequadamente. Pode-se dizer que na Unidade de Plastinação da UFRJ, a técnica de S10 é perfeitamente executada, sem adaptações necessárias, sendo realizada tanto a temperatura ambiente quanto a frio. Além disso, testam-se também alternativas à resina S10, ampliando a busca por resinas nacionais que possam substituir a necessidade de implantação do material original da técnica e oferecer alternativas viáveis ao processo, com menor custo. Contudo, a unidade de plastinação da UFRJ ainda carecia das técnicas utilizadas para estudos anatômicos seccionais, conhecidas como técnicas de plastinação laminar.

O presente trabalho teve como objetivo implementar as técnicas de P40 e E12 e dar um novo passo no ensino da anatomia humana. Em 2017 o ICB criou o Museu de Anatomia da UFRJ, que proporciona ao público um contato mais intenso com o que é realizado no laboratório e uma experiência em ciência e tecnologia que faz parte dos pilares acadêmicos responsáveis por guiar os objetivos da universidade. O Museu conta com acervo majoritariamente composto pelas preparações plastinadas produzidas na Unidade de Plastinação da UFRJ e também outros espécimes preservados com outras técnicas, sendo visitado regularmente por turmas do ensino básico a partir de um projeto de extensão especialmente elaborado para este fim, denominado “Por dentro do Corpo”.

1.10 A técnica de S10

Comumente considerada sinônimo do termo “plastinação”, a impregnação por silicone S10 obedece às etapas iniciais de fixação, preparo, dissecação e desidratação em acetona como qualquer procedimento semelhante na técnica de plastinação. Após os banhos sucessivos em acetona, seguidos ou não de uma etapa adicional de imersão em desengordurante (diclorometano), o material segue para a fase de impregnação forçada, a qual poderá ser efetuada a temperatura ambiente ou baixa temperatura (-20°C). As composições da mistura de resina mudam conforme a temperatura escolhida: em baixa temperatura, a resina S10 estará misturada ao catalisador S3 e deve sempre permanecer na câmara de impregnação em ambiente resfriado. Caso a técnica de impregnação em temperatura ambiente seja utilizada, o S10 deverá estar misturado ao endurecedor S6. Assim, temos misturas diferentes para temperaturas diferentes de impregnação (GLOVER *et al.*, 1998).

O processo de impregnação em baixa temperatura oferece preparações anatômicas mais flexíveis e com menor encolhimento tecidual, mas apresenta tempo de impregnação maior que o de sua contraparte técnica. A diferença na escolha entre os dois métodos pode residir principalmente na capacidade de execução técnica do laboratório, mas é possível contar com resultados excelentes em ambos os processos.

Após a impregnação, é necessária atenção, cuidado e conhecimento anatômico para o processo de montagem, pois é nesta etapa que as características anatômicas e estruturas devem ser dispostas a fim de evidenciá-las após a cura da resina. Um operador treinado pode posicionar espécimes em ângulos e disposições que em muito ampliam as estruturas que serão demonstradas. Para isso, pode ser necessário que o material fique suspenso ou erguido no laboratório, com separações entre as estruturas. Além disso, a cura começa a partir do momento em que a impregnação forçada termina, portanto, durante a fase de montagem, a resina já está curando. Uma quantidade considerável de S10 drena do espécime preparado e deve ser retirado com o auxílio de papel toalha ou outro material semelhante. Esta etapa é trabalhosa, mas garante às preparações uma estética final muito melhor se comparadas a preparações onde este procedimento é ignorado.

A etapa de cura propriamente dita é caracterizada pela aspersão de catalisador ou endurecedor, a depender da temperatura de impregnação. Se em baixa temperatura, o endurecedor S6 deverá ser volatilizado no espécime já montado. Pode-se criar uma “câmara de cura”, que pode ser constituída de envoltórios plásticos ou cubas especialmente designadas para este fim. Se a impregnação foi processada em temperatura ambiente, o produto

volatilizado deverá ser o catalisador S3. Os produtos também podem ser aplicados diretamente sobre o espécime, desde que o excesso seja retirado junto com a resina, e este procedimento necessita ser efetuado em capela de exaustão. A cura e a montagem ocorrem então de forma simultânea, podendo ser necessário submeter a preparação períodos de exposição ao material volatilizado e reposicionamento adequado, enquanto o excesso de silicone drenado é removido manualmente (VON HAGENS, 1979).

Há ainda uma outra possibilidade, denominada “cura lenta”: não efetuar aspensão ou volatilização de nenhum componente (S3 ou S6) após a etapa de montagem. Isto tornará a cura da resina muito demorada, podendo durar meses em espécimes maiores (CHAYNES e MINGOTAUD, 2004; O’SULLIVAN e MITCHELL, 1995). Há algumas vantagens no método, como maior flexibilidade da preparação e a ausência de estrutura especial para a cura tradicional, mas o controle manual e contínuo da técnica é ampliado (HENRY, 2007). Com o endurecimento das camadas mais superficiais do espécime e não observando a drenagem de nenhuma quantidade adicional de resina, o mesmo estará pronto para ser utilizado em práticas de anatomia.

1.11 Técnicas de plastinação laminar

A plastinação laminar vem responder a uma necessidade urgente de métodos de estudo e preservação de cortes tomográficos que possam correlacionar-se diretamente com os métodos de diagnóstico de imagem (ULFIG e WUTTKE, 1990; VON HAGENS *et al.*, 1987). Também surgiu após o silicone S10 apresentar cortes tomográficos com grande retração e distorção das medidas orgânicas. Assim, Von Hagens (1994) desenvolveu inicialmente dois polímeros que poderiam ser utilizados na confecção de cortes tomográficos para o estudo seccional, as resinas P40 e E12. Menos viscosas que seu semelhante S10, as resinas apresentavam uma penetração superior e mais rápida nos espécimes, possibilitando a manutenção da arquitetura tecidual típica (BAPTISTA *et al.*, 1990). As preparações com essas duas resinas mostravam ainda menor retração tecidual quando comparadas ao S10 e algum grau de manutenção e contraste desejáveis ao estudo anatômico (BERNAL-MAÑAS *et al.*, 2016; LATORRE *et al.*, 2004). Suas durabilidade e praticidade, aliadas a um grande volume de material produzido a partir de uma única região anatômica tornaram estas resinas um avanço considerável nas

técnicas de plastinação, feito que é exemplificado pela ausência de resinas com capacidades semelhantes no mercado (OTTONE, 2016).

Para a confecção de placas de P40 ou E12, a técnica desenvolvida por Von Hagens consiste das etapas básicas de desidratação e impregnação, respeitadas as individualidades características das resinas (as quais trataremos nas próximas seções), unidas de uma montagem específica para a cura das mesmas. Conquanto seus processos de cura fossem diferentes, as resinas eram montadas numa estrutura que consistia em duas placas de vidro seladas com perfis de silicone, de modo a formarem o que ele chamou à época de câmaras planas (do inglês *flat chamber*) (Figura 5). As câmaras planas organizam e mantêm os cortes alinhados e posicionados para a cura, estas específicas de cada polímero. Esta técnica sofreu modificações conforme o laboratório que a aplicava (LATORRE et al., 2004, 2002), e em nossa unidade também dispomos de mecanismos próprios, relatados em Métodos.

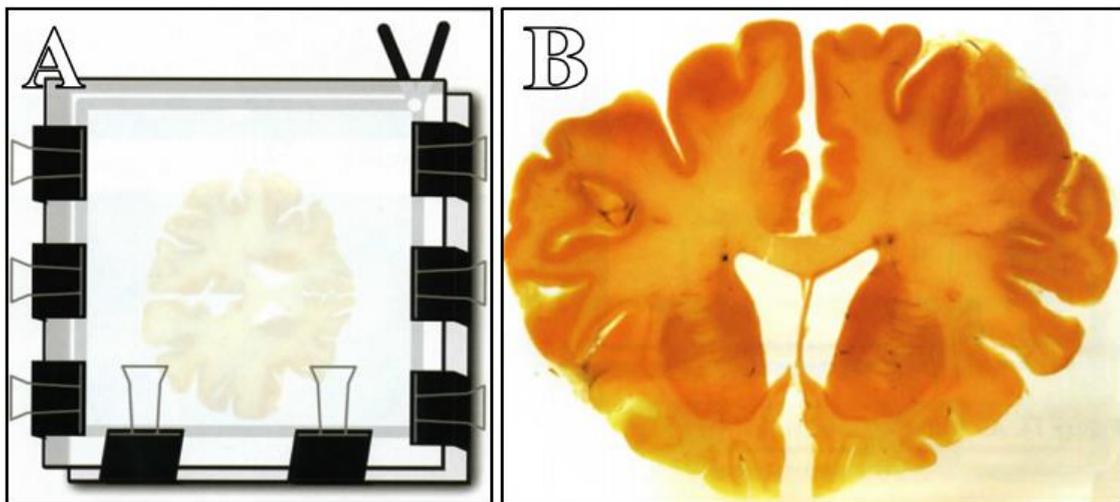


Figura 5: Modelo de câmara plana. **A)** A câmara é selada por grampos e perfis de silicone, estes últimos de acordo com a espessura necessária determinada pelo corte anatômico. **B)** Corte de cérebro plastinado em P40. Adaptado de Henry e Latorre, 2007.

1.11.1 Técnica de P40

Esta técnica tem sua utilização majoritária na confecção de cortes tomográficos de sistema nervoso, em especial preparações de sistema nervoso central. Conforme descrito anteriormente, fixações com formaldeído costumemente levam a perda do contraste entre a substância branca e a substância cinzenta, tornando a maioria dos encéfalos úteis para estudo

macroscópico de giros, sulcos e estruturas vasculares de grande calibre. Núcleos da base e formações de substância cinzenta, bem como diversos tratos e estruturas nobres mais profundas na organização cerebral são praticamente ocultadas do estudo em um laboratório, a menos que técnicas de coloração especiais sejam utilizadas. A resina de poliéster P40 apresenta a incrível capacidade de evidenciar esse contraste entre a substância branca e cinzenta (HENRY e WEIGLEIN, 1999; SORA *et al.* 1999). Portanto, pode ser utilizada para impregnação de cortes anatômicos, principalmente de estruturas cerebrais e medulares, beneficiadas por esta característica do P40. Após banhos de desidratação, os cortes são impregnados em um prazo equivalente a 24h, podendo ser ampliado ou diminuído caso o operador da técnica note que a impregnação ocorre de modo satisfatório. Isto se dá porque a resina P40 não é misturada a nenhum catalisador, podendo ser unida a seu ativador (A4) caso o executante da técnica julgue necessário. Sua cura ocorre por luz ultravioleta, logo o processo de impregnação deve ser realizado sem exposição a luz branca. Quando finalizado, o material é montado adequadamente em câmaras planas para curar sob luzes ultravioleta. A cura também é verificada rapidamente e após a mesma as placas estão disponíveis para uso, imortalizando a anatomia desejada.

1.11.2 Técnica de E12

A técnica de E12 foi patenteada em 1982 nos EUA (BICKLEY e TOWNSEND, 1984), todavia é uma das técnicas menos utilizadas pela maioria dos laboratórios. É considerado o mais complicado e nobre dentre os três polímeros mais utilizados (THORPE-LOWIS *et al.*, 2016; SORA e COOK, 2007). É também o polímero que apresenta maior número de aplicações: cortes ultrafinos podem ser utilizados para microscopia e demonstrações de morfometria avançadas, além do uso clássico na macroscopia seccional (SORA e COOK, 2007). Como o nome da resina sugere e, seguindo os princípios da plastinação, a técnica de E12 consiste em substituir os fluidos por uma resina epóxi. Começa com o preparo de cortes de espessura variada, sendo condicionados ao objetivo final a ser demonstrado. Segue-se a desidratação, normalmente efetuada a -20°C para evitar ao máximo a retração tecidual proveniente do processo. A impregnação é rápida, durando menos de 12h, podendo ter sua duração ampliada pela adição de um composto denominado AE10 ou *elongator*. A cura é realizada em temperatura ambiente. O E12 pode ser montado para cura de modo semelhante

ao P40, mas para isso exige que um composto chamado de AE30 ou *glass separator*, cuja função é evitar que a resina permaneça unida às placas de vidro. Outro modo possível de evitar este inconveniente é utilizar folhas de acetato, método que descreveremos melhor em Métodos. Por fim, a cura pode ser finalizada em uma estufa. Os cortes são finos, translúcidos, anatomicamente precisos, atóxicos, inodoros e de durabilidade indeterminada. No entanto, os cortes apresentam uma tendência a gradualmente atingirem um tom mais amarelado, acontecimento verificado após exposição prolongada ao oxigênio (COOK e AL-ALI, 1997). Ainda que isto possa parecer desvantajoso, um armazenamento adequado com envoltórios ou em recipientes hermeticamente fechados podem prevenir este acontecimento. Ainda, os cortes em E12 sofrem retração tecidual mínima mesmo após a retirada total da acetona e com a impregnação totalmente completa, permitindo análises precisas em morfologia (OTTONE *et al.*, 2018). De fato, os cortes ultrafinos (entre 0,2 e 1mm) são utilizados para reconstrução e remodelamento 3D, bem como estudos avançados de anatomia humana e comparada. Além disso, a cura simplificada da resina E12, associada a duração pequena do processo de impregnação fazem do E12 uma técnica rápida para aqueles que dispõem de tempo para dominar sua prática. O Quadro 1 sintetiza as principais características relativas às resinas utilizadas na Unidade de Plastinação, comparando seus diferentes usos:

Quadro 1. Comparação entre as principais características dos polímeros mais utilizados em unidades de plastinação.

	Silicone 10	Poliéster 40	Epóxi 12
Impregnação	Demorada – pode durar semanas a meses	Aproximadamente 24h	6h a 10h – pode durar mais se adicionado o <i>elongator</i>
Cura	Usualmente dura semanas	Menos de 24h	1 semana
Cortes tomográficos	Pouco útil, cortes muito espessos. Quebram ou soltam partes facilmente.	Cortes de espessura entre 3mm e 5mm Ótimo para sistema nervoso	Cortes de variadas espessuras Menor grau de retração possível
Coloração	Dependente de fixação prévia	Evidencia contraste entre substância branca e cinzenta do sistema nervoso	Aumenta transparência das estruturas pouco densas, musculatura em tons mais alaranjados

2 JUSTIFICATIVA

A Unidade de Plastinação do laboratório de anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas ainda não dispõe de técnicas de plastinação laminar (técnica de P40 e técnica de E12), que possibilitam a conservação de espécies anatômicas tomográficas e a melhora da qualidade no ensino da anatomia seccional.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Implantar na Unidade de Plastinação do Laboratório de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro técnicas de plastinação laminar em cortes oriundos de espécimes cadavéricos para ensino, pesquisa e extensão.

3.2 Objetivos específicos

Implantar as técnicas de P40 e E12 para a confecção de material de anatomia seccional, para possibilitar estudos em anatomia por imagem e métodos diagnósticos, ampliando os horizontes de estudo dos cursos de graduação e pós-graduação que necessitem deste aprofundamento científico.

Comparar diferentes misturas de impregnação e materiais utilizados na etapa de cura na técnica de plastinação em E12, visando adaptar a mesma aos recursos disponíveis na Unidade de Plastinação.

Avaliar o contraste entre substância branca e substância cinzenta em espécimes de neuroanatomia com e sem a utilização do ativador A4.

Comparar os percentuais de encolhimento obtidos nos espécimes preparados com a técnica na unidade de plastinação com os resultados da literatura especializada.

4 MÉTODOS

4.1 Técnica de P40

Para o desenvolvimento da técnica foram retirados dois encéfalos completos de cadáveres previamente embalsamados com solução de formalina a 10% e conservados em cubas com mistura de formalina a 10% e fenol 3%. A técnica utilizada para o procedimento consistiu na separação da calvária do crânio com serra manual, ligando a glabella ao ínio. Posteriormente foi realizada a retirada do encéfalo da cavidade craniana e descolamento da dura-máter do periósteo endocranial. Os espécimes anatômicos fazem parte do acervo do laboratório de anatomia humana do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). A utilização de material cadavérico no presente trabalho está de acordo com as normas e termos da Declaração de Helsinque (World Medical Association, 2001).

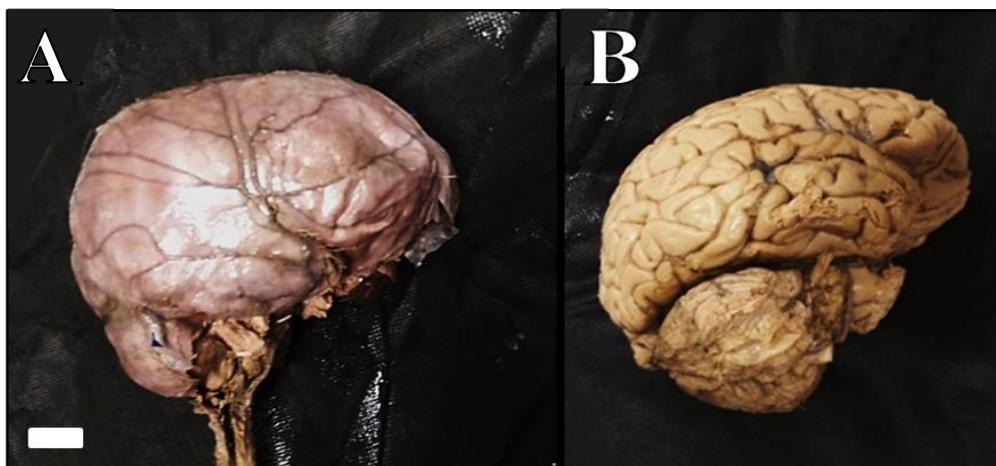


Figura 6: Encéfalos após retirada de cadáver. **A)** Encéfalo em vista lateral, envolto pela dura-máter. **B)** Encéfalo, vista lateral, após a remoção da dura-máter e aracnoide. Barra de escala: 2cm.

No passo seguinte foi realizada cuidadosamente a remoção da dura-máter de todo o encéfalo através de técnicas de dissecação de modo que nenhum dano fosse causado ao órgão (Figura 6). Os encéfalos foram congelados a -20°C e, com uma máquina fatiadora de frios (CFIE 275, Metvisa®, Brasil), produzindo cortes coronais de 3mm de espessura para o primeiro encéfalo e 2,5mm para o segundo. Os cortes coronais foram temporariamente

acondicionados em um recipiente de polipropileno contendo solução de formalina a 5% e armazenados à temperatura ambiente por 2 meses. Os cortes de encéfalo foram lavados em água corrente por 1 dia para remoção do excesso de solução fixadora (Figura 7-A) e, após alguns minutos à temperatura ambiente para secagem (Figura 7-B), submetidos ao início da bateria de desidratação. Para isto, os cortes foram dispostos um sobre o outro, separados por grades de plástico (HD14A50.0, BIODUR®, Alemanha).

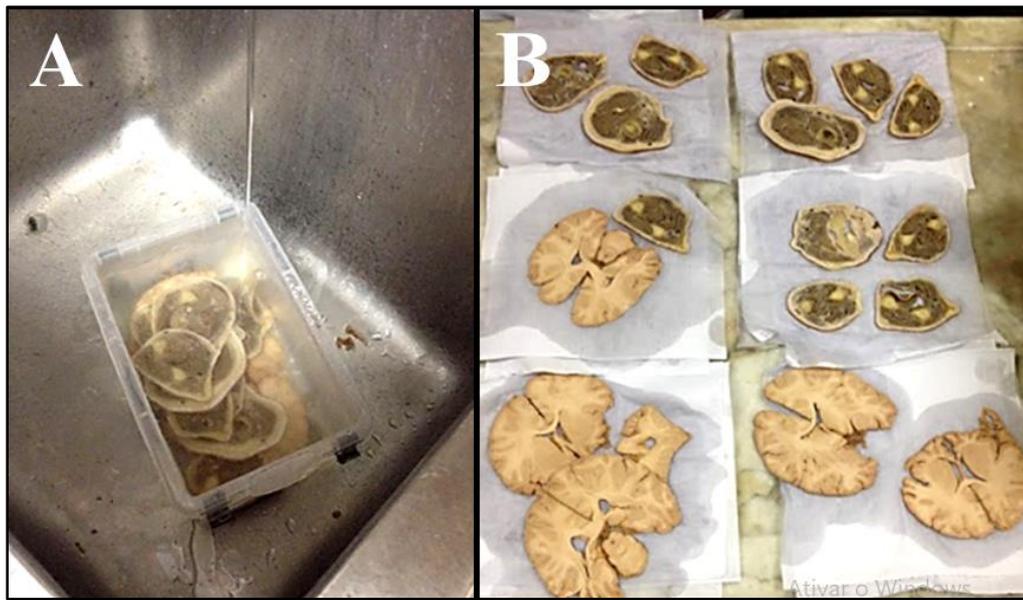


Figura 7: A) Lavagem dos cortes. B) Secagem dos cortes anatômicos.

Entre os cortes e as grades de plástico foram colocadas folhas de papel absorvente para evitar que o plástico marcasse ambas as superfícies dos cortes coronais (Figura 8A-C). Este arranjo de cortes anatômicos foi levado ao primeiro dos banhos de desidratação.

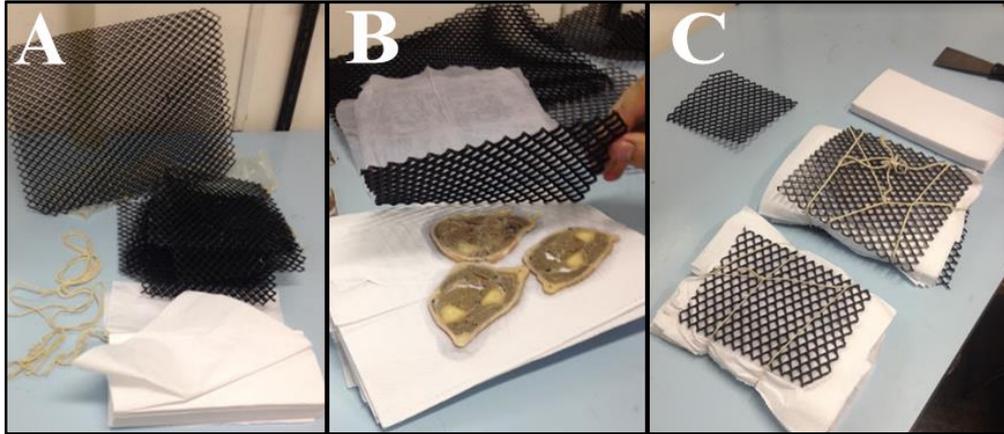


Figura 8: Empilhamento dos cortes anatômicos. **A)** Materiais utilizados no empilhamento dos cortes anatômicos. **B)** Demonstração da disposição dos cortes anatômicos no processo. **C)** Arranjo pronto para próxima etapa.

A desidratação foi realizada com banhos sucessivos em tonéis com capacidade para 30L (Figura 9) contendo acetona pura (100%), na câmara fria da unidade de plastinação do laboratório de anatomia do ICB, com temperatura fixa de -20°C . Os banhos de acetona tiveram a duração média de 3 dias para cada, sendo que nesta etapa de desidratação foram utilizados 3 banhos para cada bateria de processamento de cortes anatômicos. Este processo ocorre a frio devido ao menor encolhimento tecidual pela desidratação em ambientes com temperatura reduzida, permitindo maior preservação da morfologia de órgãos do sistema nervoso central.

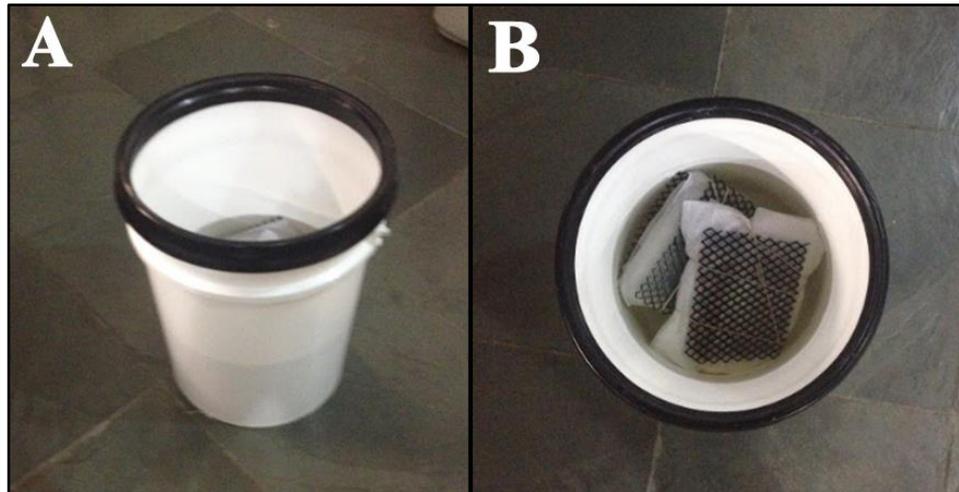


Figura 9: A) Recipientes de fechamento hermético para desidratação através de acetona. B) Cortes anatômicos preparados para o primeiro banho de desidratação.

No primeiro deles é onde ocorre a maior parte da desidratação do tecido nervoso e, com o auxílio de um densímetro de escala de Gay-Lussac (Incoterm®, Brasil), é possível observar o decaimento da concentração de acetona. O densímetro deve ser utilizado em temperatura ambiente, para a qual é calibrado, e todos os banhos de desidratação têm seu percentual de acetona final aferidos (Figura 10). Os cortes podem ser considerados desidratados quando no último banho a concentração de acetona indicada pelo densímetro é de pelo menos 98.5%. Para os espécimes separados no presente trabalho, foi possível um resultado de 99% no último banho de acetona.

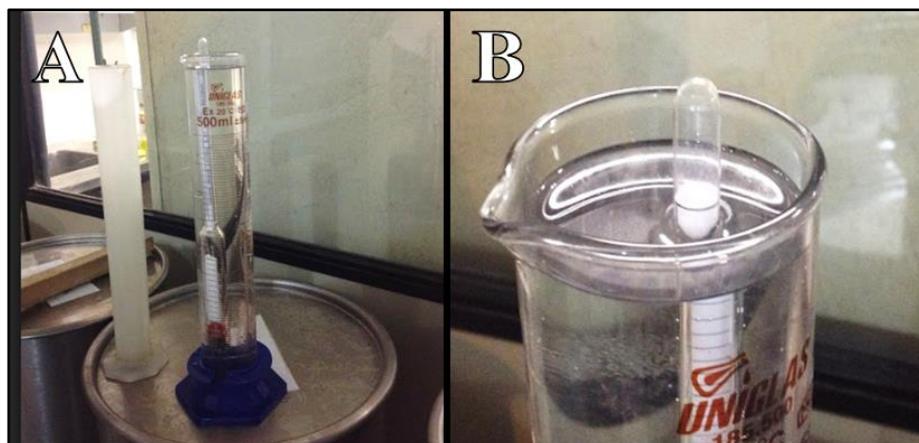


Figura 10: A) Densímetro e proveta utilizados para medir a concentração de acetona. B) Último banho de desidratação demonstrando 99% de concentração de acetona.

Após este processo, os cortes foram levados a um recipiente contendo resina de poliéster P40 (KPC01A5.0, BIODUR®, Alemanha) em quantidade suficiente para cobrir o material em pelo menos 2cm de altura (Figura 11), e deixados por 1 dia. Isto se dá para favorecer a interação da resina com a acetona (seu solvente) presente nos cortes coronais, facilitando assim a troca da acetona com a resina durante a fase de impregnação.

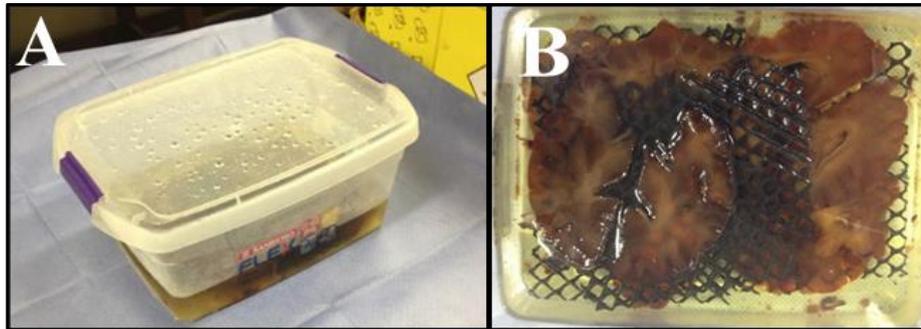


Figura 11: A) Recipiente contendo os cortes anatômicos utilizados na técnica de P40. B) Cortes anatômicos de encéfalo imersos em resina P40 para técnica de plastinação.

Procedeu-se então à impregnação forçada com auxílio de uma câmara de vácuo. Esta é confeccionada em aço inoxidável, cilíndrica, tendo capacidade de 100L e 4 aberturas para conexões possíveis (Código HI03A1.0, BIODUR™, Alemanha). A câmara fica acoplada à uma bomba de vácuo (modelo KB0010E, Busch do Brasil®, Brasil) e à um manômetro analógico (KI1.0, Biodur®, Alemanha), o que nos permite controlar a pressão interna da câmara (Figura 12). Também há uma saída de ar controlada por uma válvula extra para que se possa realizar o ajuste exato da pressão interna, que é impreciso quando se utiliza somente a válvula da bomba de vácuo. Nesta câmara foi colocado o recipiente contendo os cortes imersos na resina de poliéster P40 (Figura 12) para que o vácuo promova a impregnação do espécime anatômico com a resina. Após a redução da pressão interna para 100mbar, monitorou-se o decaimento da mesma e realizou-se o controle para que a pressão caia 20mbar por hora, respeitando a formação das bolhas de acetona, que devem ser pequenas e formar aglomerados na superfície da resina (Figura 12-C). Para esta técnica é preciso salientar que a bomba de vácuo nunca deve diminuir a pressão interna para menos que 15mbar.

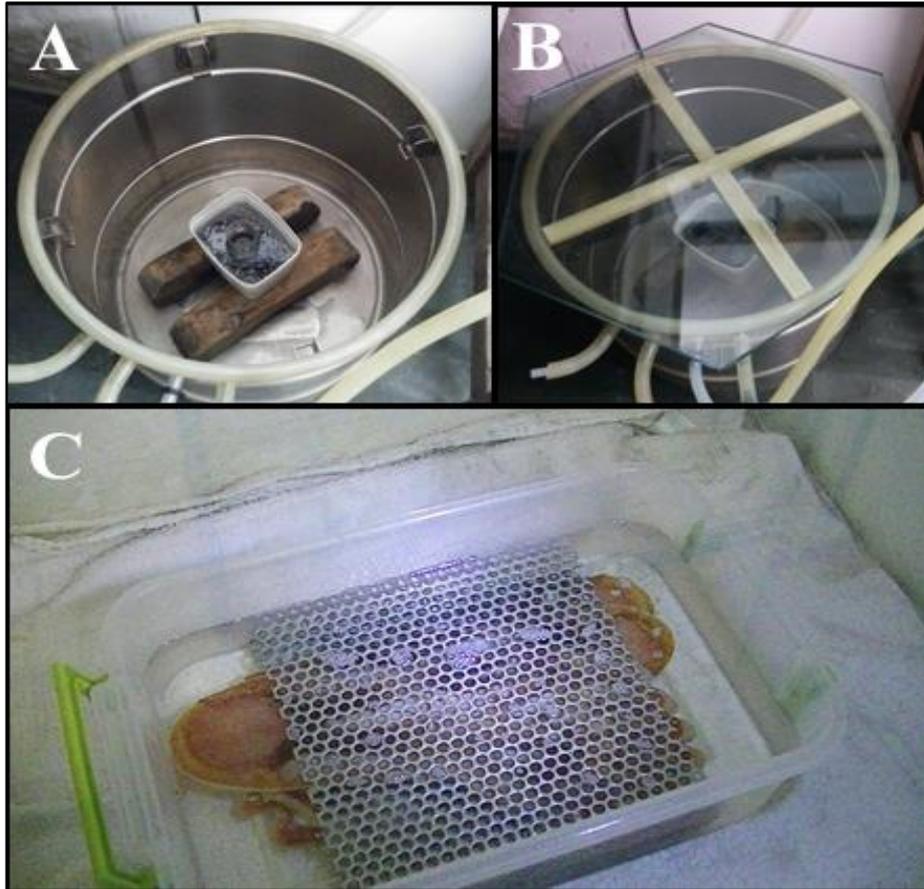


Figura 12: Detalhes da câmara de impregnação. **A)** Câmara de impregnação da UP com material prestes a iniciar etapa de impregnação forçada. **B)** Impregnação forçada em curso. **C)** Recipiente com resina de poliéster P40 dentro de uma câmara de impregnação.

Finalizada a etapa de impregnação, procedemos a montagem das câmaras planas (Figura 13). Os cortes foram dispostos em uma placa retangular de vidro de 3mm de espessura, na qual foram colados com cola de silicone para vedação (Cascola®, Brasil) perfis de borracha compressíveis (MJV Silicones®, Brasil) a uma distância de 2cm da borda da placa de vidro. Os vértices do retângulo formados pelos perfis de vedação foram fechados com massa epóxi (Loctite®, Brasil) para vedação completa da estrutura. Despejou-se então a resina de poliéster P40 de modo que a mesma ficasse contida pela vedação de silicone e cobrisse totalmente os cortes de encéfalo. Com auxílio de uma seringa de 30mL, foram retiradas as bolhas que poderiam ficar aprisionadas entre as cortes e a resina. Fechou-se a estrutura com a segunda placa de vidro superiormente e as duas placas foram unidas por grampos de 51mm (BC0051, Kit®, Brasil) colocados em suas bordas, fornecendo a pressão adequada contra os perfis de silicone. Por fim, novamente com o auxílio da seringa de 30mL,

introduzimos a agulha entre o perfil de borracha e a placa de vidro superior para drenar qualquer quantidade de ar que pudesse ter sido aprisionada na estrutura durante o procedimento ou injetar mais resina de poliéster se necessário.

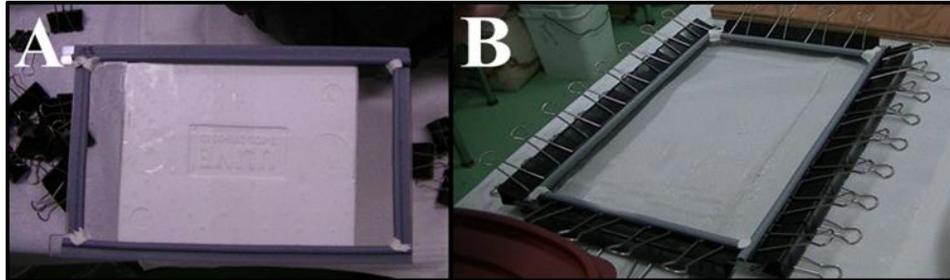


Figura 13: Câmara plana para P40. **A)** Placa de vidro inferior com vedação por perfis de silicone. **B)** Aparato para montagem da placa de P40.

Todo este aparato foi levado então a uma estante com lâmpadas UV de 40W dispostas longitudinalmente pelas prateleiras (Figura 14) para que fosse realizada a cura da resina formando uma placa com os cortes coronais de encéfalo.

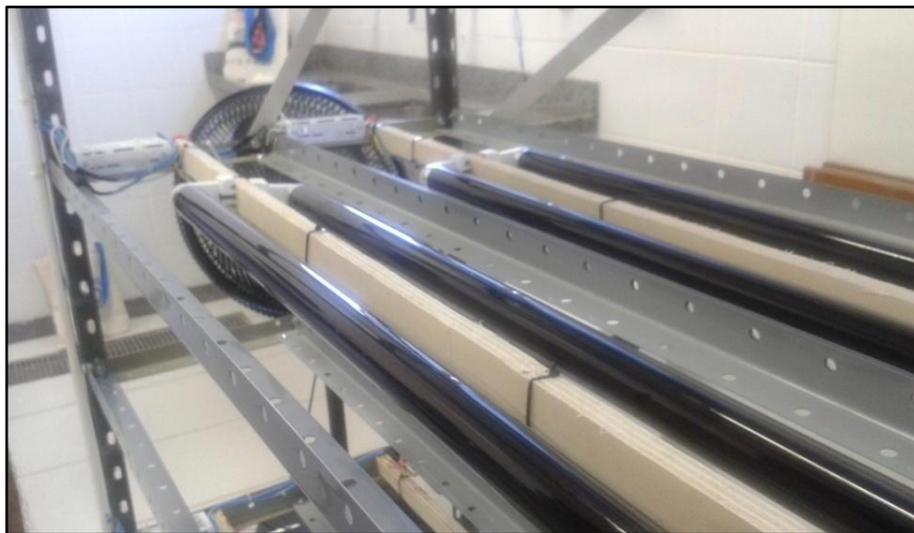


Figura 14: Detalhe da estante com luzes UV para cura das placas de P40.

Após a cura, que se deu em 24h a 48h de exposição periódica à luz UV (Figura 15), sempre com exposições intervaladas de 30 minutos, os grampos foram retirados e a placa de vidro superior foi retirada da estrutura. Os perfis de borracha foram retirados facilmente e a placa de P40 foi, com o auxílio de um bisturi, descolada da placa de vidro inferior e envolvida

em filme de PVC até que a cura total da resina de P40 fosse obtida e o material estivesse pronto para uso.

Após esta etapa e depois de alguns testes para consolidação da técnica, escolhemos uma preparação para verificar a área correspondente do espécime e comparar com sua medida de área anterior ao processo de plastinação, a fim de avaliar o encolhimento do espécime e comparar o resultado com outros trabalhos. Estas medições foram realizadas no programa ImageJ (Fiji) através de ferramentas de *Thresholding*.

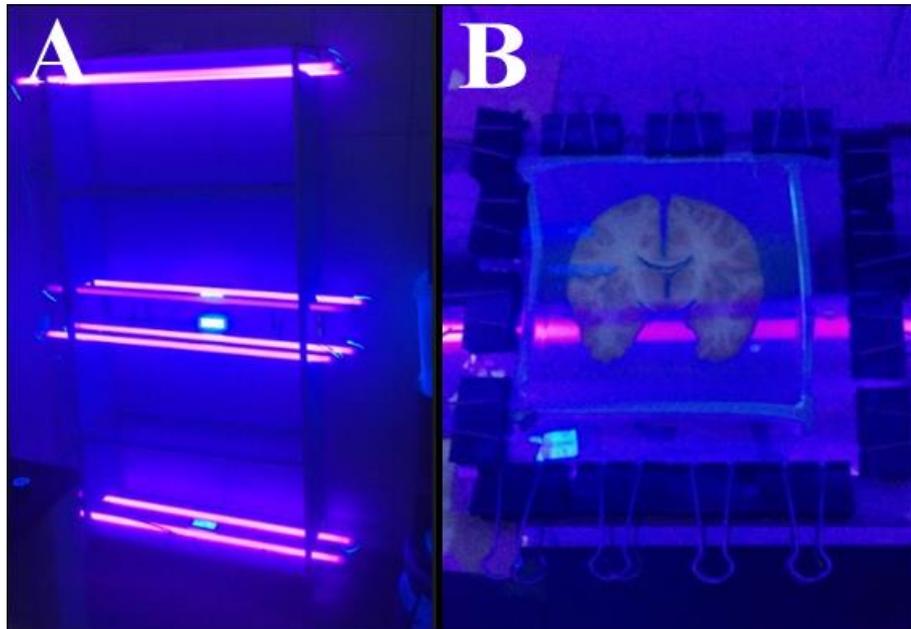


Figura 15: Estante UV durante cura. **A)** Demonstração da estante UV. **B)** Corte de encéfalo durante cura na estante UV.

4.2 Técnica de E12

Os cortes transversais para a técnica foram produzidos à partir de membros superiores e inferiores de um cadáver do acervo do laboratório de anatomia da UFRJ, conservado em solução de formalina a 10% e fenol a 3%. Estes cortes foram produzidos com o auxílio de uma serra linear vertical (Skymesen®, Brasil). A espessura desejada foi de 2mm, com alguns cortes possuindo 2,5mm, fator que não alteraria a qualidade referente ao resultado final. Após a confecção de cortes transversais, os mesmos foram acondicionados em um recipiente contendo formalina a 5% para posterior lavagem e bateria de desidratação. Estes processos ocorreram de forma idêntica à técnica de P40, com lavagem dos cortes em água corrente,

posterior secagem, três banhos seriados e posterior imersão do material em um recipiente contendo a resina. Inicialmente, optamos por utilizar o protocolo de impregnação com resina E12 sem catalisador, idealizado por Latorre e colaboradores (2002). Após alguns testes, decidimos optar pelo protocolo clássico, utilizando a mistura de 95 partes de E12 e 26 partes de seu catalisador E1 (KEP01A5.0 e KEH01A1.5, BIODUR®, Alemanha), para subsequente impregnação.

A impregnação também ocorreu de maneira semelhante, excetuando-se as pressões geradas pela bomba de vácuo, e a duração foi de 2 dias. Para a impregnação da resina E12, iniciou-se a redução dos valores pressóricos em 100mbar, até que ao final do primeiro dia fossem atingidos 7mbar. No final do segundo dia, reduzindo-se a pressão gradualmente a cada hora, a pressão final não foi menor que 3mbar.

Para a montagem, os cortes foram dispostos em uma placa de vidro retangular de 3mm de espessura coberta com uma folha de acetato (0,3mm de espessura). Inicialmente foi depositada uma pequena quantidade de resina epóxi E12 na folha de acetato, suficiente para servir de leito para os cortes (Figura 16-A). Em seguida, a resina foi despejada sobre os cortes e outra folha de acetato foi utilizada para recobrir todo este conteúdo. Com auxílio de uma espátula, a folha de acetato acima do plano dos cortes foi pressionada contra os mesmos, forçando a remoção de possíveis bolhas que gerariam artefatos no produto final (Figura 16-B).

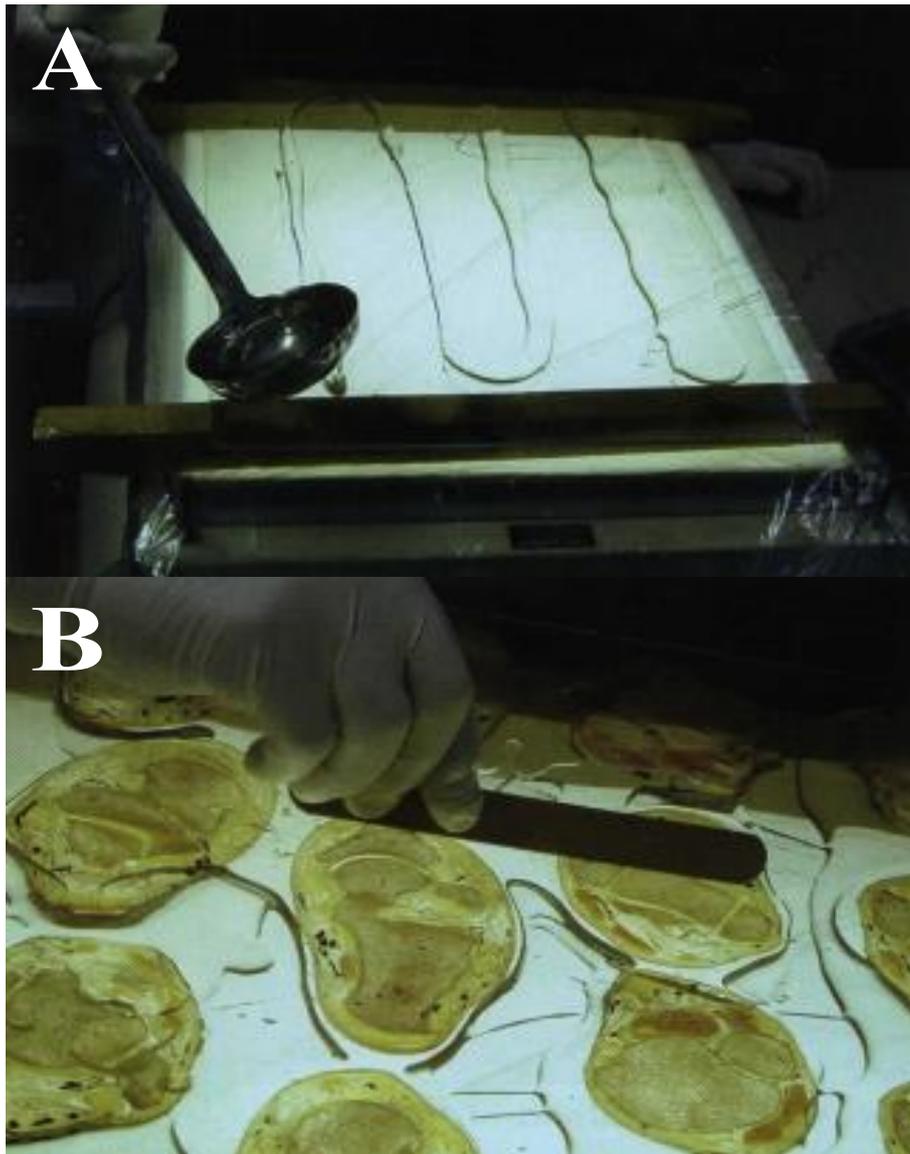


Figura 16: **A)** Cobrindo a folha de acetato sobre a placa de vidro com resina epóxi E12. **B)** Retirada de bolhas por pressão com auxílio de espátula sobre folha de acetato. Adaptado de Sora e Cook, 2007.

Havendo mais cortes para serem montados, foi feita uma nova camada acima da folha de acetato anterior, terminando a montagem com uma placa de vidro idêntica à primeira (Figura 17A-B). Este método é chamado de método de sanduíche (do inglês *sandwich method*) (SORA e COOK, 2007) pela disposição sequencial dos materiais. Para garantir a acomodação correta dos cortes, utilizou-se um peso acima da placa de vidro facilitando o contato necessário das estruturas dispostas entre as camadas de folhas de acetato.

A etapa de montagem também foi alterada em nosso trabalho após a alteração da mistura de impregnação. Optamos por montar câmaras planas semelhantes ao método do P40 (Figura 17C-D). Quaisquer fossem os métodos de montagem, as estruturas eram deixadas por

1 dia em temperatura ambiente, completando a cura da resina E12 em uma estufa a 45°C durante 4 dias.

Após a cura, as placas de vidro foram removidas e as folhas de acetato destacadas dos cortes transversais que posteriormente foram individualizados com auxílio de serra linear vertical. De maneira semelhante a técnica de P40, também escolhemos uma preparação em E12 para, no programa ImageJ (Fiji), verificarmos a área da mesma antes e após a técnica, comparando com resultados de outros trabalhos.

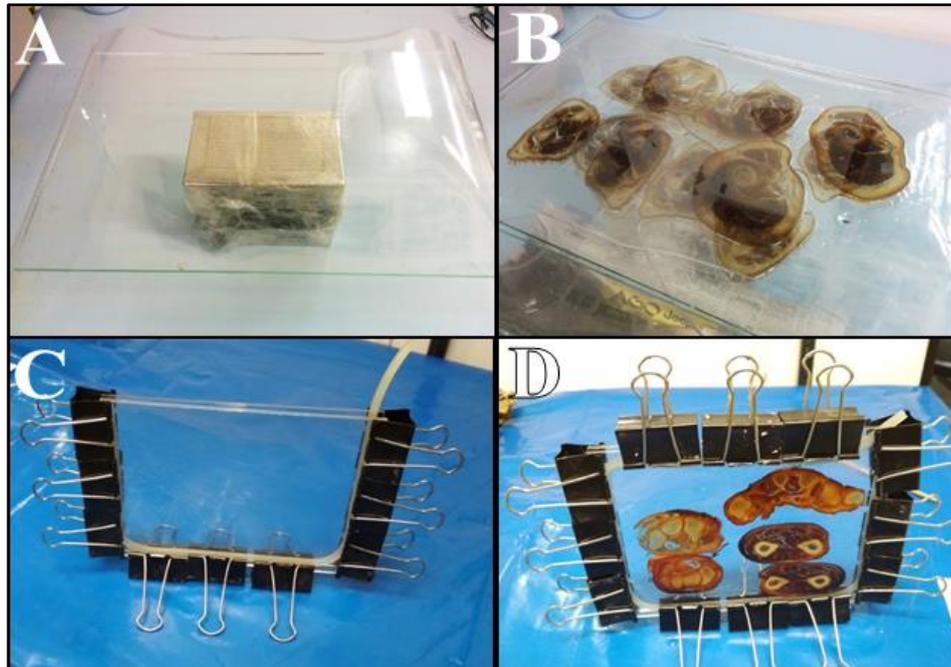


Figura 17: Montagem da técnica de E12. **A)** Início do processo de montagem utilizando o método do sanduíche, com a placa de vidro coberta por uma folha de acetato repousando sobre apoio. **B)** Cortes dispostos entre duas folhas de acetato, já embebidos em resina epóxi E12. **C)** Câmara plana preparada. **D)** Câmara plana após montagem e cura do material.

5 RESULTADOS

5.1 Técnica de P40

Os primeiros testes da técnica de P40 demonstraram bordas irregulares (Figura 18-A-B), amarelamento da resina próxima às margens da placa e bolhas pequenas nos órgãos incluídos na resina (Figura 18-D). Foi possível obter contraste suficiente entre a substância branca e cinzenta, mesmo com o escurecimento geral dos cortes de encéfalo verificado após a cura total da resina. No primeiro teste realizado, além destas características, verificamos a ruptura da placa de P40 após alguns dias (Figura 18-C), gerando uma quebra do material, simulando um extravasamento. Além desta ocorrência, chamou-nos atenção a curvatura que se apresentava no sentido longitudinal da placa de resina.

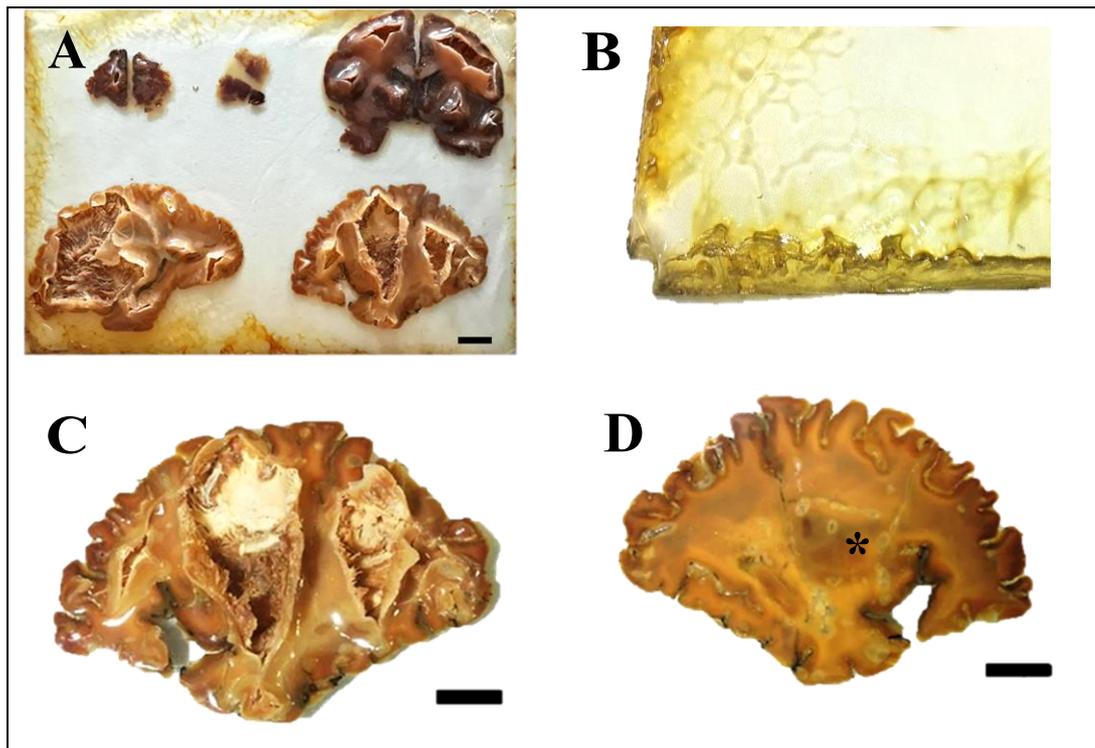


Figura 18: Primeiro teste com a resina de P40. **A)** Exemplos de secções coronais e sagitais de encéfalo. Barra de escala = 2cm. **B)** Detalhe da borda demonstrando irregularidades e amarelamento. **C)** Bolhas e fissuras presentes internamente em um corte sagital de cérebro, a nível dos núcleos da base. É possível perceber o extravasamento das bolhas observadas gerando a ruptura em uma das superfícies das placas. Barra de escala = 2cm. **D)** Detalhe das fissuras e bolhas aprisionadas no espécime e na resina. Corte sagital de encéfalo a nível dos núcleos da base (asterisco). Barras de escala = 2cm.

O segundo teste foi ainda falho, levando a ruptura acidental da placa de vidro da câmara plana e não sendo possível a finalização da cura (Figura 19).



Figura 19: Segundo teste com a resina de P40. É possível perceber o amarelamento das bordas e o ressecamento dos cortes coronais de encéfalo. Barra de escala = 2cm.

No terceiro teste deu-se as correções técnicas (Figura 20), no qual é possível perceber menos erros em relação ao primeiro, mas ainda sim uma ausência de homogeneidade na coloração encefálica, o que sugeriu uma impregnação deficiente. As bordas irregulares ainda estão presentes e o amarelamento se manteve (Figura 20-A).

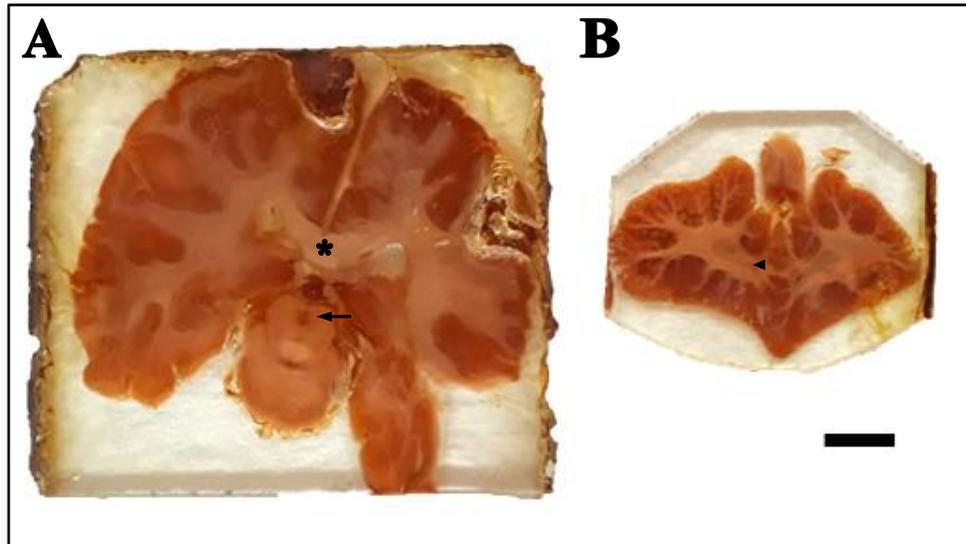


Figura 20: Terceiro teste com a resina de P40. **A)** Corte coronal de encéfalo demonstrando mesencéfalo com aqueduto cerebral (seta), corpo caloso (asterisco) e diferença das estruturas medulares e corticais. **B)** Cerebelo evidenciando núcleos cerebelares (cabeça de seta) e diferença de coloração entre substância cinzenta e branca. Barra de escala = 2cm.

Corrigidos estes detalhes na impregnação, chegamos aos resultados do quarto e quinto testes (Figura 21), que consideramos satisfatório para ensino em anatomia. Neles não é possível perceber bolhas, amarelamento da resina de poliéster ou impregnação insuficiente, além de proporcionarem bom contraste e permitirem a visualização de estruturas relevantes do sistema nervoso, tais como corpo caloso, cápsula interna e núcleos da base. Todavia, o quinto teste apresentou um aumento progressivo da curvatura da preparação final (Figura 21-D), o que não é desejado na boa execução da técnica. As razões para este acontecimento serão discutidas posteriormente.

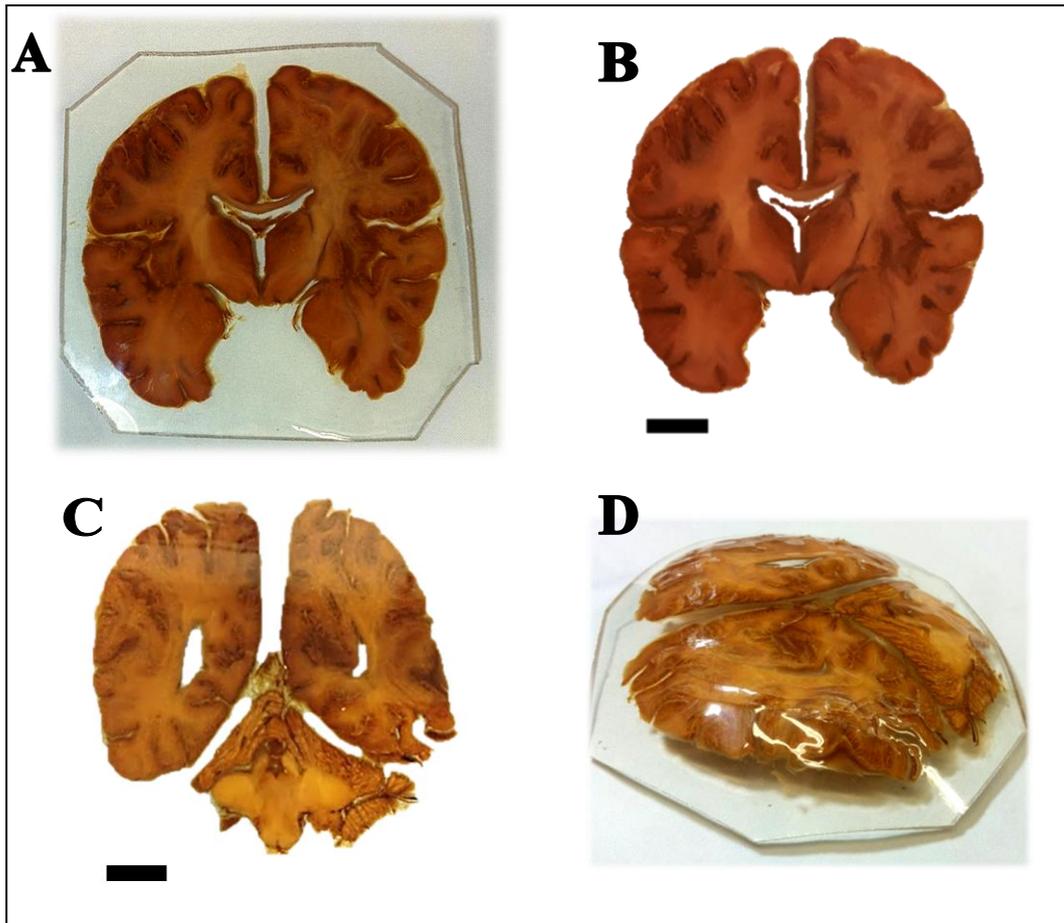


Figura 21: Quarto e quinto testes com a resina de P40. **A)** Quarto teste com a resina de P40. Espécime de cérebro humano, corte coronal, a nível de estruturas talâmicas. **B)** Espécime anterior (A) com barra de escala (2cm). **C)** Quinto teste com a resina de P40, em espécime de encéfalo humano a nível do corno posterior dos ventrículos laterais e cerebelo. Material recém removido das placas de vidro e cura. **D)** Teste nº5 após cura total da resina. Barra de escala = 2cm.

Ainda produzimos outras preparações (Figura 22A-B) que consolidaram a técnica. Estas apresentaram contraste adequado entre as substâncias branca e cinzenta, ausência de irregularidades no entorno do espécime e placa, bem como ausência de amarelamento. Também foi possível comparar a área de algumas das preparações realizadas em poliéster com a área da secção transversa do material antes da etapa de desidratação e impregnação, além da diferença de contraste e percepção de estruturas relevantes ao ensino da neuroanatomia (Figura 22C-D).

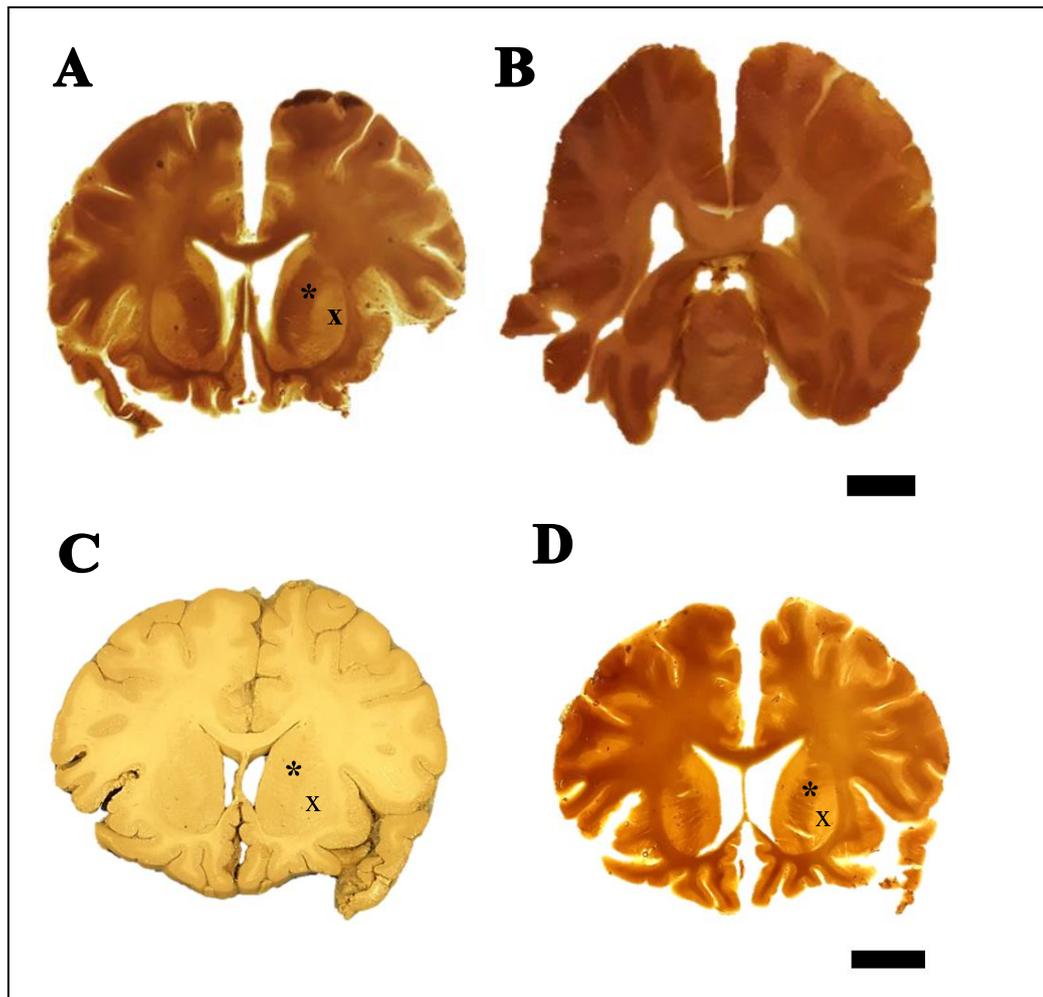


Figura 22: Últimos espécimes preparados em técnica de P40, em múltiplas comparações. **A)** Corte coronal de encéfalo a nível dos núcleos da base (x) e cápsula interna (asterisco). **B)** Corte coronal de encéfalo a nível da porção mais posterior do lobo temporal e corno posterior dos ventrículos laterais. Barra de escala = 2cm. **C)** Espécime de encéfalo antes da técnica de P40, a nível dos núcleos da base (x) e cápsula interna (asterisco). **D)** O mesmo espécime de **C**, após técnica de P40, evidenciando a diferença no contraste das mesmas estruturas. Barra de escala = 2cm.

O resultado do encolhimento médio na técnica de P40 foi uma redução de aproximadamente 5,2% nas áreas dos espécimes nos quais as medidas foram realizadas e estes dados estão dispostos na Tabela 1:

Tabela 1 - Comparação de áreas das secções coronais antes e depois da técnica de P40.

Espécime em P40	Área anterior a técnica de P40	Área após a técnica de P40	Encolhimento (%)
Cerebelo	36,1cm ²	34,5cm ²	4,4%
Cérebro (nível do ramo anterior da capsula interna)	80,9cm ²	77,5cm ²	3,7%
Cérebro (nível do joelho da cápsula interna)	74,1cm ²	66,2cm ²	10,7%
Cérebro (nível do tálamo e corpos mamilares)	104,1cm ²	100,8cm ²	3,2%
Cérebro (nível do esplênio do corpo caloso)	105,1cm ²	100,7cm ²	4,2%
Média	-	-	5,2%

Adicionalmente, foi possível comparar preparações em P40 com preparações de S10 de encéfalo com e sem coloração de Mulligan, e podemos observar as claras diferenças de contraste e nitidez das estruturas mais internas, bem como arranjo morfológico do espécime melhor preservado. Também é possível comparar com imagens de ressonância magnética, e os cortes de P40 evidenciam de forma fiel as estruturas representadas na técnica de imagem. Estes detalhes podem ser conferidos na Figura 23.

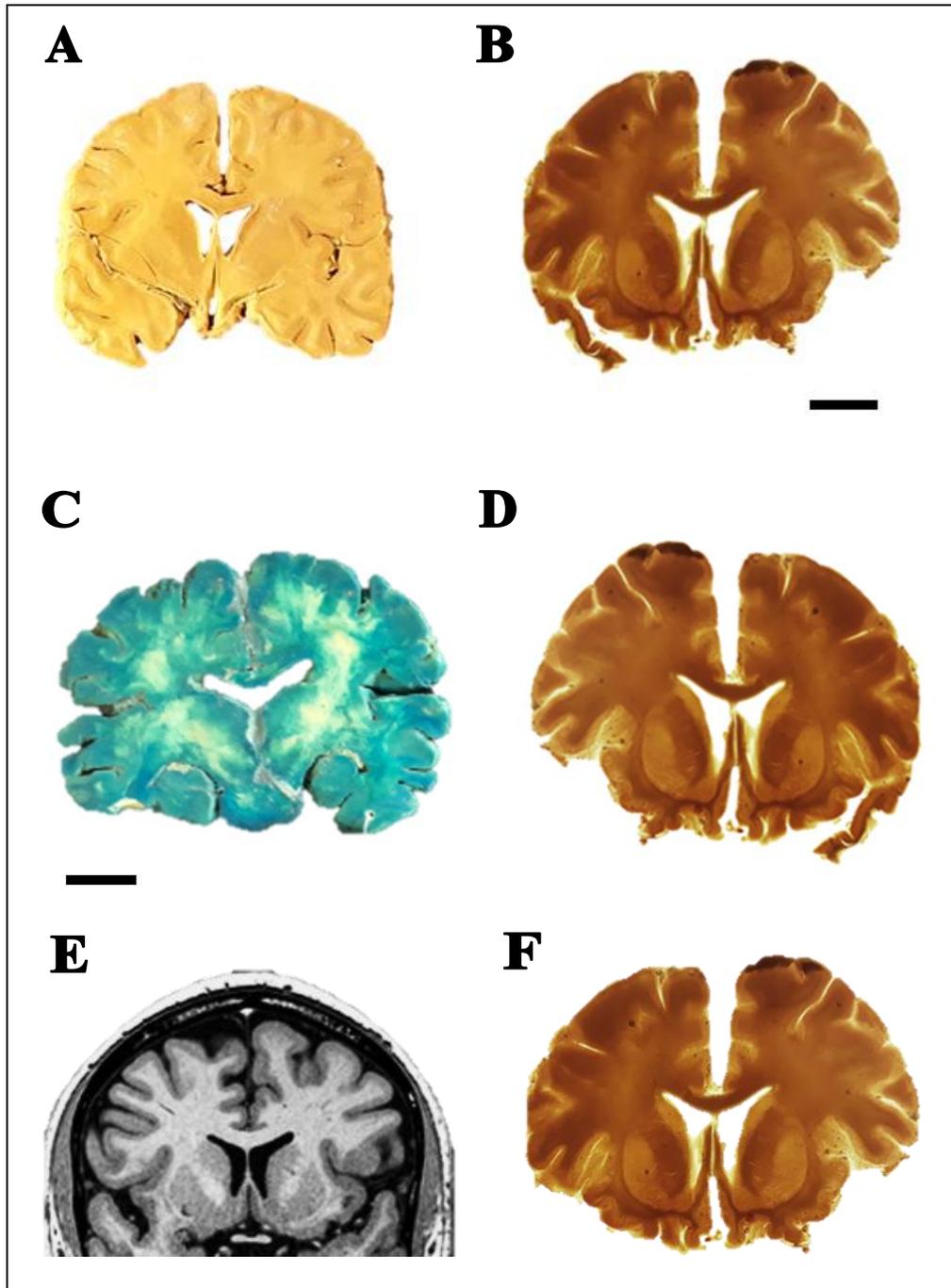


Figura 23: Comparação da coloração e aspecto das substâncias cinzenta e branca em espécime de cortes coronais de encéfalo. **A)** Espécime preparado em S10. **B)** Espécime preparado em P40. Além da menor retração, a manutenção do contraste de estruturas nobres torna-se evidente. Barra de escala= 2cm. **C)** Espécime preparado na técnica de S10 com coloração especial de Mulligan. Barra de escala= 2cm. **D)** Espécime preparado em P40, para comparação com **C**. Barra de escala = 2cm. **E)** Registro de imagem de ressonância magnética para comparação com **F**. **F)** Espécime de corte coronal de encéfalo plastinado na técnica de P40. Imagem de ressonância magnética adaptada de IMAIOS SAS, 2019.

5.2 Técnica de E12

Os primeiros resultados com os cortes impregnados na resina epóxi E12 foram considerados bastante insatisfatórios pois demonstraram um material cuja cura foi considerada incompleta, flexíveis em determinadas porções, sem padrão específico (Figura 24). Foi possível observar regiões com manchas esbranquiçadas foscas com dureza correspondente ao material completamente curado (Figura 24B-C). Nas preparações havia também a presença de muitas bolhas e irregularidades (Figura 24D).

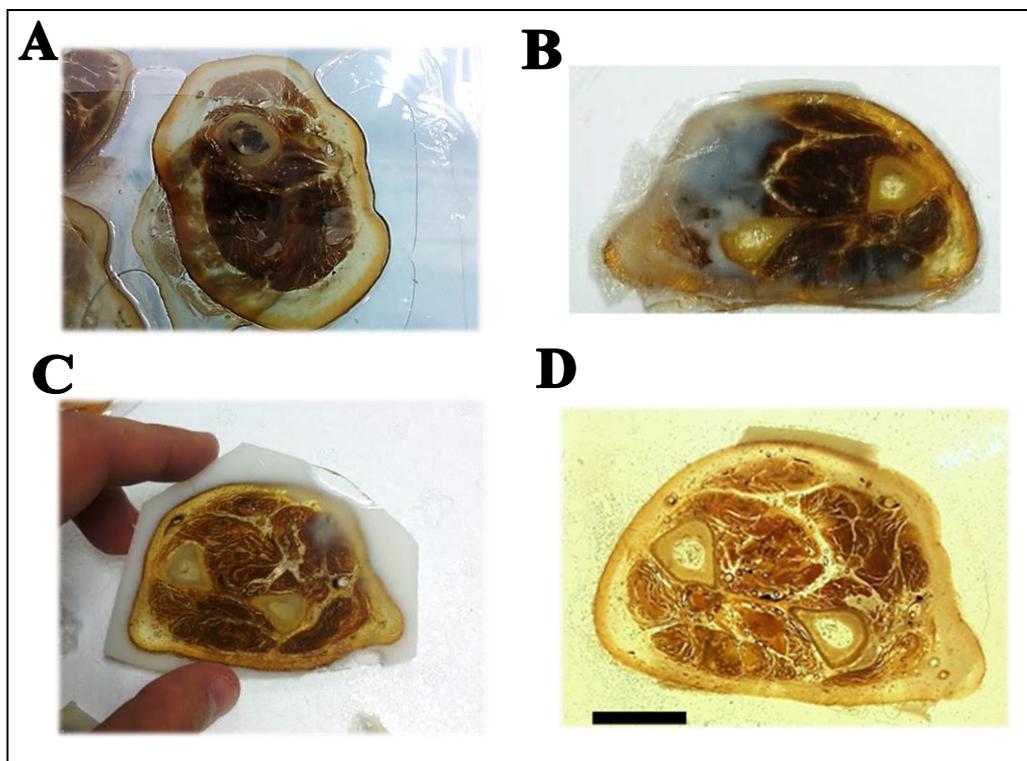


Figura 24: Primeiro resultado da técnica de E12 em secções de antebraço. **A)** Cortes impregnados com resina E12 montados horizontalmente precedendo a etapa de cura. **B)** Cortes demonstrando falhas na cura e impregnação das primeiras preparações. **C)** Secção ainda presente entre as camadas de acetato demonstrando grande quantidade de resina com coloração esbranquiçada. **D)** Secção após a cura demonstrando a presença de bolhas entre as camadas musculares e a transparência parcial do corte do terço médio de antebraço. Barra de escala = 2cm.

Apesar destes erros técnicos, a característica translúcida dos cortes não foi afetada, tendo sido o único ponto positivo. Esse resultado insatisfatório obtido com o método sanduíche (*sandwich method*) foi uma das principais razões para a alteração do protocolo de

montagem dos cortes em resina E12, transferindo o processo para o modelo das câmaras planas que, dispostas verticalmente, permitiram eliminar as bolhas dos segmentos e observar uma transparência adequada do material. Após a alteração da técnica, também não foram observados pontos esbranquiçados ou regiões não curadas de resina E12. Pequenas artérias e diminutas veias podem ser observadas nas preparações, os fascículos de fibras musculares são evidenciados com facilidade e as camadas corticais e medular dos ossos são também destacadas. Estas estruturas podem ser conferidas em detalhes nas Figuras 25, 26 e 27, todas de membro inferior. Consideramos então que esta alteração metodológica forneceu para o trabalho um padrão na execução da técnica.

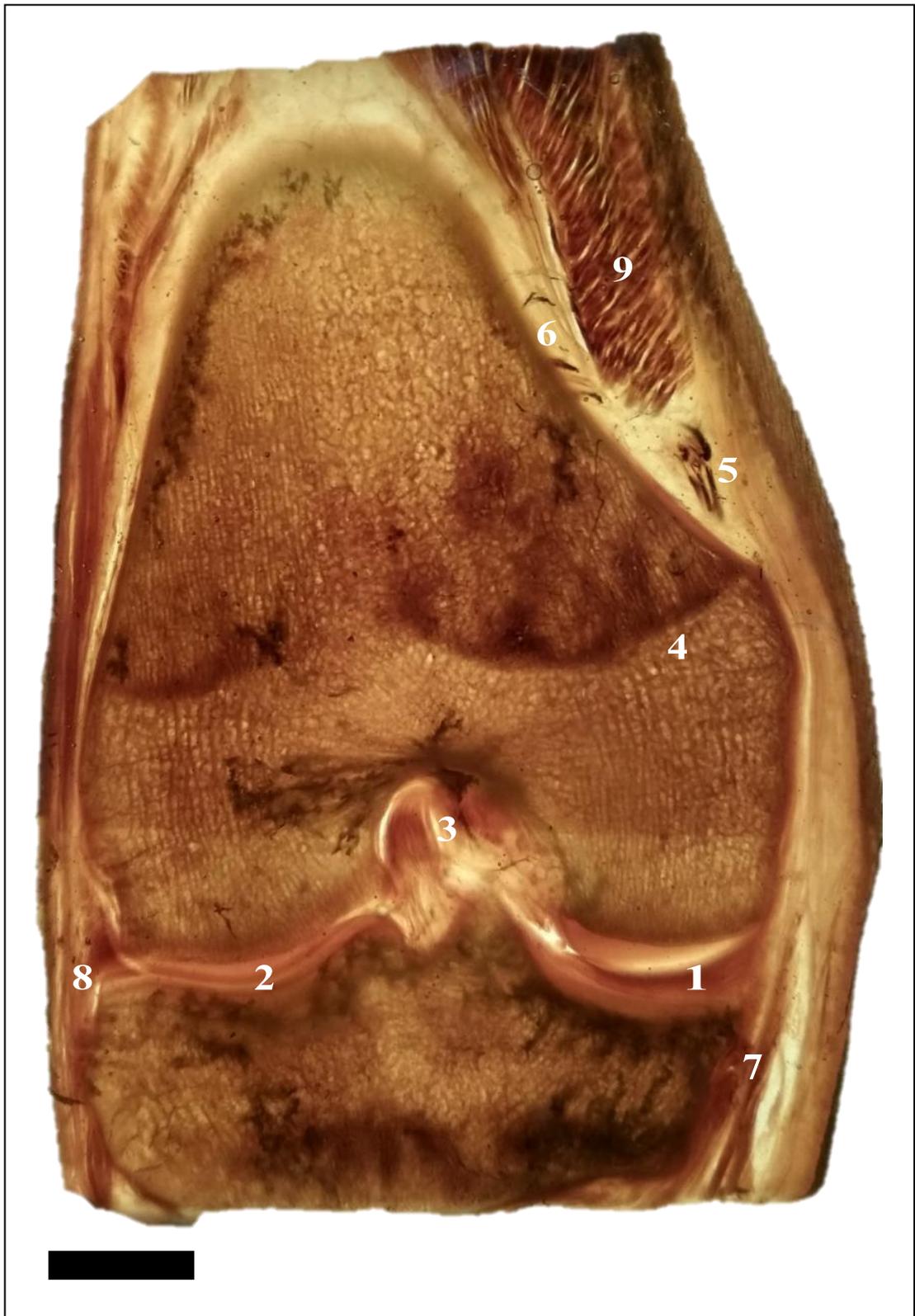


Figura 25: Detalhes de um corte coronal de joelho direito na técnica de E12. É possível perceber estruturas destacadas como os meniscos (1 e 2), ligamentos cruzados (3), linha epifisária (4), artérias geniculares superior medial (5) e ramo articular da artéria descendente genicular (6), ligamentos colaterais, medial (7) e lateral (8) além de fibras da musculatura da coxa (9). Barra de escala: 2cm.

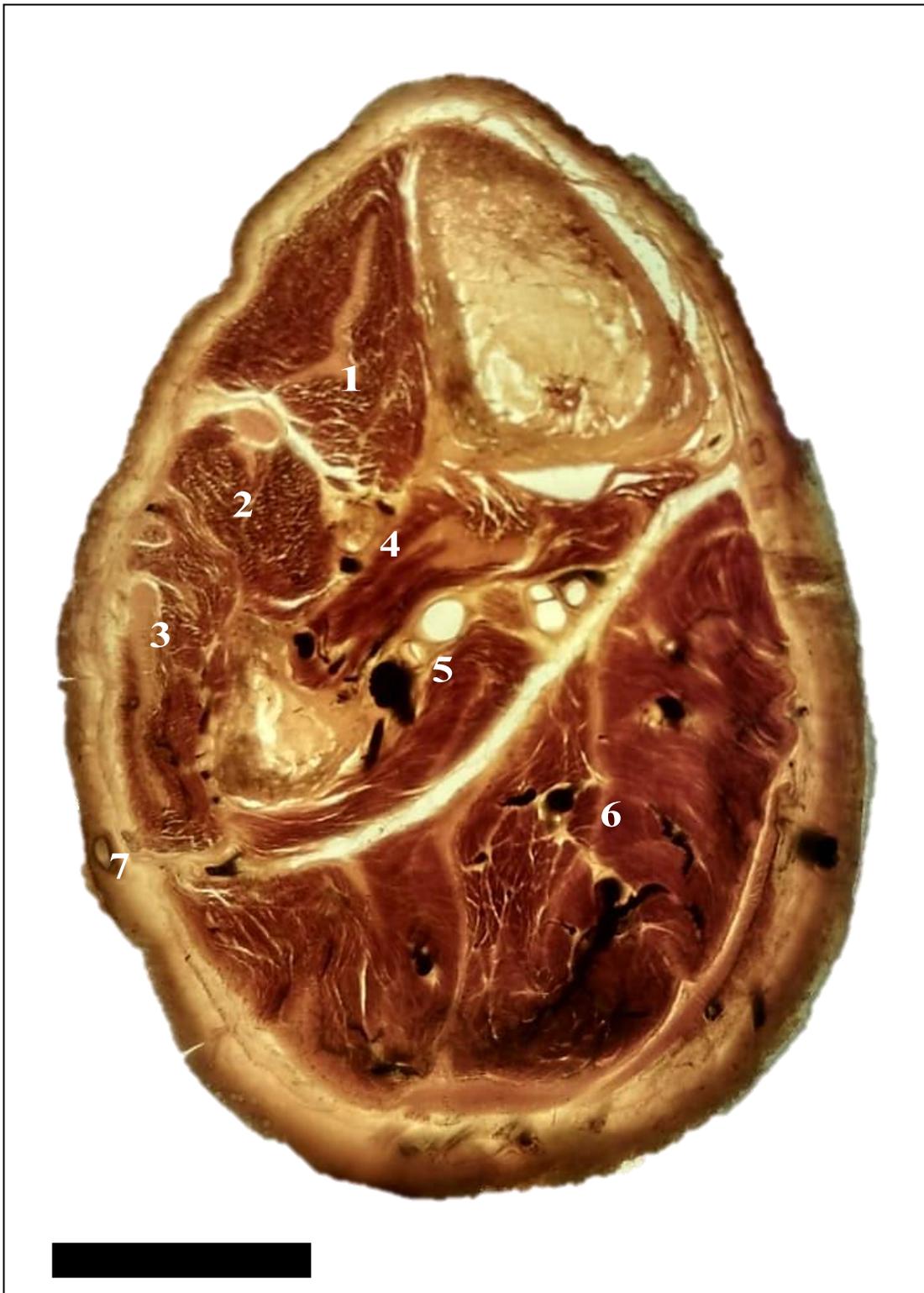


Figura 26: Corte transversal de perna no terço proximal preparado pela técnica de E12. As estruturas indicadas são: músculo tibial anterior (1), músculo extensor longo dos dedos (2), músculo fibular longo (3), pedículo vasculonervoso da loja anterior (4), pedículo vasculonervoso da loja posterior (5), tríceps sural com plexo venoso solear (6) e veia safena parva (7). Barra de escala: 2cm.

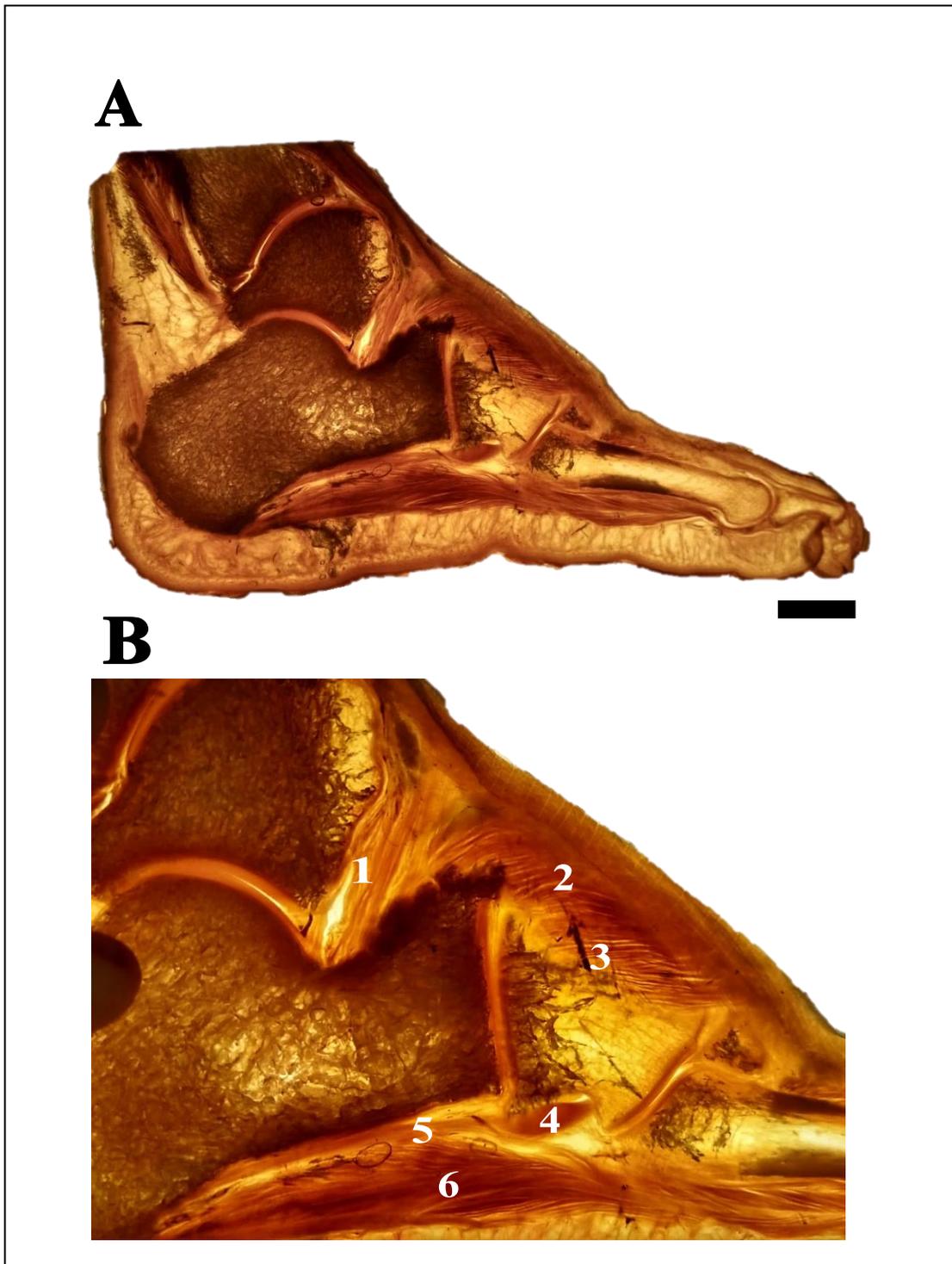


Figura 27: Corte sagital de pé na técnica de E12. **A)** Panorama geral da preparação. **B)** Detalhes e estruturas anatômicas que são passíveis de identificação, como ligamento interósseo (1), músculo extensor curto dos dedos (2), artéria tarsal lateral (3), tendão do músculo fibular longo (4), ligamento plantar longo (5) e músculo flexor curto dos dedos (6). Barra de escala em **A**: 2cm.

Comparamos as características em relação a área de dois espécimes antes e após a técnica para verificar a retração do material (Figura 28A-B), e assim fizemos com uma secção coronal de ressonância magnética (Figura 28C-D). Obtivemos uma média de 3,2% de encolhimento, com maiores detalhes apresentados na Tabela 2.

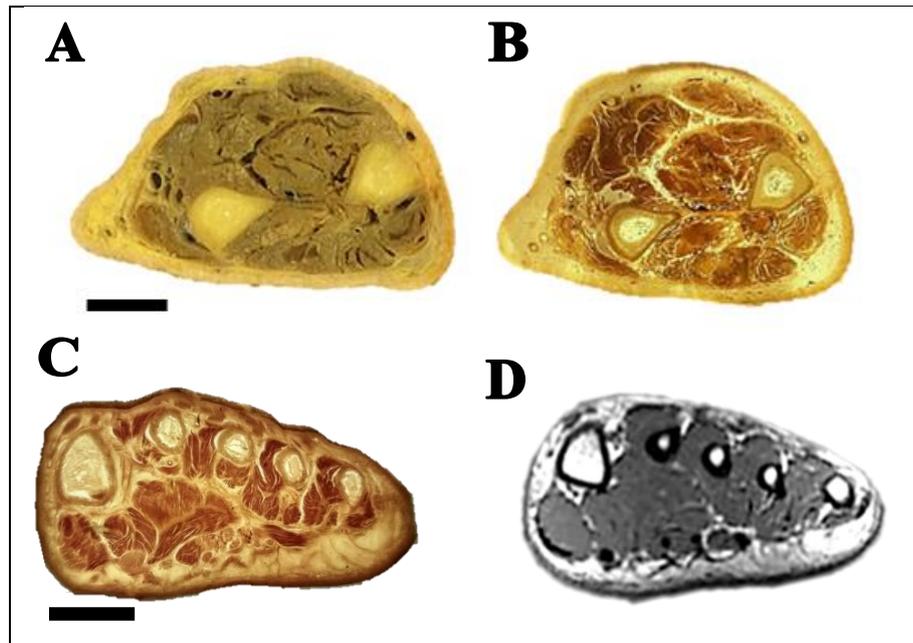


Figura 28: Comparações usando espécimes preparados em E12. **A)** Espécime antes do processo de plastinação em E12. Barra de escala= 2cm. **B)** Espécime (A) após técnica de E12. É possível notar que o encolhimento da preparação é mínimo. **C)** Corte coronal de pé preparado na técnica de E12. **D)** Imagem seccional de ressonância magnética nuclear. Adaptado de IMAIOS SAS, 2019. Barra de escala: 2cm (A-D).

Tabela 2 - Comparação de áreas de secções transversas antes e depois da técnica de E12.

Espécime em E12	Área anterior a técnica de E12	Área após a técnica de E12	Encolhimento (%)
Braço (terço médio do úmero)	69,2cm ²	66,5cm ²	3,9%
Antebraço (terço distal)	36,1cm ²	35,2cm ²	2,5%
Média	-	-	3,2%

6 DISCUSSÃO

Muitos são os fatores que influenciam na qualidade final dos espécimes plastinados. Mesmo na técnica mais simples, o S10, a dissecação e a fixação do material cadavérico são grandes limitantes do resultado da técnica. Assim, nas técnicas de P40 e E12, discutiremos a seguir as características gerais que influenciaram nos resultados obtidos e posteriormente trataremos de cada técnica separadamente.

6.1 Limitantes gerais das técnicas de plastinação

No laboratório de anatomia da UFRJ, a fixação dos cadáveres e materiais anatômicos de estudo e sua conservação são insuficientes para a demanda constante das atividades de ensino e extensão realizadas. As condições de embalsamamento, materiais utilizados e protocolos técnicos constantemente são adaptados conforme as dificuldades se apresentam, impossibilitando uma padronização nos métodos. Há a utilização de compostos químicos em demasia, em especial o fenol. Ainda, é válido lembrar que não há estudos sobre a utilização na plastinação de espécimes que foram fixados em misturas contendo fenol, seja líquido ou cristal. Estes fatos são o principal empecilho para a seleção adequada de material a ser utilizado na plastinação. Oostrom (1987) teceu considerações importantes sobre fixadores e sua relação com a manutenção das características naturais do espécime anatômico, em especial a coloração do mesmo, atentando para o tempo de conservação do espécime fixado, que deveria ser o mínimo possível a fim de garantir uma qualidade estética melhor à preparação.

O fenol é um excelente antifúngico, embora seu excesso cause um escurecimento do material cadavérico, em especial da musculatura. Outros órgãos e tecidos aparecem com coloração totalmente atípica e, em virtude de uma possível mudança na coloração do material após impregnação com as resinas das técnicas de plastinação, não se sabe ainda qual o efeito final na estética do material plastinado com as técnicas de P40 e E12, mesmo com as alterações de coloração final sendo registradas em diferentes trabalhos (OTTONE *et al.*, 2018). É possível que os compostos químicos contidos na mistura fixadora alterem o processo de plastinação em dois diferentes pontos da técnica: na impregnação e na cura. Na impregnação, pequenas quantidades de fixadores podem alterar a troca da acetona e a entrada nos tecidos da resina sintética, enquanto na cura estes materiais poderiam atrapalhar a reação

com o catalisador ou o aspecto final da preparação por interação com o polímero (SCALI *et al.*, 2015, GARDETTO *et al.*, 2003, OOSTROM, 1987).

O uso excessivo do formaldeído, uma constante no laboratório de anatomia da UFRJ, também configura outro problema. Além das questões relativas à biossegurança, o uso sem controle não melhora as características de fixação da peça anatômica. Em excesso, este fixador enrijece grandemente as estruturas, altera a coloração de tecidos ricamente vascularizados e termina por ser oxidado em ácido fórmico, que é danoso para o material anatômico e termina por lesar e tornar este material frágil à manipulação.

Temos, portanto, dois compostos químicos que são utilizados no material cadavérico que nosso laboratório dispõe, dois materiais que podem alterar significativamente o resultado estético da plastinação. É por esta razão que o material apresentado por universidades brasileiras difere ligeiramente dos cortes anatômicos em P40 e E12 de instituições que evitam ou utilizam pouco os compostos anteriormente citados, como as preparações de Latorre e colaboradores (2004, 2007), da Universidade de Murcia, na Espanha, ou as preparações de Baptista (2018), da Universidade de Toledo, nos Estados Unidos da América. Quando possível, podem optar por sequer fixar o material, realizando a etapa de preparação e corte dos espécimes anatômicos a fresco. Isto permite manter uma coloração próxima do *in vivo* e obter preparações impressionantes, como as originalmente demonstradas por Von Hagens (1986).

Para contornar esta situação e melhorar a qualidade de nossos espécimes direcionados para a plastinação, buscamos continuamente um processo de clareamento dos mesmos a partir da utilização de peróxido de hidrogênio em soluções crescentes. Este procedimento é usado na Unidade de Plastinação para os espécimes que serão plastinados em resina S10. Também buscamos a hidratação e banhos sucessivos com água corrente e álcool para tentar eliminar ao máximo os componentes da mistura fixadora presentes em excesso nos tecidos. Isto permite uma menor concentração destes compostos durante e após a fase de desidratação. Esta conduta pode minimizar os efeitos do excesso de fenol e formaldeído, mas jamais excluí-los por completo.

6.2 Limitantes da técnica de P40

Para a técnica de P40, é possível perceber que houve melhora progressiva nos resultados obtidos. Nos primeiros testes (Figuras 18, 19, 20), foi possível observar uma coloração amarelada e irregularidades nas bordas das placas. Descobrimos que isto ocorria

devido ao tipo de borracha que utilizávamos no selamento das duas placas de vidro. Utilizamos inicialmente um perfil de borracha comum tipo “P”, que interagiu de alguma forma com a resina P40 antes mesmo do conjunto ser levado à cura, causando esse amarelamento e irregularidades. Fosse algum composto químico presente nos cortes de encéfalo, estes defeitos deveriam ocorrer também em outras porções da placa, o que não foi registrado. Ao trocarmos para um perfil de borracha de silicone, de mesmo formato e configuração, foi possível perceber a diferença no resultado final. Não há estudos na literatura detalhando esse amarelamento na resina de poliéster ou tratando sobre alguma interação de perfis de borracha com a resina de P40. Os resultados da Figuras 21 foram obtidos após esta mudança na técnica e evidenciam a mudança.

As bolhas inicialmente observadas no material podem advir de duas origens: água e acetona. No caso da primeira, resíduos de água nos tecidos indicam uma desidratação incompleta, seja por aferição incorreta do densímetro ou do operador, seja por necessidade de mais banhos de acetona e melhor homogeneização do conteúdo dos tonéis antes da aferição da concentração. Já para bolhas oriundas da acetona, estas sugerem que a fase de impregnação está ocorrendo em velocidade muito rápida, com a queda da pressão necessitando ser mais gradual e controlada. Isto é sinal de que há pontos em que a resina não conseguiu impregnar e que a acetona não conseguiu ser removida pela bomba de vácuo, apesar das decrescentes pressões. Outro problema oriundo da impregnação são regiões escurecidas ou de coloração destoante do material plastinado, que também podem surgir pela presença de uma região ou porção mal fixada. Deste modo, é necessário um controle mais rígido do decaimento pressórico durante a impregnação nas técnicas de plastinação laminar, pois artefatos e falhas são mais aparentes em relação a técnica de S10. Para estes problemas foram realizados ajustes na técnica nas fases de desidratação e impregnação possibilitando um acompanhamento mais eficaz de ambas, todavia, sem alteração do material usado. A observação das bolhas de acetona formada durante o processo, apesar de qualitativa, prova-se ferramenta muito útil no controle de qualidade do processo.

Já no primeiro teste que realizamos, o problema da coloração do material pode ser observado. Alguns cortes tiveram uma coloração mais escura, outros, mais clara. Já discutimos anteriormente acerca dos aspectos de fixação cadavérica que podem se traduzidos neste resultado final. Optamos por utilizar somente material anatômico do acervo do laboratório de anatomia da UFRJ, pois o trabalho tem como objetivo obter uma padronização das técnicas com espécimes disponíveis na instituição. Material de outras fontes poderia gerar

resultados diferentes e em desacordo com a realidade do laboratório, além de necessitarem de trâmites burocráticos e médico-legais que possivelmente impossibilitariam a execução deste trabalho nos termos propostos.

Geralmente, nosso material encefálico tem uma coloração bege para a substância branca e marrom para a substância cinzenta. Tons graduais são perceptíveis nos cortes e podem ajudar a identificar zonas específicas de núcleos ou estruturas mais nobres. Adicionar o ativador A4 auxilia no aumento do contraste entre essas estruturas (Figura 22), mas esse componente não tem sido utilizado em diversos laboratórios de plastinação ao redor do mundo porque não influencia na cura da resina e vários laboratórios que não o utilizam obtém preparações com contraste excelente, sugerindo que a utilização de material melhor fixado ou até mesmo fresco seria o fator-chave para uma melhor estética geral dos cortes (HENRY, 1998).

Outro problema comum ao realizar a técnica de P40 se trata do aumento de temperatura da resina durante o processo de cura, sendo necessária ventilação constante na sala onde a mesma ocorre. Se não for possível, é desejável que a luz UV seja ligada e desligada, fornecendo “banhos de UV” ocasionais para acelerar a cura do material sem que haja aumento drástico da temperatura, que pode incorrer em pontos alaranjados nas margens dos cortes de encéfalo, que indicam pequenas queimaduras sofridas pelo espécime, um artefato que é verificado com maior frequência em espécimes de sistema nervoso em que a membrana aracnoide não foi completamente removida, em virtude da possibilidade de, durante sua retirada, romper pequenas porções de tecido nervoso (SORA e COOK, 2007). Parece-nos que as meninges impregnam com dificuldade ou são muito sensíveis ao processo de cura. Como o tecido nervoso é muito delicado, notamos que este acontecimento também se dá na substância cinzenta cortical em algumas vezes.

Após a cura, recomendamos a manutenção da estrutura montada das câmaras planas por alguns dias. Este procedimento é útil para evitar abaulamentos (Figura 21), que creditamos a uma cura desigual da placa. Em nossos experimentos, verificamos que a cura da placa provavelmente se inicia pelas margens, com o centro da mesma curando posteriormente. Assim, se a resina de poliéster sofre alguma expansão pequena durante sua cura, abaulamentos centrais poderão ser verificados em virtude de uma região marginal já endurecida. Pode-se então manter a placa nas câmaras planas ou manter as mesmas sob algum tipo de força ou peso que as impeça de gerar este defeito.

Dados da literatura apontam que a retração dos espécimes de P40 é pequena (SORA *et al.*, 1999; 2015), com média 5,74% ($\pm 1,36$). Em nosso trabalho obtivemos o resultado médio de 5,2%. O espécime cuja retração foi maior (10,7%) sofreu uma pequena perda de conteúdo durante a desidratação em acetona. Isto pode ser conferido pela ligeira diferença de forma anteriormente e após a técnica (figura 22, Tabela 1). Apesar do número de espécimes cuja retração foi aferida neste trabalho ser menor do que ambos os estudos apresentados por Sora *et al* (1999, 2015), pois estas medidas tiveram apenas o objetivo de criar um padrão de aplicabilidade da técnica em nossa unidade de plastinação, consideramos este um resultado positivo e de acordo com a literatura disponível, além de aplicável para comparações com exames de imagem, ainda que a técnica de E12 seja a mais indicada para pesquisas e morfometria. Realizamos também comparações com preparações de encéfalo produzidas na técnica de S10, com e sem coloração especial de Mulligan (Figura 23).

A técnica de S10 já tem médias de encolhimento conhecidas para diferentes tecidos (PEREIRA-SAMPAIO *et al.*, 2011; BROWN *et. al.*, 2002), com os tecidos mais vascularizados possuindo maior grau de retração, embora esses valores possam variar na medida em que as condições de desidratação e impregnação forem diferentes (REED e HENRY, 2002). Asadi e colaboradores (2013) relataram que encolhimento do sistema nervoso varia entre 10 e 20%, tornando-os inviáveis para estudos comparados com anatomia seccional ou morfometria, o que corrobora com os resultados de Sago e Addis (2013). De fato, até mesmo algumas estruturas nobres da substância cinzenta podem se tornar imperceptíveis devido a retração, se ainda for possível manter algum contraste eficiente na preparação. Para este trabalho, não aferimos a área das preparações em S10, pois julgamos que estas diferenças já são conhecidas e estes dados não fazem parte do objetivo. A figura 23 demonstra as diferenças qualitativas no contraste e arranjo estrutural dos espécimes em S10 quando comparados aos de P40. É possível notar que, mesmo quando há a coloração de Mulligan, a técnica de P40 demonstra ser muito superior em relação ao contraste das estruturas apresentadas e manutenção do arcabouço estrutural do espécime.

6.3 Limitantes da técnica de E12

Nos exemplares da técnica de E12, nossos problemas começaram já no processamento do material. A serra linear que dispusemos para o presente trabalho não apresentou potência

suficiente para vencer a resistência óssea de determinados seguimentos corporais, como tronco, cabeça e pescoço. As vértebras desses segmentos apresentam grande resistência e dureza, e nossos testes iniciais precisaram se restringir a segmentos de membro inferior e superior. O tipo de serra mais eficaz para gerar cortes de qualquer espessura são as que possuem lâminas diamantadas, embora elas não sejam as adequadas para a técnica. Se não disponíveis e, havendo condição, os operadores podem optar por serras verticais cujas lâminas apresentem 3 dentes por polegada em razão das tradicionais lâminas de 10 dentes por polegada, presentes na maioria dos modelos no mercado. Alguns pesquisadores também recomendam que a lâmina da serra seja resfriada anteriormente ao processo de corte, com a temperatura ideal variando de 0°C a -85°C, o que demonstra uma discordância quanto a este quesito (OTTONE *et al.*, 2016; MACCHI *et al.*, 2008; STEINKE *et al.* 2002)

Mesmo assim, nossa maior dificuldade foi obter cortes com espessura de 2mm a 3mm. Apesar da técnica tradicional descrever esta variação de espessura como ideal, trabalhos mais recentes (BERNAL-MAÑAS, 2016; SORA e COOK, 2007; LATORRE *et al.* 2004) demonstraram que espessuras ainda menores podem proporcionar resultados mais impressionantes e úteis para estudos em morfometria. No entanto, manipular um material tão delicado demandaria uma infraestrutura diferente da que possuímos e ferramentas adicionais, como a já citada serra com lâmina diamantada, câmara fria para produzir os cortes, nitrogênio líquido ou acetona a -20°C para limpeza e remoção de debris dos cortes (THORPE-LOWIS, 2016; FASEL, 1988, VON HAGENS, 1987). Em nossa experiência, pudemos notar que um material de espessura superior a 4mm perde grande das capacidades de transmitância da luz observadas nos resultados da técnica de E12, o que corrobora com as indicações tradicionais da técnica (VON HAGENS *et al.*, 1987).

A impregnação da técnica de E12 é mais rápida que a técnica de P40, e pode ter seu tempo aumentado pela adição de um composto também fabricado pela Biodur, o AE10, chamado de elasticiser. Em nosso trabalho, julgamos que este reagente não era necessário a técnica, assim como fizeram Koslowski e colaboradores (2011), Windisch e Weiglein (2001), Eckel e colaboradores (1993), entre outros. De fato, sua única utilidade é possibilitar um intervalo maior de tempo para se trabalhar com a resina. Diferente do P40, o E12 necessita de um catalisador (E1) que precisa ser adicionado já na mistura de impregnação, tornando a etapa de montagem e cura subsequentes e inadiáveis.

No nosso primeiro teste, optamos por utilizar o protocolo de impregnação semelhante ao de Latorre e colaboradores (2004). Neste, os pesquisadores realizaram uma tentativa de

impregnação de material com diferentes partes de E12 e AE10, mas sem E1. O material então foi levado para montagem e cura em camadas (método de sanduíche), sendo coberto com uma fina película de E12 com seu catalisador (Figura 24). O princípio desta técnica é realizar uma cura somente pela região mais externa do material, que terminará com o interior sem curar, porém, impregnado. Os pesquisadores relatam um misto de resultados satisfatórios com preparações insuficientes. Em nossos resultados, não obtivemos resultados satisfatórios: é necessária muita resina durante a montagem e a resina que contém catalisador não consegue ser suficiente para gerar um corte anatômico totalmente curado. Em outras palavras, parte da resina de impregnação (que não contém o catalisador) extravasa e mistura com a resina da cura (contendo catalisador), alterando as proporções entre cada um dos componentes da mistura de modo desigual. Deste modo, não há como controlar qual região dos cortes anatômicos receberá diferentes proporções dos compostos, ocasionando uma “cura em mosaico”. Nos espécimes insuficientes, o resultado obtido pelos pesquisadores foi parecido com o nosso: os cortes terminam por não curar totalmente, apresentando regiões de “não cura”, flexíveis, e por vezes contendo bolhas (Figuras 24). Pode-se proceder para uma nova montagem e uma nova cura, buscando endurecer as regiões flexíveis ou adicionar uma nova camada de resina em toda a superfície do material. Infelizmente, em nossa experiência foram necessárias muitas montagens e curas para cada grupo de cortes impregnados com E12 sem catalisador. Além dessa dificuldade, as preparações demonstraram regiões esbranquiçadas e extremamente duras (Figura 24C-D). Até o presente momento, nenhum estudo relatou artefatos semelhantes. Acreditamos que estes são devidos a regiões dos cortes anatômicos em que a mistura fixadora, acetona ou água permaneceram mesmo com todo o processo técnico.

Este resultado insuficiente nos motivou a controlar melhor a etapa de desidratação e impregnação. Todavia, a etapa de montagem ainda seria um empecilho pelas dificuldades expostas acima. Assim, optamos por adicionar o catalisador na impregnação do material, optando pela técnica tradicional, e pela montagem em câmaras planas, para maior homogeneidade da resina e envolvimento completo do material pela mesma. No entanto, as câmaras planas preparadas para a resina epóxi E12 precisam que suas placas de vidro estejam sempre cobertas com acetato, afinal não há a presença do AE30 (separador de vidro, do inglês *glass separator*) na técnica. Se as placas de vidro não forem isoladas do material dessa forma, a separação das mesmas não é possível e todo o seu conteúdo será perdido. Para a remoção de possíveis bolhas, a inclinação ou a verticalização das câmaras planas se provou suficiente. Esta mudança se traduziu em resultados extremamente discrepantes dos anteriores e é o

modelo que atualmente utilizamos (Figuras 25, 26, 27). Como adicional, observamos que a resina E12 se separa adequadamente de recipientes ou estruturas constituídas de polipropileno, o que possibilitaria a substituição das placas de vidro por anteparos formados por esse material. Esta medida também suscitaria a não utilização das folhas de acetato, tornando o processo mais prático, barato, simples e mais semelhante à montagem das preparações de P40. A substituição ou alteração de componentes utilizados na montagem das câmaras planas não são registrados na literatura.

Após estabelecimento satisfatório da técnica, optamos por verificar o grau de retração do material (Figura 28, Tabela 2) e comparar com o trabalho de referência disponível, realizado por Sora, Brugger e Strobl (2002). Estes pesquisadores mediram o percentual de encolhimento de alguns espécimes (13) e obtiveram a média de 6,65% de encolhimento ($\pm 1,12$) tecidual. Apesar de nosso resultado ter sido menor (3,2%, em média), o trabalho dos pesquisadores possui maior número de espécimes para comparação e em alguns deles foi utilizado diclorometano para desgordurar o material, o que configura uma fase adicional. Além disso, a região corporal utilizada foi bem diferente (pelve humana), de modo que outros tecidos apresentam outros graus de retração. No entanto, 3,2% ou 6,65% é uma redução de área bem pequena e praticamente imperceptível em preparações por E12, realçando o potencial da técnica para comparações com exames de imagem (SHANTI *et al.*, 2015). De fato, as preparações de E12 já são utilizadas para reconstruções 3D de órgãos e segmentos corporais (SORA *et al.*, 2012).

7 CONCLUSÃO

Foi possível implantar as técnicas de plastinação em resina de poliéster P40 e epóxi E12 com sucesso na Unidade de Plastinação, com condições para uso em salas de aula e divulgação técnico-científica no museu de anatomia da UFRJ. O contraste adequado e a preservação da estrutura do espécime, garantidos pelo baixo percentual de retração tecidual em ambas as técnicas permitem um estudo apurado da anatomia seccional e tomográfica correlacionando com os métodos de diagnóstico por imagem. O uso destas técnicas aumenta as opções em relação aos materiais usualmente conservados e preservados com soluções fixadoras químicas que apresentam inconvenientes e potenciais danos à saúde.

Os resultados obtidos pelo presente trabalho foram semelhantes aos encontrados em outros laboratórios e unidades de plastinação reconhecidos pelo mundo. Foram produzidos espécimes de alta qualidade e padronizado um modelo técnico adequado para nossa unidade. Além disso, a retração tecidual das preparações apresentadas também foi semelhante aos resultados obtidos por pesquisadores considerados referência na área de estudo. O polipropileno mostrou-se um polímero capaz de substituir o vidro nas etapas de montagem e cura da técnica de E12, sendo uma adaptação útil e não descrita na literatura. As modificações propostas podem ser seguidas por laboratórios que desejem estabelecer as técnicas em suas unidades e não contem com aparato adequado ou limitações de verbas.

8 REFERÊNCIAS

- ASADI, M.H.; JOGHATAEI, M.T.; YARI, A.; BAHADORAN, H.; NADERIAN, H.; AZAMI-TAMEH, A. Plastination and Staining of Brain Slices Using Two Different Dehydration Methods. **Anat Sci J**, 10(2): 87-92, 2013.
- BACHAND, A.M.; MUNDT, K.A.; MUNDT, D.J.; MONTGOMERY, R.R. Epidemiological studies of formaldehyde exposure and risk of leukemia and nasopharyngeal cancer: A meta-analysis. **Crit Rev Tox**, 40(2):85-100, 2010.
- BAPTISTA, C.A.C.; HENRY, R.W.; WILLIAMS, G.; BRINKER, R. Magnetic resonance imaging of plastinated specimens: study of tissue characteristics and evaluation of the hardening process of the S10 technique. **J Int Soc Plastination** 4:3, 1990.
- BAPTISTA C.A.C.; BELLM P.; PLAGGE M.S.; VALIGOSKY, M. The use of explosion proof freezers in plastination: are they really necessary? **J Int Soc Plast** 6:34–37, 1992.
- BAERES, F.M.M.; MØLLER, M. Plastination of Dissected Brain Specimens and Mulligan-Stained Sections of the Human Brain. **European journal of morphology**. 39. 307-11., 2002.
- BERNAL-MAÑAS, C. M.; GONZÁLEZ-SEQUEROS; O.; MORENO-CASCALES M.; SARRIA-CABRERA, R.; LATORRE-REVIRIEGO, R. M. New anatomico-radiological findings of the lateral pterygoid muscle. **Surgical and Radiologic Anatomy**, 38(9), 1033–1043, 2016.
- BICKLEY, H.C.; TOWNSEND, F.M. Preserving biological material by plastination. **Curator** 27: 65– 73, 1984.
- BIODUR. Products GmbH. Services, Polymers, Equipment & Auxiliaries for Plastination. Catalogue. Disponível em: <http://www.biodur.de/assets/biodur_catalogue-2015.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2016.
- BLAIR, A. STEWART, P., HOOVER, R.N. Mortality from lung cancer among workers employed in formaldehyde industries. **Am J Ind Med**17(6):683–699, 1990.
- BOSETTI, C., MCLAUGHLIN, J.K., TARONE, R.E., PIRA, E., LA VECCHIA, C. Formaldehyde and cancer risk: a quantitative review of cohort studies through 2006. **Ann Oncol** 19(1):29-43, 2008.
- BRASIL, Norma regulamentadora Nº 15. **Atividades e operações insalubres, anexo 1**. 1978.
- BROWN, M.A.; REED, R.B.; HENRY, R.W. Effects of dehydration mediums and temperature on total dehydration time and tissue shrinkage. **J Int Soc Plastination** 17:28–33, 2002.
- BURKEL, W.E.; MUELLER, D.A.; FOLLO, J.; WESSELS, L. Formaldehyde neutralization in embalmed cadavers using monoethanolamine. **The 16th Annual Meeting of the American Association of Clinical Anatomists**. Iowa City, IA, 1999.
- CHAYNES, P.; MINGOTAUD, A.F. Analysis of commercial plastination agents. **Surg Radiol Anat** 26:235–238, 2004.

COHN, F. Letter to the Editor. Re-inventing Anatomy: The Impact of Plastination On How We see the Human Body. **Clin Anat**;15:443-44,. 2012.

COLEMAN, R. Reducing the levels of formaldehyde exposure in gross anatomy laboratories. **The Anatomical Record**, 243(4), 531–533, 1995.

COLEMAN, R.; KOGAN, I. An improved low-formaldehyde embalming fluid to preserve cadavers for anatomy teaching. **J. Anat.**192:443-446, 1998.

COOK, P.; AL-ALI, S. Submacroscopic interpretation of human sectional anatomy using plastinated E12 sections. **J Int Soc Plastination** 12:17–27, 1997.

CRAIG, S.; TAIT, N.; BOERS, D. *et al.* Review of anatomy education in Australian and New Zealand medical schools. **ANZ J Surg**; 80:212–216. 22. 2010.

DEJONG, K.; HENRY, R.W. Silicone plastination of biological tissue: cold temperature technique Biodur™ S10/S15 technique and products. **J Int Soc Plastination**, 20:36-7, 2007.

DIXIT, D. Role of standardized embalming fluid in reducing the toxic effects of formaldehyde. **Indian J. of Forensic Med. & Tox.**2(1), 2008.

DUHAYON, S.; HOET, P.; VAN MAELE-FABRY, G.; LISON, D. Carcinogenic potential of formaldehyde in occupational settings: a critical assessment and possible impact on occupational exposure levels. **Int Arch Occup Environ Health**: 81(6):695-710, 2008.

ECKEL, H.E.; SITTEL, C.; WALGER, M.; SPRINZL, G.; KOEBKE, J. Plastination: A new approach to morphological research and instruction with excised larynges. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 102:660–665, 1993.

EIROA, M.; VILAR, A.; KENNES, C.; VEIGA, M.C. Biological treatment of industrial wastewater containing formaldehyde and formic acid. Nota técnica. **Water SA** Vol. 32 No. 1, 2006.

FASEL, J.; MOHLER, R.; LEHMANN, B. A technical note for improvement of the E12 technique. **J Int Soc Plastination** 2:4–7. 1988.

FONSECA, G. R.B.C; FINN, G. M. The impact of body worlds on adult visitors' knowledge on human anatomy: A preliminary study. **Clin. Anat.**, 29: 439–445, 2016.

FOX C.H.; JOHNSON F.B.; WHITHING J.; ROLLER P.P. Formaldehyde fixation. **J. Histochem. Cytochem.** 33:843-853. 1985.

GARDETTO, A.; DABERNIG, J.; RAINER, C.; PIEGGER, J.; PIZA-KATZER, H.; FRITSCH, H. Does a superficial musculoaponeurotic system exist in the face and neck? An anatomical study by the tissue plastination technique. **Plast Reconstr Surg** 111:664–672, 2003.

GLOVER, R.A.; HENRY, R.W.; WADE, R.S. Polymer Preservation Technology: POLY-CUR. A Next Generation Process for Biological Specimen Preservation. **J Int Soc Plastination** 13(2):39, 1998.

GROSCURTH, P.; EGGLI, P.; KAPFHAMMER, G.; RAGER, G.; HORNUNG, J.P.; FASEL, J.D.H. Gross anatomy in the surgical curriculum in Switzerland: Improved cadaver

preservation, anatomical models and course development. **The Anatomical Record** 265:254-256, 2001.

GUBBINS, R.B.G. Design of a plastination laboratory. **J Int Soc Plastination** 4:24-27, 1990.

HENRY, R.W. Update on polyester plastination(P40)! Where have all the “orange spots” gone? **J Int Soc Plastination** 13(2):30, 1998.

HENRY, R.W. Vacuum and vacuum monitoring during silicone plastination. **J Int Soc Plastination**, 20:37, 2005.

HENRY, R.W.; LATORRE, R. P40 technique for brain slices. **Journal of Int Soc Plastination** 22 59-68. 2007.

HENRY, R.W.; WEIGLEIN, A. Sheet plastination of brain slices - P40 procedure. **J Int Soc Plastination** 14(2):32, 1999.

HEPTONSTALL, N.B.; ALI, T.; MANKAD, K. Integrating radiology and anatomy teaching in medical education in the UK: the evidence, current trends, and future scope. **Acad Radiol** 23:521–526, 2016.

HOLLADAY, S.D.; BLAYLOCK, B.L.; SMITH, B.J. Risk factors associated with plastination: I. Chemical toxicity considerations. **J Int Soc Plastination** 16: 9-13, 2001.

HOLT, N.F. Medical students need more radiology education. **Acad Med**; 76:1. 2001.

IMAIOS SAS. Brain: atlas of human anatomy in MRI. Disponível em: <<https://www.imaios.com/en/e-Anatomy/>> Acesso em: 08 de fevereiro de 2019.

JACK, A.; BURBRIDGE, B. The utilization of radiology for the teaching of anatomy in Canadian medical schools. **Can Assoc Radiol J** 63:160–164, 2012.

JANCZYK, P; WEIGNER, J.; LUEBKE-BECKER, A.; KAESSMEYER, S.; PLENDL, J. Nitrite pickling salt as an alternative to formaldehyde for embalming in veterinary anatomy—A study based on histo- and microbiological analyses. **Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger**; Volume 193, Issue 1, Pages 71-75, 2011.

JIMENES, C.J.; ARENE, R.E.; CHAVEZ, R. Técnica de conservación de cadáveres y tejidos orgánicos. **Universidad Complutense de Madrid, España**. Complucad International S.A. 1998.

JONES, D.G. The public display of plastinates as a challenge to the integrity of anatomy. **Clin Anat**;29(1):46–54, 2016.

KLEIN, R C.; KING, C; CASTAGNA, P. Castagna. Controlling Formaldehyde Exposures in an Academic Gross Anatomy Laboratory. **Journal of Occupational and Environmental Hygiene**, 11:3, 127-132, 2014

KOSLOWSKY, T.C.; SCHLIWA, S.; KOEBKE J. Presentation of the microscopic vascular architecture of the radial head using a sequential plastination technique. **Clin Anat** 24:721–732, 2011.

- LATORRE, R.; ARENCIBIA, A.; GIL, F.; RIVERO, M.; RAMIREZ, G.; VAQUEZ-AUTON, J.M.; HENRY, R.W. Sheet plastination with polyester: an alternative for all tissues. **J Int Soc Plastination** 19:33-39, 2004.
- LATORRE, R.M.; REED, R.B.; GIL, F.; LOPEZ-ALBORS, O.; AYALA, M.D.; MARTINEZ-GOMARIZ, F.; HENRY, R. W. Epoxy impregnation without hardener: To decrease yellowing, to delay casting, and to aid bubble removal. **J Int Soc Plastination** 17:17–22, 2002
- LISCHKA, M. Establishing and operating a plastination laboratory at the Institute of Anatomy, University of Vienna. **J Int Soc Platination** 1(1): 12-16, 1987.
- LOMBARDERO, M.; YLLERA, M. M.; COSTA-E-SILVA, A.; OLIVEIRA, M. J.; FERREIRA, P. G. Saturated salt solution: a further step to a formaldehyde-free embalming method for veterinary gross anatomy. **J. Anat.**, 231: 309-317, 2017.
- LORETI, F.A. A method for the dry conservations of anatomical preparations. **Anat Anz** 13:466-9, 1972.
- LOZANOFF, S. Letter to the Editor. Re-inventing Anatomy: The Impact of Plastination On How We see the Human Body. **Clin Anat**;15:441-442, 2002.
- MACCHI, V.; PORZIONATO, A.; STECCO, C.; VIGATO, E.; PARENTI, A.; DE CARO, R. Histo-topographic study of the longitudinal anal muscle. **Clin Anat** 21:447–452, 2008.
- MILES, K.A. Diagnostic imaging in undergraduate medical education: an expanding role. **Clin Radiol** 60:742–745, 2005.
- MITCHELL, B.S.; WILLIAMS, J.E. Trends in radiological anatomy teaching in the U.K. and Ireland. **Clin Radiol**; 57:1070–1072. 20. 2002.
- MOHAMED, E.; STUART, B. Best teaching practices in anatomy education: A critical review. **Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger**, Volume 208, Pages 151-157, ISSN 0940-9602, novembro de 2016.
- NATHAN H. A simple method for embalming human cadavers intracardiac injection. **Acta Anat.**, 77:155-9, 1970.
- NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH. Criteria for a recommended standard. Occupational exposure to formaldehyde. **DNEW (NIOSH)** Publ. 77-126. U.S. Government Printing Office, Washington, DC. 1976.
- OLIVEIRA, S.V.W.D.; ZAIAT, M. Gerenciamento de solução de formol em laboratórios de anatomia. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, 1:18-25, 2005.
- OOSTROM, K. Fixation of tissue for plastination: general principles. **J Int Soc Plast** 1:3-11. 1987.
- O’SULLIVAN, E.; MITCHELL, B.S. Plastination for gross anatomy teaching using low cost equipment. **Surg Radiol Anat** 17:277–281, 1995.
- OTTONE, N. E.; DEL SOL M. & FUENTES, R. Report on a sheet plastination technique using commercial epoxy resin. **Int. J. Morphol.**, 34(3):1039-1043, 2016.

- OTTONE, N.E. Gunther von Hagens, Creador de la Plastinación. Reseña Histórica y Desarrollo de la Técnica. **Rev. Arg. Anat. Onl.**; 4(2): 70 – 76., 2013.
- OTTONE, N. E.; BAPTISTA, C. A.; LATORRE, R.; BIANCHI, H. F.; DEL SOL, M.; FUENTES, R. E12 sheet plastination: Techniques and applications. **Clin. Anat.**, 31: 742-756, 2018.
- PENTEA, M.; HULEA, C.; STANCU, A.; BUTNARIU, M.; ROMEO, C. Developing the Plastination Laboratory for the Technique S10. **Materiale plastice**. 53. 15-153, 2016.
- PEREIRA-SAMPAIO, M.A.; MARQUES-SAMPAIO, B.P.S.; SAMPAIO, F.J.B.; HENRY, R.W. Shrinkage of Renal Tissue after Impregnation via the Cold Biodur Plastination Technique. **The Anatomical Record: advances in integrative anatomy and evolutionary biology** , v. 294, p. 1418-1422, 2011.
- PERKINS, J.L., KIMBROUGH, J.D. Formaldehyde exposure in a gross anatomy laboratory. *J. Occup. Med.*, 27:813-815, 1985.
- PERUMAL, V. A sectional anatomy learning tool for medical students: development and user-usage analytics. **Surg Radiol Anat** 40: 1293-1300, 2018.
- PHILLIPS, A.W.; SMITH, S.G.; STRAUS, C.M. The role of radiology in preclinical anatomy: a critical review of the past, present and future. *Acad Radiol* 20:297–304, 2013.
- REED R.B.; HENRY, R.W. Shrinkage assessment with classic plastination dehydrants. *J Int Soc Plastination* 17:9–11, 2002.
- RIOUX, J.P.; MYERS, R.A.. Methylene chloride poisoning: a paradigmatic review. **J Emerg Med.** 6 (3): 227–238, 1988.
- RODRIGUES, H. **Técnicas Anatômicas**. 4ª ed. Vitória, Brasil. 2010.
- SAGOO, M.G.; ADDS, P.J. Low-temperature dehydration and room-temperature impregnation of brain slices using Biodur™ S10/S3. **J Int Soc Plastination**, 25, 3-8, 2013.
- SAWAD, A.A.; AL-ASADI, F.S. Establishing a plastination laboratory at the College of Veterinary Medicine, University of Basra, Iraq. **The Journal of Plastination** 26(2):30- 33, 2014.
- SCALI, F.; NASH, L.G.; PONTELL, M.E. Defining the morphology and distribution of the alar fascia: A sheet plastination investigation. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 124:814–819, 2015.
- SCHILL, V.K. General issues of safety in plastination. **The Journal of Plastination** 30 (1): 27-36, 2018.
- SEMPERE, T.; VILLA, D.; JOVE, M.; TORRENTE, M.; COBOS, P.; PIERA, V. Teaching radiological anatomy. **Eur J Anat** 15:73–84, 2011.
- SHANTHI, P.; SINGH, R.R.; GIBIKOTE, S.; RABI, S. Comparison of CT numbers of organs before and after plastination using standard S-10 technique. **Clin Anat.**, 28:431–435, 2015.

SILVA, G.R.; CORTEZ, P.O.B.; LOPES, I.S.L.; TEIXEIRA, B.A.C.B.; LEAL, N.M.S. Métodos de conservação de cadáveres humanos utilizados nas faculdades de medicina do Brasil. **Rev Med (São Paulo)**. 2016 out.-dez.;95(4):156-61.

SLEEK, G.; HOUSE, H.W.; CLARK, M.W. Measurement of formaldehyde levels in a gross anatomy laboratory with and without a formaldehyde neutralizing solution. **Physical Therapy**. Cincinnati, OH, 2002.

SORA, M.C.; BRUGGER, P.; TRAXLER, H. P40 plastination of human brain slices: Comparison between different immersion and impregnation techniques. **J Int Soc Plastination** 14(1):22-24, 1999.

SORA, M.C.; JILAVU, R.; MATUSZ, P. Computer aided three-dimensional reconstruction and modeling of the pelvis, by using plastinated cross sections, as a powerful tool for morphological investigations. **Surg Radiol Anat.**, 34(8):731-736, 2012.

SORA, M.C.; COOK, P. Epoxy plastination of biological tissue: E12 technique. **J Int Soc Plastination** 22:31-39, 2007.

STEINKE, H.; PFEIFFER, S.; SPANEL-BOROWSKI, K. A new plastination technique for head slices containing brain. **Ann Anat** 184:353–358, 2002002E

TIANZHONG, Z.; KEMING, Z. Plastination at room temperature. **Chinese Journal of Anatomy**, 21(5) 451-454, 1998.

THORPE-LOWIS, C.G.; ZHANG M.; AMIN, N.F. Fine configuration of thoracic type II meningeal cysts: Macro- and microscopic cadaveric study using epoxy sheet plastination. **Spine (Phila Pa 1976)**41:E1195–E1200, 2016.

TOMPSETT, D.H. **Anatomical Techniques**. Edinburgh and London: E & S Livingstone, 240p. 1956.

ULFIG, N., WUTTKE, M. Plastination of stained sections of the human brain. **Anatomischer Anzeiger** 170: 309–312, 1990.

VON HAGENS, G. **Heidelberg Plastination Folder: Collection of technical leaflets for plastination Biodur Products**, Rathausstrasse 18, Heidelberg, 69126. pp. 2:1-6, 3:1-13, 4:1-20, 5:1-17, 1986.

VON HAGENS, G. Impregnation of soft biological specimens with thermosetting resins and elastomers. **Anat Rec** 194(2):247–255, 1979.

VON HAGENS, G.; TIEDEMANN, K.; KRIZ, W. The current potential of plastination. **Anat Embryol** 175:411–421, 1987.

WINDISCH, G.; WEIGLEIN, A.H. Anatomy of synovial sheaths in the talocrural region evaluated by sheet plastination. **J Int Soc Plastination** 16:19–22, 2001.

WORLD MEDICAL ASSOCIATION. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects.. **Bulletin of the World Health Organization**, 79 (4), 373 - 374. World Health Organization, 2001.