



UAlg ESS

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
ESCOLA SUPERIOR DE SAÚDE

Ciências Biomédicas Laboratoriais

Métodos Cito-Histoquímicos

Aula 2

2016/17

João Furtado

jffurtado@ualg.pt

Gab. 2.06 na ESSUAlg

Métodos Cito-Histoquímicos

Evidenciação específica de estruturas celulares, pigmentos, microrganismos, entre outras, recorrendo a substâncias que, reagindo com os referidos componentes, dão origem a produtos corados



Obtenção de um diagnóstico diferencial fidedigno.

Programa

1. Coloração e Corantes;
2. Coloração de:
 - 2.1. Hematoxilina e Eosina;
 - 2.2. Hidratos Carbono
 - 2.3. Tecido conjuntivo;
 - 2.4. Pigmentos e Minerais;
 - 2.5. Amiloide
 - 2.6. Lípidos;
 - 2.7. Microorganismos;

1. Coloração e Corantes

1.1. Coloração

1.2. Corantes

1.3. Tipos Coloração

1.4. Fatores que influenciam a distribuição de corantes no tecido

1.5. Mecanismos de coloração

1.1. Coloração

Surge devido afinidade particular de certos tecidos ou formações celulares por uma determinada substância corante;

Todos os tecidos de origem animal são incolores

- ❑ Van Leeuwenhoek (1714): Açafrão com vinho (fibras musculares)
- ❑ Goppert e Cohn (1849): Carmin
- ❑ Industria têxtil (1856): Corantes artificiais
- ❑ Waldeyer (1863): Hematoxilina

1.2 Corantes

Os corantes são moléculas que contêm dois grupos: **cromóforo** e **auxocromo**.

- ❑ Cromóforo - responsável pela cor do corante
- ❑ Cromogéneo - denominação dada ao composto formado pelo grupo cromóforo
- ❑ Auxocromo - responsável pela ligação do cromogéneo à substância a ser corada
 - **Básico:** ligação aos radicais ácidos dos tecidos (ex: Hematoxilina)
 - **Ácido:** ligação aos radicais básicos do tecido (ex: Eosina)

Quanto ao grupo auxocromo os corantes podem ser:

- ❑ **Básicos:** tem carga positiva e são utilizados para corar estruturas ácidas
- ❑ **Ácidos:** tem carga negativa e são utilizados para corar estruturas básicas
- ❑ **Neutros:** quando a coloração é devida à interação corante básico + corante ácido.
- ❑ **Indiferentes:** insolúveis em água, mas solúveis no álcool, éter e óleos
- ❑ **Metacromáticos:** certos componentes tecidulares combinam-se com o corante para produzirem uma cor diferente da cor original do corante (metacromasia é perdida se o corte histológico é desidratado em álcool após esta coloração ser efetuada.)

Tipos de ligação corante-tecido:

- ❑ **Ligação Iónica:** envolve forças eletrostáticas que atraem iões de cargas opostas.
- ❑ **Ligação Covalente:** partilha de eletrões – molécula extremamente estável.
- ❑ **Ligação Hidrogénio:** ligação intermolecular na qual átomos de hidrogénio se ligam a átomos de elevada eletronegatividade de moléculas anexas.
- ❑ **Forças de Van der Waals:** atracão intermolecular, que podem ser de dispersão, dipolo-dipolo ou dipolo-dipolo induzido.

1.3 Tipos de Coloração

- ❑ **Topográficas:** visão global de uma estrutura, tecido ou lesão.
- ❑ **Citológicas:** visão pormenorizada das estruturas celulares, núcleos, entre outros.
- ❑ **Histoquímicas:** demonstra e identifica uma variedade de diferentes substâncias (colocar em evidência uma determinada estrutura)
- ❑ **Estruturais:** evidência componentes estruturais dos tecidos (ex: núcleos, fibras elásticas, fibras reticulares, entre outros).

1.4 Fatores que influenciam a distribuição de corantes

Fatores químicos:

- ❑ **pH:** a concentração de iões de hidrogénio influencia a ionização dos corantes e dos compostos dos tecidos.
- ❑ **Força iónica das soluções corantes:** presença de sais nas soluções corantes pode influenciar a coloração das estruturas.
- ❑ **Fixação dos tecidos:** os agentes fixadores bem como os reagentes do processamento histológico, são suscetíveis de mudar a composição química dos tecidos, podendo deste modo alterar as suas afinidades tintoriais.

- ❑ **Concentração do corante:** dependendo da concentração do corante, o tempo de ação, a sua distribuição e a sua intensidade pelo tecido vai ser alterada.
- ❑ **Pureza dos corantes:** O grau de pureza de cada corante varia segundo o fabricante, a presença de certo tipo de sais em solução pode afetar de forma negativa no resultado final da coloração.

Fatores Físicos:

- ❑ **Absorção dos corantes pelas estruturas:** capacidade da estrutura atrair a si pequenas partículas presentes no meio envolvente (dependendo da estrutura, diferentes são os seus poderes de absorção).
- ❑ **Solubilidade do corante em substâncias do tecido:** A presença de determinadas substâncias no tecido podem implicar uma absorção incorreta por parte de uma estrutura ou substância a qual à partida não era procurada evidenciar.

- ❑ **Densidade das estruturas:** Quando a proporção de substância ou estrutura a evidenciar em relação ao restante tecido é muito grande, a coloração resultante é muito intensa, e implica uma diferenciação mais cuidada.
- ❑ **Permeabilidade das estruturas:** A distribuição do corante nos tecidos vai ser influenciada pela variabilidade de graus de permeabilidade das várias estruturas teciduais.

1.5 Mecanismos de Coloração

- ❑ **Diretas:** afinidade própria dos tecidos para o corante.

- ❑ **Indiretas:** impregnação do tecido por um composto que vai permitir a ligação entre o corante e o tecido.
 - **Mordente:** Agentes Oxidantes (ácido Crômico, Oxálico, Permanganato de potássio).

Sais Metálicos (Alumínio, ferro, tungstênio, chumbo)

- ❑ **Progressivas:** segue uma sequência definida com estrito controle dos tempos de aplicação de forma alcançar a intensidade coloração desejada. Não se realiza diferenciação, e o ponto exato de coloração é controlado ao microscópio.

- ❑ **Regressivas:** A coloração segue até à sobrecoloração de todas as estruturas com afinidade para o corante, sendo posteriormente descoradas por ação de um diferenciador.
 - **Diferenciador:** Remoção seletiva do excesso de corante dos tecidos através da quebra progressiva e específica das ligações entre corante-tecido.