



UAlg ESS

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
ESCOLA SUPERIOR DE SAÚDE

Ciências Biomédicas Laboratoriais

Métodos Cito-Histoquímicos

Aula 8

2016/17

João Furtado

jffurtado@ualg.pt

Gab. 2.06 na ESSUAlg

Sumário

Amiloide

Introdução

Diagnóstico

Histológico

Protocolo (vermelho congo)

Genético

Amiloide

Colorações histoquímicas (especiais)

- ❑ Substância de natureza proteica que se deposita no espaço extracelular de vários tecidos: amiloidose
- ❑ As proteínas agregam-se formando fibrilas e configuração beta-pregueada. Esta configuração produz birrefringência à luz polarizada após coloração com vermelho congo
- ❑ Os vários tipos de amiloidose são definidos de acordo com a proteína precursora que forma as fibras amiloides e a distribuição dos depósitos
 - ❑ **Quanto à distribuição:** localizada ou sistêmica
- ❑ Amiloidose sistêmica a mais comum, pode afetar coração, rins, intestino, nervos, causando falência dos órgãos

- ❑ Os principais tipos de amiloidose sistêmica são as associadas:
 - ❑ Serum amyloid A (AA)
 - ❑ Cadeias leves das imunoglobulinas (AL)
 - ❑ Cadeias pesadas (AH)
 - ❑ Proteínas relacionadas com as amiloidoses hereditárias (transtirretina, lisozima, apolipoproteína, gelsolina e cistatina).

- ❑ Amiloidose sistêmica é uma doença com elevada mortalidade devido à progressiva deposição extracelular de amiloide em órgãos vitais

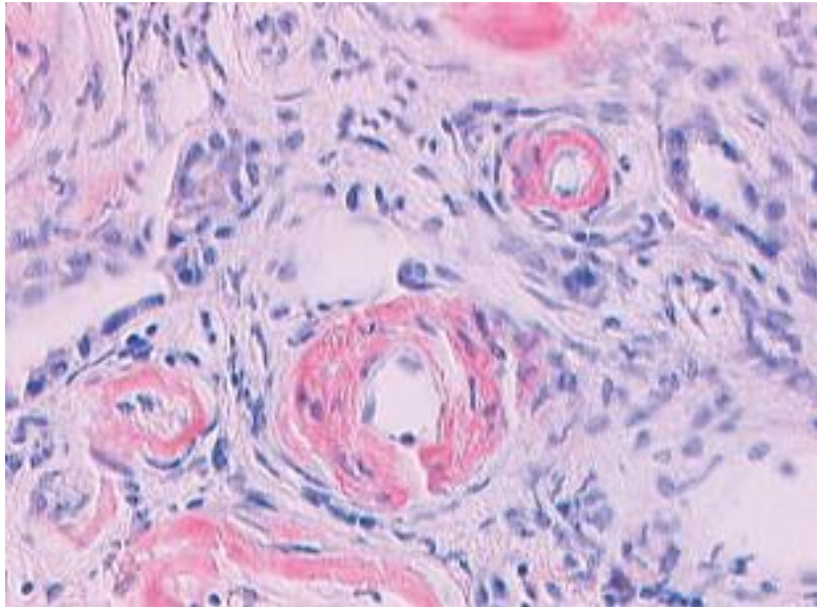
- ❑ Terapêutica: diminuir ou impedir a deposição de amiloide, mas o potencial efeito da terapêutica depende da extensão da doença na altura do diagnóstico

Diagnóstico

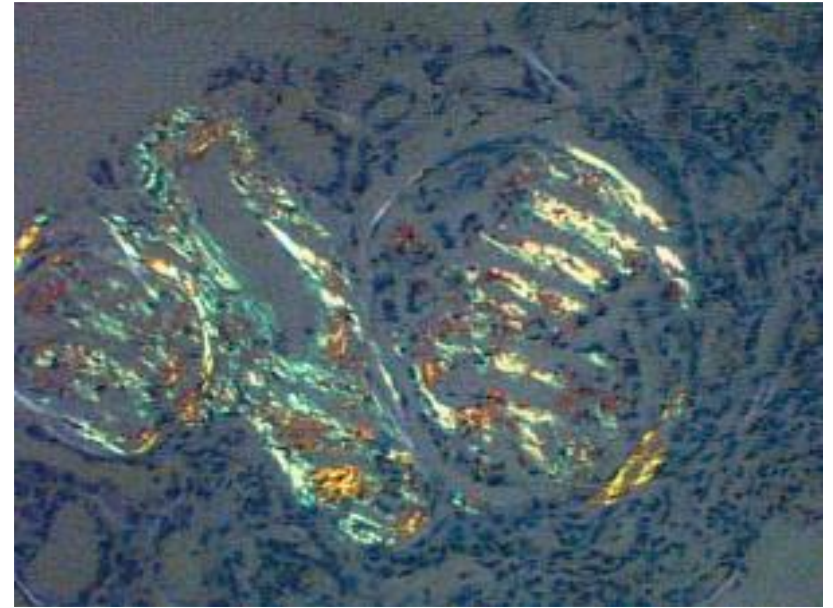
Histológico

- ❑ Obtida através da coloração com o vermelho do Congo - aparência vermelho/laranja na microscopia de luz e produz birrefringência quando observada à luz polarizada

- ❑ Qualquer tecido pode ser testado para positividade pelo vermelho do Congo
 - ❑ Maior nos tecidos com evidência clínica de envolvimento
 - ❑ Diagnóstico confirmado através de biópsia ou aspiração de gordura abdominal em detrimento de uma biópsia invasiva de órgãos viscerais
 - ❑ A ausência de positividade na coloração da gordura abdominal pelo vermelho do Congo não exclui o diagnóstico de amiloidose



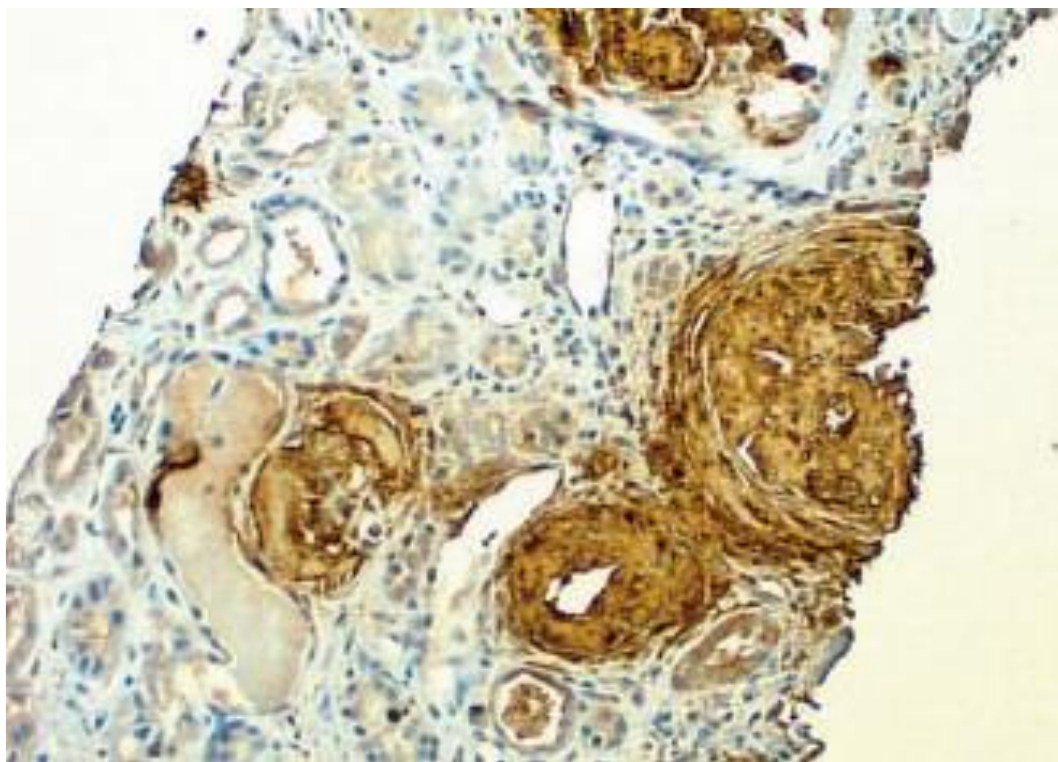
Biópsia renal: A. Coloração pelo vermelho do Congo positiva na presença de depósitos de amilóide no mesângio e paredes arteriais (x200)



Coloração pelo vermelho do Congo sob luz polarizada adquirindo birrefringência verde-amarela (x400)

- ❑ Resultados falsos negativos podem ser:
 - ❑ Devidos a quantidade insuficiente de material
 - ❑ Técnica de coloração inadequada
 - ❑ Utilização incorreta dos materiais de polarização e intensidade de luz insuficiente
- ❑ A análise imunohistoquímica do tecido adiposo facilita a detecção automatizada de amiloide, tornando-a independente da experiência e dedicação do observador
- ❑ Se o resultado da biópsia ou aspiração de gordura abdominal for negativo, **mas a suspeita clínica permanecer elevada** → efetua-se uma biópsia dirigida a um órgão suspeito de estar envolvido

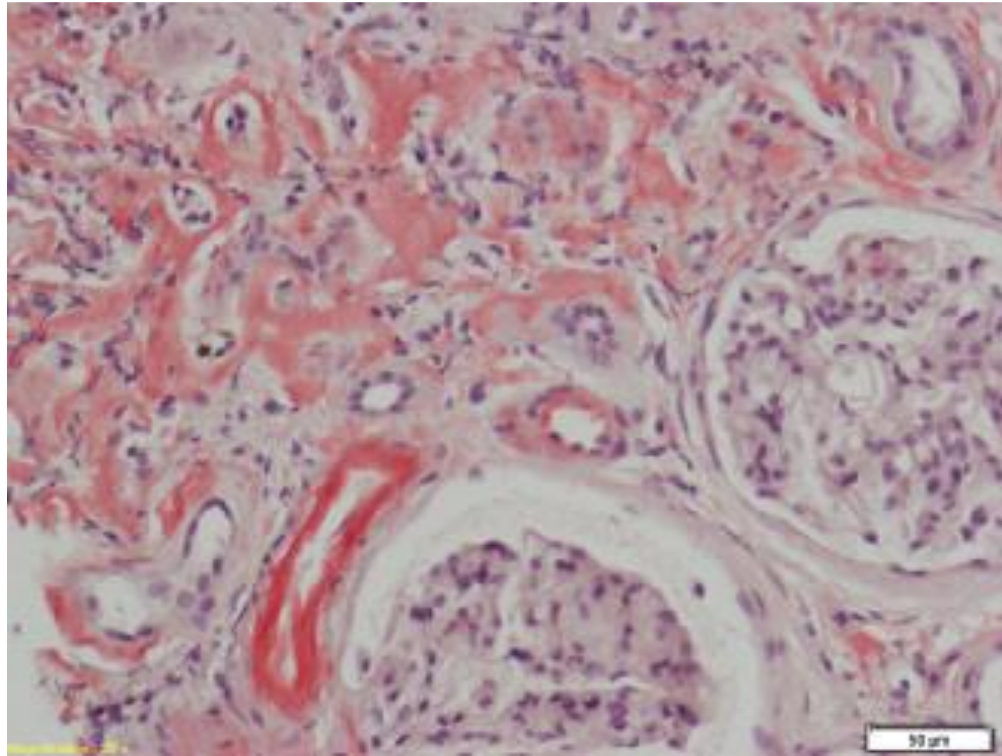
- ❑ Vermelho do Congo não é feita por rotina na avaliação histológica
- ❑ Ao confirmar a presença de amiloide → determinação do tipo de fibrilas amiloides
- ❑ A imunofluorescência ou a coloração imunohistoquímica dos tecidos
 - ❑ Análise imunohistoquímica oferece a possibilidade de caracterizar o tipo de amiloide através da utilização de anticorpos direcionados contra proteínas amiloides particulares



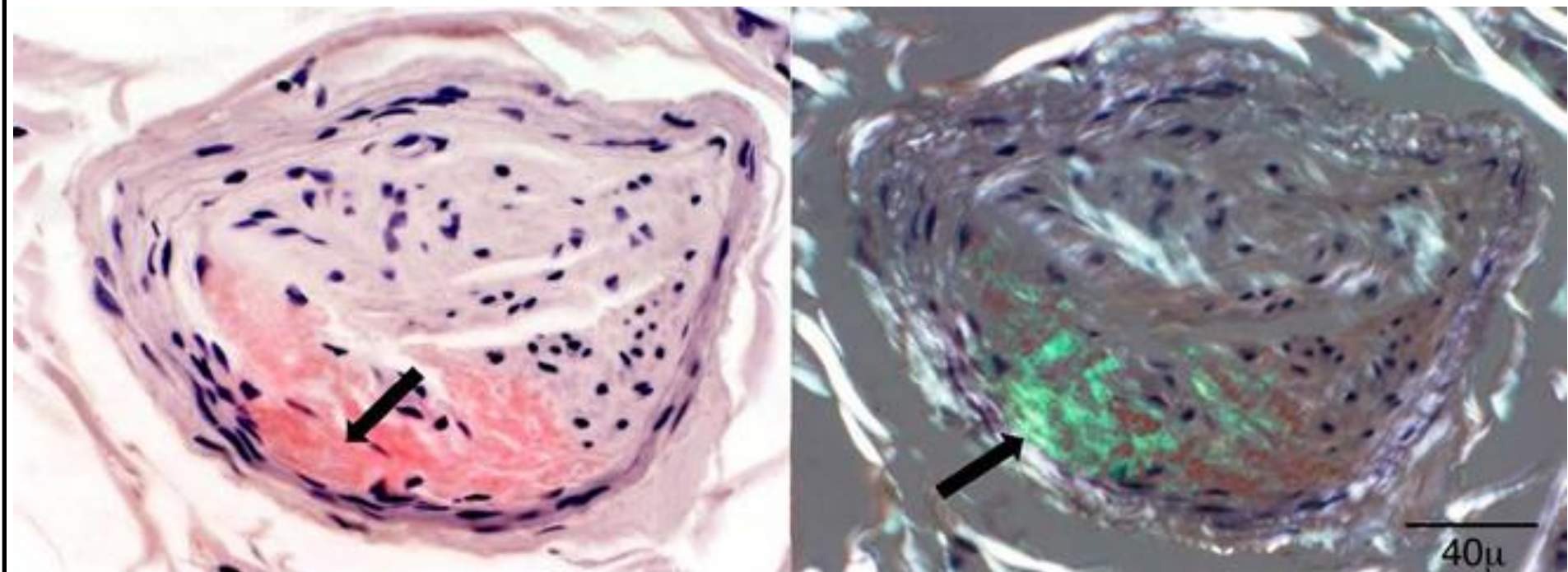
Coloração positiva para depósitos de amiloide AA (imunoperoxidase x200)

Protocolo Vermelho Congo (Highman)

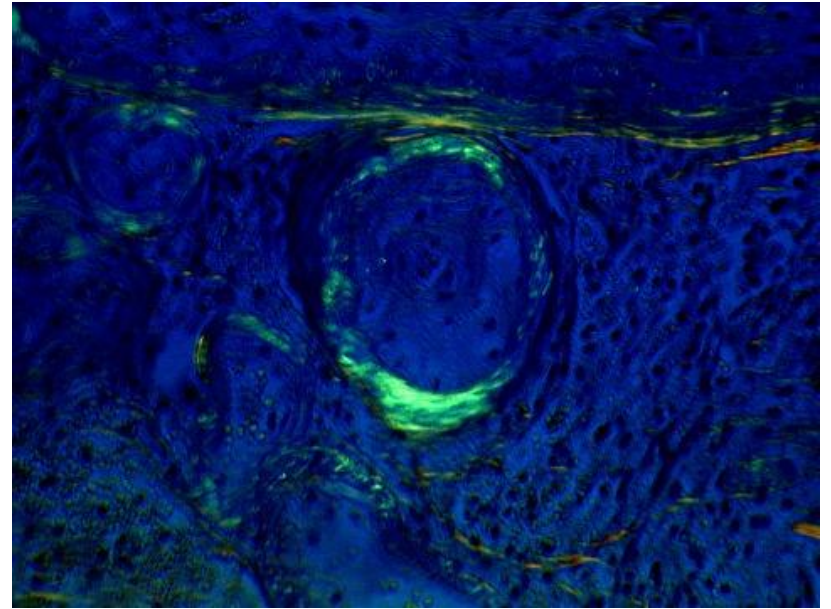
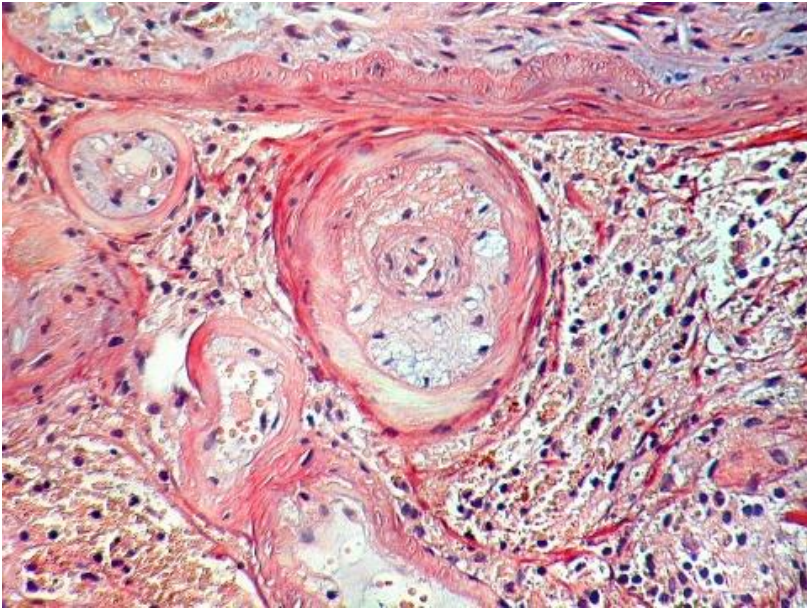
- Desparafinar e hidratar
- Corar com vermelho congo
- Diferenciar com hidróxido potássio alcoólico
- Lavar em água
- Contrastar com hematoxilina (alumínio)
- Diferenciar e azular
- Desidratar, diafanizar e montar



Coloração vermelho congo nos depósitos de amiloide (vermelho) numa seção rim



Depósitos de amilóide em nervo. A esquerda sinalizado pela coloração do corante vermelho Congo e a direita com a coloração verde-maçã submetendo a amostra à luz polarizada.



Amiloidose de vasos meníngeos

Genético

- ❑ Após a identificação do tipo de amiloidose, existindo hipótese de uma doença hereditária → pesquisa de mutações genéticas associadas às proteínas amiloidogénicas.
- ❑ Amiloidose hereditária associa-se a uma transmissão autossómica dominante
 - ❑ FMF é de transmissão autossómica recessiva.
- ❑ Técnica polymerase chain reaction para posterior identificação das mutações
- ❑ Espectroscopia de massa e a sequenciação dos aa não são utilizadas por rotina e não são necessárias → exceto se as outras técnicas não permitirem a identificação

Tabela 1. Classificação das amiloidoses: proteínas das fibrilas amilóides e seus precursores

Proteína amilóide	Precursor	Doença ou tecidos envolvidos
AL	Cadeias leves de imunoglobulinas	Primária ou associada a mieloma; multiorgânica
AH	Cadeias pesadas de imunoglobulinas	Primária ou associada a mieloma; multiorgânica
ATTR	Transtirretina	Familiar, sistêmica senil; nervo periférico, cardíaco, renal, ocular
A β 2M	B2-microglobulina	Insuficiência renal crônica, hemodiálise; multiorgânica
AA	SAA	Secundária, reactiva, familiar; multiorgânica
ApoAII	Apolipoproteína AII	Familiar; renal, cardíaco
ApoAII	Apolipoproteína AII	Familiar; renal, cardíaco
AGel	Gelsolina	Familiar; nervo periférico, córnea
ALys	Lisozima	Familiar; renal
AFib	Cadeia A α do fibrinogénio	Familiar; renal
ACys	Cistatina C	Familiar; sistema nervoso central
Abri	ABriPP	Familiar; sistema nervoso central
A β	Precursor proteico da A β	Doença de Alzheimer, senil
AprP	Proteína do príão	Encefalopatias espongiiformes
Acalc	(Pro)calcitonina	Tumores da tiróide
AIAPP	Polipeptídeo amilóide das ilhotas	Ilhotas de Langerhans; diabetes mellitus, insulinomas
AANF	Factor natriurético atrial	Cardíaca atrial
APro	Prolactina	Pituitária, prolactinomas
AIns	Insulina	Iatrogénica
AMed	Lactaderina	Aórtica senil
Aker	Querato-epitelina	Familiar; córnea
ALac	Lactoferrina	Familiar; córnea

Vermelho Congo

- ❑ Coloração utilizada para a demonstração de amiloide (substância extracelular proteica fibrilar)

- ❑ **Princípio:** o corante vermelho congo tem afinidade seletiva para amiloide e liga-se através de ligações de hidrogénio não polares – proporciona birrefringência verde quando observado à luz polarizada.

- ❑ **Resultado:**
 - ❑ Fibras elásticas amiloide: vermelho.
 - ❑ Apenas amiloide proporciona birrefringência verde na luz polarizada.