

ANÁLISE DO POTENCIAL TÓXICO E GENOTÓXICO DAS SUBSTÂNCIAS FIXADORAS PARA CADÁVERES E PEÇAS ANATÔMICAS*

NAYARA LORRAINY ROSA SANTANA, NILZA NASCIMENTO GUI-
MARÃES

Resumo: esta é uma revisão bibliográfica sobre toxicidade e genotoxicidade das principais substâncias utilizadas na preparação de cadáveres em laboratórios de anatomia, para esclarecer os riscos da exposição contínua a estes agentes. O formol e o fenol apresentam maior potencial tóxico e genotóxico encontrado, enquanto a glicerina mostrou-se o elemento mais seguro para as pessoas que manipulam as peças anatômicas.

Palavras-chave: Cadáveres. Anatomia. Riscos ocupacionais.

No intuito de impedir a proliferação de microorganismos, substâncias estabilizadoras como formaldeído (FA), glicerina, álcool etílico e o fenol são muito utilizadas para conservação de peças anatômicas. As técnicas de conservação e fixação dessas peças são de inquestionável importância para assegurar o máximo de segurança a seus manipuladores, evitando diversos problemas de saúde (SANT'ANA et al., 2008).

No Brasil o formol, o álcool etílico, a glicerina e o fenol são os fixadores mais empregados. Segundo Viegas (2010) o formol é uma solução aquosa que utiliza 45% de FA e 10% de álcool e tem função de estabilizante para os tecidos. Devido suas características físico-químicas, seu baixo custo e facilidade de penetração nos tecidos este líquido é um fixador amplamente utilizado como conservante e desinfetante, além de seu uso na fixação e conservação de tecidos em hospitais e laboratórios e no embalsamamento de cadáveres.

Os efeitos provocados por uma exposição aguda por formaldeído geralmente são transitórios, em caso de inalação os principais sintomas são as irritações nos trato respiratório e nos olhos, mas também podem causar fadiga, dificuldades da concentração, lapsos de memória, perturbações psicomotoras e variação

de humor. Já em casos de ingestão da solução pode-se observar irritação e queimaduras ao nível do trato digestivo, dor abdominal, vômitos e diarreia. Em casos mais graves de intoxicação aguda, são observados sérios danos como vômitos, irritação e constrição da garganta, vertigens, diarreia, convulsões, lesão renal, coma e morte (CARVALHO, 2013).

Acadêmicos, docentes e técnicos de laboratórios de anatomia são as classes mais expostas ao FA. Este é solúvel em água, gás incolor à temperatura ambiente, inflamável e de odor característico e intenso e que reage agilmente com o local de contato. A exposição ao formaldeído tem sido ligada ao aumento de risco de câncer nasofaringe e leucemia (CARVALHO, 2013).

O fenol tanto na forma líquida quanto na forma de cristais tornam o meio estéril, o que protege o material da ação de fungos, e não endurece os tecidos, motivo pelo qual é utilizado nas preparações para conservação de cadáveres. O fenol é mais solúvel em álcool, onde sua combinação é instantânea, enquanto com água não se mistura bem (RODRIGUES, 2005).

Segundo Rodrigues (2005) outro bom fixador de baixo custo e fácil aquisição é o álcool etílico a 96° GL, pois possui grande afinidade e conseqüentemente ótima capacidade de penetração nos tecidos. É empregado de forma isolada em animais de pequeno porte e pequenas peças anatômicas para fixar e preservá-las.

O álcool também é utilizado no método de glicerinação, auxiliando a retirada da água dos tecidos das peças permitindo a entrada da glicerina. Este método permite uma melhor conservação dos tecidos animais, com as vantagens de manter as peças anatômicas mais leves e utilizar produtos menos agressivos às peças e ao meio ambiente, com menor eliminação de vapores prejudiciais à natureza e aos manipuladores. As peças anatômicas ficam esteticamente melhores, mais macias e com conservação semelhante a da formalização, permitindo maior facilidade no seu manuseio (KIMURA; CARVALHO, 2010).

Kimura e Carvalho (2010) relatam ainda sobre a característica inodora da glicerina e que esta não irrita as mucosas e possui índice de contaminação ambiental menor que o formol. Porém, o uso do formol ainda é necessário para a fixação das peças nas fases primárias dos métodos que utilizam a glicerina para a conservação.

A técnica de Laskowski, apesar de ser mais complicada se comparada a formalização, também é muito utilizada na preparação de espécimes naturais. O método consiste na perfusão do álcool etílico 96° GL, ácido fênico e bórico nas cavidades e vasos dos cadáveres, que pode ser armazenado em urna de metal e se manterá hidratado. A técnica ainda permite o uso de corantes, mantendo a tonalidade das estruturas corporais. Entretanto existem evidências alarmantes sobre o risco genotóxico dos fenóis sobre seus manipuladores (RODRIGUES, 2005).

Existem inúmeros casos relatados de profissionais expostos em longo prazo às peças anatômicas conservadas com estes métodos, que sofrem ou que padeceram de doenças em consequência do potencial tóxico destes conservantes, como doenças pulmonares crônicas e diversos tipos de cânceres. Porém ainda não existem estudos que comprovem a relação entre todos estes materiais e a incidência destas patologias, para que se possa comprovar a real existência dos riscos ocupacionais, mesmo que seja comprovada a agressividade de alguns destes compostos em diferentes tecidos corporais.

A avaliação feita pela *International Agency for Research on Cancer*, primeiramente classificou o formaldeído como agente cancerígeno do grupo 2A (provavelmente carcinógeno), porém novas pesquisas o classificam pertencente ao grupo 1 agente potencialmente carcinogênico (IARC, 2006).

Segundo Kruget et al., (2011) uma alternativa que é progressivamente mais utilizada em laboratórios de anatomia é a formalização dos protocolos de glicerinação, onde a glicerina é associada ao álcool absoluto. A técnica de glicerinação mostra-se muito vantajosa na preservação das peças anatômicas, a glicerina age contra bactérias e fungos promovendo a desidratação das células. Porém a solução de glicerinação é pouco utilizada devido seu alto preço, onde um litro desta solução custa em média dez vezes mais que o litro de formol.

Diante desta problemática, torna-se necessária a investigação de preparações que possam ser empregadas para a fixação e conservação de peças anatômicas nos laboratórios de anatomia, que proporcionem com maior segurança para os profissionais e estudantes que as manuseiam, mas que mantenham uma boa aparência e qualidade das peças. É importante também que estes processos tenham uma boa relação custo/benefício para facilitar e assegurar uma melhor adesão das instituições de ensino e reduzir o risco ocupacional de todas as pessoas que as utilizam.

O objetivo deste trabalho foi fazer uma análise do potencial genotóxico dos líquidos utilizados nos métodos de preparação e conservação de cadáveres e peças anatômicas adotados nos laboratórios de anatomia da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Além de investigar na literatura e comparar o potencial genotóxico das substâncias mais utilizadas nas preparações de líquidos fixadores de peças anatômicas, pelos métodos de conservação de Laskowski, Giacominni e Giacominni modificado.

METODOLOGIA

Este estudo foi realizado através de uma análise seriada das publicações sobre a atividade tóxica e genotóxica das substâncias (formaldeído, glicerina, fenol, álcool etílico, ácido bórico) que compõem os líquidos utilizados nas preparações e na fixação de peças anatômicas para estudo. Foram analisadas as pesquisas publicadas em revistas eletrônicas especializadas, entre os anos 2000 e 2014. O presente estudo é de natureza descritiva, com caráter qualitativo, por meio de revisão bibliográfica integrativa, nos sites indexados PUBMED, SciElo, BIREME, e LILACS. Inicialmente o critério de escolha foram os dados mais atuais, verificando se existe a incidência de atividade tóxica e genotóxica das substâncias em questão, para posterior investigação da periculosidade e riscos da exposição direta ou indireta às misturas, considerando-se o tempo de exposição.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fixação com Formol

A solução mais comumente utilizada nos laboratórios de anatomia, incluindo os laboratórios da PUC Goiás, é o formol. Normalmente a etapa de fixação dos cadáveres

é feita com solução a 10% de formol e água. Nesta composição, a solução é extremamente volátil e suscetível de ser inalada. Assim, devido à frequência da sua utilização, à alta permeabilidade do formol nos tecidos e nas mucosas e, ainda, diante da classificação dada pela IARC para este produto como carcinógeno potencial, torna-se necessário o monitoramento cuidadoso dos profissionais que o manuseiam e do meio ambiente.

Na pesquisa realizada por Carvalho (2013) é ressaltada um aumento na taxa de mortalidade por leucemia por embalsamadores expostos a concentrações elevadas de formaldeído (FA) em curto tempo, bem como àqueles expostos a taxas menores, porém por tempo prolongado. E também foram evidenciados excessos de incidência de câncer de nasofaringe em trabalhadores industriais expostos ao formaldeído.

Além disso, dois dos três estudos de caso-controle relacionaram a exposição ocupacional ao FA a carcinomas de células escamosas da cavidade nasal e seios paranasais. Devido a estes efeitos, o uso desta substância tem sido constantemente monitorado, para avaliar os riscos e o potencial carcinogênico que ela pode causar em pessoas expostas por longos períodos.

Em 2006 uma meta-análise sobre o risco de leucemia e a exposição ao formaldeído entre os profissionais, relatou um aumento significativo quanto ao risco relativo aos embalsamadores e patologistas que trabalham com o FA em seu dia a dia. Assim, propriedades carcinogênicas foram atribuídas ao FA, considerando que o contato prolongado e contínuo a este composto gera sérios danos ao organismo podendo levar a morte (MACAGNAN; SARTORI; CASTRO, 2011).

A longa exposição a concentrações elevadas de FA apresenta um alto risco de dano ao DNA. Viegas (2010) relata que os efeitos genotóxicos são notórios em indivíduos expostos ao FA, reportando ligações DNA-proteína, troca de cromátides irmãs, aberrações cromossômicas e aumento de micronúcleos.

De acordo com a NR (Norma Regulamentadora) 15 em seu anexo número 11, o limite de tolerância do agente químico FA é de 1,6 ppm (partes de vapor ou gás por milhão de partes de ar contaminado) ou 2,3 mg/m³ (miligramas por metro cúbico de ar) em até 48 horas semanais, tendo grau máximo de insalubridade a ser considerado no ato de sua caracterização.

O FA está presente em vários processos metabólicos nas células humanas como um dos principais metabolitos intermediários do benzeno. Participa da síntese de alguns aminoácidos e é essencial na via metabólica dos carbonos, que está ligado à biossíntese de ácidos nucleicos. A redução do nível global de linfócitos e demais constituintes do sangue também demonstram o efeito hematotóxico do FA nas células sanguíneas (CARVALHO, 2013).

Um levantamento realizado por Jesus et al., (2012) sugere que casos de câncer da nasofaringe esteja ligado ao campo ocupacional e à exposição ao FA em variadas áreas de atividades. Outro ponto associado é a possibilidade de relação entre o aumento da mortalidade por leucemia e a exposição ao formaldeído.

Apesar de se conhecer o mecanismo de ação deste produto, o caminho pelo qual este agente pode causar câncer não está completamente elucidado, podendo estar envolvido em diferentes rotas do metabolismo celular. Existem diversas hipóteses sobre este fato, nomeadamente, a possibilidade de alguns dos seus metabolitos, como é o caso

do metanodiol, serem capazes de ir além dos locais iniciais de contato e a atuação do próprio formol sobre os ácidos nucleicos e aminoácidos. As consequências que podem advir de uma exposição a ele compreendem diversos eventos chave no processo de carcinogênese (CARVALHO, 2013).

Técnicas de conservação de cadáveres têm sido comparadas em diversos estudos, essas análises almejam avaliar o desconforto que o indivíduo exposto à peças anatómicas sofre diante de cada técnica, bem como comparar os aspectos morfológicos e histológicos das peças submetidas às técnicas. Esses estudos permitirão traçar uma relação custo benefício de cada técnica para propor novas alternativas mais seguras e eficazes para substituição do uso de substâncias que são sabidamente prejudiciais à saúde como o formaldeído (VERONEZ, et al., 2010).

Técnica de Conservação de Laskowski

Esta técnica é bem aceita por deixar os tecidos bem macios e com uma coloração de agradável visualização. Porém existem evidências de riscos potenciais de genotoxicidade dos fenóis sobre o organismo de quem os manipula.

O fenol é um dos metabólitos do benzeno, que é um poluente potencialmente carcinogênico. Miranda e colaboradores (1997) ressaltam que são três as principais vias de absorção que causam a intoxicação humana: digestiva, cutânea e respiratória (inalação de vapores), sendo esta última a principal fonte de contaminação, sob ponto de vista toxicológico. A absorção do composto e retenção por inalação chega a 46% do volume total e este é distribuído para vários tecidos. Por fim uma média de 30% é metabolizado pelo fígado e convertido em fenol e derivados que serão eliminados posteriormente por via urinária.

O fenol é catalisado pela CYP2E1 para os potencialmente tóxicos dioutrihidroxibenzeno, bem como hidroquinona, catecol e 1,2,4-benzenotriol, que são oxidados na medula óssea pelas mieloperoxidases (MPO) a benzoquinona, um potente agente genotóxico e hematotóxico. A benzoquinona pode ser detoxificada pelas quinonasoxireduases (NQO1) a hidroxibenzeno, que são compostos menos nocivos ao organismo (GONÇALVES, 2008).

Um estudo realizado por Mazzeo (2009) quanto à periculosidade da exposição ao fenol, cita que para que o benzeno tenha ação é necessária uma ativação metabólica por estas enzimas e assim deduz-se que são os produtos que o precedem que são os causadores de danos ao DNA. Uma vez que os resultados de testes realizados em camundongos apresentaram indicaram que o benzeno induziu micronúcleos em testes *in vivo* e o mesmo não se confirmou em testes *in vitro*, supõe-se que o fenol, enquanto metabólito intermediário do benzeno pode ser um agente ativo na causa de genotoxicidade.

O outro componente da solução de Laskowski que oferece riscos à saúde é o etanol. Tão volátil como o fenol, a maior contaminação por este produto se dá pela inalação. Sua alta permeabilidade nas membranas citoplasmáticas é também outro fator que eleva os riscos à saúde.

Kern (2006) resalta que a incidência de formação de micronúcleo em frentistas de postos de gasolina tem relação à exposição deste profissional ao etanol, uma vez

que no período em que o etanol foi introduzido na mistura de combustíveis (período de três anos), os funcionários expostos ao vapor dos combustíveis sofreram aumento significativo na formação de micronúcleos na mucosa oral.

Outra pesquisa quanto a toxicidade do etanol observou que entre fumantes alcoólatras e fumantes não consumidores de álcool, houve um aumento significativo de micronúcleo em células esfoliadas da mucosa bucal e da língua nos fumantes alcoólatras, porém não foram encontrados maiores provas de danos mais graves na genética consequentes à exposição ao etanol (KERN, 2006).

Outro componente da solução de Laskowski é o ácido bórico, que é utilizado como agente fungicida e bactericida, para manter a integridade dos tecidos de espécimes naturais, evitando os ataques por estes agentes.

Segundo a Tratho Metal Química LTDA (2009) o ácido bórico não é irritante a pele, possui baixa toxicidade aguda em casos de inalação e testes realizados em camundongos não apresentaram evidência de carcinogenicidade, ainda ressalta que o estudo de epidemiologia humana mostra que a população ocupacional que trabalha como pó de ácido bórico não sofreu nenhum aumento quanto a danos pulmonares. É ressaltado que em alguns casos foram observadas toxicidade maternal, bem como em alguns estudos limitados em animais sugeriram diminuição na ovulação, fetotoxicidade e defeitos quanto ao crescimento diante de exposição a altos níveis de ácido bórico.

Uma vez que não foram encontradas evidências de danos genéticos ou toxicidade em pessoas expostas ao ácido bórico, mas apenas uma leve irritação nas mucosas e na membrana conjuntiva dos olhos, pode-se atribuir a insalubridade da solução de Laskowski a seus dois componentes mais agressivos: o fenol e o etanol.

Técnica de Glicerinação de Giacominni

A técnica de Giacominni utiliza o álcool em uma fase inicial de preparação, sendo este o elemento de maior risco. Após a inclusão nos tecidos, as peças anatômicas são secadas e mantidas expostas naturalmente ao ambiente.

Krug e colaboradores afirmam que a glicerinação se apresenta como uma técnica eficaz e segura aos manipuladores e demais pessoas que venham a se expor, uma vez que não há genotoxicidade ou efeitos carcinogênicos comprovados. A glicerina ainda é amplamente utilizada na cosmetologia pelos benefícios que esta traz ao epitélio humano e também pela hidratação celular.

A glicerina possui nível de contaminação ao meio ambiente muito inferior quando comparado ao nível do formol e ainda é inodora e não causa irritação nas mucosas (KRUG et al., 2011).

CONCLUSÃO

O presente estudo mostra entre as técnicas de preparação e conservação de cadáveres, o formol continua sendo o agente mais perigoso devido tanto à sua atividade tóxica e genotóxica para os tecidos dos profissionais e alunos expostos, quanto com relação à sua

larga utilização, uma vez que ainda não foi demonstrada e comprovada uma técnica eficiente para a fixação dos cadáveres com maior segurança para a estabilização dos tecidos.

A solução de Laskowski, quando fielmente preparada em sua composição original, apresenta menor agressão às mucosas do que o formol, sendo mais aceita entre os professores e técnicos de laboratórios, uma vez que pode ainda ser enriquecida com odorantes, para tornar mais agradável a manipulação das peças naturais e o ambiente com cheiro de lavanda. Porém, este costume acaba por mascarar a agressividade de seus componentes à mucosa nasal e favorece um tempo maior de exposição, principalmente pelos docentes e discentes. Deste modo, o efeito cumulativo das substâncias derivadas do benzeno e do metabolismo do fenol acaba sendo ignorado e o fator de risco torna-se mais agravante.

A glicerinação é, sem dúvidas, o método mais seguro para a conservação das peças naturais. Porém, esta técnica sofre muito a ação do clima, devendo ser adaptada para as diferentes regiões do país, uma vez que a umidade do ambiente pode penetrar nas peças, expulsando este elemento dos tecidos e favorecendo a maceração. Entretanto, uma simples submersão das peças à glicerina por alguns dias é suficiente para restabelecer a impregnação dos tecidos e sua proteção contra bactérias e autólise.

Todas as técnicas mencionadas neste trabalho são largamente utilizadas nos laboratórios de anatomia das instituições de ensino, inclusive na Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás). Porém, há uma demanda por novas substâncias menos agressivas às pessoas e ao ambiente e também menos onerosas. Deste modo, é uma necessidade imediata que novas pesquisas investiguem elementos alternativos para a fixação e conservação de cadáveres e peças anatômicas naturais, para que a formação de profissionais em saúde continue efetivamente utilizando os cadáveres tão necessários à aquisição de conhecimentos sobre o corpo humano, mantendo a segurança dos professores e técnicos de laboratório, que se expõem a estes elementos por um longo período.

ANALYSIS OF THE TOXIC AND GENOTOXIC POTENTIAL OF THE FIXING SUBSTANCES FOR CORPSES AND ANATOMIC PARTS

Abstract: this is a literature review about the toxicity and genotoxicity of the major substances used in the preparation of cadavers in anatomy laboratories, to clarify the risks of continued exposure to these agents. Formaldehyde and phenol present more toxic and genotoxic potential found, while glycerin proved to be the safest element for people who manipulate anatomical parts.

Keywords: Cadavers. Anatomy. Occupational hazards.

Referências

CARVALHO, S. C. P. *Avaliação do dano genético em trabalhadores de anatomia patológica expostos a formaldeído*. Dissertação (Mestrado em Medicina Legal) - Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto, [S.l.], 2013.

GONÇALVES, R. O. *Estudo de alterações cromossômicas estruturais e numéricas em*

trabalhadores com intoxicação crônica por benzeno. Dissertação (Mestrado) - Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador-Bahia, 2008.

JESUS, L. et al., Exposição ocupacional ao formaldeído, cov e partículas: impacto na saúde humana. *Revista Interações*, n. 22, p. 77-93, 2012.

KERN, R. *Avaliação de micronúcleos em células epiteliais bucais de estudantes de odontologia*. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006.

KIMURA, A. K.; CARVALHO, W. L. *Estudo da relação custo x benefício no emprego da técnica de glicerinação em comparação com a utilização da conservação por formol*. (Monografia) - Universidade Estadual Paulista, Julio de Mesquita Filho, Araraquara-São Paulo, 2010.

KRUG, L. et al., *Conservação de peças anatômicas com glicerina loira*. In: I Mostra de Iniciação Científica, Instituto Federal Catarinense, Santa Catarina, 2011.

MACAGNAN, K. K.; SARTORI, M. R. K.; CASTRO, F. G. Sinais e sintomas da toxicidade do formaldeído em usuários de produtos alisantes capilares. *Cadernos da Escola de Saúde*, v. 1, n. 4, p. 46-63, Curitiba, 2011.

MAZZEO, D. E. C. *Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do btex, antes e após o processo de biorremediação por microrganismos, utilizando os sistemas teste de Allium cepa e cultura de células de mamífero*. Dissertação (Mestrado)- Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, 2009.

MIRANDA, C.R. et al. Benzenismo no complexo petroquímico de Camaçari - Bahia. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, n. 89/90, v. 24, 1997.

NR, Norma Regulamentadora, Ministério do Trabalho e Emprego. *NR 15, Atividades e operações insalubres*, 2009.

RODRIGUES, H. *Técnicas Anatômicas*. 2.ed. Vitória: Arte Visual, 2005.

SANT'ANA, A. P. F. et al., Utilização do formaldeído, em diferentes concentrações, associado ou não ao cloreto de sódio, na conservação de tecidos de ovinos. *Conbravet, Anais...*, p. 1277-1, 2008.

TRATHO METAL QUÍMICA LTDA. *Ácido Bórico*. Mogi das Cruzes, São Paulo, 2009.

VERONEZ, D. A. L. et al., Potencial de risco para a saúde ocupacional de docentes, pesquisadores e técnicos de anatomia expostos ao formaldeído. *Revista de Gestão Integrada em Saúde do Trabalho e Meio Ambiente*, v. 5, n. 2, 2010.

VIEGAS, S. P. C. *Estudo da exposição profissional a formaldeído em laboratórios hospitalares de anatomia patológica*. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Universidade Nova de Lisboa, Escola Nacional de Saúde Pública, Lisboa, 2010.

*Recebido em: 15.06.2014 Aprovado em: 25.06.2014

NAYARA LORRAIN ROSA SANTANA

Acadêmica de Biomedicina pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás. *E-mail*: nayara.lo@outlook.com.

NILZA NASCIMENTO GUIMARÃES

Doutora em Biologia celular e molecular/genética toxicológica pela Universidade Federal de Goiás. Professora da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. *E-mail*: nilzang2@gmail.com.