



DESTAQUE DO MÊS DIAFANIZAÇÃO

Setembro de 2024

*LUCAS LEAL, SARAH BRITO, SABRINA FONTES,
TOMAS GOMES E YASMIN OLIVEIRA



Museu de Anatomia
Veterinária da
FMVZ da USP

O QUE É?

A diafanização é uma técnica que mistura química e biologia para permitir um jeito único de estudar a anatomia de pequenos animais. O processo envolve o uso de substâncias químicas que dissolvem a musculatura, mas preservam o esqueleto e os tecidos conjuntivos, deixando os animais "transparentes", isso permite que o interior deles seja examinado sem a necessidade de dissecação.

Por ser um procedimento delicado, que requer cuidados com solventes perigosos e treinamento especializado, a diafanização costuma ser realizada por pesquisadores ou técnicos qualificados. A técnica é amplamente utilizada em museus e aulas de Ciência para exibir exemplares de animais como cobras, sapos e ratos, ajudando em estudos detalhados de anatomia. Além de sua aplicação acadêmica, a diafanização é de grande interesse para as coleções científicas e é uma ferramenta valiosa para a educação ambiental.

Além de seu uso em atividades educativas, a diafanização é ótima técnica de conservação para o estudo da formação óssea em fetos de animais, permitindo comparações entre diferentes estágios de gestação e oferecendo percepções valiosas sobre o desenvolvimento das espécies. Em geral, a diafanização transforma animais em "janelas" para a compreensão da biologia, seja no ambiente acadêmico, em museus, ou em atividades de educação ambiental.

A técnica de diafanização também tem um lado estético que chama a atenção de artistas e apreciadores da arte científica. As peças, com seus esqueletos visíveis e estruturas internas detalhadas, oferecem uma mistura única entre ciência e arte. Elas revelam uma beleza intrigante do mundo natural, que vai além do educativo e se transforma em uma forma de expressão artística. Isso permite que diferentes públicos possam apreciar tanto a funcionalidade quanto a estética dessas peças.



(Peixes diafanizados, Vivendo Ciência 2024)

COMO FUNCIONA?

A técnica de diafanização é um método que torna os tecidos transparentes, permitindo a visualização das estruturas internas, como ossos e cartilagens, sem a necessidade de dissecação. O processo inclui diversas etapas e requer cuidados específicos na escolha das peças e materiais.

O primeiro passo para a realizar a técnica de diafanização é a coleta de uma amostra de tecido da peça selecionada, sendo comumente conhecida como biópsia. Esse processo serve para o especialista analisar e identificar possíveis complicações, como a utilização de um produto químico que pode agredir a peça. A amostra removida recebe o nome de espécime e é armazenada dentro de cassetes histológicos (recipiente plástico retangular que permite a imersão de amostras de tecido em soluções químicas) de modo a acomodá-la durante todas as etapas de preparação.

1 - PROCESSO EM ETAPAS

Diafanização em peças do Museu de Anatomia Veterinária da FMVZ USP

- **Primeiro Passo: Tratamento com Tripsina**
 - O preparador coloca os restos mortais do animal em tripsina (enzima secretada pelo pâncreas, que tem como função digerir as proteínas ingeridas).
 - A tripsina destrói as proteínas e a melanina dá cor à pele.
 - Sem as proteínas e a melanina, a criatura torna-se transparente.
- **Segundo Passo: Aplicação dos Corantes eosina e hematoxilina.**
 - Utilização de corantes que se ligam a substâncias específicas do corpo.
 - Corantes atraídos por colágeno e o cálcio (eosina, alizarina Red) tingem os ossos de tons avermelhados.
 - Corantes atraídos por cartilagem (hematoxilina, azul de alcian) tingem a cartilagem de tons azulados.
- **Conservação das Amostras**
 - As amostras são conservadas em glicerina líquida.
 - A glicerina fornece estabilidade e permite exibição sem complicações.

Uma das soluções mais utilizadas nessa técnica é o hidróxido de potássio a KOH 2%, podendo ser substituído pelo hidróxido de sódio a NaOH 2%, pois apresenta melhor conservação dos tecidos moles, fazendo com que a peça preparada dure mais tempo. Em preparos para observar a coloração, a solução indicada é a alizarina a 0,1%, sendo possível visualizar a ossificação diferencial sem deteriorar o espécime, algo que ocorre na alizarina a 1%.

2 - SELEÇÃO DE PEÇAS E MATERIAIS

O processo envolve várias etapas e cuidados específicos na seleção de peças e materiais:

Fixação: As amostras, que geralmente incluem pequenos vertebrados ou partes específicas, como dentes, são fixadas em formol a 10% por 48 horas para preservar suas estruturas.

Evisceração: Os órgãos internos são removidos com cuidado para não danificar as estruturas ósseas; em alguns casos, a pele também é retirada (retirar a pele; eviscerar, se for viável, pela boca, ou então pelo abdome).

Desidratação: As amostras são desidratadas em uma série de soluções alcoólicas com concentrações crescentes (de 50% a 100%) para eliminar a água dos tecidos.

Maceração: Os músculos são macerados com uma solução de hidróxido de potássio (KOH) a 2%, processo que pode levar de 20 a 30 dias, dependendo do tamanho da amostra.

Coloração: Os ossos são tingidos com Alizarina Red S a 1%, que se liga aos íons de cálcio, destacando as estruturas ósseas enquanto os tecidos moles permanecem transparentes.

Glicerinação: As amostras são gradualmente transferidas para uma solução de glicerina, que ajuda a manter a transparência dos tecidos. Essas etapas asseguram que as peças preparadas por diafanização preservem suas características estruturais, permitindo um exame detalhado das peças anatômicas.

(Técnica de diafanização aplicada em peixes, em exposição no Museu de Anatomia Veterinária da USP.)

PIGMENTOS COMUNS DO CORPO HUMANO NA TÉCNICA DIAFANIZAÇÃO

Quando falamos de diafanização entendemos que o processo funciona a partir de uma série de agentes aplicados em uma peça fazendo com que os pigmentos dela sejam transparecidos, para entendermos melhor precisamos saber quais pigmentos agem a partir desse processo.

Os vertebrados apresentam diversas tonalidades de pele e de pelos. A coloração dessas estruturas resulta da interação de vários pigmentos, como a melanina, a principal por promover coloração. Esse pigmento apresenta normalmente coloração marrom e sua principal função é proteger o DNA contra a ação nociva da radiação emitida pelo sol, funcionam a partir de uma proteína cuja função é produzir os melanócitos que são as células produtoras dos grãos de melanina responsáveis pela pigmentação da pele, sob a ação do sol, aumenta a produção de grãos de melanina que escurece com mais rapidez.

A produção desse pigmento (melanina) nos melanócitos ocorre mais precisamente no interior de vesículas denominadas de melanossomos. É a quantidade dessas vesículas que determina se uma pele será mais ou menos pigmentada. Dois subtipos de melanina são produzidos no interior dos melanossomos: a eumelanina e a feomelanina.



A eumelanina possui um alto peso molecular e destaca-se por apresentar uma cor que varia de marrom a negro. A feomelanina, por sua vez, possui coloração vermelha ou amarela.

Por serem pigmentos normais dentro do corpo humano, durante o processo de diafanização a partir da aplicação dos produtos químicos chamados de tripsina e peróxido de hidrogênio, os mesmos destroem as proteínas que tornam a pele opaca e promove o clareamento da melanina. Assim apenas uma versão transparente da peça permanece

Ao longo da técnica, agentes químicos destroem o colágeno, proteína criadora da pele, fazendo com que os corantes fiquem mais visíveis para serem mostrados a partir da injeção de diferentes corantes. Normalmente a diafanização é usada principalmente para peças delicadas e de estaturas menores, nos seres humanos, normalmente partes do corpo passam separadamente por esse processo, fazendo com que possam ser expostas e possíveis de identificar elementos mais precisamente.

IMPORTÂNCIA DA TÉCNICA DE DIAFANIZAÇÃO PARA EXAMES CLÍNICOS E LABORATORIAIS

Esse método também faz uso de solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 10% (pernoite), seguido da clarificação do material com hipoclorito de sódio e também de corantes e formaldeído esses agentes apresentados são responsáveis por fazer a preservação das peças. Além de preservar a forma original, permitindo a observação de detalhes como a posição e direção dos canais radiculares dos dentes, reduz a possibilidade de falhas e permite a conservação por muito tempo. Esse método tem a capacidade de preservar o esqueleto íntegro, possibilitando também o estudo estereológico das espécies

Impregnação pela parafina fundida, em torno de 60 °C, num período aproximado de 2 horas, faz com que as peças fiquem conservadas e retidas em um lugar fixo. A parafina penetra nos vasos, nos espaços intercelulares e no interior das células, permitindo a preservação da estrutura dos tecidos e facilitando a obtenção dos cortes no micrótomo.

Podemos dar um dos exemplos de como o método de diafanização é composto, um deles pode ser o hidróxido de sódio que como dito anteriormente é utilizado em reações químicas por sua alta reatividade. Em degradações, onde é usado para preparar alcanos a fim de diminuir a quantidade de carbono na cadeia. Usado também, juntamente com o óxido de cálcio (CaO), para diminuir a reatividade e prevenir a corrosão.



(Hidróxido de Sódio, um principais químicos que compõem a técnica de diafanização)



*Lucas Leal, Sarah Brito, Sabrina Fontes, Tomas Gomes e Yasmin Oliveira - Estudantes do ensino médio do curso técnico de Análises Clínicas do Colégio Fernão Dias e estagiários do Museu de Anatomia Veterinária da FMVZ USP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

<https://search.app/vZ7g6RBc1zJDW1166>

<https://search.app/aHUDE3p1g7bxkN4Z9>

<https://kasvi.com.br/histopatologica-tecnica-tecido-celular/#:~:text=Clarificação%20ou%20diafanização,se%20torna%20mais%20claro%2C%20transparente.>

<https://pt.wikipedia.org/wiki/Diafanização#:~:text=A%20diafanização%20é%20uma%20técnica,esqueleto%20e%20o%20tecido%20conjuntivo.>

<https://www.megacurioso.com.br/ciencia/120036-diafanizacao-a-colorida-tecnica-de-conservacao-de-animais-mortos.htm>

<https://www.vivendociencias.com.br/2014/09/diafanizacao.html>

<https://www.scielo.br/j/ciedu/a/vNFpV5yXJYvvCTnHXZg498f/>

<https://mundoeducacao.uol.com.br/biologia/melanina.htm>

<https://escolakids.uol.com.br/ciencias/melanina>

<https://www.megacurioso.com.br/ciencia/120036-diafanizacao-a-colorida-tecnica-de-conservacao-de-animais-mortos.htm>

<https://www.ufsm.br/app/uploads/sites/678/2019/07/t%C3%A9cnica-de-histologia.pdf>

<https://search.app/2on5JLX7mWXvxPGAA>

<https://brasilecola.uol.com.br/quimica/hidroxido-de-sodio.htm>

Av. Prof. Orlando Marques de Paiva, 87 - CEP 05508 270
Cidade Universitária - São Paulo/SP - Brasil
Tel.: (11) 3091-1309

mav.fmvz.usp.br | www.fmvz.usp.br

