



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE
JOAQUIM VENÂNCIO

Beatriz Damacena Manhães

HISTOPATOLOGIA FORENSE: Importância para a identificação da *causa mortis*

Rio de Janeiro

2024

Beatriz Damacena Manhães

HISTOPATOLOGIA FORENSE: Importância para a identificação da *causa mortis*

Monografia apresentada à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito parcial para aprovação no Curso Técnico em Análises Clínicas.

Orientador: Leandro Medrado

Rio de Janeiro

2024

Beatriz Damacena Manhães

HISTOPATOLOGIA FORENSE: Importância para a identificação da *causa mortis*

Monografia apresentada à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito parcial para aprovação no Curso Técnico em Análises Clínicas.

Aprovado em __/__/__.

BANCA EXAMINADORA

Leandro Medrado
EPSJV/FIOCRUZ

Marcelo Meuser Batista
EPSJV/FIOCRUZ

Simone Goulart Ribeiro
EPSJV/FIOCRUZ

Rio de Janeiro

2024

RESUMO

Esta monografia teve como objetivo apresentar e compreender a significância acerca da histopatologia forense como campo de conhecimento e de tecnologia, a partir da revisão bibliográfica de estudos relacionados e de análise de técnicas no contexto forense. Dentre estas destaca-se além das técnicas de histologia clínica, as docimasias, imunohistoquímica, histoquímicas e citoquímicas, aplicadas para observação e diagnóstico de feridas cicatrizadas, medição do intervalo post-mortem, observação do enfarte agudo do miocárdio, avaliação do glicogênio no tecido hepático, análise de adrenalina em cápsulas suprarrenais etc. Este trabalho identificou diversas limitações relacionadas à aplicabilidade dos conhecimentos, visto o recente desenvolvimento da área e as dificuldades de estado de preservação das amostras, dado a decomposição post-mortem. Além disso, os resultados histopatológicos muitas das vezes não apresentam valor probatório de evidência. Apesar das limitações citadas, é comprovado através dos dados apresentados nos estudos de Akhilesh Pathak, HM Mangal (2010) e de Ana Sofia Batista (2014), que a Histopatologia Forense é uma das principais responsáveis para a elucidação da *causa mortis*, sendo a principal responsável pela alteração de etiologias médico-legais e modificação da circunstância da morte. Por fim, sugerimos o aprofundamento de pesquisas na perspectiva da biologia molecular aplicada à análise forense perante sua ampliação da capacidade de análise e diagnóstico de lesões teciduais diversas e no contexto atual e emergente da área.

Palavras-chave: Patologia legal, Medicina legal, Histopatologia, Autópsia e Medicina Forense.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Tipos de morte.....	09
Quadro 2- Corantes ácidos e básicos.....	24
Quadro 3- Corantes naturais e artificiais	24
Quadro 4- Observações de lesões determinadas por asfixia	32
Quadro 5-Distribuição de casos dado o sexo e a idade	42
Quadro 6- Distribuição de casos e os principais sistemas envolvidos	43
Quadro 7: Exame histológico identificação da <i>causa mortis</i>	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Clivagem	18
Figura 2: Clarificação	20
Figura 3: Impregnação manual.....	20
Figura 4: Processador automático.....	21
Figura 5: Blocos de parafina	22
Figura 6: Micrótomo	22
Figura 7: Microtomia e Banho maria	23
Figura 8: Equimose	28
Figura 9: Orifício de entrada	30
Figura 10:Hemicorporectomia	31
Figura 11: Alvéolos pulmonares.	33
Figura 12: Matéria vegetal	34
Figura 13: Congestão pulmonar por insuficiência cardíaca	38
Figura 14: Engrossamento da capa íntima	39
Figura 15: Ruptura do vaso sanguíneo	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados demográficos e etiologia médico legal	43
Tabela 2: 10 principais causas de morte determinadas pós autópsia	45
Tabela 3: Casos com exame histológico e etiologia médico-legal	45
Tabela 4: Total de resultados com base em comparativos de diagnósticos	46

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
1.1. JUSTIFICATIVA	11
1.2. OBJETIVOS	12
1.2.1. Objetivo Geral	12
1.2.2. Objetivos específicos.....	12
1.3. METODOLOGIA.....	13
2. A HISTOPATOLOGIA FORENSE.....	14
2.1 ETAPAS DO PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO.....	17
2.1.1. Fixação	17
2.1.2. Clivagem.....	18
2.1.3 Descalcificação ou desgaste	19
2.1.4 Processamento	19
2.1.5. Inclusão.....	21
2.1.6. Microtomia	22
2.1.7. Coloração.....	23
3. APLICAÇÕES DA HISTOPATOLOGIA FORENSE	27
3.1. MORTE SUSPEITA OU VIOLENTA	27
3.1.1. Lesões antes e post mortem	27
3.1.2. Equimose	28
3.1.3. Diagnóstico de feridas cicatrizadas	29
3.1.4. Armas de fogo (microvestígios em projéteis).....	30
3.1.5 Hemicorporectomia por ação de corrente elétrica de alta voltagem	31
3.1.6. Asfixia	31
3.1.7. Afogamento	33
3.1.8. Intoxicação ou envenenamento	34
3.1.9. Body Packer	34
3.2. MORTES NATURAIS.....	36
3.3. TÉCNICAS ISOLADAS UTILIZADAS NO CONTEXTO FORENSE.....	40
4. SIGNIFICÂNCIA DA HISTOPATOLOGIA FORENSE NA DETERMINAÇÃO DA CAUSA MORTIS	41
5. CONCLUSÃO.....	47
6. REFERÊNCIAS	49

1. INTRODUÇÃO

A Patologia Forense é definida como uma área do conhecimento das Ciências Patológicas¹ que possui intuito de avaliação da *causa mortis* tendo em vista fins de investigação criminal (SOUZA, 2020). Esta é a área da Ciência Forense mais preocupada em determinar a causa da morte de uma vítima, e seus conhecimentos entrarão em uma investigação criminal a partir da autópsia², que apresenta ampla abordagem da medicina legal.

Seguida da etapa inicial de investigação de um óbito na cena do crime, e sendo cadáver encaminhado para a análise por um médico forense, a determinação da causa e do tipo de morte é realizada a partir da execução de diversos estudos de diferentes áreas da Medicina Legal.

Inúmeras vezes, somente a autópsia não é suficiente para a apurar a fisiopatologia da *causa mortis*, por isso, o requerimento de um exame anatomopatológico deverá ser feito por um médico legista como forma complementar.

No ano de 2013 após a realização de um estudo retrospectivo em mais de 1000 processos de autópsias em Portugal, foi identificado que cerca de 50% dos casos incluíram análise histológica de órgãos e tecidos. Destas, a observação de alteração na provável causa de morte após a realização do exame histopatológico foi observada em mais de 11% dos casos, além disso foi observada a discrepância de quase 21% entre as evidências macroscópicas e histológicas. Sendo estes, dados referentes do seguinte trecho:

Através da análise de inúmeras variáveis, constantes nos processos de autópsia, verificaram-se os seguintes: 1) as mortes de causas naturais representam uma grande proporção de casos em contexto forense; 2) as mortes de etiologia violenta são as que menos aparentam beneficiar de uma análise microscópica; 3) 54,8% das autópsias realizadas incluem análise histológica de órgãos e tecidos; 4) a etiologia médico-legal foi afetada pela histologia em 3,2%; 5) a provável causa de morte, determinada macroscopicamente, foi alterada pela histologia em 11,4%; 6) em 67,2% o diagnóstico macroscópico foi confirmado pela microscopia; 7) existe 20,9% de discordância entre as evidências macroscópicas e histológicas; 8) o pulmão, o fígado e o pâncreas foram os órgãos com maior percentagem de discordância (BATISTA, 2014, p.8)

¹ É o estudo de doenças em aspectos determinados da medicina e de outras áreas do conhecimento, dedicando-se a observar as alterações estruturais e funcionais das células, dos tecidos e dos órgãos (Patologia | Museu de Ciências da Vida).

² Exame realizado *post-mortem* caracterizado pelo conjunto da observação externa e interna do corpo através do exame anatômico e anatomopatológico, e também de eventuais exames complementares laboratoriais (BATISTA, 2014).

Vale ressaltar que na literatura são elencados diversos tipos de morte, tais como: anatômica, histológica, aparente, relativa, intermediária e real (ou absoluta) (Quadro 1) (LUZ; DOMINGUES e NAVES, 2018). Pelos quais a estes, cabe à perícia médico-legal enfatizar ou esclarecer certos fatos tanto do ponto de vista quantitativo quanto qualitativo (PIMENTA & FERREIRA, 2019 *apud* RIBEIRO, 2023).

Quadro 1- Tipos de morte.

Morte anatômica	Ocorre quando toda a funcionalidade do organismo e de sua interação com o meio ambiente acaba.
Morte histológica	Decorre da morte anatômica e se verifica quando os tecidos e as células dos órgãos do ser humano se esvaem.
Morte aparente	Acontece quando o indivíduo não aparenta funções vitais, somente perdurando uma circulação pequena e desprezível, que pode persistir por horas.
Morte relativa	Ocorre quando o sujeito vem a óbito após suportar uma parada cardíaca, identificada a partir de ausência de pulso em artéria calibrosa, e perde a consciência ou é acometido pela palidez marmórea.
Morte intermediária	Indicada pela suspensão de algumas atividades vitais, não sendo possível recuperá-las.
Morte real ou absoluta	Efetua-se pela suspensão total e definitiva das atividades vitais.

Fonte: CROCE; CROCE JR., 2012 *apud* LUZ; DOMINGUES e NAVES; FRANÇA, 2015.

As técnicas histoquímicas e imuno-histoquímicas no contexto forense de análise tecidual, apresentam maior contribuição para a determinação da *causa mortis* em casos de mortes naturais se comparado a casos de morte violenta. Seu principal papel é o de confirmar e esclarecer alterações observadas pela técnica da Hematoxilina e Eosina (SANTOS, 2022).

O estudo histológico sendo aquele em que ocorrerá a análise tecidual dos órgãos extraídos durante a autópsia, pelos meios microscópicos convencionais (FRANÇA, 2015; SABILLÓN, 2015). Para a obtenção dos elementos de diagnóstico histológico é necessária a utilização das técnicas histológicas, que incorporam, para além das técnicas básicas da histotecnologia, técnicas citoquímicas, histoquímicas, Imunohistoquímicas, técnicas moleculares e análise em microscopia eletrônica (Patraquim, 2015). Isso ocorrerá utilizando-se de ferramentas e metodologias próprias da histopatologia clínica, representada como uma disciplina à parte da Histologia. Assim, a Histopatologia estudará as modificações microscópicas ou anormalidades, causadas por lesões nos tecidos (SABILLÓN, 2015).

Os resultados obtidos pela Histopatologia Forense poderão assumir maior proeminência no que se refere ao uso como evidência científica em tribunal, adicionando então, elementos adicionais relevantes ao contexto forense (BATISTA, 2014).

1.1. JUSTIFICATIVA

Sendo a histopatologia no âmbito forense uma área importante e fundamental no auxílio dos estudos necroscópicos, ela será uma ferramenta técnico-científica que auxiliará numa melhor avaliação das procedências de diversos cenários de morte. E sendo essa uma área ampla das ciências forenses pouco conhecida por parte da população, devido à falta de dados claros e reunidos, terá este trabalho o propósito de apresentar, compreender e organizar informações e conhecimentos acerca desse campo de estudo, com o fim de facilitar a compreensão dos conhecimentos sobre este tema.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo Geral

Apresentar a histopatologia forense como campo do conhecimento acerca da identificação de *causa mortis*.

1.2.2. Objetivos específicos

- 1) Apresentar o campo da histopatologia forense identificando suas principais técnicas.
- 2) Indicar os principais campos de aplicação da Histopatologia Forense.
- 3) Compreender a importância da Histopatologia Forense e sua contribuição para com a identificação de *causa mortis*.

1.3. METODOLOGIA

O projeto está baseado na abordagem qualitativa e no uso de estratégias de pesquisa de revisão da literatura de artigos selecionados por meio das bases de dados PubMed, Google Acadêmico, SciELO e repositórios de Universidades. Bem como trechos de livros, revistas e jornais referentes a Histopatologia e Medicina legal.

O trabalho realiza também uma análise dos dados apresentados nos artigos: “Exame histopatológico em autópsia médico-legal: prós e contras” de Akhilesh Pathak, HM Mangal (2010) e “Avaliação multicêntrica do contributo do exame histológico post-mortem na autópsia médico-legal” de Ana Sofia Batista (2014), a fim de demonstrar sua importância na determinação da *causa mortis* em diversos casos. Estes trabalhos foram escolhidos por trazerem dados completos e robustos que permitem sua comparação e análise crítica.

Os descritores de pesquisa utilizados foram: Patologia legal, Medicina legal, Histopatologia, Autópsia e Medicina Forense. Com critérios de inclusão e exclusão de corte temporal de publicação a partir do ano 1997 e por disponibilidade gratuita do documento.

2. A HISTOPATOLOGIA FORENSE

A Medicina Legal, caracterizada como uma ciência auxiliar do Direito, pode ser definida como a aplicação dos saberes médicos e de várias áreas das ciências biológicas a diversas questões no âmbito de derivadas áreas do Direito (MAGALHÃES, 2003 *apud* BATISTA, 2014). Os primeiros registros da relação entre Direito e Medicina são datados a partir do período da antiguidade em que sacerdotes governantes atuavam em papéis de legisladores, juízes e de médicos. Além disso, é observado que a primeira citação documental incluindo exame cadavérico em vítima de homicídio, é atribuída à tanatoscopia realizada no cadáver de Caio Júlio César. Neste exame, foi verificada a existência de 23 golpes de adaga, com apenas um deles sendo fatal. Na Idade Média então, é atribuído a Justiniano o reconhecimento dos médicos como testemunhas especiais, apesar de os juízes não serem obrigados a ouvi-los. Já as Capitulares de Carlos Magno designavam que os julgamentos deveriam ser pautados conforme as avaliações médicas, devendo haver depoimentos médicos nos casos de lesão corporal, infanticídio, tortura, estupro, impotência etc. Desde então, do século XVIII para cá, a Medicina legal se instituiu como disciplina científica (COELHO, 2010). Esta, é a responsável por importantes elementos de decisão judicial, podendo interferir sobre a vida e liberdade dos cidadãos (DE-GIORGIO & VETRUGNO, 2014 *apud* BATISTA, 2014).

Dentre as áreas da Medicina Legal, sendo destacada a Patologia no âmbito forense, por meio principalmente dos estudos histológicos, poderá ser determinada como uma das principais responsáveis por melhor avaliação da causa mortis em âmbito não natural, podendo confirmar, modificar ou descartar o observado macroscopicamente (SABILLÓN, 2015).

Quando ocorre uma morte violenta ou suspeita, a histopatologia forense é indicada para identificação de presença de reações vitais e determinar do tempo de evolução das lesões (RIBEIRO, 2023). Sendo então, necessário principalmente na identificação de mortes causadas por afogamento, armas de fogo, violência sexual, mortes causadas por trauma, estrangulamento e enforcamento, mortes por carbonização, hemicorporectomia³ e podem auxiliar inclusive na identificação das lesões de mordidas etc. (FRANÇA, 2015).

A importância do estudo microscópico também se dá em casos em que não são observados nenhuma causa de morte a partir do exame macroscópico e somente em análise tecidual a partir de

³ Amputação da pelve e de membros inferiores por meio de desarticulação no nível da lombar (Ricci et al, 2009).

microscópios, proporcionando então, informação para explicar os mecanismos de algumas doenças que ocasionam morte natural (SABILLÓN, 2015).

Nas mortes naturais, é importante identificar as diferentes alterações que levaram a estas mortes. Se for morte súbita, qual foi a causa? Algumas causas de morte súbita que se diagnosticam são: infarto do miocárdio; Inflamação do coração (miocardite); dilatações anormais em vasos sanguíneos que se rompem e causam sangramento grave (aneurismas), muitos deles no cérebro de etiologia congênita ou Aterosclerótica; Tumor na glândula suprarrenal produtor de substâncias que produzem elevações súbitas da pressão arterial (feocromocitoma); aspiração de alimentos durante o sono, quando come ou ingere bebidas alcóolicas (broncoaspiração de alimentos), entre outros (SABILLÓN, 2015, p.49).

Sabillón (2015) também completa afirmando que em casos de mortes violentas (ou suspeitas), precisa-se identificar a presença ou não de reação vital⁴ e se esta ocorreu antes ou depois do falecimento. Assim, são exemplos de reações vitais: feridas na pele, amputação de algum membro, entre outros. E então, a partir da análise das reações vitais e de características histológicas, como a identificação de processos inflamatórios, na presença ou não de macrófagos, edemas, angiogênese, alta concentração de colágeno, fibrose, hemorragia, hemossiderina⁵ e etc., é possível determinar o tempo da lesão.

Ressalta-se que regularmente o processo inflamatório celular analisado nos achados histopatológicos serão determinantes no tempo da lesão e causa da morte. Nessas, as principais manifestações da inflamação aguda são: dilatação vascular causando eritema⁶, edema a partir do extravasamento junto com deposição de líquido e proteínas; migração e acúmulo de leucócitos. Já na inflamação crônica, observa-se infiltrado de células mononucleares, tentativas de reparo por meio da cicatrização e destruição tecidual. Complementar a isto, a contagem globular é utilizada para comparar a relação entre as hemácias e leucócitos de lesões suspeitas, tendo como parâmetro elementos do sangue de outra região do cadáver. Se a contagem for equivalente nas duas amostras, pode-se dizer que a lesão foi produzida após a morte (RIBEIRO, 2023).

Além dos citados acima, a histopatologia auxilia na detecção histológica de elementos de transferência em delitos sexuais, principalmente células, que serão encaminhadas para análise

⁴ Conjunto de reações inflamatórias em tecidos e órgãos cuja presença é determinada apenas em células vivas, sendo então presentes apenas quando as lesões foram provocadas na vítima viva. (França, 2015).

⁵ Pigmentação anormal e de cor acastanhada resultante da destruição da hemoglobina causada pelo acúmulo excessivo de ferro (Anatpat-UNICAMP).

⁶ Mancha avermelhada causada pela congestão repentina e momentânea de uma região do corpo (FRANÇA, 2015).

genético-molecular e também para estabelecer a diferença entre os ferimentos de entrada e os de saída em caso de ferimentos por bala (SABRINA e MENA, 2015; FRANÇA, 2015).

É observável que a histologia no âmbito forense se utiliza das mesmas técnicas da histopatologia clínica, porém com objetivos diferentes. Um exemplo é que as amostras para exame histológico forense se diferenciam da clínica pela possível apresentação dos espécimes biológicos com vários graus de autólise⁷ e putrefação⁸. Além disso, há a ênfase na identificação de causas não submetidas a detecção macroscópica e na confirmação dos achados observados no decurso da autópsia (BENG & MENG, 2001 *apud* BATISTA, 2014; LAU & LAI, 2008).

Após a coleta do material deve-se selecionar os fragmentos de interesse por meio da macroscopia e posicioná-los em cassetes histológicos (PATRAQUIM, 2015). Em seguida, é necessária a fixação em formalina e a conservação do material em frasco devidamente rotulado para examinação, clivagem e processamento do material (CAPUTO *et al.*, 2010). No processador, o material é submetido a diversos reagentes, dentre eles: Álcool (para a desidratação do tecido), xilol (para remoção do álcool e favorecer a infiltração da parafina) e parafina (para endurecimento necessário do tecido). Depois da inclusão em parafina, se formam blocos que posteriormente serão cortados. Estes cortes serão colocados em lâminas e posteriormente submetidos a uma sequência de corantes com função de contrastar os diferentes componentes celulares. Esta lâmina será levada ao microscópio a fim de examinar as lesões teciduais, e no caso da Histopatologia Forense, ajudará identificar e auxiliar na identificação da *causa mortis* (SABILLÓN, 2015).

É importante ressaltar que a amostras encaminhadas à análise histopatológica devem ser escolhidas a partir da especificidade representativa da localização da lesão que se deseja analisar, e o tipo de fixador e o tempo de fixação devem ser indicados para a preservação adequada do tecido analisado e realização das técnicas complementares de coloração, biologia molecular, imunofluorescência, microscopia eletrônica ou imuno-histoquímica (LAU & LAI, 2008 e DETTMAYER, 2011 *apud* BATISTA, 2014).

Eis a descrição de cada etapa do processo histológico:

⁷ Processo de destruição celular caracterizado por uma série de fenômenos fermentativos anaeróbicos no interior da célula, ocorridos a partir das próprias enzimas celulares (FRANÇA, 2015).

⁸ Processo decomposição fermentativa da matéria orgânica realizado por meio de germes (aeróbios, anaeróbios e facultativo) e outros microrganismos anaeróbicos, que tem como característica a quebra dos tecidos do corpo, resultando na liberação de gases, como o sulfeto de hidrogênio, e na mudança na coloração da pele do cadáver (FRANÇA, 2015).

2.1 ETAPAS DO PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

2.1.1. Fixação

Dada como uma das etapas mais importantes das técnicas histológicas, visa interromper o metabolismo celular e estabilizar as estruturas e componentes bioquímicos intracelulares e extracelulares com o objetivo de preservar e conservar os elementos teciduais evitando o processo de autólise pela falta de oxigênio e substâncias necessárias para seu funcionamento natural e pelo acúmulo de dióxido de carbono no tecido, além da presença de enzimas lisossômicas no citoplasma das células (CAPUTO *et al* , 2010; MICHALANY, 1990 *apud* NUNES, CINSA, 2016).

É dito sobre a existência de diversos protocolos de fixação e de vários tipos de fixadores, porém, nenhum destes é reconhecido como o ideal.

Essencialmente existe dois tipos de fixação, a física e a química. A fixação química é realizada a partir do uso de substâncias químicas que formam reações com os sítios das biomoléculas, as estabilizando e impedindo a alteração tecidual, tanto de forma química quanto estrutural. Inicialmente, fixadores eram divididos em duas classes: fixadores coagulantes ou desnaturantes, que precipitam proteínas sem se ligar a elas; e fixadores não coagulantes ou aditivos, que se ligam às proteínas e as precipitam. Pelas poucas informações acerca de alguns fixadores químicos, pode se utilizar uma ou mais substâncias químicas para a realização das técnicas histológicas, sendo estas denominadas líquidos ou misturas fixadoras. Essas misturas reúnem várias substâncias em tentativa de complementação para a melhor preservação dos elementos teciduais (CAPUTO *et al*, 2010).

Atualmente é indicada a utilização de fixadores a partir da observação da classificação de Leong, em que apresenta as seguintes substâncias:

- Fixadores aldeídos; dentre eles formalina 10%, formol-salino, formalina tamponada de Carson ou formalina em tampão Millonig, formalina-alcoólica, formalina neutra tamponada 10% e AFA/FAA (álcool, formalina, ácido acético).

- Agentes oxidantes.

- Agentes desnaturantes ou coagulantes de proteínas.

- Mecanismo desconhecido (formado por cloreto de mercúrio, ácido pícrico e sais de zinco).

- Combinação de reagentes (feito a partir de tetróxido de ósmio e glutaraldeído, tertóxido de ósmio iodeto de zinco, glutaraldeído e carbodiamida e formaldeído de glutaraldeído).

- Fixação a seco ou a vapor.

- Micro-ondas.

Determinados tecidos necessitam de uma penetração tardia para melhor preservação das estruturas, sendo aconselhado o uso de resfriamento de 0°C a 6°C para fixação (SOUZA JR, 2010; NUNES; PINTO, 2010 *apud* CINSA, 2016).

Uma má fixação antes do processamento fará com que o tecido não se preserve por inteiro, fazendo então com que a estrutura tecidual se danifique no momento de troca entre o tecido e o meio em que ocorre o processamento (PATRAQUIM, 2015)

2.1.2. Clivagem

Dependendo das circunstâncias, talvez seja necessário realizar a clivagem da amostra, o que pode ocorrer antes ou após a técnica de fixação, dependendo de cada caso. A clivagem consiste em reduzir as dimensões dos fragmentos de tecidos em cerca de 3mm – 5mm de espessura (dependendo do órgão), com objetivo de facilitar a penetração de fixadores e a difusão de reagentes nas demais etapas de processamento (Figura 1) (CAPUTO *et al*, 2010). A clivagem também apresenta intuito de facilitar a penetração da substância fixadora em menor tempo, evitando a autólise no interior da amostra (MICHALANY, 1990 *apud* NUNES, CINSA, 2016).

Figura 1: Clivagem



Figura 1: Imagem demonstrando o procedimento de clivagem (MARINHO, 2013).

2.1.3 Descalcificação ou desgaste

Com objetivo de remover a porção mineral do material histológico, é utilizado para que haja somente a análise dos componentes do tecido ósseo ou de partes inorgânicas do tecido. A descalcificação em si será utilizada somente em análises de tecidos ou tumores ósseos e em determinadas patologias (CAPUTO *et al*, 2010).

Quando seja desejado estudar a porção inorgânica de amostras ósseas, o desgaste da amostra pode ser a técnica mais adequada.

2.1.4 Processamento

O processamento histológico diz respeito a uma série de banhos à qual é submetido do material analisado, e pode ser categorizado em três etapas:

a) Desidratação:

Após a penetração do fixador e da clivagem tecidual, é necessário tornar os fragmentos rígidos de forma que proporcione adequadamente o corte dos tecidos em finas e delicadas camadas para fim de análise microscópica. Para isso, utiliza-se da técnica de desidratação que se baseia na remoção de água dos tecidos, para tornar viável o uso de parafina no processo de inclusão, que não se combina homogeneamente com a água. Geralmente para esta etapa é utilizado álcool etílico como substância desidratadora, sendo necessário que este seja vinte vezes o volume de tecido (CAPUTO *et al*, 2010). A etapa deve ser realizada com bastante cuidado, pois se as concentrações entre o tecido e o meio forem muito elevadas pode haver distorção celular. Assim então, as concentrações de agente desidratante devem ser crescentes e graduais (PATRAQUIM, 2015).

b) Clarificação ou Diafanização:

Seguinte à etapa de desidratação, é essencial a remoção completa do álcool utilizado pois a parafina também não se homogeneiza ao álcool. Para isto utiliza-se o xilol, que conforme penetra o tecido no lugar do álcool, torna o material mais claro, denominando esta etapa como clarificação (Figura 2) (BANCROFT & GAMBLE, 2008 *apud* PATRAQUIM, 2015; CAPUTO *et al*, 2010).

Figura 2: Clarificação:

Figura 2: Representação da Clarificação (CAPUTO *et al*, 2010).

c) Impregnação:

Por fim temos a impregnação, na qual a parafina pura fundida vai ocupar os espaços teciduais anteriormente ocupados por xilol, garantindo a resistência estrutural da amostra para os processos posteriores. Nesta etapa ocorrerá a infiltração da parafina previamente aquecida e líquida. Os fragmentos de tecido serão conduzidos a vários frascos contendo parafina em determinados intervalos de tempo, sendo necessária a constante passagem pela parafina para a remoção completa do xilol. Esta etapa pode ser feita tanto de forma manual como de forma automática, com a utilização de processadores (Figura 3 e 4) (CAPUTO *et al*, 2010).

Figura 3: Impregnação manual:

Figura 3: Representação de Impregnação manual (CAPUTO *et al*, 2010).

Figura 4: Processador automático.



Figura 4: Processador automático de carrossel (PLATAFORMA NACIONAL DE INFRAESTRUTURA DE PESQUISA, 2022).

2.1.5. Inclusão

A inclusão em parafina relaciona-se ao exterior da peça, que após esfriar e endurecer, formará um bloco que posteriormente será submetido à microtomia (NUNES, CINSA, 2016 *apud* AARESTRUP, 2012). Esta técnica é realizada a partir do uso de uma pinça, previamente aquecida, para posicionar os tecidos, previamente infiltrados pela parafina, em um molde que contenha parafina líquida. E tem como objetivo impedir a distorção e preservar a estrutura tecidual (CAPUTO *et al*, 2010; PATRAQUIM, 2015).

É essencial que os fragmentos sejam colocados na parafina enquanto aquecidos, além disso, é importante manter atenção quanto à posição em que as peças serão colocadas no molde, pois isto, determinará a incidência de corte que será realizada. Então, somente após o resfriamento há a obtenção dos blocos de parafina com o material a ser analisado incluído (Figura 5) (CAPUTO *et al*, 2010).

Figura 5: Blocos de parafina.



Figura 5: Imagem retratando blocos de parafina com cortes histológicos. Fonte: Atlas virtual de histologia e patologia: HISTOTÉCNICA (CRUSOÉ, M. *et al*, 2017).

2.1.6. Microtomia

Para a análise tecidual em microscópio é necessário que a espessura da amostra esteja entre 4 e 6 micrômetros, e para isso se é utilizado o aparelho denominado micrótomo (Figura 6), que permitirá o corte dos tecidos nesta espessura. Em seguida, estes cortes delgados são montados em lâminas após sua imersão em banho-maria (Figura 7) (CAPUTO *et al*, 2010).

Figura 6: Micrótomo



Figura 6: Micrótomo para cortes histológicos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1995 apud LA SALLE, 2005).

Figura 7: Microtomia e Banho Maria

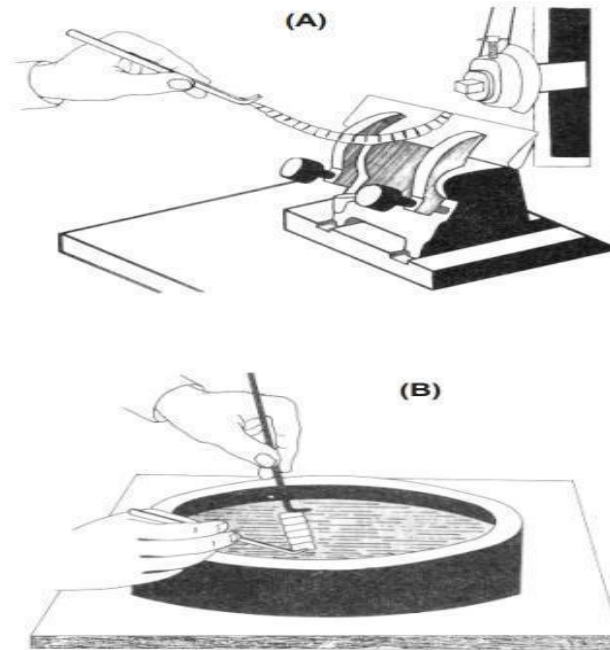


Figura 7: Representação da microtomia e do banho maria (LA SALLE, 2005 *apud* JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1995).

2.1.7. Coloração

O processo de coloração é necessário para a visualização dos tecidos ao microscópio de luz após a microtomia, em que o material extracelular habitualmente transparente precisa ser corado para melhor visualização das estruturas teciduais (NUNES, CINSAS, 2016; CAPUTO *et al*, 2010).

Corantes como a hematoxilina, eosina e fucsina, utilizados para corar os tecidos, são geralmente chamados de “corantes não vitais”. Porém além desses também pode utilizar-se de cultura ou células em organismos vivos para coloração, sendo nesse caso necessária a utilização de “corantes vitais”, que não causam danos às células e também não interferem no metabolismo. Dentre estes estão presentes o azul de metileno e o vermelho neutro (CAPUTO *et al*, 2010).

Os corantes são basicamente utilizados para corar seletivamente os componentes teciduais, como células e matriz celular. Eles são compostos orgânicos, aromáticos, ionizáveis e fundamentados na estrutura do benzeno. Estes corantes sendo incolores, precisam da adição de

novos grupos químicos, os **cromóforos**⁹, a sua estrutura. Assim, quanto maior adição de cromóforos, mais intensa é a sua cor (CAPUTO *et al*, 2010).

A união entre os cromóforos e os compostos aromáticos forma os **cromógenos**,¹⁰ e assim, portanto, para a coloração tecidual é necessária a utilização de um grupo auxiliar, os **auxocromos**¹¹, para se ligarem aos cromógenos (CAPUTO *et al*, 2010).

De acordo com sua carga iônica, os corantes são denominados ácidos, básicos ou neutros (Quadro 2).

Quadro 2 – Corantes ácidos e básicos

Corantes ácidos	Coram estruturas como o citoplasma e a matriz celular. As estruturas coradas por ácidos são denominadas acidófilas.
Corantes básicos	Coram o núcleo celular, e estruturas coradas a partir de corantes básicos são denominadas basófilas.

Fonte: CAPUTO *et al*, 2010.

Estes corantes também são denominados naturais ou sintéticos (artificiais), também conhecidos como corantes biológicos, por revelar as estruturas biológicas dos tecidos (Quadro 3).

Quadro 3 – Corantes naturais e artificiais

Naturais	hematoxilina, índigo, orceína, brasilina etc.
Artificiais	derivados do benzeno

Fonte: CAPUTO *et al*, 2010.

⁹ Grupo funcional que absorve a luz infravermelha ou ultravioleta para conferir cor (BARBOZA *et al*, 2021)

¹⁰ Compostos benzênicos contendo grupamentos cromóforos (Barboza *et al*, 2021).

¹¹ Grupo que determina o caráter ácido ou básico do corante (Caputo *et al*, 2010)

As colorações podem ser classificadas em relação a ação, tempo e cromatização do corante (NUNES, CINSÁ, 2016; CAPUTO *et al*, 2010).

a) Ação:

- Diretas: quando o corante penetra o interior dos tecidos sem o uso intermediário do mordente.

- Indiretas: quando é necessário o uso intermediário de uma solução mordente para que haja a ligação do corante ao tecido.

b) Tempo:

- Progressiva: coloração feita gradualmente sem necessidade de proceder diferenciação (retirada do excesso de corante)

- Regressiva: hipercoloração do tecido com a remoção posterior de seu excesso, o que dará melhor visualização dos elementos teciduais.

c) Cromatização:

Dependente da quantidade de corantes utilizados.

- Monocrômica = 1 cor.
- Bicrômica = 2 cores
- Tricrômica = 3 cores
- Policrômica = mais de 3 cores

A hematoxilina e a eosina são os corantes geralmente mais utilizados para coloração. Os núcleos celulares são corados pela hematoxilina, apresentando coloração roxa, enquanto o citoplasma e os espaços intracelulares são corados em rosa pela eosina (CAPUTO *et al*, 2010).

O procedimento de coloração poderá variar de acordo com a natureza dos corantes utilizados, mas de forma geral será dividido nas seguintes etapas (CAPUTO *et al*, 2010):

- Desparafinação: Retirada da parafina após microtomia a partir do uso do xilol, mesma substância utilizada no processo de clarificação.

- Hidratação: Realizada por meio de sequências alcoólicas em decrescentes concentrações, começando por álcool 100%, seguindo para álcool 95%, 80%, 70%, até a água destilada.
- Coloração: Imersão dos cortes histológicos no corante.
- Desidratação: Remoção da água do tecido, porque os meios de selagem não são miscíveis em água. Utiliza-se concentrações crescentes de álcool: álcool 70%, 80%, 95% e por fim repetições de 100%.
- Montagem: Etapa final que consiste em cobrir o tecido com uma lamínula de vidro, utilizando-se de uma substância específica chamada de meio de montagem para fixar a lâmina à lamínula.

Completadas as etapas citadas acima, as lâminas seguirão para a análise de um médico patologista.

3. APLICAÇÕES DA HISTOPATOLOGIA FORENSE

A histotecnologia está presente na análise forense de diversos tipos de morte. Para que haja esta análise é preciso saber identificar os fenômenos em que um cadáver está envolvido e as alterações no corpo causadas por estes, já que elas dependem de fatores intrínsecos, próprios da composição anatômica do indivíduo e de possíveis comorbidades existentes em vida, além também de fatores extrínsecos, determinados pelo ambiente em que o cadáver permaneceu (PORTO; MIZIARA, 2019). Assim é destacada principalmente a identificação da presença de reações vitais e determinação do tempo de evolução das lesões no corpo. Se for observada macroscopicamente alguma alteração anormal no procedimento da autópsia realizada pelo médico legista, os achados histopatológicos serão fundamentais para determinação da *causa mortis* (RIBEIRO, 2023).

3.1. MORTE SUSPEITA OU VIOLENTA

Morte suspeita é descrita como a morte que se mostra duvidosa quanto a sua origem, incluindo também os óbitos com testemunho. Portanto o conceito de morte violenta se aplica a mortes com hipóteses de homicídio, suicídio ou acidente (SANTOS, 1997).

Os principais casos de morte suspeita ou violenta avaliados a partir do auxílio da histotecnologia são as descritas a seguir:

3.1.1. Lesões antes e post mortem

As reações vitais são extremamente importantes para a determinação do tempo de evolução das lesões no corpo. Elas são um conjunto de sinais importantes para determinar se uma lesão foi provocada antes ou depois da morte. O tempo de evolução de uma lesão por exemplo, pode ser determinado a partir dos achados histopatológicos da presença de um processo inflamatório intensificado com a observação de infiltrados, edema, macrófagos, leucócitos, fagocitose e degradação intracelular. Em casos agudos pode haver dilatação vascular com eritema, extravasamento com deposição de líquido e proteínas que causa edema e migração e acúmulo de leucócitos. Já na inflamação crônica, há um infiltrado de células mononucleares, tentativas falhas de cicatrização e destruição tecidual (RIBEIRO, 2023).

3.1.2. Equimose

As equimoses são lesões produzidas por ação mecânica. Estas lesões podem ser originadas de instrumentos perfurantes, cortantes, contundentes, perfurocortantes, perfurocontundentes e cortocontundentes, sendo capaz de provocar em um corpo sequelas internas ou externas que serão resultado tanto do impacto de um objeto em movimento contra o corpo de um humano parado (meio ativo), de um aparato imóvel contra o corpo de um humano em movimento (meio passivo), e também de dois corpos em movimento contra o outro (ação mista) (FRANÇA, 2015) (Figura 8).

Figura 8: Equimose



Figura 8: Ferida produzida por meio cortante que causou equimose (Nilo Jorge Rodrigues Gonçalves *apud* França, 2015)

Nesse ponto, o estudo histológico poderá fazer a análise da evolução das equimoses a partir da observação dos elementos celulares da lesão, como as hemácias, fagócitos e os glóbulos, como exemplificado por França (2015), no seguinte trecho:

Também pode ser realizado o estudo histológico da evolução das equimoses. Módica, em Viena, emprestou a maior contribuição a este aspecto. Observou que, nas primeiras 24 h, as hemácias se descoram; no terceiro dia, se descoram muito mais e se deformam; no quarto dia, surgem células fagocitárias; no nono dia, maior é a destruição das hemácias e os fagócitos digerem glóbulos e pigmentos; no 12º dia, todos os glóbulos estão rotos; e, no 18º, predominam as células pigmentárias e as hemácias estão todas destruídas. A hemoglobina se mantém nos glóbulos apenas no primeiro dia, depois difunde-se nos tecidos. No terceiro dia, surge hemossiderina e só muito mais tarde aparece a hematoidina, que, segundo Dürck, permanece cristalizada até 60 dias. Não se deve esperar que essa evolução seja cronometricamente certa (FRANÇA, 2015. p.262).

É preciso ressaltar que a avaliação de lesões ocorridas antes da morte, como a equimose, será dificultada a depender do intervalo de tempo entre a morte e o encontro do corpo. Em casos que a evidenciação do corpo ocorre muito tempo após a morte, o estado avançado de putrefação e a autólise resultam na desintegração de órgãos e tecidos, além da descoloração e destruição dos elementos sanguíneos. Assim, estas alterações no cadáver tornarão as lesões como as de armas brancas mais difíceis de definir e impedirão a identificação de equimoses ou lesões superficiais na pele (PORTO; MIZIARA, 2019).

O estudo da equimose pode esclarecer o tempo de lesão e denunciar o instrumento que a produziu. Além disso, com a aparição da equimose é possível decretar que a vítima estava viva na hora da lesão, pois em indivíduo morto, por não haver circulação sanguínea ativa, podendo no máximo haver tonalidade da equimose do vivo até o surgimento dos fenômenos putrefativos. Sendo assim, nunca há produção de uma equimose post mortem (FRANÇA, 2015).

3.1.3. Diagnóstico de feridas cicatrizadas

Principalmente para as pessoas que morrem dias após os eventos de ferimento, é difícil o diagnóstico médico-legal da ferida e do tipo de instrumento causador pois estas já se apresentam praticamente cicatrizadas. Em casos de perfurocontusos, pode haver principalmente a regeneração dos tecidos e o desaparecimento dos elementos característicos. Por isso recomenda-se o diagnóstico por histoquímica, em que se utiliza rodizonato de sódio com a finalidade de evidenciar a lesão nos cortes histológicos ou evidenciar um fragmento de projétil (FRANÇA, 2015).

Genival França descreve esta técnica no seguinte trecho de seu trabalho “Medicina Legal”:

A técnica é simples e consiste na retirada de um pequeno fragmento de pele da cicatriz, sua fixação em formaldeído a 10% tamponado, inclusão e impregnação em parafina, cortes histológicos de 6 micrômetros de espessura, desparafinação em xilol ou tolueno, desidratação em álcoois de concentração decrescente e água destilada. Depois, gotejamento sobre o corte histológico de solução do rodizonato de sódio a 0,1% e secagem em estufa por um minuto. Novo gotejamento de uma solução-tampão contendo bitartrato de sódio ou potássio (1,9 g), ácido tartárico (1,5 g) e água destilada q.s.p. 100 ml (Técnica do Instituto Médico-legal Renato Chaves). Nos casos positivos, vamos encontrar um halo intensamente violeta em torno dos grânulos incrustados no tecido conjuntivo denso da derme (FRANÇA, 2015. p 310).

3.1.4. Armas de fogo (microvestígios em projéteis)

Os projéteis de arma de fogo causam ferimentos típicos na pele que indicam a direção do tiro ou se a ferida foi ocasionada pela entrada ou pela saída de um projétil (BAPTISTA, 2007). Esses ferimentos muitas vezes não são identificáveis a olho nú e por isso é necessária análise histológica desses casos (BATISTA, 2014).

Em orifícios de entrada (Figura 9), identifica-se, através da histologia, a presença de um anel de fibras colágenas no ferimento; já em orifícios de saída é possível identificar a presença de tecido adiposo, muscular e ósseo na derme, além de maior infiltração gordurosa, presença de corpo estranho e necrose de coagulação (BAPTISTA, 2007).

Figura 9: Orifício de entrada



Figura 9: Ferimento de entrada de projétil de alta energia (*Delmonte, IML/SP apud FRANÇA, 2015*)

A histopatologia forense também pode auxiliar na identificação de micro vestígios orgânicos encontrados em projéteis. Ao penetrar nos tecidos o projétil traz consigo inúmeras micropartículas orgânicas como fragmentos de pele, ossos, músculos, vísceras e sangue, que mais tarde podem ser identificadas pelos processos histológicos e pelos reagentes conhecidos. Assim poderá determinar se o projétil atingiu algum órgão e qual, além de estabelecer um vínculo entre eles e determinada vítima (FRANÇA, 2015).

3.1.5 Hemicorporectomia por ação de corrente elétrica de alta voltagem

A Hemicorporectomia é dita como a amputação radical da parte inferior dos membros. Por ser um tipo de amputação radical que nunca deve ser a primeira opção cirúrgica, geralmente esta técnica é usada como último recurso para o tratamento de doenças pélvicas avançadas (RICCI *et al.*, 2009). França (2015), em seu livro sobre medicina legal, analisa um caso de Hemicorporectomia por ação de corrente elétrica de alta voltagem (Figura 10), neste a Histologia da lesão destaca a evidência da epiderme, e apresenta as células da camada basal e espinhosa com núcleos retraídos ou vacuolizados, além do estiramento das células poliédricas mais profundas, configurando-se em feixes de pelos (FRANÇA, 2015).

Figura 10: Hemicorporectomia



Figura 10: Hemicorporectomia por ação de corrente elétrica de alta voltagem (IML/RN *apud* FRANÇA, 2015).

3.1.6. Asfixia

A determinação de causa mortis por enforcamento ou estrangulamento geralmente é realizada de forma macroscópica. Em casos de asfixia, alguns sinais determinantes vistos macroscopicamente podem ser: manchas de hipóstase¹², equimoses externas e alguns fenômenos cadavéricos atípicos. Em questão histológica, é observada a marca produzida no pescoço (sulco) pelo objeto utilizado, que apresenta as seguintes determinações (FRANÇA, 2015) (Quadro 4):

¹² Também conhecido como *Livor Mortis*, se configura pela mudança de coloração na pele dos cadáveres pelo depósito de sangue na região (França, 2015).

Quadro 4- Observações de lesões determinadas por asfixia.

<p style="text-align: center;">Lesões na Epiderme</p>	<p>Sulcos produzidos por laços finos e duros:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Leito do sulco com resíduos de hemácias, detritos, pelos e uma substância parecida com plasma. - Perda do formato do sulco por separação e dilaceração das camadas anteriores à derme. <p>Sulcos produzidos por laços grossos e moles:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Camada da parte média da epiderme do sulco com dilaceração e achatamento. - Células espinhosas e basais achatadas, causando a ruptura das camadas pavimentosas. - Desvio e deformidade das papilas epidérmicas.
<p style="text-align: center;">Lesões na derme</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Plano dérmico apresenta camada de sangue recente. - Borda do sulco com cortes. - Ruptura e retração de fibras elásticas e conjuntivas. - Extravasamento sanguíneo em zonas específicas.
<p style="text-align: center;">Lesões subcutâneas</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Modificações nas células adiposas (rupturas, achatamentos e deformação). - Extravasamento de gordura próximo ao sulco.
<p style="text-align: center;">Lesões na camada muscular</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Fibras musculares recheadas, deformadas ou achatadas próximas ao sulco. - Pequena hemorragia recente. - Pigmentação hemossiderínica das miofibrilas¹³ e dos seus septos divisores. - Estiramento e alargamento das fibras musculares com protoplasma, densificação e deformação do núcleo por alargamento.

¹³ Feixe formado pelo conjunto de filamentos proteicos (miosina e actina) interconectados, que se encontram dentro das células musculares (GONÇALVES, 2020).

3.1.7. Afogamento

O afogamento é um caso de asfixia mecânica produzido a partir da entrada de um meio líquido ou semilíquido nas vias respiratórias impedindo a passagem de ar para os pulmões (FRANÇA, 2015).

Nesses casos o exame histológico pode apresentar a presença do chamado “enfisema aquoso” ou sinal de Brouardel em que se verifica ruptura e dilatação e ruptura dos alvéolos pulmonares (Figura 11) (BATISTA, 2014). Além de enfisema do tecido pulmonar, os afogados podem apresentar também hemorragias peribrônquicas acentuadas e predominante nas regiões centrais do pulmão (FRANÇA, 2015).

Figura 11: Alvéolos pulmonares.

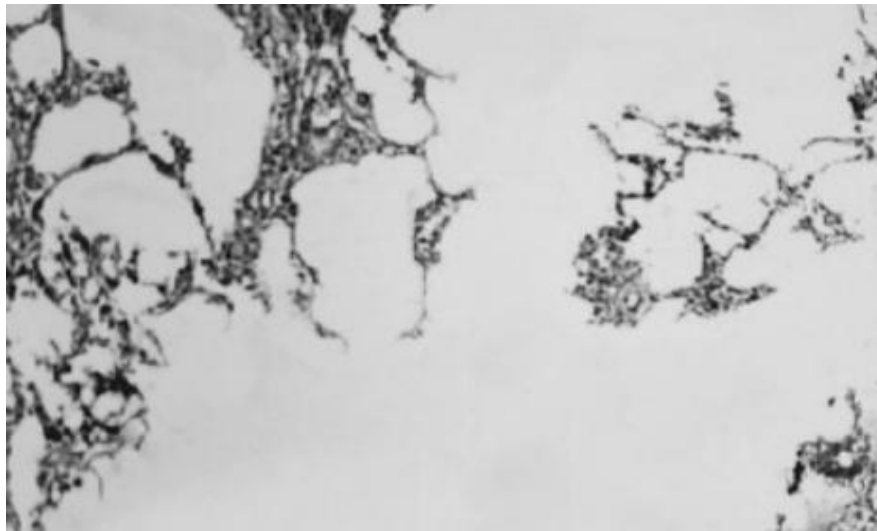


Figura 11: Alvéolos pulmonares rompidos de um afogado (Elizabeth Azevedo *apud* FRANÇA, 2015).

Outro sinal de afogamento se caracteriza pela presença de líquido nas vias respiratórias. Já que nem sempre existem sinais histológicos de afogamento, este poderá ser essencial para identificar o tipo de meio líquido em que se deu o afogamento a partir da identificação de corpos estranhos (Figura 12) (FRANÇA, 2015; BATISTA, 2015).

Figura 12: Matéria vegetal

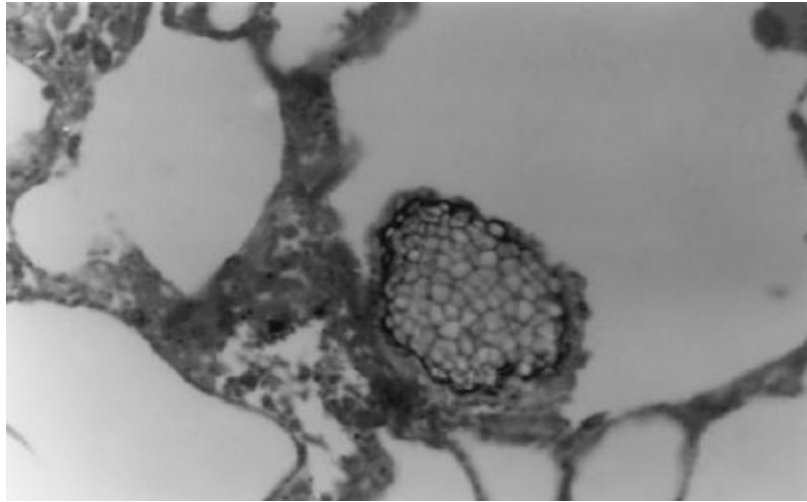


Figura 12: Matéria vegetal encontrada no pulmão do afogado (Elizabeth Azevedo *apud* FRANÇA, 2015).

3.1.8. Intoxicação ou envenenamento

A intoxicação é determinada por reações do metabolismo interno do indivíduo que é caracterizado como de origem acidental e de ordem bioquímica. Já o envenenamento pode ter caráter acidental, criminoso ou intencional, com origem exógena e de ordem química (FRANÇA, 2015).

Em casos de intoxicação a histologia poderá analisar a presença de cristais de oxalato nos rins que não apresentam alterações macroscópicas (CUMMINGS, TRELKA, & SPRINGER, 2011 *apud* BATISTA, 2014). Já em casos de envenenamento, é possível fazer a análise de processos degenerativos causados pelas substâncias (FRANÇA, 2015).

Estes são casos em que a causa mortis poderá ser complementada a partir de laudos toxicológicos.

3.1.9. Body Packer:

Em casos de síndrome do body packer (popularmente conhecido como “mula”), termo utilizado para aqueles que carregam e transportam drogas em seu organismo, é comum encontrar no estudo histológico uma congestão vascular generalizada, congestão da mucosa gastrointestinal e de outros órgãos abdominais e grandes zonas hemorrágicas (FRANÇA, 2015). Em casos de

ingestão de drogas, independente de seus métodos de administração, poderá haver um pedido de análise histológica (MILROY & PARAI, 2011 apud BATISTA, 2014).

Em casos de intoxicação aguda por cocaína, a maioria das complicações consequentes são cardiovasculares, cerebrovasculares e gastrintestinais. Este cenário pode levar a casos clínicos de: hipertermia, convulsões, infarto agudo de miocárdio, arritmias cardíacas letais, distúrbios hidreletrolíticos e insuficiência renal aguda, com a manifestação mais grave ocorrida pela origem cardiovascular devido ao poder cardiotoxico da cocaína. Este tipo de morte sempre se dá por intoxicação aguda e maciça da droga ingerida, geralmente cocaína (FRANÇA, 2015).

Quando há um histórico de consumo de diversas drogas, o padrão histológico dos toxicofílicos pode se tornar mais complicado e de difícil interpretação. Por isso, é preciso ressaltar que os exames toxicológicos são de maior prioridade quando relacionados a casos como o de overdose (BATISTA, 2014).

3.2. MORTES NATURAIS

As mortes naturais são ditas como as mortes decorrentes de um processo já esperado e previsível, como o envelhecimento, decorrente do esgotamento progressivo e natural das funções orgânicas, ou então por doenças internas, agudas ou crônicas (SANTOS, 1997).

Muitas vezes há a ocorrência de mortes súbitas de origem natural que não podem ser corretamente identificadas antes da realização da autópsia médico-legal (CHRISTIANSEN & COLLUNS, 2007 *apud* BATISTA, 2014). Destas, mesmo após o exame do cadáver, nem sempre é possível estabelecer uma determinação quanto à *causa mortis*. Geralmente nestes casos, a causa de morte mais relacionada está ligada a alterações no sistema cardiovascular (PERPER & WECHT, 1980 *apud* BATISTA, 2014). As causas mais comuns das mortes por antecedentes patológicos (naturais) são: cardiocirculatórias, respiratórias (broncopneumonias, tuberculose, pneumoconioses etc.), digestivas (processos hemorrágicos, infarto intestinal, pancreatite, cirrose etc.), urogenitais (afecções renais, lesões decorrentes da gravidez e do parto); processos hemorrágicos, tromboembólicos e infecciosos, diabetes, aborto, gravidez ectópica, infecção puerperal etc. (FRANÇA, 2015).

Os principais estudos que relacionam a avaliação de mortes naturais pelas técnicas histológicas são ligados aos seguintes casos:

- **Enfarte agudo do miocárdio:**

O principal exemplo de morte natural posteriormente identificada pela Histologia é o enfarte agudo do miocárdio. Esta não é uma causa mortis facilmente identificável visto que as primeiras alterações histológicas relacionadas ao dano miocárdico (hipereosinofilia¹⁴, ondulação de células musculares e alterações nucleares) só são identificáveis macroscopicamente antes das 24 horas após a morte. Em contraste, a infiltração neutrofílica, que é um sinal mais indicativo, aparece pelo menos 6 a 12 horas depois da morte (CUMMINGS, TRELKA, & SPRINGER, 2011 *apud* BATISTA, 2014; PORTO, MIZIARA, 2019).

¹⁴ Desordem mieloproliferativa rara, dada superprodução contínua de eosinófilos (RONCHI JÚNIOR, IVO et al., 2024)

Nesse tipo de morte serão feitos exames histológicos de cortes transversais dos ventrículos e do septo interventricular, cortes mais lesados de artérias coronárias, tecido pericárdico, tecido valvular e aorta (FRANÇA, 2015).

A fim de obter um diagnóstico histológico por meio da coloração H&E (Hematoxilina e Eosina) a morte deve ocorrer pelo menos de 6 a 12 horas depois do início do dano isquêmico, que é caracterizado por diversas alterações estruturais das proteínas do miocárdio. Para estas proteínas utiliza-se de marcadores imunohistoquímicos para sua análise (PORTO; MIZIARA, 2019).

Os principais antígenos encontrados em casos de enfarto agudo do miocárdio precoce (aquele ocorrido com menos de seis horas de intervalo da morte), foram: Fibronectina, identificada em casos de intervalo post-mortem de 3 a 4 dias; C9, que permanece positiva até dez dias após a morte; C5B9 que está presente a partir de 40 minutos até onze dias após a morte; Mioglobina; H-FABP; Caspase-3; Fibrinogênio; Distrofina; Galectina; Troponina; Ditirosina; Proteínas citoesqueléticas etc (PORTO; MIZIARA, 2019).

● **Insuficiência cardíaca crônica:**

A insuficiência cardíaca crônica é uma consequência do aumento da pressão hidrostática,¹⁵ que produz um estado de congestão passiva crônica com evolução rápida, associada a uma hipóxia¹⁶ que pode vir a causar isquemia tissular e cicatrizes. Nesses tecidos congestionados, a ruptura dos vasos capilares produz focos hemorrágicos pequenos e acúmulos residuais dos macrófagos carregados de hemossiderina por consequência do catabolismo realizado por eritrócitos extravasados (PÉREZ, 2020).

Todas as alterações histológicas remetentes à insuficiência cardíaca podem ser observadas em órgãos como pulmão, fígado e rins, que apresentarão as seguintes características (Pérez, 2020):

– Pulmão: presença de alvéolos engrossados e fibróticos; espaços alveolares com numerosos macrófagos carregados de hemossiderina devido à fagocitose dos eritrócitos (Figura 9).

¹⁵ Termo utilizado para comparar a pressão dos seres vivos quanto a natureza, sendo neste exemplo utilizado perante a pressão exercida pelo sangue circulante nas paredes dos vasos sanguíneos, ou então, para com o conteúdo celular contra a parede da célula (SCHUWARTZ *et al.*, 2011).

¹⁶ Condição fisiológica que consiste na menor disponibilidade de oxigênio para os tecidos, esta pode ser causada pela ascensão à altitude (OLIVEIRA *et al.*, 2017)

-Fígado: necrose de hepatócitos centrolobulares; hemorragia; macrófagos carregados de hemossiderina; fibrose hepática em casos de longa evolução.

-Rins: redução da luz vascular por hialinização.

Figura 13: Congestão pulmonar por insuficiência cardíaca

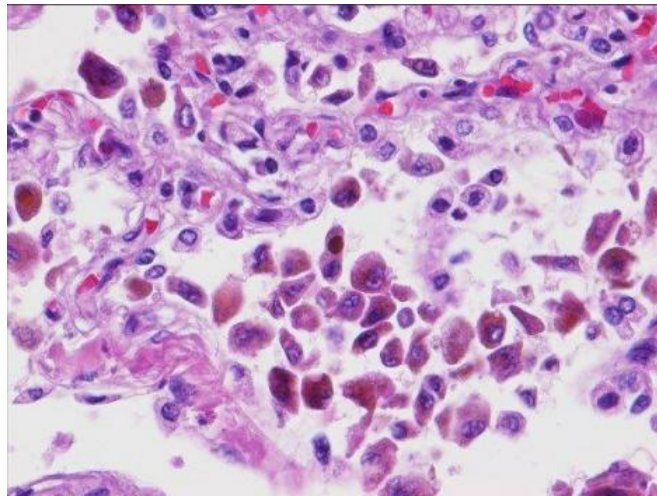


Figura 13: Congestão pulmonar com apresentação de septos alveolares engrossados, capilares dilatados e saída de sangue pelos espaços alveolares (PÉREZ, 2020).

● Hemorragia:

Quando há extravasamento de sangue no sistema nervoso central, sua origem geralmente está relacionada a manifestações de enfermidade cerebrovascular como a hemorragia intraparenquimatosa¹⁷ e a hemorragia subaracnóidea¹⁸, causadas pelo rompimento de um vaso sanguíneo na região do cérebro.

Em casos de hemorragia intraparenquimatosa, geralmente é observada na microscopia a coagulação de sangue rodeado pelo tecido cerebral com mudanças neurais, gliais e a presença de edemas. Quando o edema se dissolve, há o aparecimento de macrófagos com grande quantidade de hemossiderina e lipídios, além da proliferação de astrócitos reativos na lesão.

¹⁷Tipo de AVC hemorrágico que é causado pela ruptura espontânea e não traumática de um vaso sanguíneo, em que há o extravasamento de sangue para o interior do cérebro (PONTES-NETO *et al.*, 2009).

¹⁸ Tipo de AVC hemorrágico causado pela ruptura espontânea e não traumática de um vaso sanguíneo em que há o extravasamento de sangue para o espaço subaracnoideo (PONTES-NETO *et al.*, 2009).

Já a hemorragia subaracnóideia microscópica é caracterizada pelo engrossamento da parede arterial em comparação à íntima e a afiniação da parede média (Figura 10) ou ruptura da parede (Figura 11) (PÉREZ, 2020).

Figura 14: Engrossamento da capa íntima

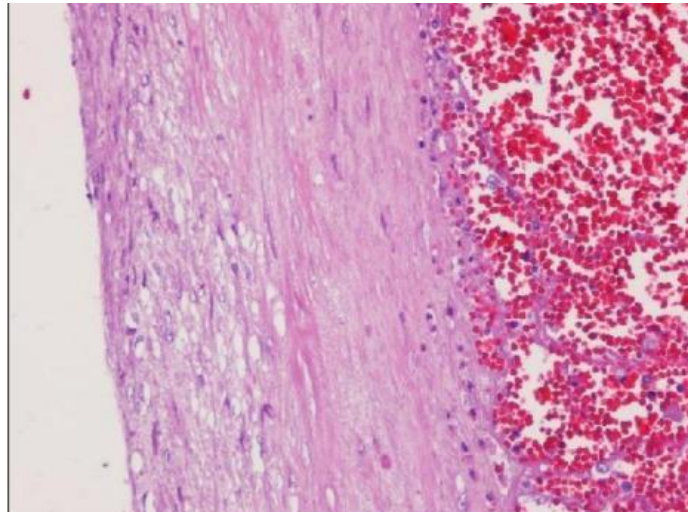


Figura 14: Engrossamento da parede arterial em comparação a íntima (PÉREZ, 2020).

Figura 15: Ruptura do vaso sanguíneo

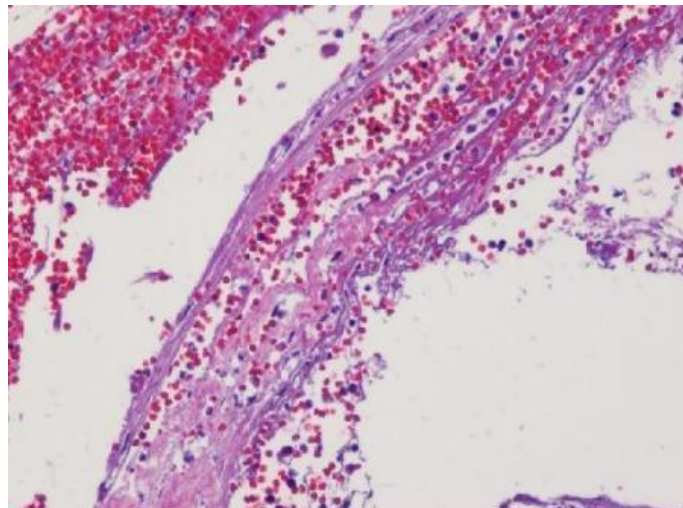


Figura 15: Ruptura do vaso sanguíneo com liberação de hemácias (PÉREZ, 2020).

3.3. TÉCNICAS COMPLEMENTARES UTILIZADAS NO CONTEXTO FORENSE

Algumas técnicas são direcionadas a estudos específicos, entre elas as docimasias e a imunohistoquímica.

As docimasias são focadas em órgãos como o coração, fígado, rins e o pulmão. A docimasia hepática tem como objetivo a avaliação do glicogênio no tecido hepático, como o fígado é um regulador de e formador de glicogênio, se um indivíduo em boas condições de saúde morre por algum tipo de síncope, é encontrada uma grande quantidade de glicose transformada em glicogênio. A docimasia hepática utiliza da técnica de Brault ou de Best para sua análise. Na primeira, o glicogênio assume coloração vermelho acinzentado, e na segunda assume tonalidade vermelha intensa (RIBEIRO, 2023).

A suprarrenal usa como fundamento a presença de adrenalina em cápsulas suprarrenais para diferenciar morte súbita da agônica, e baseia-se na utilização da coloração de hematoxilina-eosina (HE), na qual seu resultado positivo é dado pela tonalidade castanho-claro (RIBEIRO, 2023).

A imunohistoquímica é muito utilizada como complemento de técnicas médicas e clínicas básicas para medir o intervalo post mortem (IPM) ou o tempo entre a morte e a autópsia (MADEA *et al.*, 2019 apud LEAL *et al.*, 2013). O diagnóstico do IPM identificará as alterações físico-químicas que ocorrem no cadáver através das técnicas de Histoquímica (HQ) que são métodos histológicos baseados em modificações moleculares e produtos de células, resultando em reações químicas entre a amostra e os químicos utilizados (CHARAN GOWDA *et al.*, 2016 apud LEAL *et al.*, 2013).

4. SIGNIFICÂNCIA DA HISTOPATOLOGIA FORENSE NA DETERMINAÇÃO DA CAUSA MORTIS

Estudos determinam que o alto índice de concordância em literatura e relatórios sobre os fundamentos da patologia forense e os achados histopatológicos indicam que estes são de extrema importância para processos criminais e descobertas em saúde pública. É a partir da medicina legal e da perícia criminal que o processo penal consegue desvendar mais de 90% de homicídios, infanticídios, estupros, casos de lesão corporal, casos envolvendo entorpecentes, feminicídios e mais (RIBEIRO, 2023).

Este capítulo fará uso de dois (2) trabalhos para reforçar a relevância da histopatologia em sua aplicação forense, e apresentar os casos em que ela se constitui como a principal via de determinação da *causa mortis*. Serão utilizados os seguintes documentos: “Exame histopatológico em autópsia médico-legal: prós e contras” de Akhilesh Pathak, HM Mangal (2010); e “Avaliação multicêntrica do contributo do exame histológico post-mortem na autópsia médico-legal” de Ana Sofia Batista (2014).

O estudo Pathak & Manhal (2010) utilizou-se de dados retrospectivos de um período de 3 anos do Departamento de Medicina Legal, *PDU Medical College Rajkot*, na Índia, para sua análise. Nestes se determinou que os homens eram mais propícios a morte por doenças em 63,33% em comparação as mulheres, que obtinham apenas 36,67% dos casos de mortes (Quadro 5), como visto no seguinte trecho:

A distribuição dos casos por idade e sexo mostra que as incidências foram maiores nas 3^o e 4^a décadas de vida. Os homens eram mais propensos à morte por doenças (63,33%) em comparação às mulheres (36,67%) (PATHAK & MANHAL H., 2010, p.2).

Quadro 5: Distribuição de casos dado o sexo e a idade.

Age Group	Male	Female	Total
0-10	04	01	05
11-20	04	04	08
21-30	11	12	23
31-40	17	07	24
41-50	08	03	11
51-60	07	01	08
61&above	06	05	11
Total	57	33	90

Fonte: Adaptado de Pathak & Manhal (2010).

Batista (2014), utilizou-se de processos realizados no Departamento de Patologia Forense da Delegação do Norte do INMLCF (Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses) e no Serviço de Anatomia Patológica do PAHNT (Pennine Acute Hospitals NHS Trust) para sua análise. Nestes, a média de idades de casos válidos é de 63 anos, com descrições de 18 até 98 anos e sem aferição de idade de 5 vítimas. O estudo excluiu os seguintes casos:

Destes, 213 casos foram considerados não válidos, por reunirem os critérios estabelecidos, descritos na metodologia deste ensaio, para exclusão dos mesmos, tais como: 1) dispensa da realização da autópsia por autoridade legal; 2) autópsia limitada ao exame do hábito externo por imposição por autoridade legal; 3) processos que envolvem análise de ossadas; 4) cadáveres entregues ao INMLCF ao abrigo do artigo 5.º do DL n.º 411/98, de 30/12 contemplando as alterações do DL n.º 5/2000, de 29/01; 5) cadáveres embalsamados ou para embalsamamento sem autópsia médico-legal associada; ou 6) processos relativos a menores de idade, nados-mortos, fetos ou embriões (BATISTA, 2014, p.51).

Quanto ao gênero dos indivíduos, analisou-se casos de 753 homens e 316 mulheres. 59,9% dos casos foram relativos à morte natural, seguido de 23,3% de mortes acidentais, 13,6% de suicídios, 2,2% de morte indeterminada e 1% de homicídios (Tabela 1).

Tabela 1: Dados demográficos e etiologia médico legal.

Sexo (%)	
Masculino	753 (70,4)
Feminino	316 (29,6)
Idade, anos, média (Intervalo)	63 (18-98)*
Etiologia Médico-Legal (%)	
Natural	640 (59,9)
Acidente	249 (23,3)
Suicídio	145 (13,6)
Homicídio	11 (1,0)
Indeterminada	24 (2,2)

Fonte: Adaptado de Batista (2014).

Pathak & Manhal (2010), identificaram que na maioria dos casos, as patologias foram identificadas no Sistema Cardiovascular (cerca de 40% dos casos) ou no Sistema Respiratório (30% dos casos). Com outros sistemas sendo menos envolvidos (Quadro 6). A congestão também foi observada em grande parte dos casos, assim como a aterosclerose com estreitamento das artérias coronárias que foi determinada presente em 23,33% dos casos e o edema pulmonar que foi identificado em 37,7% dos casos (PATHAK & MANHALI H., 2010).

Quadro 6: Distribuição de casos e os principais sistemas envolvidos.

Sistema envolvido	Número de casos
Sistema nervoso	04 (4,44%)
Sistema Cardio-Vascular	36 (40,0%)
Sistema respiratório	27 (30,0%)
Sistema Gastro-Intestinal	06 (6,67%)
Sistema Renal	01 (1,11%)
Sistema Genito-Urinário	09 (10,0%)
Desconhecido (Autópsia Negativa)	07 (7,78%)
Total	90

Fonte: Adaptado de Pathak & Manhali H. (2010).

Os diagnósticos foram confirmados pela histologia respectivamente em 25,55% e 33% dos casos, conforme visto no estudo comparativo das observações da autópsia e do exame histopatológico (Quadro 7) (PATHAK & MANHALI H., 2010).

Quadro 7: Exame histológico identificação da *causa mortis*

	Causa da morte	Nº de casos
Depois da autópsia	Aparente	74 (82,22%)
	Não Aparente	16 (17,78%)
Após Histopatologia Exame	Discrepância encontrada	05 (5,56%)
	Discrepância Não Encontrado	85 (94,44%)
Total		90 (100%)

Fonte: Adaptado de Pathak & Manhali H. (2010)

Batista (2014) identificou que patologias como cardiopatia isquêmica, no contexto de doença aterosclerótica grave,¹⁹ o enfarte agudo do miocárdio, a cardiopatia hipertensiva²⁰ e a cardiomiopatias diversas (dilatada²¹, hipertrófica²² ou miocardite²³), são as principais responsáveis pelo elevado número de mortes associadas. Seguido de lesões traumáticas que afetam diversos órgãos, independente da etiologia médico-legal (Tabela 2) (BATISTA, 2014).

¹⁹ Lesão ou aumento da célula endotelial determinada a partir de diversos fatores de risco, que, criam um ambiente pró-inflamatório e pró-trombótico, com aumento da permeabilidade vascular, entrada de lipídios, adesão de monócitos sanguíneos e linfócitos, adesão de plaquetas, proliferação das fibras musculares lisas e sua migração para a íntima, onde produzem matriz extracelular (SANTOS *et al.*, 2021).

²⁰ Consequência da pressão arterial alta, acompanhada de dano a órgãos alvo (DUTRA, 2006).

²¹ Doença que afeta o músculo cardíaco e é causada pela dilatação e alteração na função contrátil do ventrículo esquerdo ou de ambos os ventrículos (ALBANESI F^o, 1998).

²² Doença miocárdica de caráter primário e de condição genética determinada pela hipertrofia ventricular desproporcional mais comum no ventrículo esquerdo, com maior acometimento do septo interventricular e que em alguns pode reduzir o volume ventricular (ALBANESI F^o, 1998).

²³ Doença inflamatória do miocárdio que pode ser causada por diversos fatores, como: agentes infecciosos (vírus, protozoários, bactérias, clamídias, rickettsias, fungos e espiroquetas), mecanismos não infecciosos (drogas, metais pesados, radiação) ou mecanismos autoimunes e de hipersensibilidade (miocardite eosinofílica, colagenoses, induzida por vírus, rejeição do coração transplantado) (MONTERA *et al.*, 2022).

Tabela 2: 10 principais causas de morte determinadas pós autópsia

	Causa de Morte	N.º de Casos	% de Casos
1	Cardiopatia isquémica	279	26,1
2	Lesões traumáticas múltiplas	233	21,8
3	Enforcamento	71	6,6
4	Cardiopatia Hipertensiva	57	5,3
5	Pneumonia/ Broncopneumonia	55	5,1
6	Intoxicação	53	4,9
7	Cardiomiopatia	42	3,9
8/9	Tromboembolismo pulmonar	24	2,2
	Afogamento	24	2,2
10	Hemorragia Intracerebral Espontânea	22	2,1

Fonte: Adaptado de Batista (2014).

Do total de casos válidos (1069) apresentados por Batista (2014), 586 obtiveram recurso da histologia para confirmação diagnóstica, somando cerca de 54,8% dos casos; 27 processos, 2,5% dos casos, incluíram amostras teciduais que se estabeleceram no arquivo para caso de necessidade de esclarecimento de achados observados macroscopicamente; 42,7%, cerca de 456 casos obtiveram seu diagnóstico com base nos achados macroscópicos da autópsia (Tabela 3).

Tabela 3: Casos com exame histológico e etiologia médico-legal.

		Etiologia Médico-Legal					
		Natural	Acidente	Suicídio	Homicídio	Indeterminada	Total
Histologia	Não	208	137	122	6	10	483*
	Sim	432	112	23	5	14	586
Total		640	249	145	11	24	1069

Fonte: Adaptado de (BATISTA, 2014).

Também é dito que a etiologia médico-legal foi alterada em 26 casos (4,4%), destes 12 casos de morte entre indeterminada e natural foram determinados a partir da histologia.

A histologia contribuiu sozinha para a modificação da circunstância da morte em 3,2% e foi essencial para a determinação da causa de morte no significativo número de 67 casos (11,4%) (Tabela 4) (BATISTA, 2014).

Tabela 4: Total de resultados com base em comparativos de diagnósticos.

Principais órgãos analisados	N.º Total de diagnósticos	Diagnóstico Concordante N (%)	Diagnóstico Discordante N (%)	Necessário Histologia N (%)	Diagnóstico inconclusivo N (%)
Pulmão	595	356 (59,8)	149 (25,0)	89 (15,0)	1 (0,2)
Coração	704	466 (66,2)	170 (24,1)	53 (7,5)	15 (2,1)
Fígado	127	67 (52,8)	36 (28,3)	23 (18,1)	1 (0,8)
Rim	91	44 (48,4)	8 (8,8)	38 (41,8)	1 (1,1)
Encéfalo	99	81 (81,8)	12 (12,1)	6 (6,1)	0 (0)
Pâncreas	32	21 (65,6)	10 (31,3)	1 (3,1)	0 (0)
Coronária	243	225 (92,6)	18 (7,4)	0 (0)	0 (0)
Estômago	15	10 (66,7)	5 (33,3)	0 (0)	0 (0)
Outros*	124	94 (75,8)	17 (13,7)	10 (8,1)	3 (2,4)
Total	2030	1364 (67,2)	425 (20,9)	220 (10,8)	21 (1,1)

Fonte: Adaptado de Batista (2014).

5. CONCLUSÃO

Diante dos dados colhidos para esta pesquisa observa-se que os estudos relacionados a histologia forense ainda são recentes e em pequeno número comparado ao crescimento moderno da área.

Conforme visto neste trabalho, a área da histotecnologia se apresenta como uma ferramenta imprescindível para a confirmação de diversas causas *mortis* no campo da histopatologia forense, aplicando diversas técnicas, entre elas as docimasias, imuno-histoquímica, histoquímicas, citoquímicas e moleculares, em que seus principais campos de aplicação são: o diagnóstico de feridas cicatrizadas, a medição do intervalo post-mortem, observação do enfarte agudo do miocárdio, avaliação do glicogênio no tecido hepático, análise de adrenalina em cápsulas suprarrenais etc.

Contudo, mesmo apresentando grande contribuição a histologia no contexto forense também apresenta diversas limitações, muitas delas por ser uma ferramenta de avaliação relativamente recente. Além destas, também há o contexto de com o estado de preservação das amostras, dado a decomposição post-mortem e a relatividade dos resultados histopatológicos como valor probatório de evidência (CORDEIRO, 2022; BATISTA, 2014). Assim, apesar de haver achados histológicos de caráter definitivo, que independentemente de outros dados possibilitam a avaliação, há outras amostras que quando analisadas isoladamente não são conclusivas e que só obtém significado quando associadas a outros elementos. Além disso, existem achados inespecíficos, em que nem sua análise individual ou combinada representam evidência (JASSEN & FORSTER, 2011 apud RIBEIRO, 2023).

A amostragem inapropriada ou preservação indevida dos tecidos, a putrefação cadavérica em estágio avançado que leva a autólise, a descamação de necrose durante a preservação ou durante o processamento de tecidos para microscopia, e a prioridade insuficiente para o exame histopatológico, dada a sobrecarga crescente de trabalhos relacionados a outros setores, enfatiza grande parte das limitações enfrentada por esta área (PATHAK & MANHAL, 2010). Isto, se torna comprovado no estudo de Batista (2014), em que se é observado que em 41,7% das mortes indeterminadas, em 4 destas o exame histológico se tornaria extremamente limitado devido ao avançado estado de putrefação dos cadáveres.

É importante salientar que existem casos em que a análise histológica não é requerida, e se feita, se torna extremamente limitada, como por exemplo em casos de homicídio e suicídio (FRACASSO, SABATASSO, & MANGIN, 2012 apud BATISTA, 2014).

Mesmo assim, quando as causas da morte não podem ser elucidadas com o procedimento da autópsia realizada pelo médico legista, os achados histopatológicos ainda são as melhores vias para resolução científica do observado macroscopicamente (RIBEIRO, 2023).

Apesar das limitações que a área enfrenta, foi através da Histopatologia Forense que diversas avaliações de *causa mortis* puderam ser elucidadas, comprovados através dos dados apresentados nos estudos de Akhilesh Pathak, HM Mangal (2010) e de Ana Sofia Batista (2014), em que a histologia foi a principal responsável pela alteração de etiologias médico-legais e modificação da circunstância da morte.

É importante ressaltar a associação do exame de autópsia a histologia na confirmação da causa mortis e que ambas não devem ser negligenciadas visto sua extrema essencialidade nas ciências forenses.

A Histopatologia Forense tem se mostrado um campo promissor dado seu desenvolvimento como técnica tradicional, acompanhado de contribuições das técnicas histoquímicas e imuno-histoquímicas e conectada a tecnologias emergentes na área, como por exemplo a biologia molecular, que amplia a capacidade de análise e diagnóstico de lesões teciduais diversas.

No contexto atual e emergente destas áreas, ainda é necessário o aprofundamento de estudos baseados neste tema, visto principalmente a falta de maiores dados relacionados a técnicas de biologia molecular no contexto forense.

Assim, espera-se que o estudo da Histotecnologia, se integre a diversos outros dispositivos de análise forense, dadas as perspectivas futuras promissoras a partir deste conjunto de conhecimentos, que poderão auxiliar na rapidez e desenvolvimento dos estudos e diagnósticos.

6. REFERÊNCIAS

ALBANESI Fo, F. M. **Cardiomiopatias**. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v. 71, n. 2, ago. 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0066-782X1998000800002> Acessado em: 17 de novembro de 2024.

Anatpat-UNICAMP. Disponível em: <https://anatpat.unicamp.br/tahemossid.html> Acessado em: 12 de setembro de 2024.

BARBOZA, D. A. P.; MERLO, A. A.; PAZINATO, M. S. Plano Orientador "Grupos Cromóforos e sua Relação com a Cor": Produto Educacional para uma Abordagem Experimental Investigativa da Química Orgânica no Ensino Médio. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 3, p. 650 – 660, 2021.

BAPTISTA, M. V. **Contribuição ao estudo diagnóstico dos ferimentos perfuro-contusos por projéteis de arma de fogo civil na pele humana com enfoque histopatológico**. Famerp.br, 2024. Disponível em: <http://btd.famerp.br/handle/tede/32> Acessado em: 14 de setembro de 2024.

BATISTA, Ana Sofia Passos. **Avaliação multicêntrica do contributo do exame histológico post-mortem na autópsia médico legal**. 2014. Disponível em: <https://hdl.handle.net/10216/77693> Acessado em: 28 de setembro de 2023

CAPUTO, Luzia Fátima Gonçalves; GITIRANA, Lycia de Brito; MANSO, Pedro Paulo de Abreu. Técnicas histológicas. In: MOLINARO, Etelcia; CAPUTO, Luzia; AMENDOEIRA, Regina. **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**. v. 2. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC, 2010. p. 89-188.

COÊLHO, Bruna Fernandes. Histórico da medicina legal. **Revista da Faculdade de Direito, Universidade de São Paulo**, v. 105, p. 355-362, 2010. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rfdusp/article/view/67905...> Acessado em: 15 de maio de 2024.

CRUSOÉ, M.; CARRERA, M.; GUTEMBERG, A.; FELIPE J. **Atlas virtual de histologia e patologia: Histotécnica**. Disponível em: <https://atlasvirtualuneb.blogspot.com/2017/02/histotecnica.htm> Acessado em: 19 de junho de 2024.

FRANÇA, Genival Veloso de. **Medicina legal**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

GONÇALVES, A. **Tecido Muscular**. Unesp. Disponível em: <https://www.foa.unesp.br/#!/ensino/departamentos/cdcb/histologia/atlas-de-histologia-geral/tecido-muscular/> Acessado em: 12 de setembro de 2024.

JORGE PAULETE VANRELL; AL, E. **Manual de medicina legal: tanatologia**. Leme, Sp: Jh Mizuno, 2007.

LA SALLE, C. **Técnicas Rotineiras de preparação e Análise de Lâminas Histológicas**. v. 1, n. 2, p. 231–239, 2005.

LEAL, J. L. F. et al. Estimativa do intervalo pós-morte em cadáveres congelados através da entomologia. **Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial**, v. 13, n. 3, p. 41–48, 1 set. 2013.

LUZ, Bernardo Araújo da; DOMINGUES, Helane Cristina Pinheiro; NAVES, Carlos Luiz de Lima. **Medicina Forense**. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2018. 200 p.

MARINHO, Isadora. **Técnicos de histologia: DVD auxilia na capacitação**. Rio de Janeiro, 25 de fevereiro de 2013. Disponível em : [Instituto Oswaldo Cruz - Ciência e Saúde desde 1900 - Arquivo de notícias - Técnicos de histologia: DVD auxilia na capacitação \(fiocruz.br\)](https://arquivo.fiocruz.br/boletim-noticias/2013/02/25/técnicos-de-histologia-dvd-auxilia-na-capacitacao) Acessado em: 18 de junho de 2024.

NUNES, C. DE S.; CINSA, L. A. Princípios do Processamento Histológico de Rotina. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais - Animais e Humanos Interdisciplinary Journal of Experimental Studies**, v. 8, n. 1, 11 nov. 2016. Disponível em: [PRINCÍPIOS DO PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO DE ROTINA | Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais - Animais e Humanos Interdisciplinary Journal of Experimental Studies \(ufjf.br\)](https://www.ufjf.br/interdisciplinar/article/view/11111) Acessado em: 18 de junho de 2024.

OLIVEIRA, A. L. M. B. et al. *Effects of Hypoxia on Heart Rate Variability in Healthy Individuals: A Systematic Review*. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/2359-4802.20170035> Acessado em: 17 de novembro de 2024.

Patologia | Museu de Ciências da Vida. Disponível em: <https://mcv.ufes.br/patologia> Acessado em: 29 de junho de 2024.

PATHAK, A., & MANGALI, H. (2010). *Histo-Pathology Examination in Medico-legal Autopsy Pros & Cons*. **J Indian Acad Forensic Med**.

PATRAQUIM, A. C. **Controlo de qualidade do processamento histológico em histotecnologia: a realidade de 12 hospitais portugueses**. Disponível em: <https://repositorio.ipl.pt/handle/10400.21/5659> Acessado em: 18 de junho de 2024.

PÉREZ GONZÁLEZ. *Forensic Histopathology From a Practical Perspective*. 1. Disponível em: [boletin27ASPECTOS PRÁCTICOS EN HISTOPATOLOGÍA FORENSE.pdf \(agmf.es\)](https://www.agmf.es/boletines/boletin27ASPECTOS%20PRÁCTICOS%20EN%20HISTOPATOLOGÍA%20FORENSE.pdf) Acessado em: 30 de Setembro de 2024.

PINTER, S. et al. Estrutura, ultraestrutura e morfometria da aorta de paca (*Cuniculus paca*, Linnaeus, 1766) criada em cativeiro. **Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria E Zootecnia**, v. 64, n. 3, p. 599–605, 1 jun. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000300011> Acessado em: 13 de setembro de 2024

Plataforma Nacional de Infraestrutura de Pesquisa. Disponível em: <https://pnipe.mcti.gov.br/equipment/14591> Acessado em: 19 de junho de 2024.

PONTES-NETO, O. M. et al. Diretrizes para o manejo de pacientes com hemorragia intraparenquimatosa cerebral espontânea. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 67, n. 3b, p. 940–950, set. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0004-282X2009000500034> Acessado em: 17 de novembro de 2024.

PORTO, Aimée Christine Alcântara Ribeiro Szönyi; MIZIARA, Ivan Dieb. Dificuldades diagnósticas da causa mortis em cadáveres decompostos. **Saúde Ética & Justiça**, São Paulo, SP, Brasil, v. 24, n. 2, p. 57–66, 2019. DOI: 10.11606/issn.2317-2770.v24i2p57-66. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/sej/article/view/166963>. . Acessado em: 16 de julho de 2024.

RICCI, M. et al. Hemicorporectomia associada à colostomia úmida: procedimento de exceção. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 36, n. 6, p. 525–528, 1 dez. 2009. Acessado em: 12 de setembro de 2024.

RIBEIRO, L. P. **Patologia forense: contribuição e influência em investigações criminais e na saúde pública.** 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/37226> Acessado em: 29 de junho de 2023.

RONCHI JÚNIOR, IVO et al. Síndrome hipereosinofílica idiopática: relato de caso e revisão de literatura. **Rev. Soc. Bras. Clín. Méd.**, 2024. Disponível em: [Síndrome hipereosinofílica idiopática: relato de caso e revisão de literatura | Rev. Soc. Bras. Clín. Méd.;8\(2\)mar.-abr. 2010. | LILACS](#) Acessado em: 17 de novembro de 2024.

SABILLÓN, DR. N. *La Histopatología Forense.* **Revista de Ciencias Forenses de Honduras**, v. 1, n.2, p. 46–48, 2015. Disponível em: [RCFH1-2-2015.pdf \(mp.hn\)](#) Acessado em: 09 de abril de 2024.

SANTOS, M. C. C. L. DOS. Conceito médico-forense de morte. **Revista da Faculdade de Direito**, Universidade de São Paulo, v. 92, p. 341–380, 1 jan. 1997. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rfdusp/article/view/67369> Acessado em: 15 de agosto de 2024.

SANTOS, V. P. DOS et al. Arteriosclerose, aterosclerose, arteriolosclerose e esclerose calcificante da média de Monckeberg: qual a diferença? **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 20, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1677-5449.200211> Acessado em: 17 de novembro de 2024.

SCHUWARTZ, C. D. V. et al. Aplicações da alta pressão hidrostática nas ciências da Saúde. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research**, v. 13, n. 3, 10 set. 2011. Disponível em: [Vista do Aplicações da alta pressão hidrostática nas ciências da Saúde](#) Acessado em: 17 de novembro de 2024.

SANTOS, M. P. F. DOS. **Histoquímica e Imuno-histoquímica: Aplicabilidade no Contexto Forense.** Disponível em: <https://hdl.handle.net/10316/106382>. Acesso em: 2 de julho de 2024.

SOUZA, Sara. **Patologia Forense é forte aliada na investigação de casos complexos**. Site oficial do governo do Ceará, 2020. Disponível em: <https://www.ceara.gov.br/2020/06/17/patologia-forense-e-forte-aliada-na-investigacao-de-casos-complexos/>. Acessado em: 29 de junho de 2023.