UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Departamento de Morfologia

MOR/CCS/UFES
FLS. 04

Título do Projeto de pesquisa:	II Workshop Internacional de Plastinação (2th International Plastination Workshop)
Linhas de ação:	1) 2º Workshop Internacional em Plastinação da Universidade Federal do Espírito Santo, com abordagem teórico-prática com todos os principais métodos da plastinação (silicone, epóxi e poliéster);
Instituição Executora:	Universidade Federal do Espírito Santo
Participantes:	Professores: Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt –UFES (Coordenador) Profª. Drª. Ana Paula Santana de Vasconcellos Bittencourt - UFES Profª. Drª. Aurélia Araújo Fernandes Soares - UFES Prof. Dr. Carlos A. Baptista – University of Toledo - USA Prof. Dr. Marco Cezar Cunegundes Guimarães – UFES Alunos: Randriely Merscher Sobreira de Lima – Doutoranda/UFRGS Yuri Favalessa Monteiro – Graduando de farmácia/UFES Laíssa da Silva Juvenato -Graduanda de farmácia/UFES Bruno Magela de Melo Siqueira – Mestrando/UFES Técncio: Flávio da Cunha Monteiro
Grupo de Pesquisa CNPq:	NIPlast - Núcleo Interinstitucional de Plastinação: Educação Básica, Desenvolvimento e Tecnologia Assistiva
Linha de Pesquisa:	Difusão e Popularização Científica – Laboratório de Plastinação / Museu de Ciências da Vida - UFES
Centro/Departamento Acadêmico:	Departamento de Morfologia – Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal do Espírito Santo

Vitória – Março de 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Departamento de Morfologia

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 05

RESUMO

O conhecimento anatômico é explorado há milênios. Por volta do século XVII, a dissecção humana teve reconhecida sua importância para a medicina. Apesar das tecnologias computacionais, o estudo prático da anatomia com cadáveres se mantém como uma atividade essencial dos cursos biomédicos. Descoberto em 1867 pelo químico alemão Hoffmann, o formol, apesar de sua toxidez e periculosidade, ainda é largamente utilizado para fixação e conservação de cadáveres e espécimes anatômicos. O Brasil possui 4487 cursos de graduação na área da saúde, os quais estudam anatomia, e em grande parte com material formalizado. A plastinação representa o que há de mais avançado em métodos de conservação de espécimes anatômicos. Criado pelo Dr. von Hagens em 1977, este método consiste em impregnação forçada de espécimes por polímeros, silicone, epóxi ou poliéster. Com a técnica, os espécimes são preservados definitivamente sem odor e toxidez, dispensando químicos conservantes. No Brasil, esta técnica encontra-se em estágio embrionário, com poucos laboratórios em vias de instalação, resultado de grandes esforços de pesquisadores que necessitaram ir ao exterior para buscar esta tecnologia, o que por vezes é inviável tanto pelas restrições financeiras quanto pela limitação da língua. Diante do exposto, acreditamos que a realização do 2º Workshop Internacional de Plastinação no Brasil, significará uma oportunidade importante para o desenvolvimento desta tecnologia em nosso país, que beneficiará o ensino e a difusão científica da anatomia e diversas áreas correlatas. Este é um evento totalmente viável em função da estrutura física e laboratorial do Museu de Ciências da Vida da UFES e o seu Laboratório de Plastinação. Realizado em parceria com a Sociedade Internacional de Plastinação, este evento terá abrangência nacional e internacional, atraindo professores, pesquisadores técnicos e alunos de áreas da anatomia e correlatas. Acreditamos que a realização do 2º Workshop Internacional em plastinação, contribuirá para fortalecer a plastinação no Brasil, conduzindo-nos para uma condição de igualdade com outros países no que se refere ao domínio desta tecnologia.

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 06

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Departamento de Morfologia

Abstract

The discovery of formaldehyde by the german chemist Hoffman was a milestone in the preservation of biological specimens to the study of the human body. Formaldehyde is still largely used by institutions around the world to preserve tissues for teaching and research, despite of the high toxicity reported including being highly carcinogenic. In 1977, Dr. Gunther von Hangens, from the University of Hildelberg, proposed a new method of tissues preservation called plastination, which completely replace formaldehyde as a preserving material with the advantage that specimens become dry, orderless, resistant, durable and visual appealing. Despite of the technique being well used around the world, only few institutions in Brazil have been able to adapt or change the preservation method to plastination. The International Society for Plastination, founded in 1986, have been active in providing support for diffusion of plastination around the world and, as in the first edition of this event, here in Vitoria, 2015, will give support to this edition, which intends to happen annually, as in USA, Europe and Chine. Training in the technique has been available in United States and Europe for several years, but costs and language barrier has been a drawback to the learning of the technique by Brazilian scientists. With the possibility of a laboratory in Vitoria/ES, that is capable of handling the major plastination techinques such as Silicone, Epoxi and Polyester, it is now viable and a unique oportunity to train the Brazilian Scientists in the techinique.

DEPTO MOR/CCS/UFES
FLS: 07

1. Introdução:

O conhecimento anatômico já era explorado há mais de três mil anos, como mostram registros que descrevem cirurgias bem sucedidas em cérebros humanos. Quinhentos anos antes de Cristo, no sul da Itália, Alcméon de Crotona já realizava dissecções em animais. Hipócrates também foi um grande estudioso da anatomia com inúmeras dissecações anatômicas (460 - 377 a.c.) (KICKHÖFEL, 2003; SOUZA, 2011)

Por volta do século XVII, a dissecção humana se tornou uma característica importante nas escolas de medicina de toda a Europa, e em 1832, na Inglaterra, foi aprovado o "Anatomy Act", que legalizou a utilização de cadáveres em escolas de medicina (AJITA e SINGH, 2007). Esta legalização se fazia necessária em função do desenvolvimento da medicina, o qual, por ter como um dos principais pilares o conhecimento anatômico, depende de material cadavérico para seu estudo (QUEIROZ, 2005) . Atualmente, apesar de toda tecnologia computacional e de imagens que a modernidade nos apresenta, o estudo prático da anatomia com cadáveres, que está presente nos diversos cursos superiores das áreas da saúde e biomédicas, se mantém como uma atividade essencial destes cursos (ZIELAK e DELIBERADOR, 2011; SILVA ET et al ,2013) .

Em função do uso de material cadavérico, o estudo de anatomia depende de métodos de conservação de corpos e tecidos. Destes, o método mais difundido é a fixação com aldeído fórmico (formaldeído, formalina ou formol), descoberto acidentalmente em 1867 pelo químico alemão Hoffmann e ainda hoje sintetizado pelo mesmo método da oxidação utilizado por ele. (HADER, R.N., WALLACE, R.D., McKINNEY, R.W., 1952). O formol é um gás produzido mundialmente desde o início do século XX, e hoje sua produção anual é de aproximadamente 21 milhões de toneladas. É um produto de baixo custo e de grande utilidade, pois é uma

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 08

substância utilizada em áreas muito distintas, tais como: indústria de produtos de madeira e papel; indústria de móveis; construção civil; fábricas de tecidos e artigos de vestuário. Na área de ensino de ciências médicas apresenta importante aplicação nas disciplinas de anatomia, histologia e patologia, sendo amplamente usado para preservar peças anatômicas e tecidos, impedir proliferação de microorganismos e a deterioração das amostras. (IARC, 2004)

Por outro lado, diversos estudos demonstram a toxicidade do formol (SANTOS, 2004; LADEIRA, 2009; ALVES e ACIOLE, 2012), e já foram comprovadas suas propriedades irritativas e nocivas a animais e aos seres humanos (FORNAZIERO e GIL, 2003; ALVES e ACIOLE, 2012). Em 2004 a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC) da Organização Mundial de Saúde (OMS) classificou o formaldeído como agente carcinogênico, teratogênico e mutagênico (IARC, 2006).

Os resíduos dos serviços de saúde são considerados perigosos tanto pela legislação americana quanto pela normatização brasileira; a periculosidade é atribuída tanto pela toxicidade quanto pela patogenicidade (NAIME, SARTOR e GARCIA, 2004). Em termos ambientais, uma das principais questões com relação ao formol é a sua permanência relativamente longa em condições de elevada umidade e temperatura (WHO, 2000). O descarte de formaldeído no meio ambiente deve ser feito em concentrações muito baixas para evitar sobrecargas e minimizar seus efeitos nocivos, podendo, por seu poder bactericida, comprometer a biomassa no caso desta substância atingir um sistema de tratamento biológico de águas residuárias (OLIVEIRA, ZAIAT, 2005).

Koshiba e colaboradores (1993) definiram a fixação em formol como um passo fundamental no processo de conservação de cadáveres. No entanto, manter as peças anatômicas em formol para utilizá-las em aulas práticas resulta em uma série de problemas

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 09

importantes de saúde e meio ambiente para o país, como discutido anteriormente, Apesar disso, a grande maioria das Universidades brasileiras tem o formol com principal método de conservação de espécimes cadavéricos, enquanto que em muitos outros países, como os Estados Unidos da América, a utilização deste químico foi reduzida ao mínimo possível (OLIVEIRA e ZAIAT, 2005; ALVES e ACIOLE, 2012).

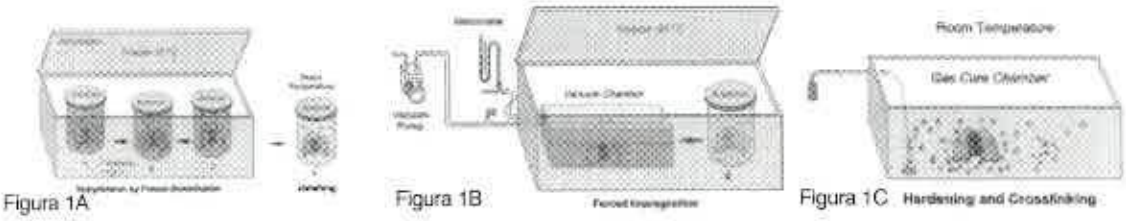
Para se ter uma ideia, segundo o Ministério da Educação (http://emec.mec.gov.br/) o Brasil possui hoje 4487 cursos de graduação da área da saúde, os quais, em sua esmagadora maioria, possuem em suas grades curriculares a disciplina de anatomia, em grande parte ainda ministrada com a utilização de peças anatômicas formalizadas. Embora existam meios alternativos de conservação, estes também apresentam algumas desvantagens: a glicerina, por exemplo, apesar de ser um composto atóxico e também de custo relativamente baixo, provoca mudança de cor dos espécimes, que ficam muito escurecidos após o processo de fixação, inviabilizando seu uso em estruturas como o sistema nervoso. Existem relatos de preservação de cadáveres também com outras substâncias preservantes, como, por exemplo Solução, de Larssen modificada para utilização em aulas de técnica operatória (SILVA, 2003), mas nenhuma delas com as vantagens características do formol.

A Plastinação representa o que há de mais avançado em métodos de conservação de espécimes anatômicos. Esta técnica de preservação de espécimes biológicos apresenta características que a colocam como uma ferramenta preferencial para uso no ensino de anatomia. Criado pelo Dr Gunther von Hagens, da Universidade de Heidelberg, Alemanha, em 1977, este método pode ser feito com diferentes resinas (von Hagens *et al.*, 1987). Após a dissecção, a peça anatômica passa pelo processo de plastinação, onde os espécimes são impregnados com um polímero como o silicone, epóxi ou poliéster, dependendo da técnica

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 10

que se pretende aplicar. Esta impregnação se dá através de um processo constituído por basicamente 3 ou 4 etapas (von Hagens, 1987):

1) Fixação – Caso a peça ainda não tenha sido previamente fixada, isso pode ser feito com fixadores convencionais, como solução de formaldeído;
2) Desidratação – Na desidratação, ocorre a remoção de fluidos, bem como gordura. Nesta etapa o fluido tecidual é substituído por um solvente orgânico como o álcool etílico ou acetona. A acetona é mais utilizada por ser um solvente intermediário, necessário no próximo passo – a impregnação forçada. Para evitar deformação na peça, a desidratação é feita em baixa temperatura (-15 – -25C°) (figura 3A);
3) Impregnação forçada – Nesta etapa ocorre a substituição do solvente, volatilizado pela baixa pressão na câmara de vácuo em baixa temperatura, pelo polímero escolhido (figura 3B);
4) Catalisação química ou luminosa do polímero para seu endurecimento pela luz. Em síntese, ao final do processo, a água e a gordura dos tecidos é substituída pela resina (figura 3C).



Figuras 1: Obtidas de http://isp.plastination.org/.html, representam as etapas da plastinação.

Este processo é lento e inspira cuidado e atenção com os parâmetros físicos envolvidos, pois pequenas alterações de temperatura, pressão e hidratação podem dificultar ou até inviabilizar a técnica. Durante o processo de endurecimento, o espécime já

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 11

impregnado (com silicone), é colocado na posição desejada, quando então se vaporiza o catalisador e o espécime assume a forma e consistência definitivas, podendo então ser utilizado com a finalidade para a qual foi produzido.

Com a técnica de preservação dos espécimes por meio da plastinação, alem de evitar-se o contato constante com soluções conservantes tóxicas e de odor desagradável, como o formaldeído, o processo aumenta imensamente a durabilidade das peças, inclusive para o manuseio, o que é extremamente útil para as atividades educativas em anatomia, sejam elas no ambiente acadêmico ou não (HENRY *et al*, 2007). A peça plastinada também dispensa a utilização de cubas de vidro para sua acomodação em espaços expositivos, o que se faz necessário para conservação com formaldeído.

A produção de espécimes secos, duráveis, sem cheiro, de aparência e coloração agradáveis e próximas da realidade, tem feito com que a técnica se popularize e seja adotada em inúmeras instituições como faculdades, colégios e museus por todo o mundo (JONES AND WHITAKER, 2009). Gunther von Hagens tem realizado a exposição "Body Worlds", que já recebeu mais de 38 milhões de visitantes em 10 anos de exposições por 90 cidades através países da América, Ásia, África e Europa (http://www.bodyworlds.com/). No Brasil, a partir de 2007, aconteceram exposições de peças plastinadas em diversas cidades, com grande sucesso de público, demonstrando o grande interesse e curiosidade que este tipo de mostra desperta nas pessoas.

Com a implementação da inovação tecnológica da plastinação, um novo e importante universo de possibilidades se abre para as atividades de ensino, pesquisa e divulgação científica no Brasil na área de anatomia humana e animal, bem como diversas outras áreas correlatas. Ainda, pensando em outras linhas de pesquisa e aplicação da plastinação, como a

DEPTO. MORF/CCS/UFES
FLS.: 12

educação ambiental, ecologia e a biologia animal, esta técnica permite preservar acervos da biodiversidade de forma permanente e segura. No Brasil, muitos acervos biológicos são mantidos em álcool ou formol. No caso do álcool, tem-se um grande perigo de incêndio, podendo colocar em risco não apenas o acervo como as pessoas que trabalham nestes espaços, como ocorreu, por exemplo, no incêndio no Instituto Butantã em 2010, que destruiu cerca de 80% de todo o seu acervo de serpentes.

Além da anatomia, a tecnologia da plastinação certamente possibilita parcerias importantes com outras áreas, como a patologia, veterinária, zoologia e botânica. No que se refere à divulgação científica, a plastinação permite que a ciência da anatomia seja apreciada de uma forma totalmente lúdica e artística, promovendo a aproximação do público a este conhecimento tão importante para nossa vida. Com as peças plastinadas, a interatividade do público será possível, e os deficientes visuais poderão desfrutar plenamente deste conhecimento, explorando com suas mãos os espécimes anatômicos sem o inconveniente dos conservantes químicos tóxicos e de odor desagradável.

2. Justificativa(s) para realização do Evento;

Entre os profissionais da área, não há dúvidas que a plastinação é uma ferramenta extremamente útil e versátil para as atividades educativas que envolvam a anatomia. Porém, muitas instituições de ensino e pesquisa do Brasil não buscam novos métodos de conservação de peças anatômicas por diferentes motivos, que incluem custos, desconhecimento e falta de acesso a tecnologias inovadoras. Considerando os quase 4500 cursos da área da saúde existentes no país, não há dúvida de que a demanda pela

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 13

implantação e aperfeiçoamento da Plastinação, para fins didáticos, científicos e de extensão, é extensa e premente.

No Brasil, a plastinação ainda não é uma realidade, mesmo após quase 40 anos da invenção da técnica. Atualmente, alguns poucos laboratórios estão em funcionamento ou em vias de instalação, resultado de grandes esforços de pesquisadores que necessitaram ir ao exterior para buscar esta tecnologia, o que por vezes é inviável tanto pela limitação da língua quanto pelas restrições financeiras.

A realização da XI Conferência Internacional Interina de Plastinação na UFES, em 2015, que recebeu participantes de 18 estados do brasileiros, 7 países e 3 continentes, contribuiu para tornar esta técnica uma realidade no Brasil, visto que a partir dela muitos embriões de laboratórios de plastinação surgiram em nosso país, alguns dos quais já produzindo peças plastiadas.

Diante do exposto, entendemos que devemos promover ações que estimulem e viabilizem a capacitação de pessoas, assim como a apropriação e o desenvolvimento desta tecnologia aqui no Brasil, trazendo avanços aos diferentes setores que dependem da preservação de tecido/material biológico.

3. Objetivos

3.1. Sediar o 2º Workshop Internacional em Plastinação na Universidade Federal do Espírito Santo, dos dias 01 a 04 de agosto de 2015, em Vitória-ES;

3.2. Oferecer aos participantes a oportunidade de contato teórico-prático com os principais protocolos da técnica de plastinação;

3.3. Oferecer os subsídios teóricos para que os participantes possam iniciar a montagem de um "setup" básico de plastinação e a aplicação da técnica.

DEPTO MOR/CCS/UFES
FLS. 14

4. Programa preliminar do evento

Terça-feira, 1 de agosto de 2017:

HORÁRIO	ATIVIDADE / TEMA
07:30-08:30	Registro e entrega de material
08:30–08:50	Abertura e boas vindas: Prof. Dr. Carlos Augusto Camargo Baptista - Tesoureiro da *International Society for Plastination*, University of Toledo, Ohio, USA; Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt – Coordenador do II Workshop Internacional de Plastinação, Universidade Federal do Espírito Santo Santo, Vitória – Brasil; Prof. Dr. Reinaldo Centoducate – Reitor da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória – Brasil Profª. Drª. Glaucia de Abreu Rodrigues – Diretora do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória – Brasil;
08:50– 09:00	Informações gerais: Esclarecimentos sobre as atividades do evento. Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt - UFES, Vitória/ES, Brasil
09:00 – 09:30	Palestra I: Princípios da plastinação e preparação de espécimes Prof. Dr. Carlos A. C. Baptista - University of Toledo, Ohio, USA
09:30 - 10:30	Palestra II: Fixação de espécimes biológicos aplicada à plastinação; Prof. Dr. Rafael Cisne de Paula – Universidade Federal Fluminense, Niterói/RJ, Brasil
10:30 – 11:00	**Coffee Break**
11:00 – 11:40	Palestra III: Princípios da desidratação Prof. Dr. Carlos A. C. Baptista - University of Toledo, Ohio, USA
11:40 – 12:20	Palestra IV: Princípios de impregnação e cura – silicone Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt - UFES, Vitória/ES, Brasil
12:20 – 13:30	**Almoço**
13:30 – 17:00	Prática: Desidratação e impregnação Desidratação, impregnação e redução da pressão durante impregnação à temperatura ambiente e no frio

Quarta-feira, 02 de agosto de 2016

08:00 – 08:20	Revisão das técnicas do dia anterior (perguntas e respostas)
08:20 – 08:55	Palestra V: Princípios da técnica de poliéster Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt - UFES, Vitória/ES, Brasil
08:55 – 09:30	Palestra VI: Princípios da técnica de epóxi Prof. Dr. Rafael Latorre - Universidad de Murcia, Murcia – Espanha
09:30 – 10:00	**Coffee Break**
10:00 – 11:30	Palestra VII: Demonstração da técnica de Epóxi-Sanduiche Prof. Dr. Carlos A. C. Baptista - University of Toledo, Ohio, USA Prof. Dr. Rafael Latorre - Universidad de Murcia, Murcia – Espanha
11:30–12: 00	Sessão de pósteres
12:00 – 13:00	**Almoço**
13:00 – 17:00	Prática: Cura do silicone, impregnação do epóxi, montagem das câmaras

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 15

	planas para poliéster

Quinta-feira, 03 de agosto de 2016

08:00 – 08:20	Revisão das técnicas abordadas no dia anterior (perguntas e respostas)
08:20 – 09:00	Palestra VIII: Plastinação em temperatura ambiente: prós e contras Prof. Dr. Carlos A. C. Baptista – University of Toledo, Ohio, USA
09:00 – 09: 30	Palestra IX: Silicones alternativos comercializados no Brasil para plastinação – pesquisa e resultados Laíssa Juvenato da Silva – Laboratório de Plastinação MCV – UFES, Vitória/ES, Brasil
09:30 – 10:00	**Coffee Break**
10:00 – 10:20	Palestra X: Características físico-químicas dos principais químicos utilizados na plastinação Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt – UFES, Vitória/ES, Brasil
10:20 – 11:00	Palestra XI: Tecnologia do vácuo: princípios físicos fundamentais Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt – UFES, Vitória/ES, Brasil
11:00 – 12:00	Palestra XII: Como montar um laboratório de plastinação no Brasil (equipamentos, utensílios, ferramentas, químicos e estrutura física) Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt – UFES, Vitória/ES, Brasil
12:00 – 12:30	Sessão de pôsteres
12:30 – 13:30	**Almoço**
13:30 – 17:00	Prática: Cura do poliéster e epóxi, abertura das câmaras planas, monitoramento do vácuo da câmara de silicone

Sexta-feira, 04 de agosto de 2016

08:00 – 08:20	Revisão das técnicas abordadas no dia anterior (perguntas e respostas)
08:20 –08:45	Palestra XIII Relação temperatura x viscosidade do silicone e suas implicações na plastinação – pesquisa e resultados Yuri Favalessa Monteiro – Laboratório de Plastinação MCV – UFES, Vitória/ES, Brasil
08:45 –09:10	Palestra XIV Pigmentos e corante na plastinação – pesquisa e resultados Bruno Magela de Melo Siqueira - Laboratório de Plastinação MCV – UFES, Vitória/ES, Brasil
09:10 –09:50	Palestra XV: Questões de segurança e perigo do Lab. de Plastinação Prof. Dr. Carlos A. C. Baptista - University of Toledo, Ohio, USA
09:50 – 10:00	Palestra XVI: "International Society for Plastination" e outras conferências Prof. Dr. Carlos A. C. Baptista - University of Toledo, Ohio, USA
10:00 – 10:30	**Coffee Break**
10:30 – 13:00	Prática: Conferência de pressão das câmaras de vácuo, finalização da cura e embalagem dos espécimes para transporte
13:00 – 14:00	**Almoço**
13:00 – 16:00	Visita técnica ao Museu de Ciência da Vida da UFES
16:00 – 16:30	Encerramento

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 16

5. Experiência da equipe organizadora e conferencistas

Todos os professores participantes são doutores, atuantes na área de morfologia ou plastinação. Os alunos, todos bolsistas de pós-graduação, extensão ou iniciação científica, também são membros da equipe do MCV e de seu Laboratório de Plastinação.

Como coordenador do MCV e buscando a autossuficiência na produção de peças anatômicas plastinadas, o Prof. Athelson Bittencourt participou, em 2011, do *10th International Interim Conference on Plastination,* na Universidade de Toledo, estado de Ohio-EUA, retornando a esta Universidade em 2012 para uma capacitação. Durante este período atuou como Professor Visitante da Universidade de Toledo, especificamente junto ao Laboratório de Plastinação desta instituição (http://wwwutoledoedu/med/depts/neurosciences/plastination/) sob a supervisão do Prof. Dr. Carlos A. C. Baptista, presidente da *International Society for Plastination* à época. Este estágio permitiu conhecer e praticar as técnicas com detalhes, tornando-se apto a montar um laboratório e desenvolver a plastinação no estado do Espírito Santo.

Buscando mais aprimoramento e conhecimento sobre a plastinação, bem como ampliar a nossa rede colaborativa, em novembro de 2012 o Prof. Athelson foi recebido pelo Dr. Gunthen von Hagens, inventor da plastinação, para uma visita técnica ao seu Plastinário na cidade de Guben, Alemanha (http://wwwplastinariumde). Nesta oportunidade, pode conhecer a estrutura do *Plastinarium*, incluindo laboratórios e sua exposição permanente, além de estabelecer uma relação técnico-científica comercial que permitiu a aquisição e importação de equipamentos, insumos e químicos para a montagem do Laboratório de Plastinação do MCV, o qual já se encontra em funcionamento.

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 17

Os demais conferencistas constantes do programa são pesquisadores com larga experiência em suas áreas de atuação, dentre eles o **Prof. Dr. Carlos Baptista**, Diretor do Laboratório de Plastinação da Universidade de Toledo, Ohio/EUA, **Prof. Dr. Rafael Latorre** - Universidade de Murcia, Murcia – Espanha e presidente da "International Society for Plastination", e o **Prof. Dr. Rafael Cisne de Paula** – Universidade Federal Fluminense, Niterói/RJ, Brasil. Também contaremos com a equipe do Laboratório de Plastinação da UFES, que além do domínio da técnica, desenvolvem pesquisas na área. Juntamente com os conferencistas, os demais membros da equipe organizadora serão de grande importância para a parte prática do "Workshop", pois atuarão como tutores na condução das diferentes técnicas que os participantes irão executar durante o curso prático, visto que será necessário montar ao menos 2 grupos de trabalho para que todos possam exercer na prática as técnicas ensinadas, conforme detalhamento no manual prático do "workshop" (anexo I).

MEMBRO DA EQUIPE	INSTITUIÇÃO	ESPECIALIZAÇÃO
Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt	UFES	Fundador do MCV, anatomista com experiência em dissecção, e preparações anatômicas. Tem capacitação em plastinação realizada nos Estados Unidos e atua na extensão universitária há 10 anos
Prof[a]. Dr[a]. Ana Paula S. de Vasconcellos Bittencourt	UFES	Doutora em Neurociências, professora e pesquisadora na área de neurobiologia e farmacologia, é atuante do programa MCV desde sua criação
Prof[a]. Dr[a]. Aurélia Araújo Fernandes Soares	UFES	Anatomista e doutora em Ciências Fisiológicas .
Prof. Dr. Carlos A. Baptista	University of Toledo - USA	Professor de anatomia do curso de Medicina e Diretor do Laboratório de Plastinação da University of Toledo – Ohio/USA; Tesoureiro da *International Society for Plastination* com larga experiência na área.
Prof. Dr. Marco Cezar Cunegundes Guimarães	UFES	Doutor em Imunologia, professor de histologia, Coordenador do Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Farmacologia e coordenador da microscopia eletrônica do Lab. de Ultra Estrutura Celular Carlos Alberto Redins.

DEPTO. MORF/CCS/UFES
FLS.: 18

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 19

6. Infraestrutura e viabilidade do evento

O apoio da Sociedade Internacional de Plastinação (ISP) propiciará a divulgação internacional do evento. Adicionalmente, contaremos com a participação dos professores Dr. Rafael Latorre e Dr. Carlos Baptista, presidente e tesoureiro da ISP, respectivamente, e pesquisadores com larga experiência em plastinação, que atuarão como conferencista e tutor durante o evento.

A estrutura física e laboratorial do Laboratório de Plastinação e do Departamento de Morfologia do CCS-UFES, os quais serão utilizados durante as aulas práticas, conta com todos os equipamentos necessários para a realização das atividades do curso, permitindo aos participantes o acompanhamento das várias etapas das diferentes técnicas de plastinação, o que representará um diferencial para aqueles que desejam aprender e investir nesta área.

Os equipamentos e insumos que constituem o laboratório de plastinação foram adquiridos com recursos do CNPq e FAPES no edital 64/2009 (processos 559194/2009-9 e 55374794/2011 respectivamente), e também dos editais CNPq 85/2013, e Proext 2015.

Além da estrutura laboratorial que temos instalada, a experiência adquirida com a colaboração internacional em Toledo-EUA, com a montagem do Laboratório de Plastinação aqui na UFES, e com a realização da "XI International Interim Conference on Plastination" em 2015, nos capacita para a realização deste evento em igualdade de condições com os que já ocorrem em outros países.

7. Abrangência e impacto do projeto

Esperamos receber participantes internacionais e nacionais, contando, em função da oportunidade e proximidade, com um público predominantemente oriundo do Brasil.

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 20

Esperamos que o impacto deste evento tenha repercussão ampla, estimulando professores e pesquisadores a investir nesta tecnologia no Brasil e gerando a possibilidade de redes colaborativas que trabalharão em prol da modernização do ensino de anatomia.

8. Público-alvo

Considerando o número de faculdades da área da saúde e biomédica no Brasil, que se aproxima de 4500, nos quais, em sua maioria, há o ensino de anatomia, temos um público alvo constituído de professores, técnicos e alunos bastante considerável. Obviamente, em função do caráter prático do evento, o número de vagas deverá ser restrito a um quantitativo menor, e estamos trabalhando com uma estimativa de 30 vagas.

9. Resultados, avanços e aplicações esperadas

Com a realização deste evento, esperamos continuar o propósito de difundir a tecnologia da plastinação, em especial para todo o Brasil, e torná-la uma inovação cada vez mais comum em nossas Universidades, gerando oportunidades de colaboração científica entre pesquisadores brasileiros e destes com aqueles internacionais. Esperamos também que, com o desenvolvimento da plastinação no Brasil, o público comum se beneficie com exposições de anatomia e correlatas, que serão mais atrativas e viabilizadas com material plastinado, estimulando os jovens estudantes para o conhecimento científico e difundindo e popularizando a ciência.

Adicionalmente, poder sediar esta conferência em nosso país certamente eleva a importância de nossa participação nesta área do conhecimento num contexto mundial.

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 21

10. Instituições envolvidas e grau de envolvimento com o projeto;

Este evento será promovido Programa de Extensão Museu de Ciências da Vida, do Departamento de Morfologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, e tem o apoio da Pró-Reitoria de Extensão da UFES, da Direção do Centro de Ciências da Saúde, da "International Society for Plastination" e do CNPq.

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 22

11. Cronograma de atividade

	MESES DE 2017					
ITEM	03	04	05	06	07	08
Reuniões com a equipe e avaliação do andamento do projeto	x	x	x	x	x	
Divulgação	x	x	x	x	x	
Inscrições para o evento	x	x	x	x	x	x
Submissão de trabalhos científicos	x	x	x			
Seleção dos trabalhos científicos submetidos		x	x	x		
Organização dos laboratórios para o Workshop		x	x	x	x	
Preparação do material para o Workshop	x	x	x	x	x	
Preparação do relatório e prestação de contas às agências de fomento					X	x

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS. 23

12. Referências Bibliográficas

1. AJITA, R.; SINGH, Y.I. Body donation and its relevance in Anatomy Leraning - A Review. Journal of Anatomic Society of India, 56 (1), p. 44-47, 2007.
2. IARC. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 88, pp. 483. 2006. Disponível em: http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol88/index.php. Acesso em 25 de setembro de 2014.
3. INCA. Instituto Nacional do Câncer. Acesso à informação. (http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?ID=795) . Acesso em 25 de setembro de 2014.
4. WHO. Air quality guidelines for Europe. 2000. Disponível em http://site.ebrary.com/id/10040321. Acesso em 25 de setembro de 2014.
5. OLIVEIRA, S.V.W.B., ZAIAT, M. Gerenciamento de solução de formol em laboratórios de anatomia. Revista Brasileira de Ciências Ambientais. Número 1, p. 18-25. Agosto 2005.
6. SANTOS, I.T.P.Q. Avaliação da atividade clastogênica do resíduo catalítico industrial, por meio do bioensaio de micronúcleos com *Tradescantia pallida* cv Purpurea. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2004.
7. LADEIRA, C.A.F. Biomarcadores genotóxicos e polimorfismos genéticos em trabalhadores expostos a formaldeído. Lisboa (PT): Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, 2009.
8. NAIME, R., SARTOR, I., GARCIA, A.C. Uma abordagem sobre a gestão dos resíduos de serviços de saúde. Revista Espaço para a Saúde, Londrina, v. 5, n. 2, p. 17-27, jun. 2004
9. HAMAZAKI, S; KOSHIBA, M; HABUCHI T; TAKAHASHI, R; SUGIYAMA, T. The effect of formalin fixation on restriction endonuclease digestion of DNA and PCR amplification. Pathology Research and Practice. 189: 553-557. 1993.
10. Gunther Von Hagen's Body Worlds The Original Exhibition of Real Human Bodies. Disponível em

DEPTO. MOR/CCS/UFES FLS.: 24

<http://www.bodyworlds.com/en/exhibitions/unparalleled_succress.html>. Acesso em: 26 set 2014, 16:15h.

11. ALVES, C.A., ACIOLE, S.D.G. Formaldeído em escolas: uma revisão. Revista Química Nova. Vol 35, nº 10, p: 2025-2039. 2012.
12. FORNAZIERO, C.G., GIL, C.R.R. Novas tecnologias aplicadas ao ensino da anatomia humana. Revista Brasileira de Educação Médica. Vol 27, nº 02, maio/ago, 2003.
13. GOUVÊA, G. VALENTE, M.E.; CAZELLI, S.; MARANDINO, M. Redes Cotidianas de Conhecimentos e os Museus de Ciências. Parcerias Estratégicas, Brasília, n. 11, p. 169-174, 2001.
14. HADER, R.N., WALLACE, R.D., McKINNEY, R.W. Formaldehyde from methanol. Journal of Industrial Engineering Chemistry, vol 44, nº 07, p:1508-1518.
15. HENRY, R.W. et al., How Useful Is Plastination in Learning Anatomy? Research and Education Reports, Vol 34(2), p.172-176, 2007.
16. JONES DG, WHITAKER MI. Engaging with plastination and the Body Worlds phenomenon: a cultural and intellectual challenge for anatomists. Clinical Anatomy. Sep; 22(6):770-6. 2009.
17. KICKHÖFEL, E.H.P. A lição de anatomia de Andreas Versalius e a ciência moderna. Scientia e studia, vol 01, nº03, p389-404. 2003.
18. QUEIROZ, C.A.F. O uso de cadáveres humanos como instrumento na construção de conhecimento a partir de uma visão bioética. Dissertação de mestrado. Universidade Católica de Goiás. 129p. 2005.
19. SILVA, R.M.G., MATERA, J.M., RIBEIRO, A.A.C.M. Avaliação do método de ensino da técnica cirúrgica utilizando cadáveres quimicamente preservados. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia. Vol 06, nº 1, p: 95-102, 2003.
20. SILVA, E.P.D., SANTOS, K.L., BARROS, P.D.S., SILVA, T.N., SOUZA, J.L., MARIANO, A.F.S., PALMA, M.B. Utilização de cadáveres no ensino de anatomia humana: refletindo nossas práticas e buscando soluções. XIII Jornada de Ensino,

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 25

Pesquisa e Extensão (JEPEX), Universidade Federal Rural de Pernambuco, 9-13 de dezembro, 2013.

21. SOUZA, S.C. Anatomia: aspectos históricos e evolução. Revista de Ciências Médicas e Biológicas. Vol 10, nº 1. 2011.
22. VON HAGENS G., TIEDEMAN K., KRIZ W. The current potential of plastination. Anatomy and Embryology. 175: 411-421, 1987.
23. ZIELAK, J.C.; DELIBERADOR, T.M. Uso de cadáveres humanos como ferramenta de ensino-aprendizagem: passado ou futuro? Revista Sul Brasileira Odontologia, vol 8, nº02, p:129-130, 2011.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Athelson Stefanon Bittencourt
Coord. do International Workshop on Plastination
Coord. do Museu de Ciências da Vida
DMORFO/CCS/UFES

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 26

Anexo I

Manual prático do Workshop:

Técnicas de plastinação com Silicone e Lâminas (poliéster e epóxi)

Tópicos centrais a serem abordados no workshop:

- desidratação de espécimes
- desengorduramento (remoção da gordura) de espécimes
- o acetonômetro
- plastinação de órgãos ocos
- temperatura da sala de plastinação
- cortes finos de cérebros para a técnica P40
- impregnação com poliéster P40
- fundição e polimerização do P40
- diagrama para montagem da câmara plana
- desidratação: acetona versus etanol
- Tecnologia do vácuo, princípios físicos e sua aplicação na plastinação
- Equipamentos e insumos do laboratório de plastinação
- Segurança do Laboratório de plastinação

Cronograma do Workshop – Parte prática

Terça

Desidratação, impregnação e redução da pressão durante impregnação à temperatura ambiente.

Quarta

Cura do silicone, impregnação do epóxi, montagem das câmaras plana para poliester

Quinta

Cura do Poliéster e epoxy, abertura das câmaras planas, monitoramento do vácuo da câmara de silicone

Sexta

Conferência de pressão das câmaras de vácuo, finalizar a cura e embalagem dos espécimes para transporte.

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 27

Desidratação da amostra

Equipamentos de desidratação e substâncias químicas para desidratação:

- **Freezer anti-explosão** ou modificação de freezer doméstico através da remoção do compressor e do motor e retirando-os de dentro da sala. O bulbo de luz também deve ser removido.
- recipientes resistentes à acetona largos o suficiente para receber as amostras e 10 vezes o volume de acetona. Recipientes necessitam ter tampa.
- cesta perfurada com tampa para amostras: tanto o recipiente quanto a cesta devem ser confeccionadas com material resistente à acetona, tais como aço inoxidável ou polietileno de alta densidade.
- acetonômetro para medir a pureza da acetona no banho de desidratação. Acetonômetros são dependentes de temperatura, acima de 20°C. Portanto, assim que a pureza da acetona é determinada, a temperatura da acetona deve ser monitorada e aquecida à temperatura calibrada do acetonômetro.
- para grandes projetos: bomba peristáltica ou reservatório de gravidade, tubulação de silicone e conectores para perfundir espécimes ocas.
- acetona: 3 alíquotas correspondentes a 10 vezes o volume da amostra.

I. Princípios de desidratação:

A. Desidratante (acetona/álcool) deve remover todos os fixadores e fluidos teciduais da amostra.

B. O desidratante deve possuir um baixo ponto de ebulição/elevada pressão de vapor para permitir que o desidratante possa ser substituído pelos polímeros de plastinação. Na plastinação, uma substância química com estas características será denominada também denominada de solvente intermediário).

Um destes desidratantes, a acetona, possui esta propriedade, e pode servir como um solvente intermediário. Um solvente intermediário pode ser facilmente removido de dentro das células e do interstício da amostra. Assim um espaço/vazio é criado dentro das células, o que possibilita que o silicone entre nas células. Esta troca da acetona pelo silicone ocorre sob temperatura muito baixa/vácuo elevado, e é denominada impregnação forçada.

Este fenômeno, impregnação, é possível por causa do baixo ponto de ebulição da acetona e do alto ponto de ebulição do polímero de silicone usado para plastinação. Mesmo sob baixas temperaturas, a remoção controlada da acetona de dentro da célula pode ocorrer.

Infelizmente, o ponto de ebulição dos alcoóis é muito alto para esta substituição para acontecer (álcool para fora e silicone para dentro das células). Quando o álcool é escolhido e usado como desidratante, após completa desidratação com o álcool, este deve ser completamente substituído por acetona ou diclorometano. Ambas as substâncias químicas possuem baixo ponto de ebulição suficiente para impregnação à temperaturas ambiente ou baixa.

C. Trocar a acetona em aproximadamente uma semana; sempre colocar as amostras em contato com acetona de elevada % de pureza.

D. usar acetona gelada (-20°C) é preferível e recomendada. Uma serie de soluções alcoólicas pode ser usada.

E. Remover o fixador da amostra com água de torneira corrente por poucos dias.

F. Resfriar as amostras a 5°C.

G. Submergir as amostras em acetona a -20°C.

DEPTO. MORF/CCS/UFES FLS.: 28

*Nota: não diluir a acetona para fazer a etapa da desidratação, como é comum de se fazer com o álcool!!!!!

1. Qualquer % de pureza de acetona pode ser usada para o primeiro banho de acetona.
2. Usar pelo menos uma proporção de volumes amostra:acetona de 1:5 ou 1:10.
3. As amostras tendem a flutuar, usar uma cesta ou peso leve para manter as amostras submersas.
4. Para obter amostras mais precisas estética e anatomicamente:

a. posicionar as amostras em acetona gelada, em sua posição anatômica! Elas irão congelar nesta posição e serão mantidas também nesta posição durante muitas semanas. Se forem congeladas e desidratadas em uma posição distorcida, será difícil corrigir as deformações.

b. preencher órgãos ocos com acetona pelas mesmas razões listadas no item "a." Cuidado!!! Não preencha completamente órgãos ocos, poise les irão congelar e a acetona irá espirrar sobre você.

5. Verifique a pureza da acetona semanalmente. Em geral, a água da amostra e a acetona entram em equilíbrio em aproximadamente uma semana. Você pode verificar e trocar mais frequentemente do que semanalmente, mas não estará utilizando a acetona ao máximo de sua capacidade.
6. Sempre mobilize a amostra para uma acetona de maior pureza a cada semana.

****Teste: Se você possuir uma alíquota de 85% e uma alíquota de 99-100% de acetona, qual você escolheria para usar?

7. Iniciando um processo de plastinação pela primeira vez:

a. Usar acetona com qualquer % de pureza que você possuir em seu laboratório!! Provavelmente você não terá usado acetona. Provavelmente você comprou acetona grau laboratório (99% ou 100%) apenas para plastinação. Portanto, você irá iniciar a primeira desidratação de suas amostras em acetona pura. Não a dilua!!!

b. A partir de então, este primeiro grupo de amostras será colocado em contato com acetona pura.

c. A cada vez que você trocar a acetona, verifique e registre a pureza da acetona, antes de colocar as amostras em nova acetona. Por que? Para saber o estágio de desidratação destas amostras.

8. Já desidratando as amostras em rotina: inicie as amostras em menor acetona de menor % de pureza, verifique a % semanalmente, a coloque as amostras em acetona de maior % de pureza.
9. Desidratação estará completa quando, após 4-6 semanas de trocas, a pureza da acetona permanecer maior do que 99-99,5% !!

Desengorduramento da amostra

II. Princípios de desengorduramento:

A. Substâncias químicas desengordurante: 1. acetona e 2. Diclorometano

1. acetona- desengordura muito lentamente em baixas temperaturas. Portanto, uma vez que as amostras estão desidratadas <95%, as amostras em sua acetona são trazidas para temperatura ambiente (e permanecem nesta acetona) para aumentar a remoção de lipídios. A acetona deve ser trocada em 10-14 dias por acetona 100% fresca e deixada à temperatura ambiente por mais algumas semanas. Se as amostras estão muito engorduradas, elas podem precisar ficar à temperatura ambiente por 2-3 meses. À temperatura ambiente, a remoção de lipídios é monitorada pelo amarelamento da acetona. À medida que os lipídios são extraídos, a acetona

DEPTO MOR/CCS/UFES FLS.: 29

se torna amarela. Quando intensamente amarela, a acetona deve ser trocada por outra acetona pura, assim mais lipídios podem ser extraídos.
2. diclorometano (MeCl)-o desengorduramento é muito rápido (1-3 dias) e acontece à temperatura ambiente. MeCl não é um desidratante, portanto, a amostra deve estar 99% desidratada antes de se utilizar o MeCl como desengordurante. Ele pode ser usado tanto com desidratação através de acetona, quanto com álcool. Classicamente, nos EUA, amostras foram desidratadas em uma serie gradual de soluções alcoólicas e depois colocadas em MeCl durante 2 dias e impregnadas, MeCl é o melhor solvente intermediário.

B. Por que desengordurar? Lipídios no tecido adiposo e células adiposas não sofrem boa impregnação. Se permanecer muito lipídio dentro da célula, o plastinado ficará escorregadio. A amostra pobremente desengordurada pode se tornar rançosa com o passar do tempo.
C. Monitorando o desengorduramento: existe uma ampla faixa de tolerância para remoção de lipídios. Nas amostras melhor desengorduradas, o lipídio parecerá transparente ao invés de branco ou amarelo.

Encolhimento/retração

Durante a desidratação, algum grau de retração sempre ocorre. Retração é geralmente menor em amostras fixadas em formol a longo prazo, ou em amostras contendo menor quantidade de gordura. Retração é maior em amostras de tecidos frescos, e também naqueles contendo uma elevada porcentagem de gordura. Desidratação em acetona a -25°C reduz a retração porque a água da amostra congela e estabiliza a forma, estrutura e tamanho da amostra.

O Acetonômetro
Acetonômetros medem a densidade específica da acetona: a densidade específica da acetona é a mesma do álcool. Portanto, um alcoômetro (álcool hidrômetro) pode ser usado para verificar a pureza da acetona.
Acetonômetros são calibrados para uma determinada temperatura (geralmente 15° ou 20°C) e necessitam ser utilizados depois de a acetona ser aquecida a esta mesma temperatura. Frequentemente um termômetro é acoplado ao acetonômetro. Seja cuidadoso e não permita que a acetona aqueça além da temperatura mencionada, ou você irá obter uma leitura maior de %, do que se a acetona estivesse à temperatura de 15°-20°C. **Visdocta** possui acetonômetros que são calibrados para -10°C que é bom para economisar tempo.
Monitorando a pureza da acetona:
1. Colocar uma alíquota da acetona na proveta
2. Cuidadosamente colocar o acetonômetro em contato com a acetona. ***Cuidado para não deixar o acetonômetro cair e tocar o fundo da proveta cheia de acetona. Isso irá quebrar o acetonômetro.
3. **Verificar** a **temperature** da cetona:
a. Se estiver mais alta do que a temperatura de calibração, resfrie até atingir a temperatura de calibração.
b. Se estiver abaixo da temperatura de calibração, aqueça até atingir a temperatura de calibração.

DEPTO. MORFO/UFES FLS.: 30

4. **Ler** a % nescala do acetonômetro no nível do menisco (intersecção entre a superfície da acetona com o acetonômetro).
4. Substituir a acetona dos espécimes com acetona pura. Colocar os espécimes em acetona com % de pureza maior do que aquela na qual estavam quando medidos. Espécimes ostras tendem a flutuar com acetona, cobrir com toalha de pano e usar o mínimo peso para mantê-las submersas.

Equipamento:

Suprimentos laboratoriais locais:
Termohidrômetro Fisher-Tralle & Proof, #11-590 (calibrado para 60°F)
Termohidrômetro Fisher-Tralle & Proof, #11-595 (calibrado para 60°F)
Portanto, se você está verificando acetona fria, você deve deixar a acetona aquecer até 60F. Entretanto, uma escala de temperatura está incluída, portanto você pode ajustar seus resultados caso ocorra alguma variação de temperatura. Se a temperatura estiver menor do que a temperatura de calibração, % será adicionada. Se a temperatura estiver maior do que a temperatura de calibração, % será reduzida. Este tipo de acetonômetro é necessário para acetona com menos de 90% de pureza, isto é, após você ter desidratado suas peças em primeira mão. Utilizando acetona com menos de 90% de pureza não é crucial conhecer a % com precisão. Entretanto, utilizando acetona cada vez mais próxima de 100%, mais precisa deve ser a leitura da %. Portanto, sugere-se acetonômetro mais preciso Visdocta ou Biodur.
Os seguintes acetonômetros são mais precisos:
Biodur: possui termômetro interno
HD 01+20°C: 0-100%
HD 02+20°C: 90-100%
Visdocta: não possui termômetro interno
VS-ACM +15°C: 90-100%
VS-ACM -10°C: 90-100%
VS-ACM -10°C/14F: 90-100%
Você deve possuir 2 acetonômetros, um deles pode quebrar!!!

Plastinação de Órgãos Ocos

Visão geral: plastinação de amostras de órgãos ocos dilatados (DHOSp)
1. Remova DHOSp do tanque/cuba de formol e retire o formol da amostra.
2. Mergulhe a amostra em água de torneira e deixe por 24 horas.
3. Remova água do DHOSp e preencha com acetona 85% a 100% gelada, e deixe a amostra submersa na acetona durante 1 semana. Posicione a amostra de forma anatomicamente correta.
4. Usar mais 3 trocas de acetona 100% gelada. Aberturas suturadas irão vazar, o que não é significativo e o DHOSp, não precisa ser totalmente distendido em banhos subseqüentes.
5. Após a desidratação, remover a acetona DHOSp e mergulhar a amostra na mistura de impregnação de silicone. É útil abrir todas as fendas da amostra para permitir que o mix de silicone penetre no interior do órgão. É interessante derramar silicone dentro do órgão. Deixe descansar no mix de silicone por pelo menos 24 horas. No entanto, um período maior pode ser melhor, antes de você iniciar o vácuo. No entanto, estas aberturas/fendas necessitam ser fechadas depois da impregnação para re-dilatar o órgão.

DEPTO. MORFO/CCS/UFES
FLS. 31

6. Após terminada a impregnação, esvazie a amostra do excesso/resíduo de mix de silicone e permita que a amostra continue a drenar por muitos dias à temperatura ambiente para remoção do excesso de polímero.
7. Em uma semana preencha parcialmente a amostra com ar para inflar o órgão. Este procedimento irá expulsar qualquer excesso de polímero. Deixe o ar fluir durante 3 a 7 dias para livrar o órgão do excesso de polímero.
8. Desligue ou reduza o fluxo de ar e suture fendas e feche todas as aberturas.
9. Aumente o fluxo de ar para dilatar o órgão.
10. Deixe o ar fluir por no mínimo 1-2 meses. Durante este tempo você pode decidir por:
a. Endurecer o órgão enquanto ele está sendo permeado pelo ar. Colocar 0,5ml de agente endurecedor (S6) na linha de ar e ligar o fluxo de ar. Coloque o órgão em uma bolsa plástica, a qual contém o agente endurecedor na forma de vapor que vai ficar em volta da amostra. Coloque papel toalha na bolsa para absorver o polímero.
b. Para máxima flexibilidade da amostra, permita que o ar flua por 6-10 meses antes de adicionar o agente endurecedor S6. Este fluxo de ar a longo prazo irá manter o órgão inflado e posicionado anatomicamente e assim possibilitará que o órgão se torne mais flexível, através do alongamento das moléculas de silicone; assim, tem início o lento processo de endurecimento. Após o endurecimento da amostra estar completo, preparar a amostra ou espandir a mesma para visualizar arquitetura de estruturas internas.

Plastinação à temperatura ambiente

Esta informação sobre Endurecimento tem origem a partir do "Journal of International Society for Plastination" (Jornal da Sociedade Internacional de Plastinação) *Silicone Plasntination of Biological Tissue: Room temperature Technique Dow/Corcoran Technique and Products* Volume 22, 2007: escrito por A Raoff, R.W. Henry e R.B.Reed - *notas por Scott Lozanoff.*
Participantes irão aprender sobre o processo de endurecimento da plastinação à temperatura ambiente. Esta seção também inclui um laboratório *hands-on* para os participantes. Rins de porco foram impregnados com polímero de silicone da Biodur - Alemanha com 8% de ligações crusadas. Os rins foram impregnados e estão prontos para que os participantes possam aplicar o catalisador, envolver em uma folha de papel e levar consigo.

Endurecimento

A catalisação e as ligações cruzadas das moléculas do polímero de silicone ocorrem quando o catalisador é aplicado à superfície da amostra impregnada. Isto capacita as moléculas de silicone do mix de impregnação a reagir com as moléculas "*crosslinker*" formando uma malha firme em 3 dimensões de polímero de silicone. As ligações cruzadas alteram o polímero, da forma líquida para forma sólida, dentro do espécime, para mantê-la seca. Limpar o "*crosslinker*" na superfície da amostra, envolvê-la em folha de papel absorvente e deixar até o dia seguinte. Envolver em folha de papel é necessário para facilitar as ligações cruzadas.
Equipamento para endurecimento dos rins de porco (porcinos):
* Luvas e avental
* Papel absorvente: para limpar o excesso de mix de polímero formado na peça.
* Pincel para aplicação do catalisador na peça.
* Plástico filme: para isolar o espécime em um ambiente hermético e para manter o catalisador próximo ao espécime impregnado impregnado.
Endurecimento dos rins de porco. Esta reação ocorre quando o catalisador é pincelado sobre a superfície do rim. As alterações de ligações cruzadas alteram o polímero da forma líquida para a sólida. Remover o catalisador da superfície, envolver o espécime em folha de papel

DEPTO. MORF/CCS/UFES FLS. 32

absorvente e deixar por 24 horas. Envolver em plástico filme é necessário para facilitar as ligações cruzadas. Pincelar o catalisador sobre as amostras deve ser feito diretamente na frente dos respiradouros das estações de embalsamamento. Após 24-48 horas desembrulhar a amostra e examinar a taxa de endurecimento. Se necessário, aplicar mais catalisador. Se o endurecimento estiver completo, a amostra está pronta para uso.

Cortes de cérebro para Técnica P40

Esta informação sobre Corte de Cérebro são provenientes do "Journal of the INTERNATIONAL SOCIETY for PLASTINATION" V olume 22,207: Escrito por W.Weber, R.W.Henry, R.Latorre, A.Weiglein -*notas de Scott Lozanoff*.

Preparação de cortes de cérebro:

A amostra de cérebro fresco é coletada e fixada usando-se formol 10%, com nenhum outro aditivo, por 3 a 6 semanas. Assim como acontece com outros métodos de fixação, a perfusão é o método ideal de atingir a melhor fixação. A fixação é necessária para tornar o cérebro firme o suficiente para suportar a realização de cortes em um fatiador de carnes convencional, bem como reduzir qualquer potencial risco biológico que pode estar associado com a manipulação rotineira ou realização de cortes do tecido. Amostras que tenham sido fixadas com solução de formol adicionada com outras substâncias químicas devem ser usadas cuidadosamente, pois os aditivos podem causar reações adversas com a resina.

Equipamento para Preparação de cortes de cérebro:

* Fatiador de carnes convencional (cortador de frios)
* Grade
*Malha de separação
* Cérebro fixado

Para auxiliar na orientação do tecido cerebral, e assegurar cortes verdadeiros transverso, horizontal ou coronal, e também para manter vários fragmentos dos cortes juntos como uma única unidade, o cérebro deve ser envolvido em gelatina 20%, e posteriormente realizar os cortes.

Fatiamento:

O plano de corte do cérebro desejado é determinado, e o cérebro é seccionado em duas porções, com a ajuda de uma faca para cérebro. Uma porção é colocada em água gelada e a outra no fatiador. Cortes são depois colocados na malha de separação e empilhados uns sobre os outros com um pedaço de grade rígida a cada 5 cortes. As grades rígidas são submersas em um banho de água. As grades devem ser mantidas amarradas juntas em feixes, ou colocadas juntas em uma cesta para facilitar a transferência de um banho de acetona para outro, e subsequentemente nos banhos de imersão em resina e banho de impregnação.

Enxágue e pré resfriamento:

A cesta com os cortes é colocada em água de torneira gelada corrente *overnight* para remover o formol dos cortes. O enxágue pode ser estendido por 2 dias. Após o enxágue as fatias são colocadas em água de torneira fresca e resfriadas a 4°C. Agora os cortes de cérebro estão prontos para desidratação.

Impregnação com Poliéster P40

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 33

Esta informação sobre a impregnação com poliéster P40 tem origem a partir do "Journal of the INTERNATIONAL SOCIETY for PLASTINATION" Volume 22,207: Escrito por W. Weber, R.W.Henry, R.Latorre, A.Weiglein -*notas de Scott Lozanoff*.
Para a demonstração da impregnação com P40 estamos usando cortes de cérebro de cavalo em resina Biodur P40 sem ativador A4.
Princípios de impregnação: a impregnação forçada é a substituição do solvente volátil em um espécime biológico com um polímero endurecedor. Para que isto ocorra, o solvente intermediário deve ser miscível com a resina de poliéster (P40) e deve possuir vapor de pressão suficientemente alto a -15°C, para ser gradualmente, continuamente e completamente extraído durante a etapa de impregnação do processo de plastinação. Como a essência da desidratação é substituir a água/fluidos do tecido por acetona, a essência da impregnação é substituir o solvente intermediário volátil (acetona ou MeCl) com resina de poliéster P40. Para o passo de impregnação nós não utilizamos o ativador A4, ele será adicionado à resina endurecedora na etapa de moldagem. No entanto, a resina P40 é muito viscosa para se equilibrar com o solvente (acetona). Portanto, uma força (vácuo) é necessária para inserir a mistura dentro da amostra (por isso o termo impregnação forçada).
As amostras preenchidas com o solvente são submersas na resina P40 na câmara de vácuo. Aplicando o vácuo à resina P40 e aos espécimes ocorre a vaporização do solvente (acetona), que deixa o espécime com pressão zero ou negativa, e assim a resina é sugada para dentro do espécime. Portanto, para que esta troca aconteça, deve haver tempo suficiente para que a resina viscosa de poliéster entre nas células da amostra. Se a velocidade da bomba de vácuo é muito grande e gerar excesso de vácuo muito rapidamente, muita acetona vai ser removida e o espécime vai ser destruído. O tecido destruído não permitirá que a resina viscosa P40 penetre no mesmo. Isto resulta em encolhimento e dessecação do espécime e causará dificuldade durante o processo de montagem.
Equipamento de impregnação
* Câmara de vácuo com tampa transparente (vidro temperado ou policarbonato) delgada o suficiente para resistir à atmosfera de baixa pressão.
* Bomba de vácuo-bomba de baixa velocidade é melhor, com a capacidade de alcançar uma pressão final próxima de 0 mmHg. Bomba a óleo é recomendada.
* Calibrador de pressão, **válvulas de agulha de ajuste fino.**
* Manômetro de mercúrio (bennert) ou digital
* Cesta para espécime

Imersão dos cortes de cérebro ou cortes de tecido na resina P40: as amostras desidratadas são transferidas e submersas em banho de impregnação de resina P40 a temperatura ambiente ou a +5°C. O banho de impregnação pode ser feito com resina P40 sem aditivos ou uma combinação de resina P40 com o ativador A4 1-2%. A resina deve ser mantida no escuro, já que a luz UVA age como catalisador para a resina P40. Está ok, iniciar a impregnação neste momento. Entretanto, considere deixar os cortes descansando na resina P40 para equilíbrio, antes de começar a impregnação forçada. É necessário manter a câmara à vácuo coberta e protegida da luz. Impregnação deve ser realizada à temperatura ambiente ou no frio (+5°C).

Impregnação forçada dos cortes: após a imersão dos cortes na resina P40, a bomba à vácuo é ligada e deixada esquentar para atingir a temperatura de trabalho por alguns minutos. Uma vez que a bomba está aquecida, os cortes na mistura de impregnação são colocados na

DEPTO. MORF/CCS/UFES
FLS.: 34

câmara de vácuo e o vácuo é aplicado. A câmara de vácuo é mantida no escuro. À medida que a pressão é reduzida, o ar aprisionado no ambiente é removido primeiro. Numerosas pequenas bolhas podem ser vistas subindo à superfície da resina. A taxa de remoção (redução da pressão) é regulada frequentemente para manter a pressão caindo para alcançar a pressão de vapor do solvente, a qual é temperatura dependente. Após a remoção do ar aprisionado e quando a pressão de vapor da acetona tiver sido alcançada, a acetona (devido à sua elevada pressão de vapor) vaporiza para fora dos cortes do espécime deixando o tecido vazio, dentro do qual a resina de poliéster entrará. À medida que o solvente deixa os cortes de cérebro (ou cortes de outro tecido), ocorre como resultado um tecido com espaços vazios, dentro dos quais a resina de poliéster entra. O solvente evaporado é bombeado para fora da câmara. A pressão é continuamente reduzida, através do fechamento gradativo das válvulas das agulhas, para 5 cmHg à temperatura ambiente e 2 cmHg para impregnação a frio, no final do primeiro dia de impregnação. A bomba de vácuo permanece trabalhando durante a noite. Mais resina pode ser adicionada caso necessário para manter os cortes submersos. Terminado o período de 30 horas, no próximo dia a pressão é gradativamente reduzida para 1 cmHg à temperatura ambiente ou 1-2mmHg em câmara fria. Quando a baixa pressão é alcançada e mantida por algumas horas e a formação de bolhas diminui de velocidade, a impregnação está completa. Devido ao fato de que a resina de poliéster conter estireno, os baixos limites de pressão devem ser observados para prevenir a extração do estireno.

Após a impregnação estar completa, o reservatório é recolocado à pressão atmosférica. A caixa contendo os cortes e o banho de impregnação com resina P40 podem ser removidos e mantidos em um ambiente escuro.

Moldagem e polimerização de P40

Material

* Placas de Vidro: vidro normal ou temperado 2mm: 3 polegadas (7cm) mais amplo do que o corte mais largo. (Vidro de parede fina 2mm é melhor para dissipar o calor que é produzido durante o endurecimento, e também reduz o tempo de endurecimento.

* Vedação (selante) para colocar entre os vidros

* Ganchos

* Luz UVA

* Ventilador

Montagem da Câmara plana (ver diagrama)

* Posicione a superfície inferior da placa de vidro em uma plataforma (Styrofoam box, etc)

Preenchendo a Câmara plana (placas de vidro) com P40

DEPTO. MOR/CCS/UFES
FLS.: 35

* Preencher a câmara com P40 fresco até 3/4 de sua capacidade. Não preencha completamente!! Certifique-se de que a resina, câmaras e cortes do espécime estão em temperaturas similares. Se os cortes do espécime estiverem mais frios,

* Colocar os cortes através da parte superior da câmara. Posicione a câmara verticalmente e ligeiramente inclinada para remover bolhas de ar.

* Para centralizar as amostras na câmara usar um fio com pequeno gancho na ponta.

* Preencher a câmara com mais resina até aproximadamente 2 cm abaixo na borda superior.

* Bolhas de ar remanescentes podem ser removidas usando-se uma agulha hipodérmica.

* O posicionamento final do corte pode ser realizado usando-se uma esfera metálica e um imã. Lembre-se que a pequena esfera metálica deve ser colocada na câmara de vidro antes desta ser fechada.

Endurecimento

* Colocar a câmara plana entre duas lâmpadas UVA de 40 watts (luz negra) acima e abaixo, à uma distância de 15mm das lâmpadas UV. Dependendo da potência e da distância das lâmpadas em relação à câmara, um mínimo de 1 hora é recomendada para endurecimento.

* Posicionar a câmara horizontalmente para prevenir que os cortes se desloquem para o fundo da câmara.

* Certifique-se de que a temperatura máxima do endurecimento não esteja acima de 35°C. Será necessário resfriar as câmaras dos dois lados: usar um ventilador; usar um cronômetro para desligar as luzes UV e religar a cada 15 ou 20minutos.

* O processo de endurecimento tem duas fases: gelificação (perda da transparência após 30 minutos) e endurecimento (forte diferenciação entre substância branca e cinzenta cerebral).

* Uma alternativa para luz UV é usar a luz do sol. Colocar as câmaras na sombra, não diretamente sob a luz solar.

Desmontando as câmaras planas

* Após 24 horas desligar as luzes UV.

* Remover grampos e o tubo plástico.

* Se os vidros não se separaram do corte endurecido, raspar a junção da resina endurecida e o vidro com um pisturí pontiagudo.

* Gentilmente separe uma das placas de vidro. Não tocar o corte impregnado - você vai deixar impressões digitais nele.

* Cobrir o lado exposto do corte com um plástico filme. Agora, segurando o corte através da plástico filme, separe o outro lado da outra placa de vidro e também proteja com folha plástica.

* Serrar as bordas para remover restos de polímero não endurecido.

* Embeber os vidros em acetona.