



UAlg ESS

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
ESCOLA SUPERIOR DE SAÚDE

Ciências Biomédicas Laboratoriais

Métodos Cito-Histoquímicos

Aula 4

2016/17

João Furtado

jffurtado@ualg.pt

Gab. 2.06 na ESSUAlg

Sumário

Hidratos Carbono

Introdução

Simples e Glicoconjugados

Evidenciação de Glicoconjugados

PAS

Azul de Alcian

Azul de Alcian/PAS

Hidratos carbono

Colorações histoquímicas (especiais)

- ❑ Todas as células teciduais estão incluídas numa matriz aquosa visco-elástica, ricas em hidratos carbono
- ❑ Hidratos carbono desempenham o papel de reservas energéticas
- ❑ Envolvido no metabolismo celular, adesão celular, atividade enzimática, regulação da proliferação
- ❑ Fornecem informação que ajudam o patologista a caracterizar patologias (neoplasia, inflamação, desordens autoimunes e doenças infecciosas)
- ❑ Maiores componentes hidratos carbono: glicogénio e mucinas

Hidratos Carbono



```
graph TD; A[Hidratos Carbono] --> B[Hidratos Carbono simples]; A --> C[Glicoconjugados]; B --> B1[Monossacáridos (glucose)]; B --> B2[Oligossacáridos (sucrose)]; B --> B3[Polissacáridos (glicogénio)]; C --> C1[Glicoconjugado Tecido Conjuntivo]; C --> C2[Mucinas]; C --> C3[Outras glicoproteínas]; C --> C4[Glicolípidos];
```

Hidratos Carbono simples



Monossacáridos (glucose)

Oligossacáridos (sucrose)

Polissacáridos (glicogénio)

Glicoconjugados



Glicoconjugado Tecido Conjuntivo

Mucinas

Outras glicoproteínas

Glicolípidos

Polissacárido - Glicogénio

- ❑ **Localizado:** fígado, musculo esquelético, musculo cardíaco, entre outros
- ❑ **Função:** reserva de hidratos carbono (energia)
- ❑ **Condição patológica associada:** encontrado em várias malignidades (Sarcoma de Ewing, seminoma) desordens no armazenamento do glicogénio
– o fígado evidencia acumulações massivas de glicogénio

Glicoconjugado Tecido Conjuntivo - Proteoglicanos

- ❑ **Localizado:** cartilagem, tendões, ligamentos, vasos sanguíneos, válvulas do coração e pele
- ❑ **Função:** atraem água para o tecido e atuam como estabilizadores e suporte dos elementos fibrosos do tecido conjuntivo
- ❑ **Condição patológica associada:** encontrado em vários sarcomas (estroma dos sarcomas e em alguns carcinomas)

Glicoconjugado – Mucinas

- ❑ **Localização:** tecido conjuntivo e epitelial
- ❑ **Função:** fornece lubrificação e proteção para as células secretadas e tecidos nas imediações
- ❑ **Condição patológica associada:** deteção de mucinas num tumor ajuda na identificação de malignidade
- ❑ **Classificação das mucinas:**
 - ❑ Ácidas fortemente sulfatadas
 - ❑ Ácidas fracamente sulfatadas
 - ❑ Neutras

Mucinas Ácidas

- Reagem a pH baixo com corantes catiónicos e são PAS negativas
- Pouco ácidas reagem a pH mais elevado com corantes catiónicos e são PAS positivas

Mucinas Neutras

- Não possuem grupos ácidos reativos
- Origem epitelial: abundante nas células de revestimento gástrico e em várias células epiteliais muco-secretoras do trato digestivo e respiratório
- PAS positivas

Evidenciação de Glicoconjugados

PAS – Periodic Acid - Schiff

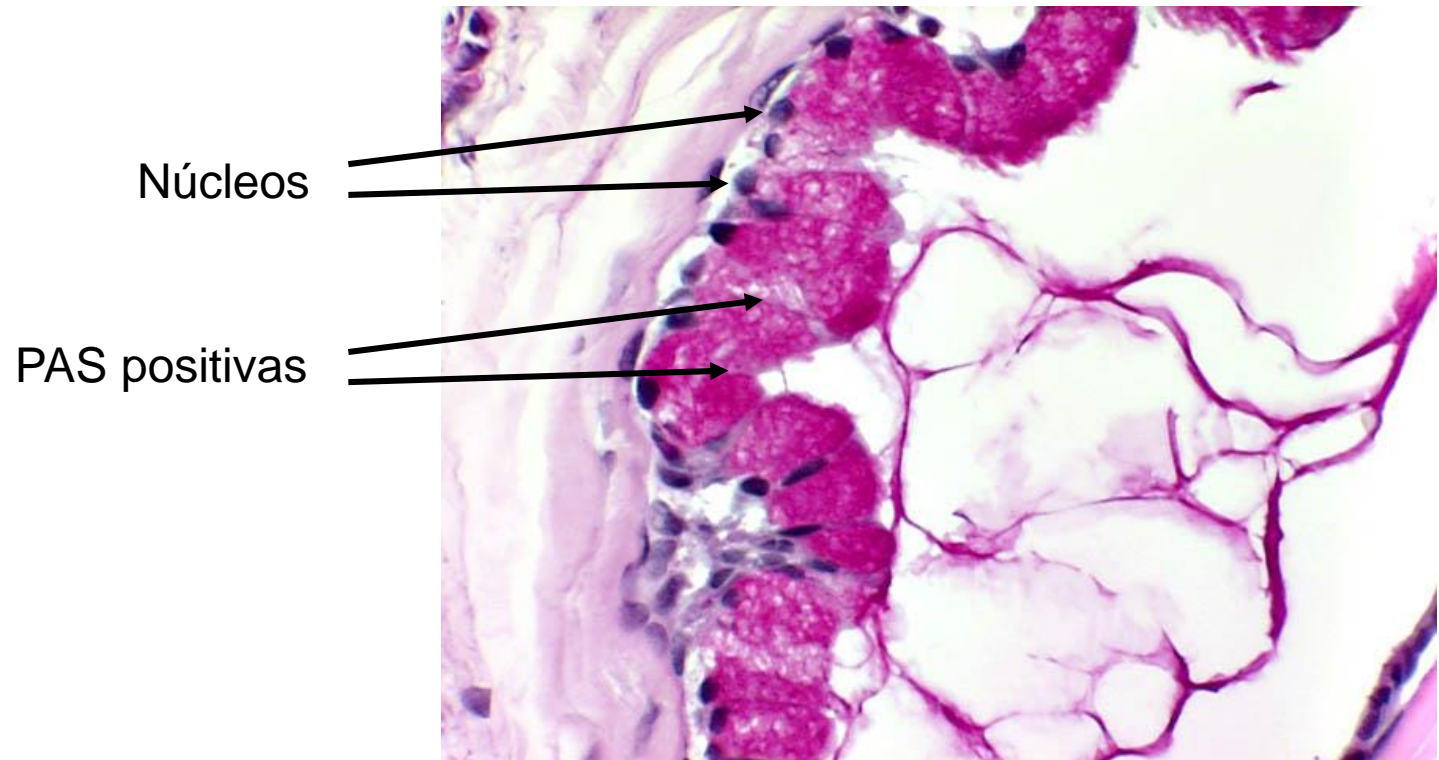
- ❑ Demonstra hidratos carbono que contêm grupos glicol e **carga neutra**
- ❑ Ácido periódico oxida as mucinas e glicogénio de modo a gerar aldeídos
- ❑ Aldeídos são identificados por ligação com o reagente de Schiff → coloração vermelha magenta nos locais de ligação
- ❑ Passar por água corrente quente com a finalidade de intensificar a tonalidade magenta → contrasta-se com hematoxilina Mayer
- ❑ PAS reage com vários fungos (ex: candida albicans, histoplasma capsulatum)
- ❑ Ajuda no diagnóstico diferencial de tumores
- ❑ Exemplo de situação patológica: metaplasia intestinal

Protocolo PAS – Periodic Acid - Schiff

- Desparafinar os cortes e hidratar
- Oxidação com ácido periódico
- Lavagem em água destilada
- Coloração com reagente Schiff
- Lavagem em água corrente (quente)
- Contrastar com hematoxilina
- Desidratação e montagem

Estruturas demonstradas através da técnica PAS

- Glicogénio
- Mucinas neutras
- Algumas ácidas (fracas)
- Mucoproteínas
- Membranas basais



Azul de Alcian

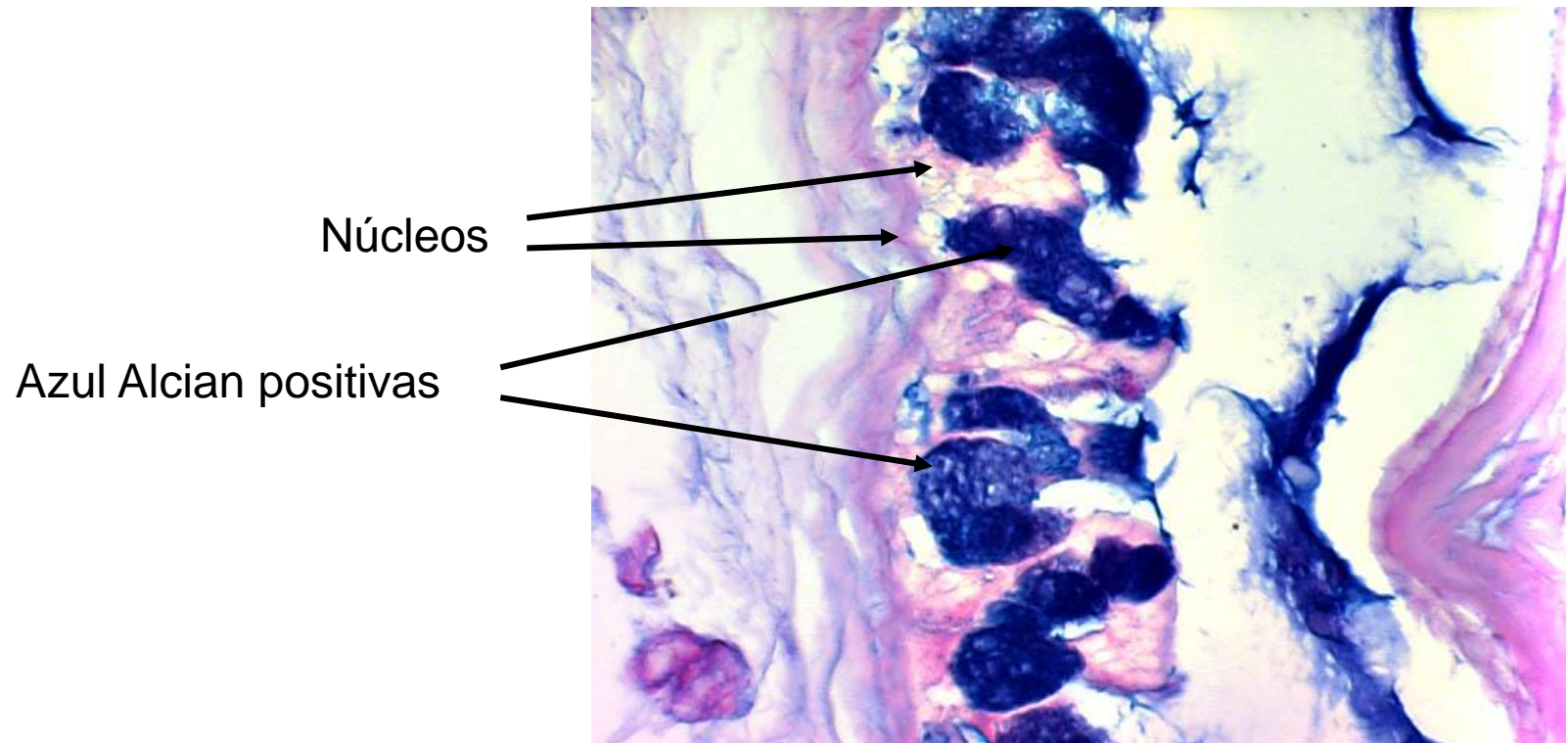
- ❑ Substância básica que se liga aos grupos ácidos dos hidratos carbono
- ❑ A pH 1 cora mucinas fortemente ácidas; a pH 2.5 cora mucinas ácidas, tanto fortes como fracas
- ❑ Vantagens:
 - ❑ Coloração intensa – mucinas intensamente coradas
 - ❑ Especificidade – cora especificamente mucinas ácidas
 - ❑ Insolubilidade da coloração – não afetada por ação de ácido ou álcool
 - ❑ Resultados permanentes – a passagem do tempo não afeta a intensidade da coloração
- ❑ Desvantagem: ácidos nucleicos atraem fortemente este tipo de corantes
- ❑ Exemplo de situação patológica: metaplasia intestinal

Protocolo Azul Alcian

- Desparafinar os cortes e hidratar
- Corar com o Azul de Alcian
- Lavagem água corrente
- Contrastar com coloração nuclear Fast Red
- Lavagem em água corrente
- Desidratação e montagem

Estruturas demonstradas através da técnica Azul Alcian

- ❑ Todas as estruturas ricas em mucinas ácidas (azul escuro)
- ❑ Núcleos: rosa magenta



Azul de Alcian / PAS

- ❑ Excelente coloração para fazer a distinção entre mucinas ácidas e neutras
- ❑ Coloração sequencial:
 - ❑ 1º Azul de Alcian que vai reagir com as mucinas ácidas
 - ❑ 2º PAS que vai reagir com as mucinas neutras
- ❑ Mucinas ácidas – tons azuis; Mucinas Neutras – tons púrpura

Protocolo Azul Alcian / PAS

- Desparafinar os cortes e hidratar
- Corar com o Azul de Alcian
- Lavagem água corrente e de seguida um pouco água destilada
- Oxidação com ácido periódico
- Lavagem em água corrente
- Corar com reagente Schiff
- Lavagem em água corrente
- Corar com hematoxilina
- Lavagem em água corrente
- Desidratação e montagem

Estruturas demonstradas através da técnica Azul Alcian / PAS

- ❑ Mucinas ácidas (azul)
- ❑ Mucinas neutras (púrpura)

