



Cadáveres quimicamente preservados com Solução de Larssen modificada - um método alternativo de conservação

João Vitor Monteiro Dorta de Souza¹

Mara Célia Dambros²

Nayara Thays Ribeiro Paulino¹

Giuliano Roberto Gonçalves¹

Leandro Henrique Grecco¹

RESUMO

A utilização de animais em pesquisa e em treinamentos de técnicas cirúrgicas tem sido discutida no meio científico. Na tentativa de apurar a metodologia, diminuir o número de animais e consequentemente reduzir o custo dos experimentos métodos alternativos de conservação têm sido desenvolvidos. O presente estudo analisou, de forma qualitativa, a utilização da solução de Larssen modificada em cadáveres de animais como meio alternativo de conservação. Foram utilizados quatro suínos que após eutanásia, foram tratados com a solução de Larssen modificada e alocados em um freezer para criopreservação. Os espécimes foram descongelados e avaliados após seis semanas do procedimento, por meio de um questionário previamente elaborado. Oito professores realizaram a avaliação onde seis avaliadores julgaram que houve uma melhora considerável e relataram que o odor esteve pouco perceptível. Em relação ao aspecto externo do espécime, três avaliadores julgaram ausência de sinais de putrefação e alterações cutânea. Por fim, em relação à possibilidade de treinamento cirúrgico, seis avaliadores julgaram que o espécime em estudo permite treinamento intenso e satisfatório de todas as manobras operatórias. Portanto, a técnica de conservação mostrou ser eficaz e de real importância pois poderá diminuir o uso de animais bem como os custos para a realização de aulas práticas in vivo.

Termos de indexação: Soluções para Preservação de Órgãos; cadáveres; Técnicos em Manejo de Animais; Modelos Animais.

ABSTRACT

The use of animals in research and training in surgical techniques has been discussed in the scientific community. Alternative conservation methods have been developed in an attempt to refine the methodology, reduce the number of animals and consequently reduce the cost of experiments. The present study analyzed, in a qualitative way, the use of the modified Larssen solution in animal corpses as an alternative means of conservation. Four pigs were used which, after euthanasia, were treated with the modified Larssen solution and placed in a freezer for cryopreservation. The specimens were thawed and evaluated six weeks after the procedure, using a previously prepared questionnaire. Eight teachers carried out the evaluation where six evaluators judged that there was a considerable improvement and reported that the odor was barely noticeable. Regarding the external aspect of the specimen, three evaluators judged the absence of signs of putrefaction and skin changes. Finally, in relation to the possibility of surgical training, six evaluators judged that the specimen under study allows for intense and satisfactory training of all operative maneuvers. Therefore, the conservation technique has proved to be effective and of real importance as it may reduce the use of animals as well as the costs for conducting practical classes in vivo.

Indexing terms: Organ Preservation Solutions, Cadaver, Animal Technicians; Models, Animal.

¹Laboratório de Anatomia Humana. Instituto e Centro de Pesquisas da Faculdade São Leopoldo Mandic. Campinas, SP, Brasil. Correspondência para: JVMD Souza. E-mail: joaovitor4673@hotmail.com,

²Universidade Anhembi Morumbi. Piracicaba – SP

Como citar este artigo / How to cite this article

Souza JVMD, Dambros MD, Paulino NTR, Gonçalves GR e Grecco LH. Cadáveres quimicamente preservados com Solução de Larssen modificada - um método alternativo de conservação. InterAm J Med Health 2020;3:e202003055.



INTRODUÇÃO

A dissecação cadavérica é considerada fundamental e indispensável no aprendizado da anatomia humana, sendo um conhecimento essencial para as práticas clínicas [1]. Existe uma ligação direta entre a dissecação e a aquisição de habilidades clínicas/cirúrgicas [2], levando ao praticante (aluno ou profissional) uma compreensão multidimensional da organização do corpo humano, com reforços visuais, e táteis [3]. Deste modo, o uso de peças anatômicas cadavéricas se faz indispensável para o ensino, pois contribuem para o enriquecimento das habilidades aplicativas, assimilativas e compreensivas [4, 5]

Sem cadáveres disponíveis para estudos e dissecações, o conhecimento do aluno pode ficar abaixo do padrão exigido para a prática clínica confiável, e isso é muito crítico, pois o número de eventos adversos (erros clínicos) vem crescendo exponencialmente, a medida que a carga horária destinada para anatomia humana cadavérica nas universidades vem perdendo espaço [6]. Isso traz uma grande preocupação, uma vez que a deficiência no conhecimento anatômico em residentes e cirurgiões é potencialmente perigosa [7], favorecendo habilidades inadequadas, levando a práticas clínicas incorretas [8-10].

No entanto, a partir do seccionamento da lei federal 8501, que regulamenta a destinação de cadáveres legalmente não reclamados para fins educacionais e de pesquisa, as dificuldades enfrentadas pelas instituições de ensino superior para adquiri-los têm aumentado [5, 11]. Da mesma forma, nos últimos anos, o número de órgãos doados para instituições de ensino diminuiu [5].

Para tentar suprir essa demanda acadêmica fundamental, o uso de animais para práticas cirúrgicas têm sido a alternativa. Os animais vêm sendo utilizados durante séculos por médicos e pesquisadores com objetivo de aprimorar suas habilidades cirúrgicas e para conhecer melhor o funcionamento de órgãos e sistemas do corpo humano. William Russel e Burch publicaram o livro "Principles of Human Experimental Technique" em 1959, onde foi estabelecido o princípio dos 3R's, Reduction, Refinement e Replacement (Redução, substituição de animais e refinamento de técnicas empregadas na experimentação) que possibilitou a união de pesquisadores e defensores do bem-estar animal em busca de alternativas cientificamente válidas para os testes feitos em animais, com o objetivo de diminuir o número de animais além de minimizar a dor e o desconforto [12]. Utilizados em pesquisa, esses animais devem ser acondicionados, alimentados e mantidos nas melhores

condições de higiene e saúde possível, de modo que possam ser utilizados para propósitos científicos.

Para que os animais mantenham características semelhantes a aquelas encontradas num ser humano vivo, faculdades de medicina tem procurado novas formas de conservação e manutenção desses cadáveres[13]. Por esse motivo, cresce o interesse por métodos alternativos dentro da comunidade científica na tentativa de refinar a metodologia, diminuir o número de animais utilizados em experimentação e consequentemente reduzir o custo dos experimentos e aulas práticas [14].

Os fixadores mais comumente empregados no Brasil são formol, álcool etílico, glicerina e fenol. O formol é, sem dúvidas, a solução de fixação mais utilizada no meio científico e acadêmico, seja para pesquisa e estudo, ou para manutenção da integridade corporal do cadáver. Entretanto, essa substância altera características como maciez, flexibilidade e coloração [15].

Um método alternativo para o uso de animais no ensino de técnicas cirúrgicas é a utilização da solução de Larssen modificada em conjunto com a criopreservação, conservando os cadáveres de animais para posteriores treinamentos cirúrgicos. Esse método mantém as características dos cadáveres semelhantes às encontradas no animal vivo, como coloração e consistência dos tecidos e flexibilidade das articulações [16].

O objetivo do presente trabalho foi analisar, de forma qualitativa, a utilização da solução de Larssen modificada em cadáveres de animais, no intuito de reduzir o número de animais para experimentação e ajudando estudantes em treinamentos de diferentes técnicas de procedimentos cirúrgicos.

MÉTODOS

O presente estudo foi realizado nos laboratórios de Anatomia Humana e Técnicas Cirúrgicas da Faculdade São Leopoldo Mandic/Campinas. O mesmo foi do tipo exploratório, descritivo, prospectivo, de natureza qualitativo, que foi realizado no período de março a novembro de 2018, após aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da instituição (2017/015)

Animais

Foram utilizados 4 suínos da raça Large White, com peso médio de 20 kg, ambos os gêneros com idade de 3 meses, provenientes do curso de Medicina, da Faculdade São Leopoldo Mandic, utilizados como modelo animal para treinamento de técnicas cirúrgicas para discentes. Os animais foram alocados na pocilga do Biotério, com livre

Eutanásia

Após o término de cada aula da Disciplina de Técnica Cirúrgica, imediatamente a eutanásia, o animal passou por higienização para lavagem dos orifícios naturais e esvaziamento do trato intestinal através de jato de água por via retal.

Solução de Larssen

A solução escolhida para fixação dos animais, denominada Solução de Larssen modificada, era composta pelos seguintes materiais: 100 ml de formalina a 10%, 400 ml de glicerina líquida, 200 g de hidrato de cloral, 200 g de sulfato de sódio, 200 g de bicarbonato de sódio, 180 g de cloreto de sódio e 200 ml de água destilada. Para homogeneização da solução-mãe, foi adicionado, de forma gradativa, cada uma dessas substâncias em água destilada, intercalando-se as substâncias líquidas com as encontradas em forma de pó. Após a homogeneização da solução-mãe foi adicionado água destilada de forma a obter a diluição de uma parte da solução para três partes de água destilada. A solução foi acondicionada em recipiente plástico com tampa e identificados com data e o nome do responsável pelo preparo.

Procedimentos

Após a higienização, o animal foi colocado em decúbito dorsal sobre uma calha, permitindo o acesso à veia jugular interna e artéria carótida comum, que foram expostas após a incisão com bisturi na região ventral do pescoço, divulsionando os músculos esterno-cefálico e esterno-hioide. Após ter identificado a artéria carótida comum e a veia jugular interna, foi realizado uma lavagem do circuito vascular com injeção de solução fisiológica pela artéria carótida comum e extravasamento pela veia jugular interna, e uma segunda lavagem, pelas mesmas vias, com a Solução de Larssen modificada num volume correspondente a 5% do peso corpóreo do animal.

Após a drenagem do líquido pela veia jugular interna, o fluxo foi interrompido por ligaduras e então iniciado o procedimento de injeção do fixador. O volume injetado nesta etapa foi correspondente a 10% do peso corpóreo do animal. Quando todo o volume foi injetado, uma ligadura na artéria carótida comum para interrupção do fluxo foi realizada.

Após a fixação, os cadáveres foram acondicionados em sacos plásticos, devidamente identificados e criopreservados em um freezer com temperatura entre -20°C e -16°C, localizado no Biotério da instituição. Os cadáveres foram retirados do freezer seis semanas após

o procedimento e mantidos em tanques com água, para o descongelamento, por 24 horas. Aproximadamente 1 hora antes da utilização, os cadáveres foram higienizados e colocados sobre as mesas da sala de Técnica Cirúrgica.

Questionário

Instrumento de coleta de dados Senhor Professor,

- 1- Já havia trabalhado com cadáveres em aulas práticas?
 - Sim, frescos
 - Sim, quimicamente tratados (formol...)
 - Não
- 2- Já trabalhou com animais vivos em aulas práticas?
 - Sim
 - Não
- 3- Em relação a qualidade do cadáver apresentado e os demais trabalhados anteriormente, considera:
 - Houve melhora considerável
 - Houve pequena melhora
 - Não houve melhora
 - Houve piora
- 4- Avalie as características dos cadáveres em relação aos cadáveres trabalhados anteriormente:
 - A- Quanto ao odor de putrefação
 - Redução
 - Aumento
 - Sem modificação
 - B- Quanto à flexibilidade
 - Redução
 - Aumento
 - Sem modificação 2
 - C- Quanto ao aspecto externo:
 - Muito bom – ausência de sinais de putrefação e alterações cutâneas
 - Bom – ausência de sinais de putrefação
 - Regular – Início de putrefação
 - Ruim – em putrefação
 - D- Quanto à possibilidade de treinamento cirúrgico:
 - Permite treinamento intenso e satisfatório
 - Não permite treinamento adequado
 - É adequado somente à alguns treinamentos, como:
 - Incisões
 - Suturas
 - Lapartomia
 - Drenagem de Tórax
 - Acesso Vascular
 - Traqueostomia
 - Anastomose intestinal
 - Outros:

A avaliação dos cadáveres foi realizada por meio de um questionário distribuído aos professores da disciplina de Anatomia Humana e de Técnicas Cirúrgicas do Curso de Medicina e Odontologia da Faculdade São Leopoldo Mandic.

Este questionário avaliou se os profissionais já haviam trabalhado com animais vivos ou cadáveres em aulas práticas (frescos ou quimicamente tratados); a comparação entre o cadáver preservado com a solução de Larssen Modificada e os trabalhos anteriormente em relação à qualidade do cadáver, ao odor de putrefação, flexibilidade de articulações, aspectos externos e a possibilidade de treinamento cirúrgico.

As manobras operatórias analisadas pelos professores foram: Incisões, suturas, laparotomia, drenagem de tórax, acesso vascular, traqueostomia, anastomose intestinal.

RESULTADOS

Oito professores da disciplina de Anatomia Humana e Técnicas Cirúrgicas da Faculdade São Leopoldo Mandic que já haviam trabalhado tanto com cadáveres quimicamente tratados quanto com animais vivos em aulas práticas realizaram a avaliação. Foi avaliado o odor de putrefação, a flexibilidade, o aspecto externo (figura 1), a possibilidade de treinamento cirúrgico.



Figura 1. Aspecto geral dos animais após descongelamento para avaliações

Em relação a qualidade do cadáver, dos oito avaliadores, seis julgaram que houve melhora considerável da qualidade do cadáver em estudo comparado aos demais trabalhos anteriormente, enquanto dois julgaram que houve uma pequena melhora. Em relação ao odor de putrefação, seis avaliaram que houve redução do odor de putrefação e dois relataram que não houve modificação. Já em relação a flexibilidade (figura 2), cinco julgaram ter tido aumento da flexibilidade e três julgaram não ter tido modificação do cadáver em estudo quando comparado com os demais trabalhos anteriormente. Em relação ao

aspecto externo do cadáver, três avaliadores julgaram com ausência de sinais de putrefação e alterações cutâneas (muito bom), três julgaram com início de putrefação (regular) e um julgou com ausência de sinais de putrefação (aceitável). (Tabela 1)



Figura 2. Avaliação da flexibilidade do animal

Tabela 1. Avaliação das características dos cadáveres.

	Ótimo/Pouco perceptível (n)	Aceitável/Discreto (n)	Inaceitável/Muito perceptível (n)
Quanto ao odor de putrefação	75% (6)	25% (2)	0
Quanto à flexibilidade	62,5% (5)	37,5% (3)	0
Quanto ao aspecto externo	75% (6)	25% (2)	0

Por fim, em relação à possibilidade de treinamento cirúrgico, seis avaliadores julgaram que o cadáver em estudo permite treinamento intenso e satisfatório de todas as manobras operatórias citadas no anexo 1, enquanto 2 avaliadores julgaram adequado somente à alguns treinamentos. Dentre os que julgaram como adequado somente à alguns treinamentos, um dos avaliadores julgou adequado para treinamento de incisões (Figura 3A), suturas, laparotomia (figura 3B), acesso vascular, anastomose intestinal e acrescentou o treinamento de

dissecção no espaço reservado para citação; enquanto o outro julgou adequado para treinamento de incisões, suturas, laparotomia, drenagem de tórax, acesso vascular e anastomose intestinal, excluindo apenas a traqueostomia devido à realização prévia do procedimento. (Tabela 2)



Figura 3. Aspecto geral das possibilidades cirúrgicas avaliadas. A) Treinamento de incisões. B e C) Treinamento de laparotomia.

Tabela 2. Quanto à possibilidade de treinamento cirúrgico

	Satisfatório % (n)	Insatisfatório % (n)
Incisões	100 (8)	0 (0)
Suturas	100 (8)	0 (0)
Laparotomia	62,5 (5)	37,5 (3)
Drenagem de Tórax	62,5 (5)	37,5 (3)
Acesso Vascular	62,5 (5)	37,5 (3)
Traqueostomia	75 (6)	25(2)
Anastomose intestinal	0 (0)	100 (8)

DISCUSSÃO

A solução de Larssen Modificada tem como vantagem preservar os tecidos animais de forma que suas características organolépticas (textura, coloração e odor) permanecem similares às de um animal vivo, além de preservar a flexibilidade de membros e articulações. [17] De acordo com a avaliação realizada pelos professores da disciplina de Anatomia e Técnicas Cirúrgicas, juntamente com os coordenadores do curso de Medicina da Faculdade São Leopoldo Mandic, pode-se observar que o método foi adequado à finalidade do treinamento de Técnicas Cirúrgicas por alunos visto que cumpriu com seu papel de

preservar os tecidos animais.

Nesse estudo, 100% dos avaliadores julgaram que houve melhora da qualidade do cadáver preservado com a Solução de Larssen comparado aos demais trabalhado anteriormente. Dessa forma, conclui-se que os animais conservados com essa solução são adequados para cursos de treinamento cirúrgico de alunos na disciplina de técnicas cirúrgicas, visto que mantem as características organolépticas dos animais preservadas, reduz o odor de putrefação e oferece preservação a longo prazo.

Bilge & Celik (2017), compararam a solução de Larssen e criopreservação em cadáveres humanos foram

avaliados por 30 treinadores e 252 treinandos durante o curso práticos de disciplinas médicas. Corroborando com nossos resultados, não encontraram alterações da coloração da pele, dos músculos, tecido gorduroso, nervos e vasos, bem como não teve cheiro perturbador nem sinais de putrefação após procedimentos abertos e laparoscópicos, mesmo após o quinto degelo.[18]

Com o desenvolvimento das políticas de bem-estar animal, passou-se a se ponderar sobre o uso de animais vivos para o ensino, os limites de atuação do ser humano para com estes, bem como a redução de seu uso nestas práticas [19]. A substituição de modelos in vivo por cadáveres preservados é uma alternativa viável tanto para redução do número de animais utilizados em aulas práticas, quanto para redução do custo aplicado para a manutenção de um animal vivo durante o treinamento cirúrgico. Além de reduzir o custo e o número de animais vivos em aulas práticas, a substituição de animais vivos por cadáveres preservados permite treinamento intenso e satisfatório dos alunos, visto que uma maior quantidade de animais pode ser disponibilizado para utilização, sendo possível reutilizá-los

Sampaio (1992), em estudo sobre o crescimento do rim humano no período fetal, utilizou o líquido de Larssen, conforme a fórmula utilizada pelo Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Cochin, da Universidade René Descartes Paris, França, num estudo sobre o desenvolvimento renal na gestação, para preservar fetos humanos mantendo as características, como cor e consistência de peças anatômicas.[20] Silva et al. (2004), em estudo para avaliar a preservação de características organolépticas de cadáveres, utilizou a solução de Larssen modificada, alterando a quantidade dos sais e do formol, com aumento na concentração final destes e adicionando glicerina líquida, obtendo bons resultados e permitindo a reutilização de cadáveres por até quatro vezes. Segundo os autores, os cadáveres conservados com a solução de Larssen mantém a coloração e textura tecidual semelhante às observadas in vivo e livres de odores. [15]

O crescimento da abordagem ética em relação ao uso de modelo in vivo no ensino e na pesquisa, e o surgimento de métodos alternativos ao uso de animais, vem fomentando a necessidade de estudos sobre a adequação da substituição. Com conservação de cadáver adequada sugerida pelo método de Larssen será possível minimizar o número de animais vivos utilizados em aulas práticas da disciplina de técnicas cirúrgicas para treinamento de alunos, reduzindo custos; permitir o

ensino e o treinamento de diferentes técnicas cirúrgicas e seus respectivos tempos e disponibilizar maior número de cadáveres de animais para o treinamento de alunos, permitindo assim, que um número maior de estudantes pratique a técnica que está sendo ensinada.

CONCLUSÃO

A técnica de preservação de animais com Solução de Larssen Modificada mostrou ser eficaz e de real importância pois conserva as características do tecido dos animais, bem como a flexibilidade das articulações, deixando-o semelhante às do animal vivo. Por fim, pode-se concluir que o método é uma boa alternativa para a substituição de animais vivos por cadáveres conservados com a Solução de Larssen e contribui com a redução do número de animais utilizados para treinamento e dos custos para a realização de aulas práticas, além de proporcionar um melhor treinamento cirúrgico.

REFERÊNCIAS

1. Khan AN, Baig S, Zain SJPJoM, Dentistry. Importance of cadaveric dissection in learning gross anatomy. 2014;3(04):31.
2. Guttman GD, Drake RL, Release RAJTAR. To what extent is cadaver dissection necessary to learn medical gross anatomy? A debate forum. 2004;281(1):2-3. 10.1002 <http://dx.doi.org/10.1002/ar.b.20042>
3. AzizMA, MckenzieJC, WilsonJS, CowieRJ, AyeniSA, DunnBK. The human cadaver in the age of biomedical informatics. *Anat Rec.* 2002;269(1):20-32. <https://dx.doi.org/10.1002/ar.10046>
4. Houser JJ, Kondrashov PJMm. Gross anatomy education today: the integration of traditional and innovative methodologies. *Mo Med.* 2018;115(1):61.
5. Lopes IdSL, Teixeira BdACB, Cortez POBC, da Silva GR, de Sousa Neto AI, de Sousa Leal NMJASBS. Use of human cadavers in teaching of human anatomy in brazilian medical faculties. *Acta Sci Biol Sci.* 2017;39(1):1-
6. Makary MA, Daniel MJB. Medical error—the third leading cause of death in the US. *BMJ.* 2016; 3 (353): i2139. <https://dx.doi.org/10.1136/bmj.i2139>
7. Periya SN, Moro CJTBMJ. Applied learning of anatomy and physiology: virtual dissectiontables within medical

- and health sciences education. *BDMS*. 2019;15(1):121. <https://dx.doi.org/10.31524/bkkmedj.2019.02.021>
8. Ahern TEAM. Clinician involvement in the teaching of anatomy to medical students. 2015;8(7):247.
9. Beser CG. The importance of the anatomical variations in life. *IJAV*.2018.
10. Singh R, Tubbs RS. Effect of cervical siphon of external and internal carotid arteries. *J Craniofac Surg*. 2017;28(7):1857-1860. <https://dx.doi.org/10.1097/SCS.0000000000003658>
11. Melo EN, Pinheiro JT. Procedimentos legais e protocolos para utilização de cadáveres no ensino de anatomia em Pernambuco. *Rev Bras Educ Med* 2010;34(2):315-23. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-55022010000200018>
12. Cazarin KCC, Corrêa CL, Zambrone FAD. Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. 2004;40(3):289-99.
13. CuryFS, CensoniJB, AmbrósioCEJPVB. Técnicas anatômicas no ensino da prática de anatomia animal. 2013;33(5):688-96.
14. Morales MM. Métodos alternativos à utilização de animais em pesquisa científica: mito ou realidade? *Cien Cult*. 2008;60(2):33-6.
15. Silva RMGd, Matera JM, Ribeiro AAJA, Histologia, Embryologia. New alternative methods to teach surgical techniques for veterinary medicine students despite the absence of living animals. Is that an academic paradox? *Embriol Anat Histol*. 2007;36(3):220-4. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0264.2007.00759.x>
16. Matera JMJCvt. O ensino de cirurgia: da teoria à prática. 2008;11(supl 1):96-101.
17. Menezes CLMd. Preservação de cadáver de coelho (*Oryctolagus cuniculus*) com a solução de Larssen modificada para treinamento em cirurgia videolaparoscópica. 2012.
18. Bilge O, Celik SJS, Anatomy R. Cadaver embalming fluid for surgical training courses: modified Larssen solution. *Surg Radiol Anat*. 2017;39(11):1263-72. <http://dx.doi.org/10.1007/s00276-017-1865-4>
19. Magalhães M, Ortêncio Filho H. Alternativas ao uso de animais como recurso didático. *UNIPAR*. 2006;9(2).
20. Sampaio FJ. Analysis of kidney volume growth during the fetal period in humans. *Urological Research*. 1992;20(4):271-4. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00300257>