



UAlg ESS

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
ESCOLA SUPERIOR DE SAÚDE

Ciências Biomédicas Laboratoriais

Métodos Cito-Histoquímicos

Aula 7

2016/17

João Furtado

jffurtado@ualg.pt

Gab. 2.06 na ESSUAlg

Sumário

Pigmentos e Minerais

- Introdução

- Substâncias Endógenas

 - Melanina

 - Hemoglobina e seus derivados

- Substâncias Exógenas

 - Carvão

 - Sílica

 - Asbestos

 - Silicone

 - Talco

- Pigmentos Artefactos

Pigmentos e Minerais

Colorações histoquímicas (especiais)

- ❑ Os pigmentos são substâncias químicas que conferem cor aos tecidos vivos e são insolúveis na maioria dos solventes
- ❑ Os minerais são definidos pela inclusão de toda a matéria inorgânica
- ❑ Pigmentos e minerais podem ser subdivididos em 3 classes
 - ❑ **Endógenos** (melanina, hemoglobina e seus derivados, ferro, lipofuscina, cálcio, cobre, entre outros)
 - ❑ **Exógenos** (sílica, carvão, asbestos, talco, silicone, entre outros)
 - ❑ **Artefactos** (formalina, mercurio, óxido de crómio, entre outros)
- ❑ Normalmente os dados clínicos identificam diretamente as substâncias, tornando irrelevante a realização de uma técnica histoquímica
- ❑ Recorre-se às colorações histoquímica quando se pretende diferenciar diversas substâncias com a mesma aparência (ex: melanina, lipofuscina, hemossiderina)

Substâncias Endógenas

Melanina

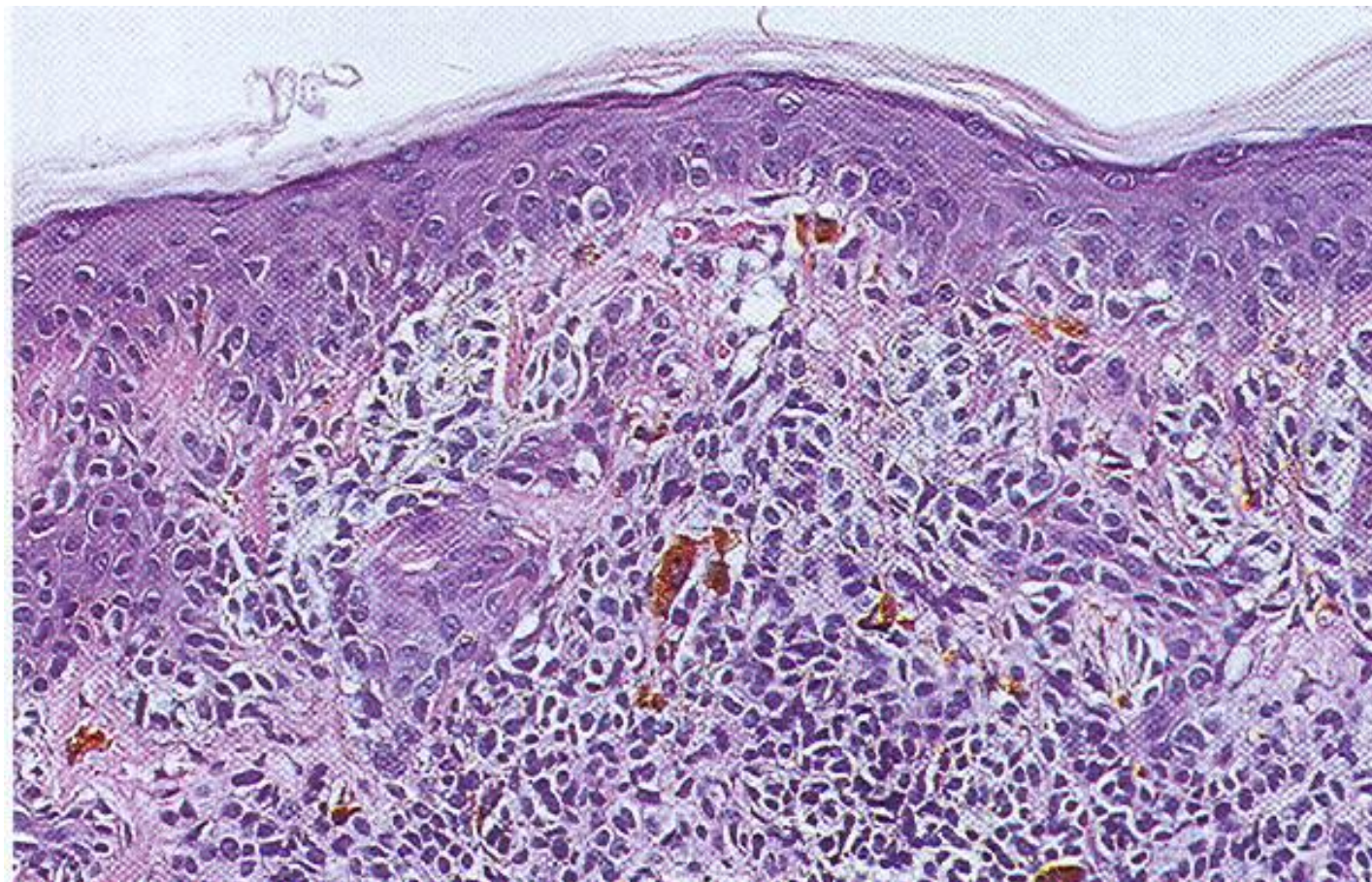
- ❑ Pigmento negro ou acastanhado que se encontra na pele, olhos e em partes do cérebro
- ❑ É um produto de oxidação da tirosina, encontra-se proteicamente ligado a organelos (melanossomas)
- ❑ Na pele as células que contêm melanossomas denominam-se de melanócitos, e têm por principal função a produção de melanina que serve de barreira aos raios UV
- ❑ Nos olhos encontramos uma fina camada contendo melanina a revestir a esclera, o corpo ciliar e a íris, evitando a reflexão interna

- ❑ Identificação melanina não é um requisito para o diagnóstico dos tumores melanócitos
- ❑ Hoje em dia a diferenciação é feita com base em marcadores imunohistoquímicos de diferenciação melanocítica
- ❑ A utilidade das colorações histoquímicas encontra-se pois na necessidade de diferenciar entre pigmentos de cor acastanhada ou localizá-los com precisão
- ❑ Identificação da melanina: Fontana Masson
 - ❑ Baseia-se no poder redutor da melanina, que transforma o sal de prata em prata metálica
 - ❑ Não é específica para a melanina mas é suficiente dado o contexto histológico

Protocolo Fontana Masson

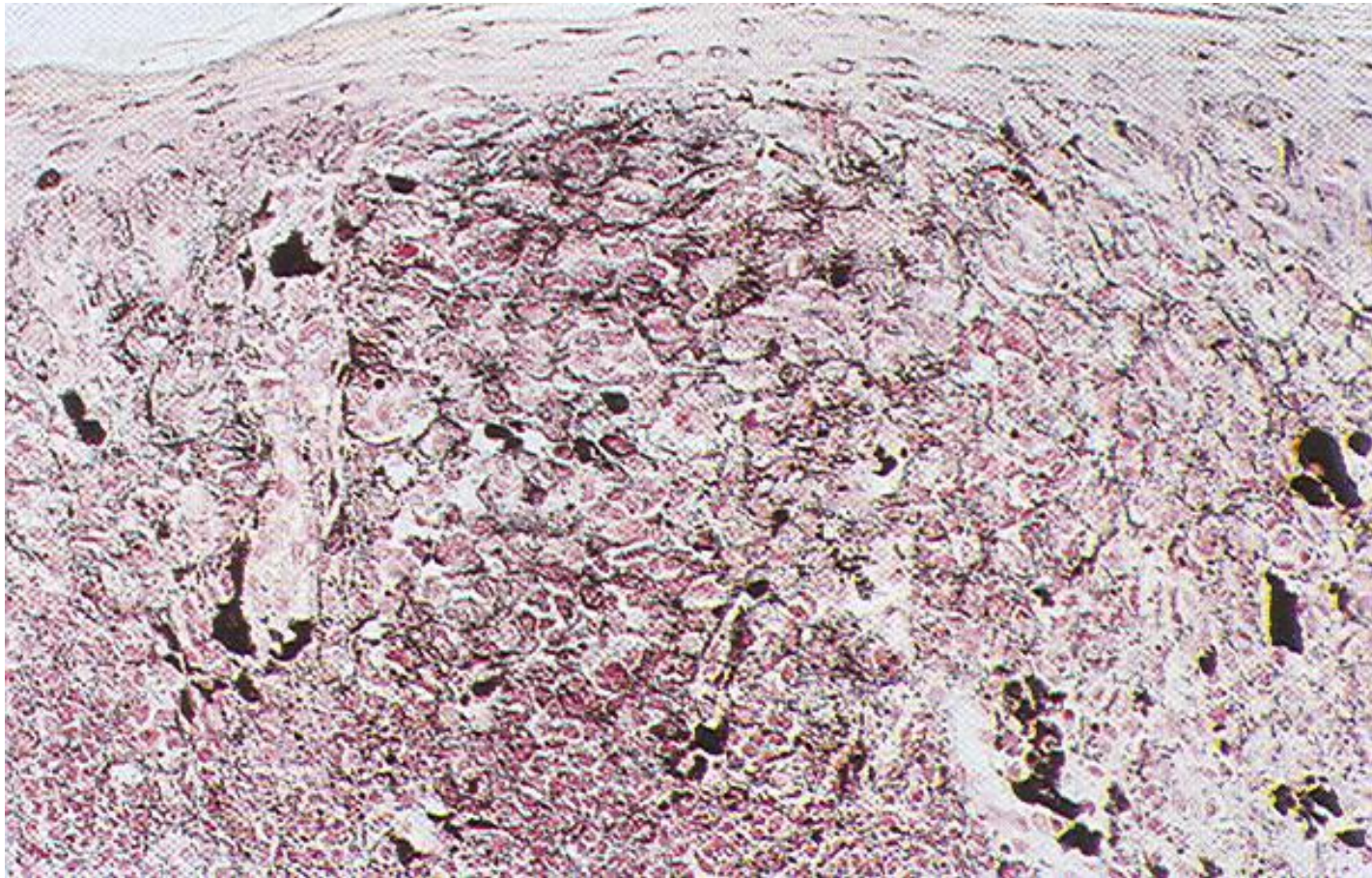
- Desparafinar e hidratar corte
- Solução de nitrato de prata amoniacal a 10%
- Passar por água destilada
- Tratar com solução de tiosulfato de sódio
- Passar por água destilada
- Contrastar com vermelho neutro
- Lavagem em água
- Desidratar, diafanizar e montar

H&E



Melanina – castanho escuro

Fontana Masson



Melanina – preto/castanho escuro

Núcleo - vermelho

Hemoglobina e seus Derivados

Hemoglobina e Mioglobina

- ❑ A hemoglobina é o pigmento transportador de oxigênio sistêmico, enquanto que a mioglobina é o seu equivalente no músculo estriado
- ❑ 34% do citoplasma dos eritrócitos está ocupado por hemoglobina e está presente em todos os tecidos vascularizados
- ❑ Os eritrócitos são de fácil identificação dada a sua eosinofilia e morfologia
- ❑ A hemoglobina está constantemente a ser sintetizada e degradada

Bilirrubina e Biliverdina

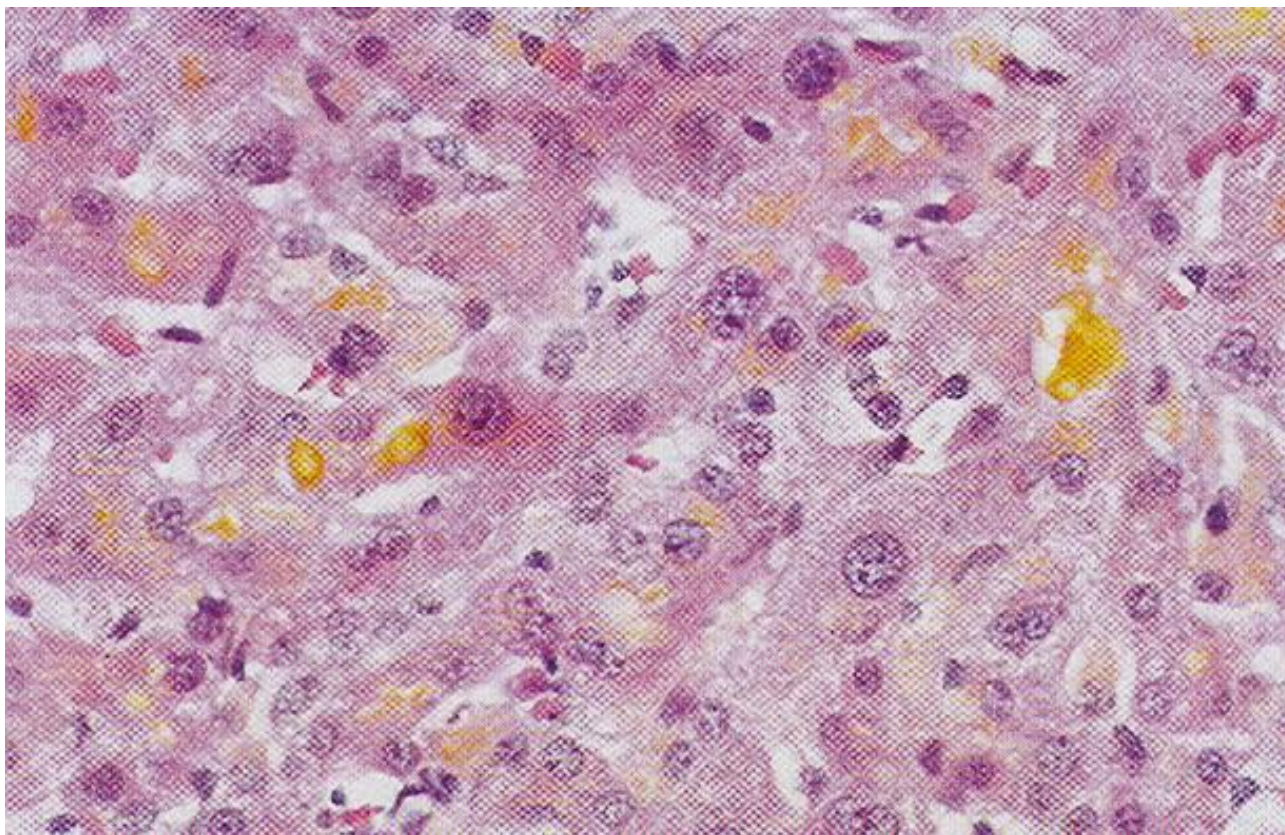
- ❑ A bilirrubina é um pigmento derivado da degradação dos eritrócitos
- ❑ Heme é separado por ação da enzima heme-oxidase → heme perde o ferro e porfirina tem o seu anel tetrapirrólico aberto → **biliverdina**
- ❑ Biliverdina é transportada para o fígado onde sofre ação da enzima biliverdina-redutase e passa a **bilirrubina** (pigmento de cor amarela)
- ❑ Bilirrubina conjuga-se com o ácido glucurónico tornando-se hidrossolúvel (secretada pelos hepatócitos)
- ❑ Defeitos no metabolismo da bilirrubina levam á sua acumulação em circulação dando origem à condição clinica designada por icterícia. Em casos graves a coloração estende-se aos órgãos (rins e fígado)

- ❑ A bilirrubina pode ser identificada em cortes histológicos corados com H&E pela sua cor característica (depósitos amarelo acastanhados)
- ❑ As colorações histoquímicas são necessárias em casos onde a concentração é reduzida, e para que seja detetada mais rapidamente
- ❑ Biopsias hepáticas: coloração **Fouchet + Sirius Red**
 - ❑ Oxidação da bilirrubina em biliverdina
 - ❑ O corante Sirius Red cora as fibras de reticulina e colagénio que rodeiam os hepatócitos

Protocolo Fouchet + Sirius Red

- Desparafinar e hidratar corte
- Reagente de Fouchet
- Lavagem em água destilada
- Contrastar com Sirius Red
- Secar ao ar
- Desidratar, diafanizar e montar

H&E



Pigmentos da bÍlis – amarelo acastanhado

Fouchet + Sirius Red



Pigmentos da b́ilis – verde acastanhado

Musculo – amarelo

Fibras de reticulina e colagénio - vermelho

Ferro

- ❑ Componente essencial da hemoglobina, mioglobina e citocromos, cofator para várias enzimas
- ❑ O metabolismo: envolve a destruição das hemácias, a circulação no plasma ligado à transferrina, e é armazenado na sua forma férrica ligado à apoferritina
- ❑ Este complexo é armazenado no fígado, baço, medula óssea e músculo
- ❑ A deficiência ou o excesso de ferro pode incorrer numa série de patologias (ex anemia ferropriva)
- ❑ A evidência histológica de depósito de ferro: hemossiderina

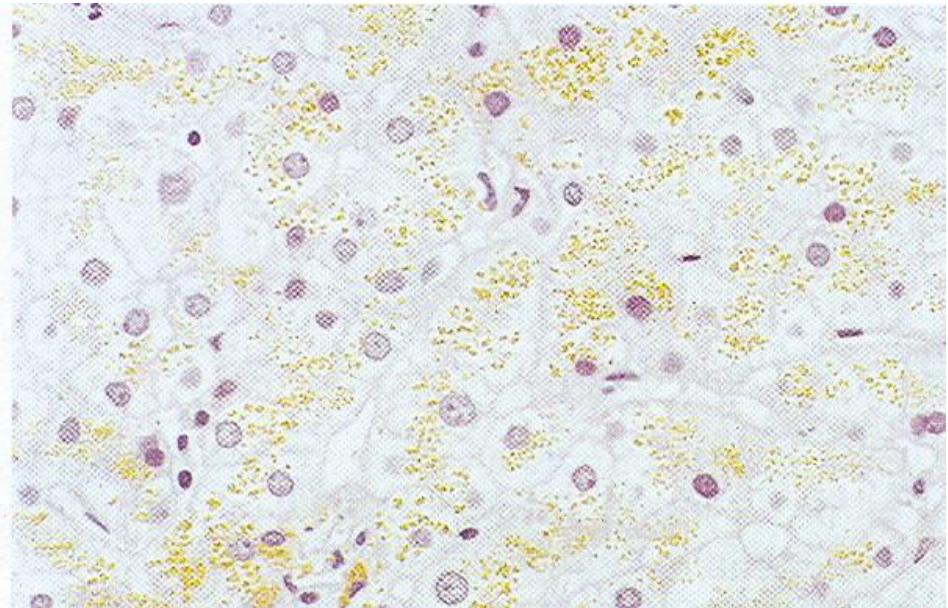
- ❑ Hemossiderina surge quando existe uma acumulação de ferro excessiva
- ❑ A distinção entre hemossiderina e outros pigmentos de cor acastanhada é alcançada recorrendo à reação do **azul da Prússia de Perls**
 - ❑ Detetar e identificar ferro ferroso (Fe^{2+})
 - ❑ Ferro ferroso reage com o ferrocianeto de potássio, adquirindo uma coloração azul escura, característica do ferrocianeto férrico

Protocolo Azul de Prússia de Perls

- Desparafinar e hidratar corte
- Solução de ferrocianeto de potássio acidificada
- Lavagem em água destilada
- Contrastar com eritrosina ou vermelho neutro
- Lavar em água destilada
- Desidratar, diafanizar e montar

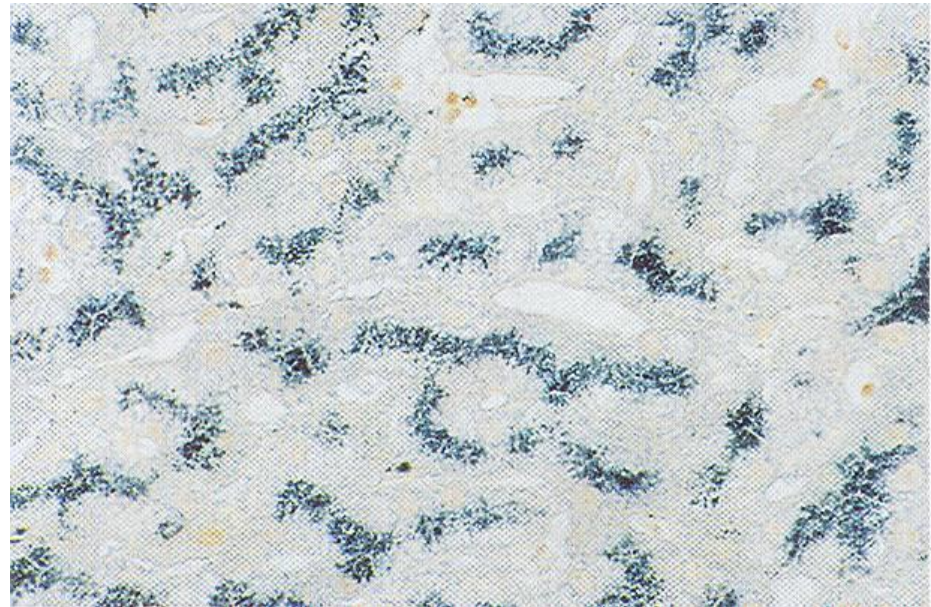
Sem Azul de Prússia de Perls

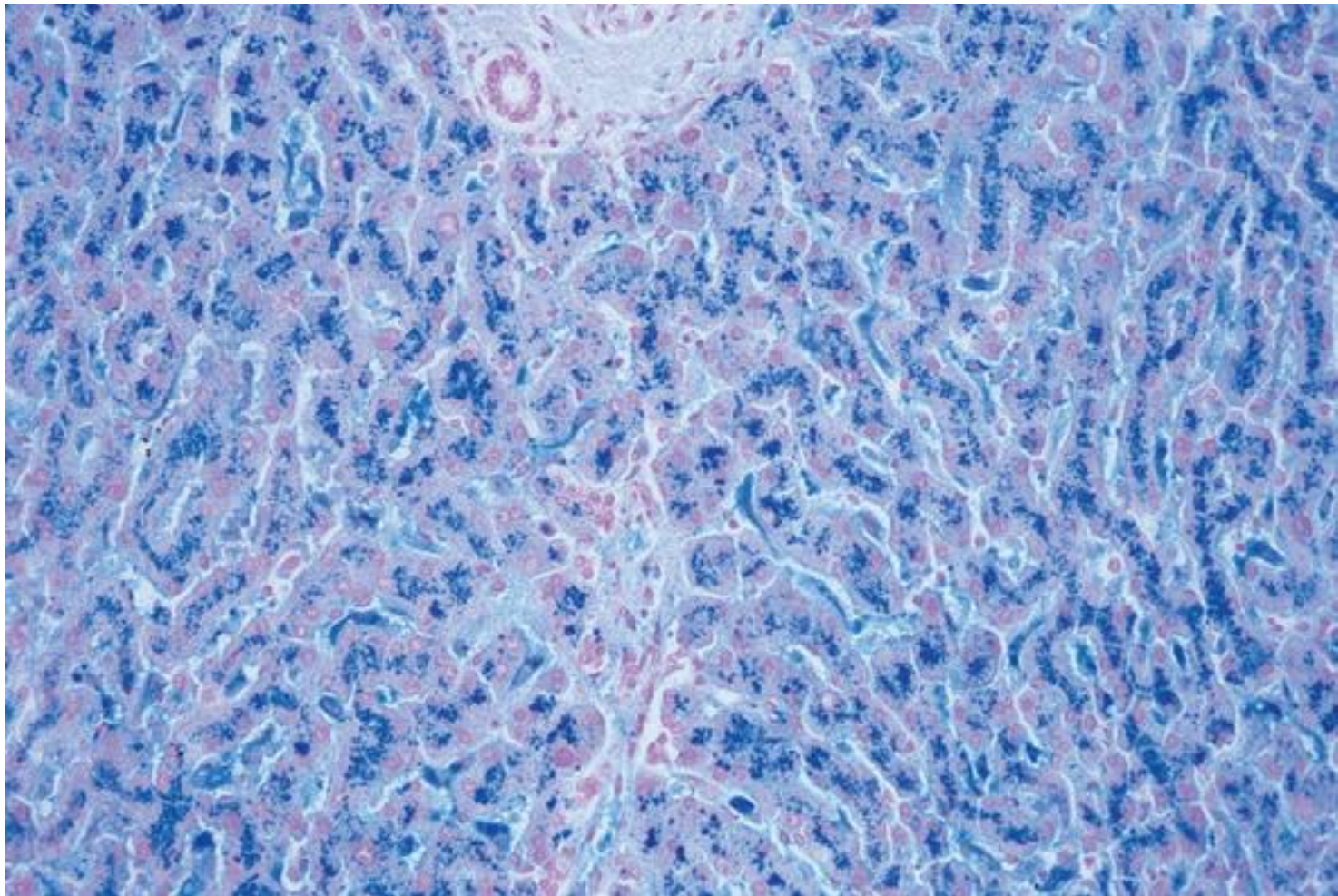
☐ Acastanhado (natural)



Azul de Prússia de Perls

☐ azul





Ferro ferroso – azul

Núcleos - vermelho

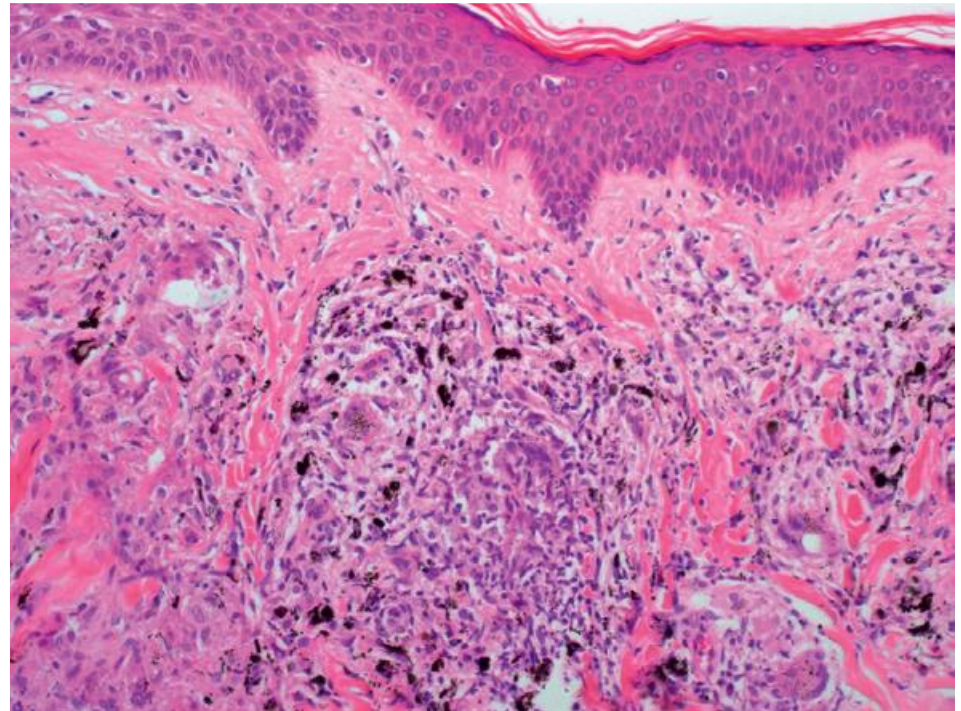
Substâncias Exógenas

Carvão

- ❑ Pigmento exógeno mais comum, inalado do ar poluído e presente nos pulmões
- ❑ Relativamente inerte, e não é a causa direta de nenhuma doença
- ❑ Em trabalhadores mineiros a exposição é tão elevada que origina casos de pneumoconiose e fibrose pulmonar massiva
- ❑ Em ambos os casos observa-se uma extensa coloração negra no tecido pulmonar

❑ Presente em:

- ❑ Tatuagens
- ❑ Articulações prostéticas
- ❑ Marcador cirúrgico
- ❑ Nos pulmões: mineiros, poluição doméstica e industrial, vítima de incêndio



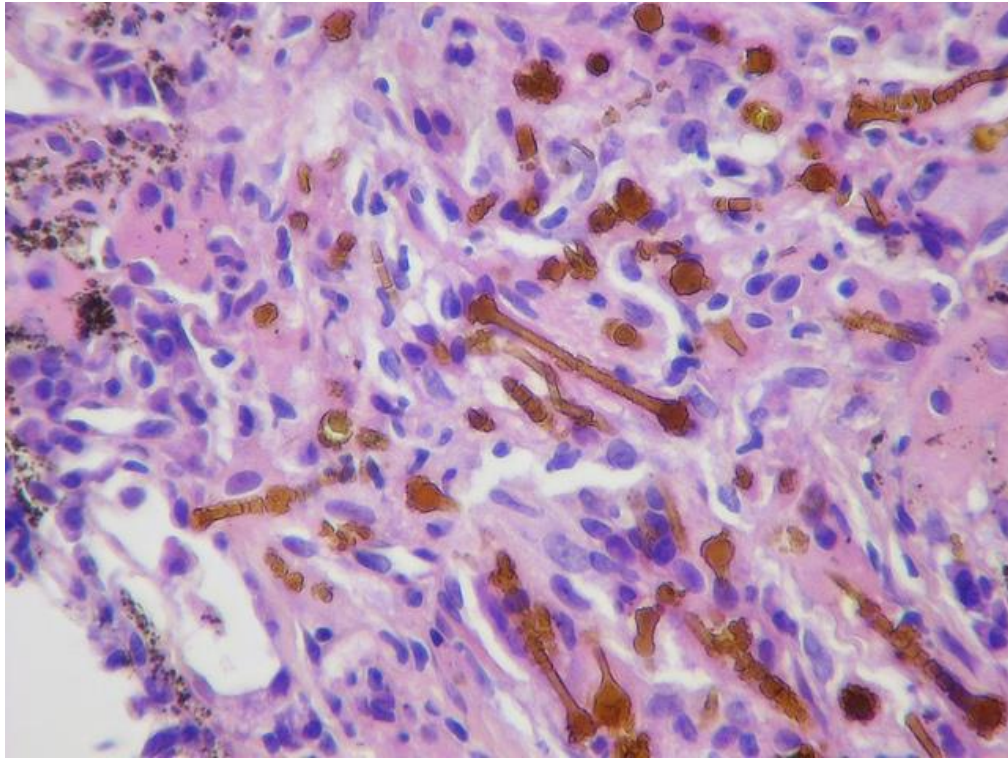
Sílica

- ❑ Forma cristalina ou amorfa, presente universalmente, facilmente inalada
- ❑ Utilizada na industria vidreira, pedreiras, fundições (minérios)
- ❑ Observada como depósitos de material birrefringente em tecido pulmonar e gânglios linfáticos anexos
- ❑ Normalmente associada com carvão e outras partículas
- ❑ Exposição ás poeiras de sílica originam silicose (aguda ou crónica)
 - ❑ **Aguda:** exposição elevadas de pó de sílica → inflamação pulmonar e edema
 - ❑ **Crónica:** exposição longa duração (20/30 anos) → fibrosante nos tecidos pulmonares



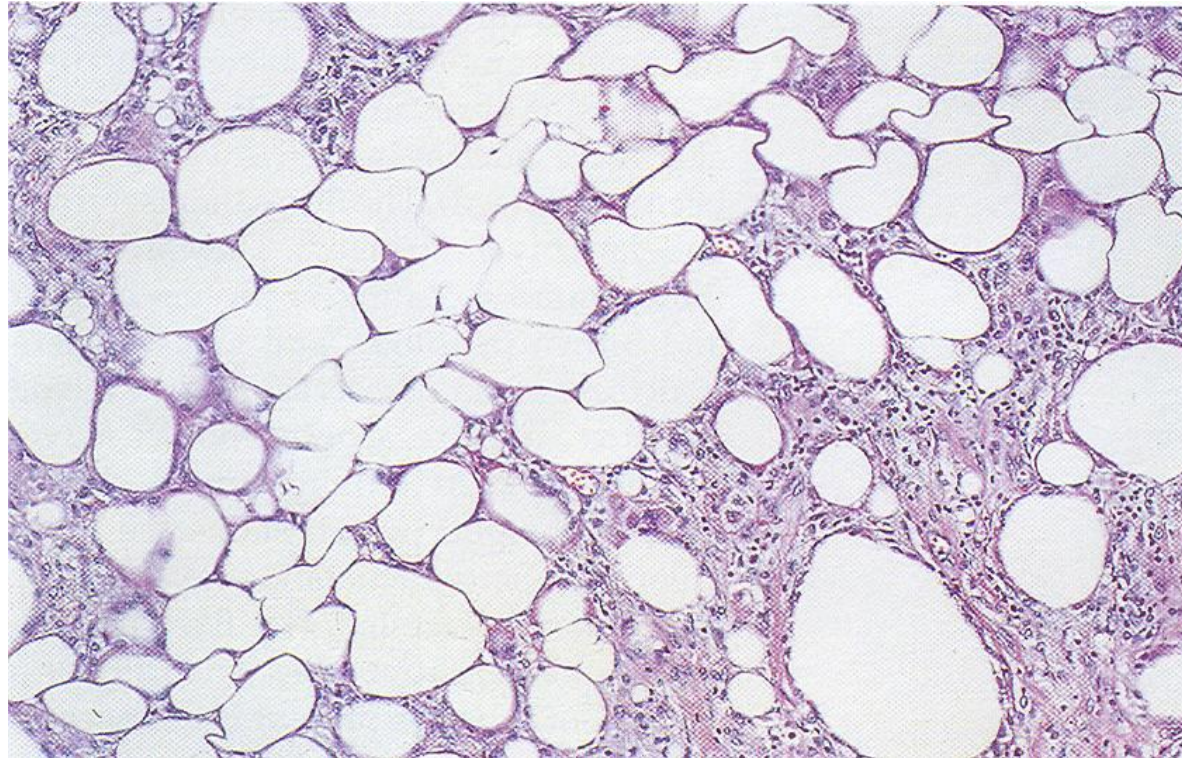
Asbestos

- ❑ Minério derivado do silício com uma estrutura fibrosa
- ❑ A inalação de fibras de asbestos origina várias patologias: asbestose (fibrose progressiva do tecido pulmonar), mesotelioma maligno (tumor maligno da pleura) ou carcinoma broncogénico
- ❑ Observados em tecido pulmonar ou expetoração
- ❑ Fibras pequenas, finas e incolores
- ❑ Identificado através da técnica de Perls: mistura com sais férricos confere uma cor acastanhada e uma aparência perlada



Silicone

- ❑ Composto polimérico conhecido pela sua utilização na construção de próteses mamárias
- ❑ O gel de silicone que se encontra no interior da prótese pode “escapar”, para os tecidos circundantes originando uma reação inflamatória granulomatosa – granuloma de silicone
- ❑ Observado no paciente em diálise tendo origem no desprendimento de minúsculos fragmentos de silicone de que são feitos os tubos de diálise



Tecido adiposo infiltrado de macrófagos
(células rosa mais claro)

Talco

- ❑ Silicato de magnésio é um pó utilizado em luvas cirúrgicas
- ❑ Pode dar origem a uma reação granulomatosa (nódulos compostos por células gigantes multinucleadas contendo cristais de talco)
- ❑ O talco é normalmente utilizado para cortar drogas ilegais (heroína ou cocaína), podendo ser observados cristais de talco nos pulmões e fígado dos toxicodependentes

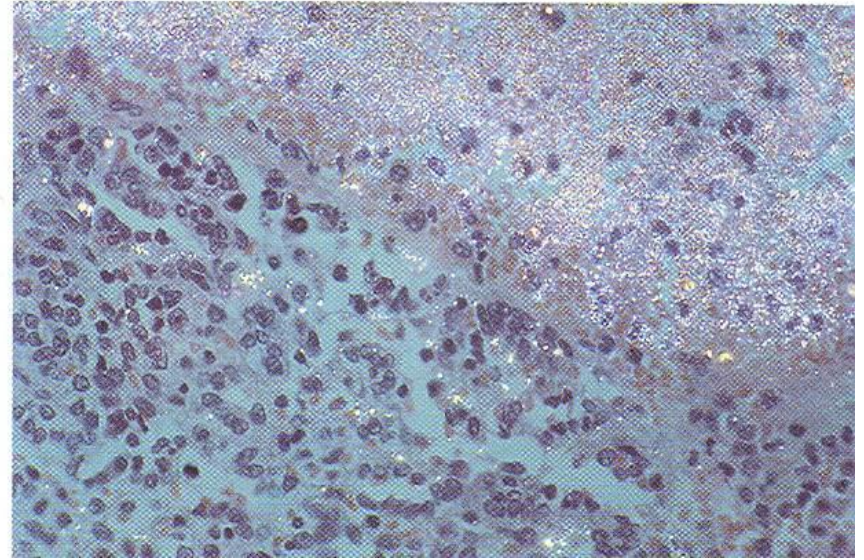
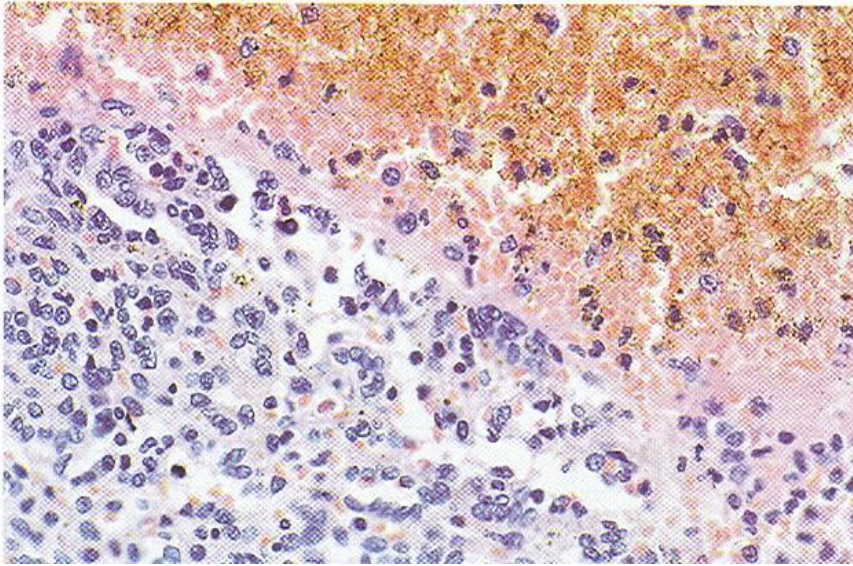
Pó de Luvas

- ❑ Luvas são revestidas com amido em pó, no qual pode originar reação granulomatosa (pouca frequência)
- ❑ Aparecem nos cortes histológicos devido à manipulação dos fragmentos com luvas
- ❑ São grânulos redondos de cor azul na coloração de H&E
- ❑ Fortemente corados pela reação PAS

Pigmentos Artefacto

Pigmentos Formalínico

- ❑ Pigmento castanho/escuro em tecidos fixados em formalina
- ❑ Presente em tecidos muito vascularizados (baço), congestionados ou hemorrágicos (lesões)
- ❑ Surge com maior facilidade em soluções formalina incorretamente tamponadas ou quando o tempo de fixação é prolongado



- ❑ Distinguido de outros pigmentos, nomeadamente os endógenos, também eles de cor acastanhada, dado a sua birrefringência sob luz polarizada.
- ❑ Pode ser removido dos tecidos efetuando um pré-tratamento numa solução alcoólica de Ácido Pícrico

Pigmentos de Mercúrio

- ❑ Fixadores com conteúdo mercúrio (solução de Zenker) pode originar deposição de pigmento acinzentado nos tecidos
- ❑ Este pigmento pode ser removido dos tecidos previamente à sua coloração através da solução alcoólica de iodina e tiosulfato de sódio

Pigmentos de Dicromato

- ❑ Pigmento extracelular de cor negra amarelada (derivado do óxido de crómio)
- ❑ Surge após a utilização de uma solução fixadora que possui dicromatos ou em ácido crómico
- ❑ A formação deste pigmento pode ser reduzida pela lavagem do tecido previamente em álcoois
- ❑ Pode ser removido dos tecidos através de uma solução alcoólica acidificada