

PADRONIZAÇÃO DA COLETA E PROCESSAMENTO DE ÓRGÃOS DE ZEBRAFISH (*Danio rerio*)

Danilo Barbosa Viana¹; Denise Ayumi Oshiquiri¹; Barbara Cristina Mazzucatto²; Paulo Fernandes Marcusso²

¹Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária – UEM

²Docente do Curso de Medicina Veterinária – UEM - Campus Umuarama

Há cerca de 30 anos o zebrafish (*Danio rerio*), um teleósteo da família *Cyprinidae*, começou a ser utilizado como modelo para estudos genéticos. Conhecido como paulistinha no Brasil, este peixe é atualmente utilizado por diversos pesquisadores em muitos locais. Seu pequeno porte, manutenção fácil, baixo custo de criação e prole numerosa são alguns fatores que aumentaram a sua utilização. Além disso, as bases moleculares da neurobiologia e o genoma similar ao dos humanos proporcionam o seu uso em diversos tipos de estudos, que incluem toxicológicos, genéticos e patológicos. Entretanto, devido ao seu pequeno tamanho e peso, a coleta e o processamento dos órgãos se tornam um grande desafio, não havendo um consenso entre os pesquisadores sobre qual a melhor técnica para a realização. O objetivo deste trabalho foi padronizar a coleta e processamento de órgãos do zebrafish para a análise histológica, determinando qual a melhor forma de inclusão na parafina, forma de fixação dos órgãos e/ou peixe no formol 10% e a possibilidade de inclusão na parafina dos órgãos internos separados ou do peixe inteiro. O presente estudo foi realizado no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Estadual de Maringá – UEM Umuarama. Foram utilizados 30 peixes (*Danio rerio*), sendo estes divididos em 3 grupos conforme o método de fixação em formol 10%: G1, grupo no qual os animais foram fixados inteiros com um corte longitudinal na região ventral abrangendo todo o animal; G2, grupo no qual foi realizado um corte transversal ao meio nos animais; G3, grupo no qual os animais foram fixados através da injeção de formol na cavidade abdominal com o auxílio de uma agulha e seringa. Antes da coleta e processamento dos órgãos e/ou peixes, os animais foram eutanasiados por aprofundamento anestésico em solução de benzocaína (1:20.000) diluída em álcool etílico 98° (0,1 g/mL). Todos os grupos foram fixados em solução neutra de formalina a 10% por um período de 24 horas. De maneira ordenada as peças foram submetidas aos procedimentos laboratoriais usuais de histologia para inclusão em parafina. Posteriormente foram realizados cortes de 5 µm de espessura, sendo o tecido corado pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). As lâminas foram analisadas, quanto às estruturas e células em microscópio de luz Nykon Eclipse E200 em todos os aumentos. Durante o corte dos tecidos incluídos na parafina, verificou-se que o tecido de todos os grupos apresentava-se seco e quebradiço, dificultando o corte e posterior visualização das estruturas. Isso ocorreu provavelmente devido a uma insuficiente hidratação do material durante o processamento histológico habitual ou por um tempo prolongado de fixação no formol. Dentre os grupos, o que melhor possibilitou a melhor integridade e visualização dos órgãos como brânquias, fígado e principalmente intestino foi o G3, o qual os animais foram fixados inteiros. Nos grupos G1 e G2, foi observado destruição de estruturas internas em decorrência do corte realizado. A visualização das brânquias foi possível em todos os grupos. A retirada e inclusão individualizada de órgãos não foram possíveis em todos os grupos, devido ao tamanho muito pequeno das estruturas. Conclui-se que a análise histológica de órgãos do zebrafish em pesquisas é possível e que a fixação do animal inteiro propicia uma melhor integridade dos tecidos e análise das estruturas. Contudo se o intuito é trabalhar com órgãos individualizados é necessário aperfeiçoar as técnicas de coleta e processamento.

Palavras-chave: histologia; inclusão; peixe.