

# **HISTOLOGIA**

**PREPARO DE TECIDOS  
(fixação, impregnação e coloração)**

**Ricardo Santos Simões  
Leandro Sabará de Mattos**

# Significado de Histologia

Do grego *hydton*, *hystos* que significa tecido ou trama e *logos*, estudo.

O termo **tecido** foi introduzido por **Marie François Xavier Bichat** (Fisiologista e Anatomista Francês), pois comparou sua trama com os fios que formam um tecido (pano).

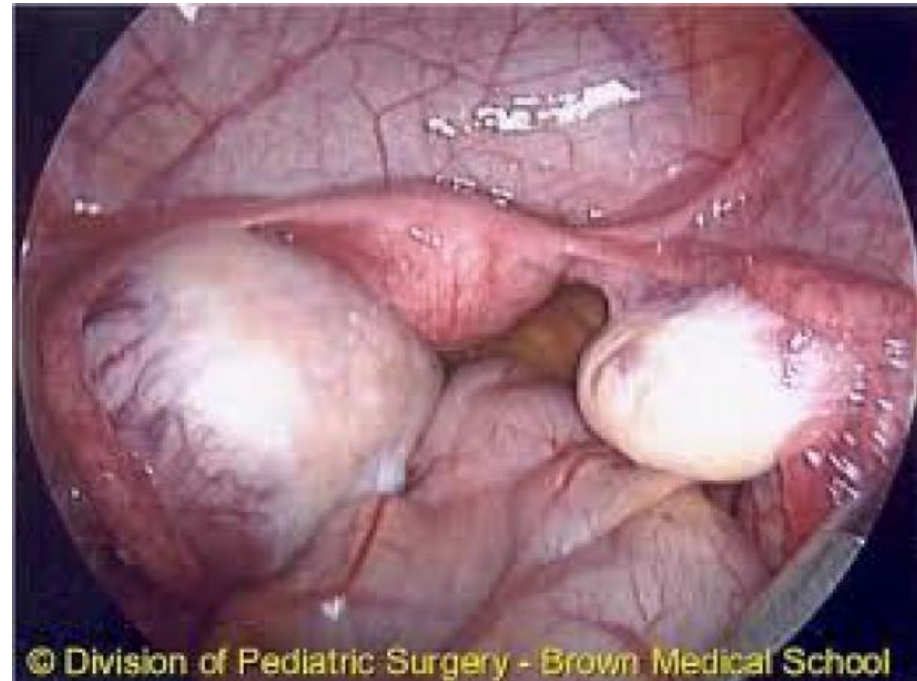
Sem o uso do microscópio **Bichat** examinou mais de seiscentos corpos e identificou 21 tipos de tecidos formadores de órgãos no corpo humano.

Atualmente esses tecidos são agrupados em quatro tipos.

# Porque estudar Histologia?



Para se conhecer o tecido normal e identificar lesões ao microscópio de luz



© Division of Pediatric Surgery - Brown Medical School

# Exemplo de diagnóstico anatomopatológico

**PACIENTE:**

**SOLICITANTE:** Dr.(a)

**NATUREZA DO MATERIAL:** linfonodos inguinais

## EXAME ANATOMOPATOLÓGICO

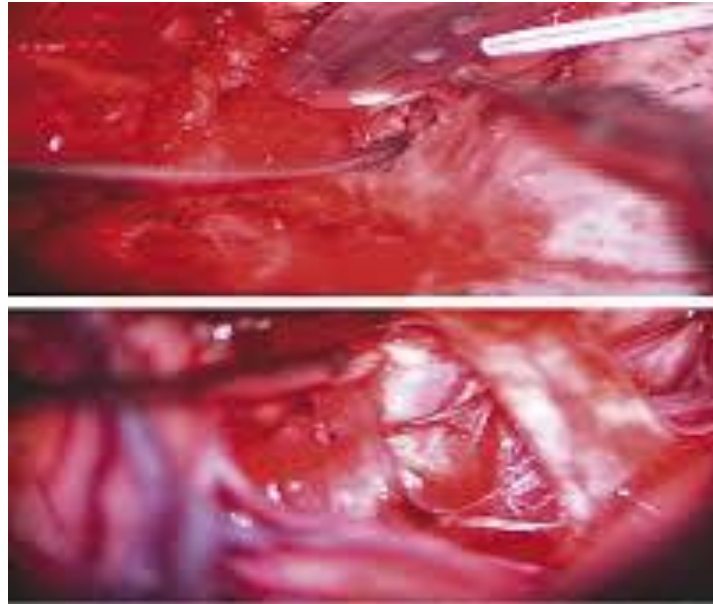
### MACROSCOPIA:

O espécime é recebido em formalina e consiste de 02 fragmentos irregulares de tecido amarelado com áreas brancacentas, ora elástico, ora untuoso, medindo em conjunto 3,0 x 2,0 x 0,5cm. A superfície de corte apresenta área acastanhada e granuloso. Todo o material é incluído para estudo histológico. TS B2 F5

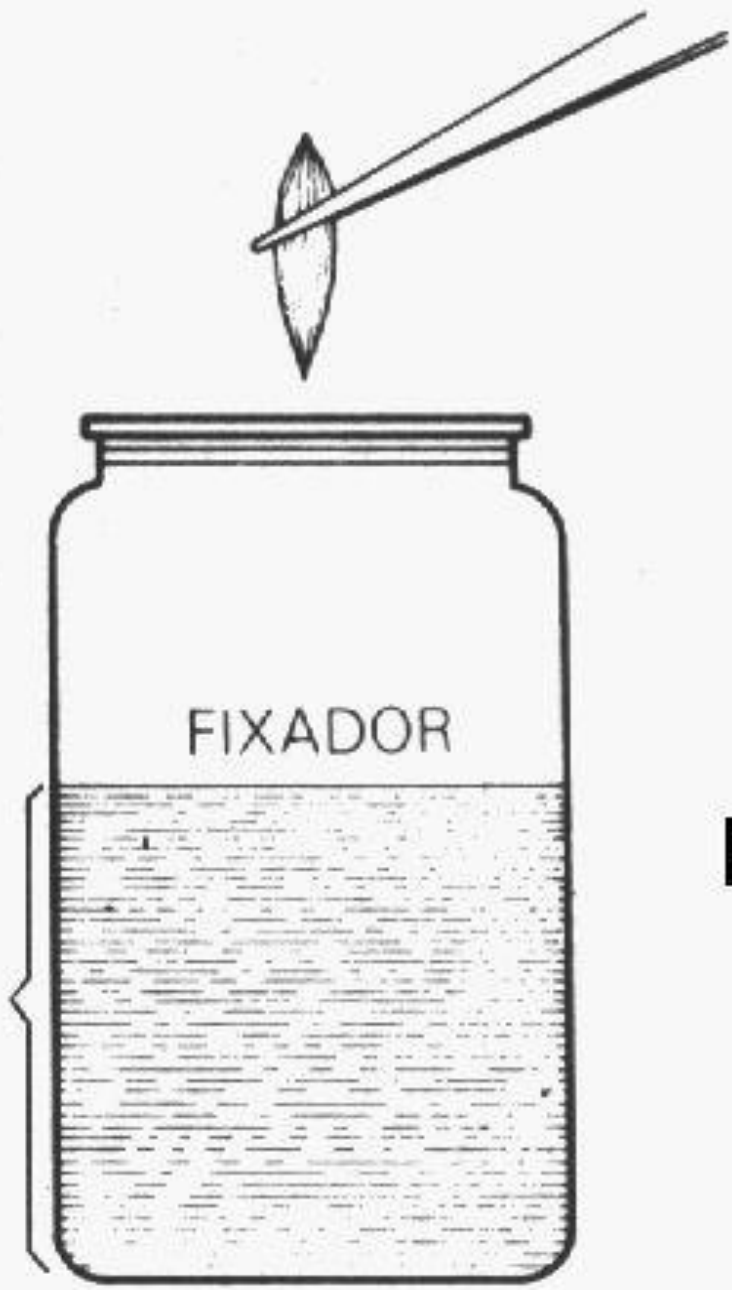
### MICROSCOPIA:

Os cortes histológicos demonstram linfonodos com arquitetura folicular preservada e delimitados por cápsula fibrosa. Os folículos são bem individualizados e de tamanhos variados. Contêm linfócitos de tamanhos variados, alguns com núcleos pequenos, redondos e hipercromáticos, outros com núcleos maiores e clivados, além de histiócitos. As zonas interfoliculares demonstram pequenos linfócitos de aspecto variado. Há ainda histiocitose sinusal, pequenos trechos de fibrose e vasocongestão no hilo. Não são observados sinais de malignidade na presente amostra.

# Coleta do material



- Evitar causar qualquer tipo de dano ao material
- Mergulhar a peça imediatamente em um *fixador*



**Fixador mais utilizado**

**Formol a 10%**

No mínimo  
20 vezes  
o volume  
da peça

# Formol

O formol é o aldeído fórmico, gás

É comercializado em solução aquosa a 39,9% (40%)

Decompõe-se rapidamente na presença da luz em ácido fórmico, por isso, é comercializado em frascos escuros contendo metanol



# Como é normalmente preparado

Formol..... .10 ml

Água destilada.....90 ml

(Formalina)

Desta maneira foi preconizado  
que o formol é utilizado a 10%

(Na realidade é utilizado a 4%)

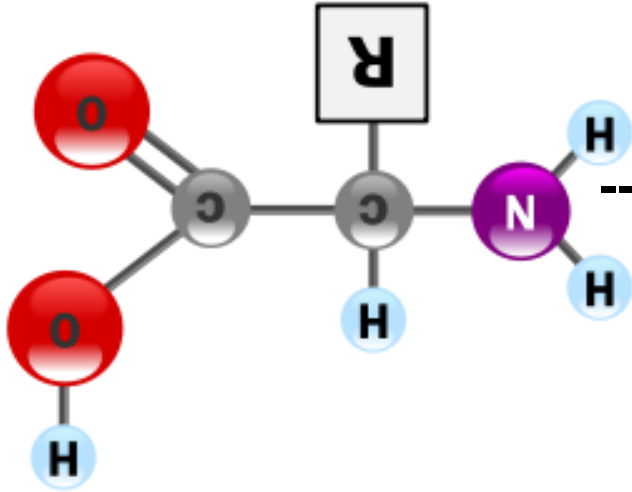


# A fixação é empregada para:

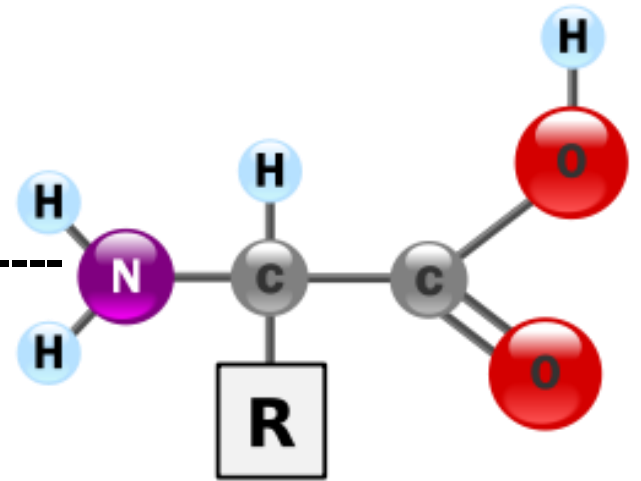
- Interromper o metabolismo celular;
- Evitar a autólise;
- Matar bactérias e fungos;
- Endurecer o tecido em consequência da ligação cruzada ou da desnaturação das moléculas de proteínas.

# Mecanismo de fixação do formol

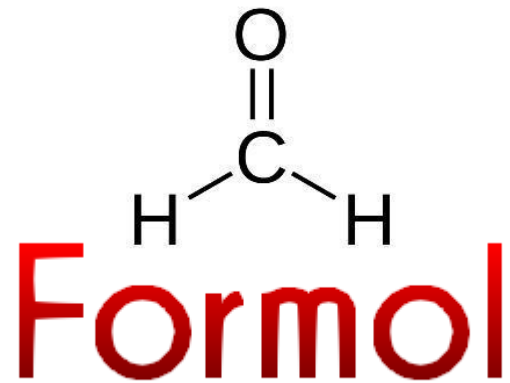
aminoácido



aminoácido



Pontes de metileno



(aldeído)

# Requisitos para uma boa fixação

- 1 – intervalo mínimo entre a coleta do material e a fixação;**
- 2 – Contato de todas as superfícies do líquido com o fixador;**
- 3 – Grande volume do líquido fixador (20 X).**
- 4 – Peças com espessura mínima de 1 mm e máxima de 6 mm;**
- 5 – Tipo de fixador.**

# Solução de Bouin

Formol .....100 ml

Água destilada.....300 ml

Ácido acético glacial.....20 ml

Ácido pícrico.....à saturação

## Bouin alcoólico

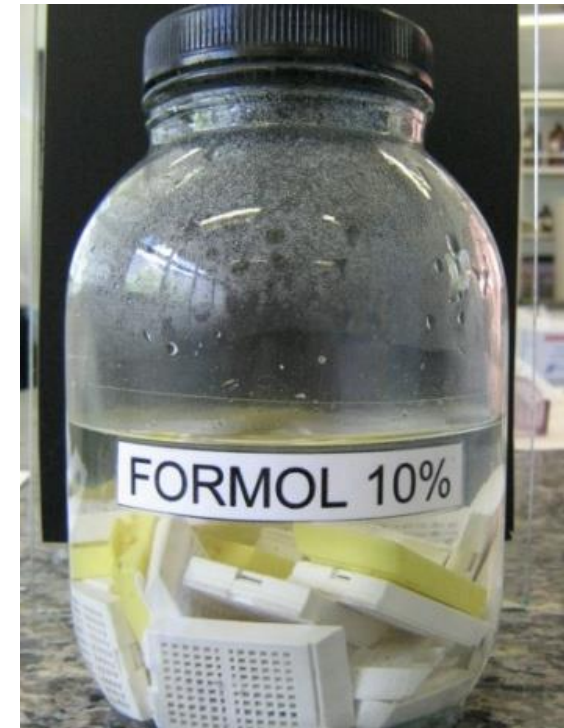
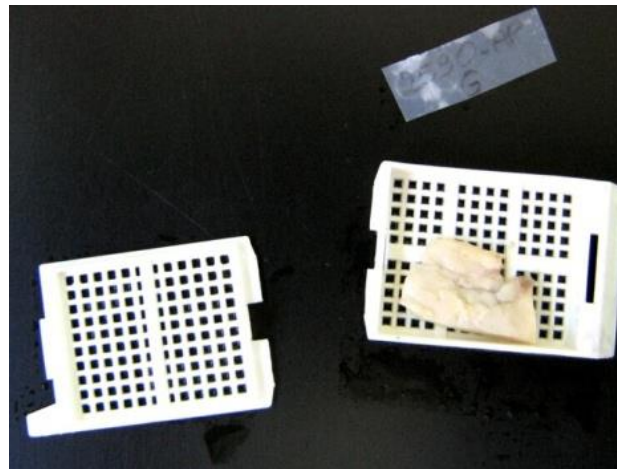
(Solução de Duboscq-Brasil)

**Outros fixadores:**

Etanol acético

Soluções de Carnoy, Gendre, Zenker, Helly

# Acondicionamento das amostras



# **Tempo de fixação**

**Formol: 24 horas /48 horas**

# Tecidos mineralizados

## Descalcificadores

Ácido fórmico 8 a 10%

EDTA 7 a 10%

Tamponado



**Osso**

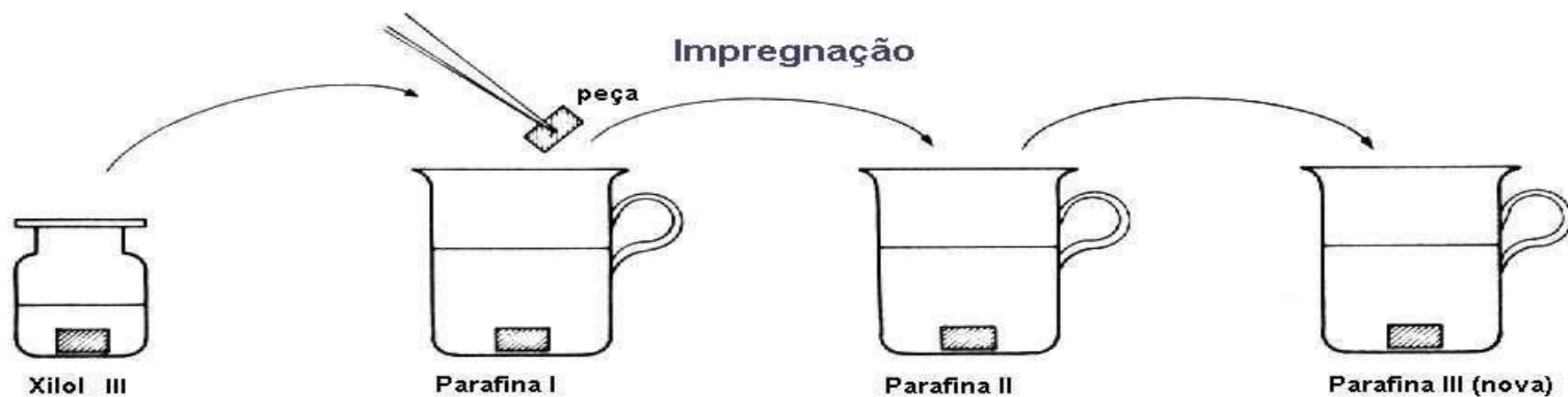
### Desidratação



### Diafanização

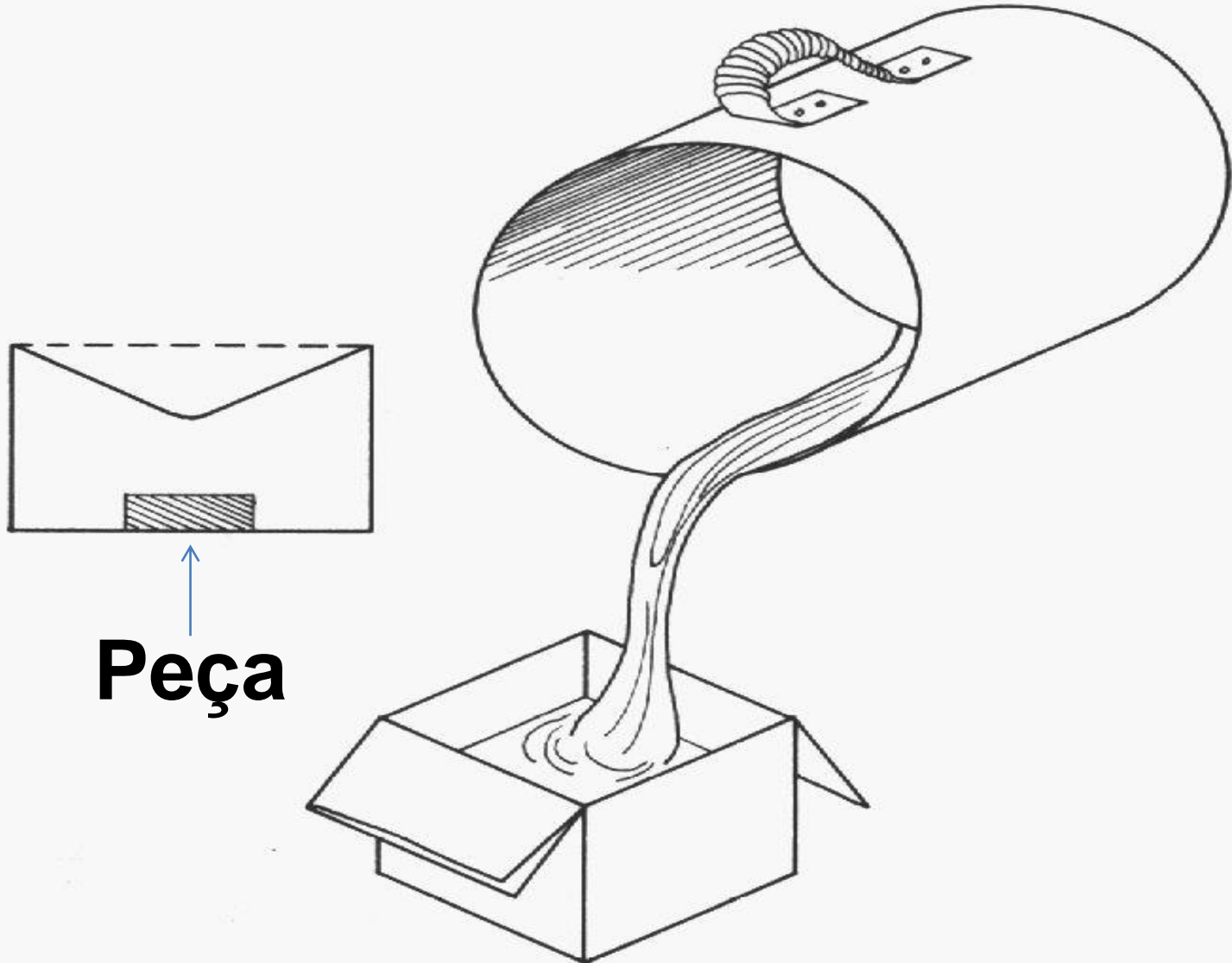


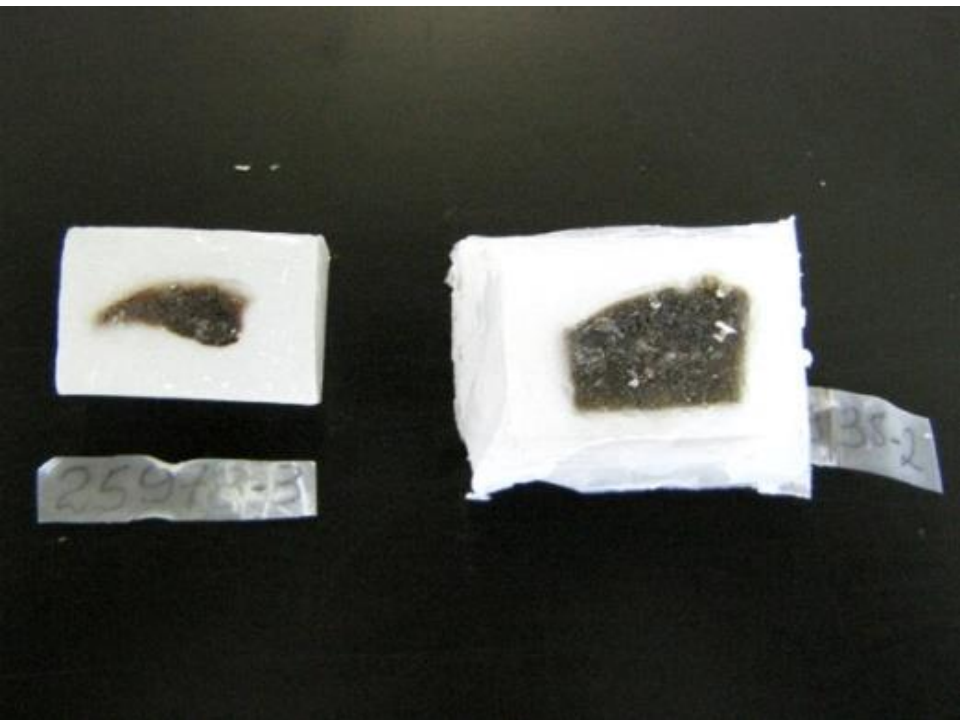
### Impregnação



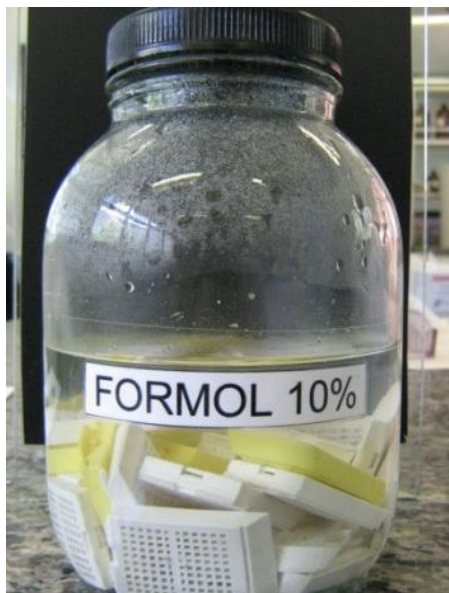


# Inclusão em parafina



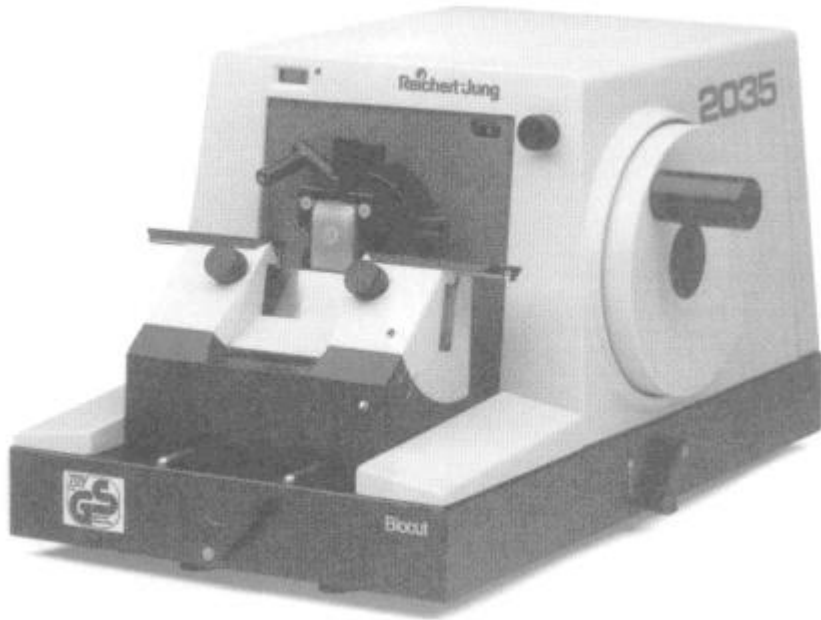


# Processamento automatizado: Aparelho histotécnico

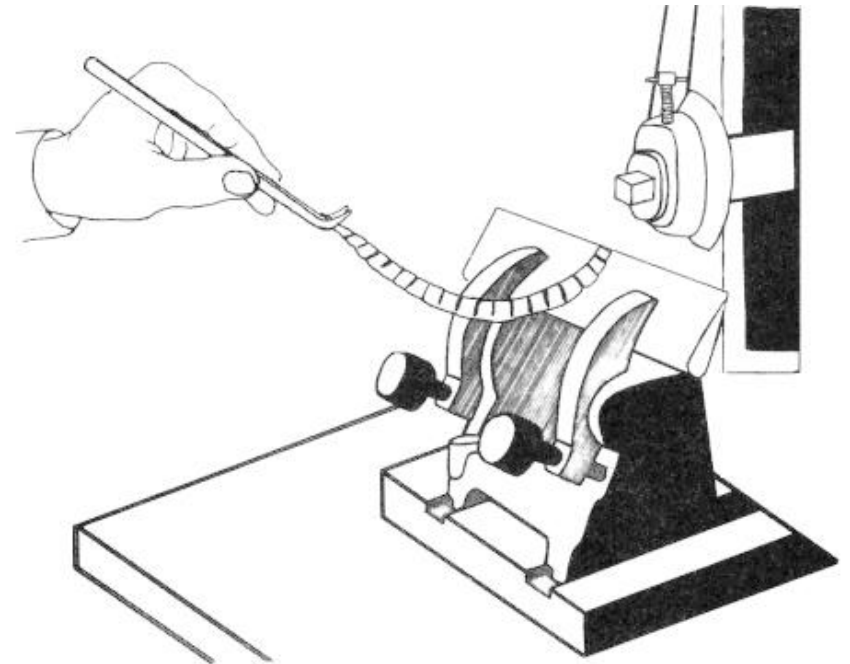




# Microtomia

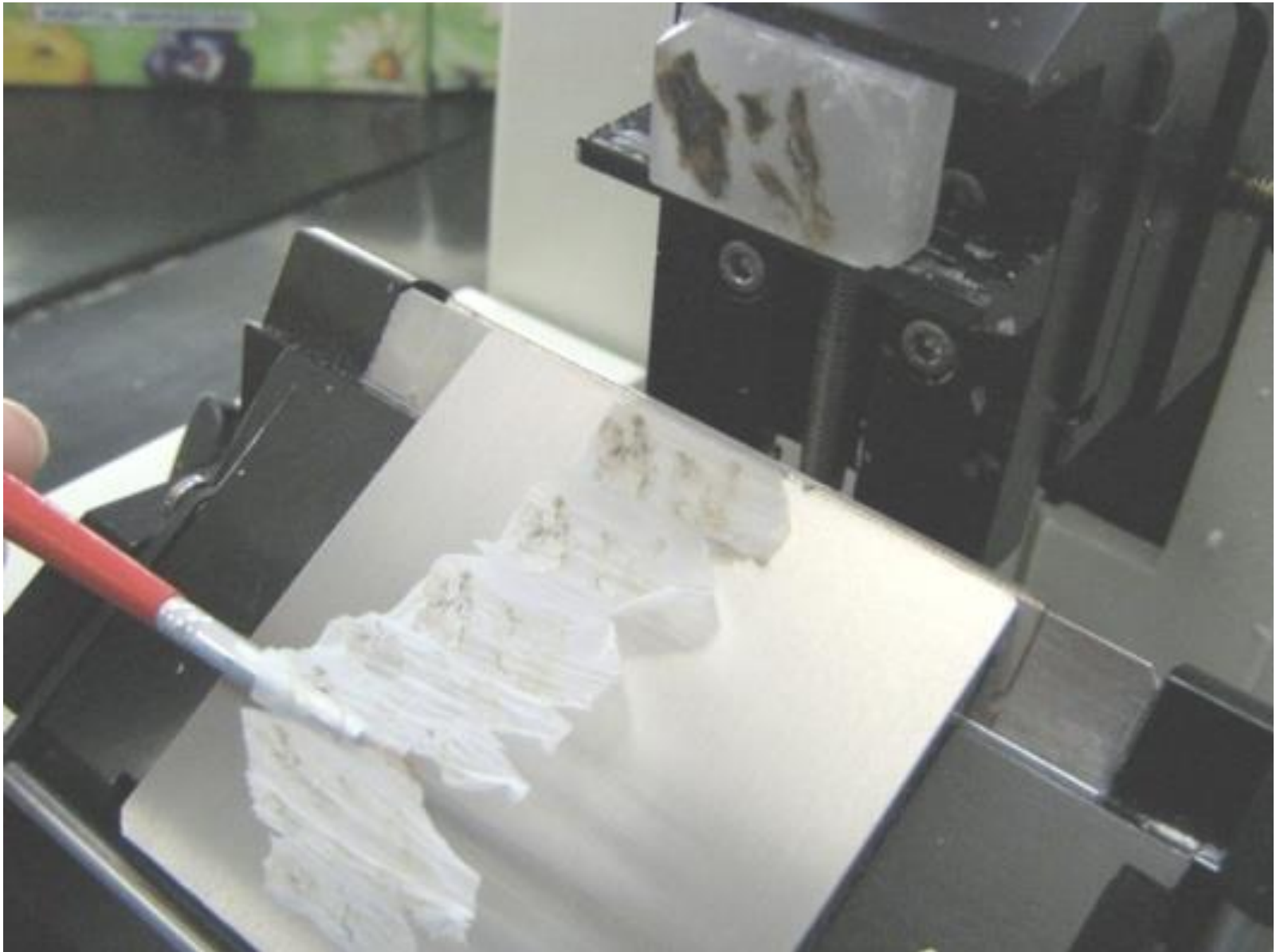


Junqueira e Carneiro, (1995)

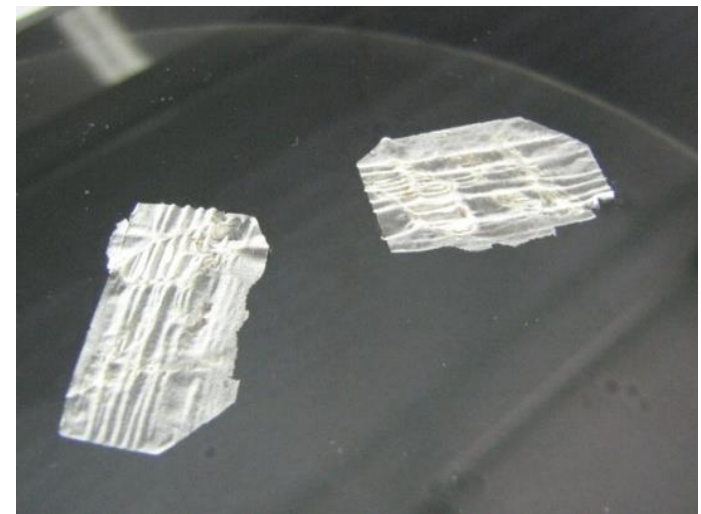
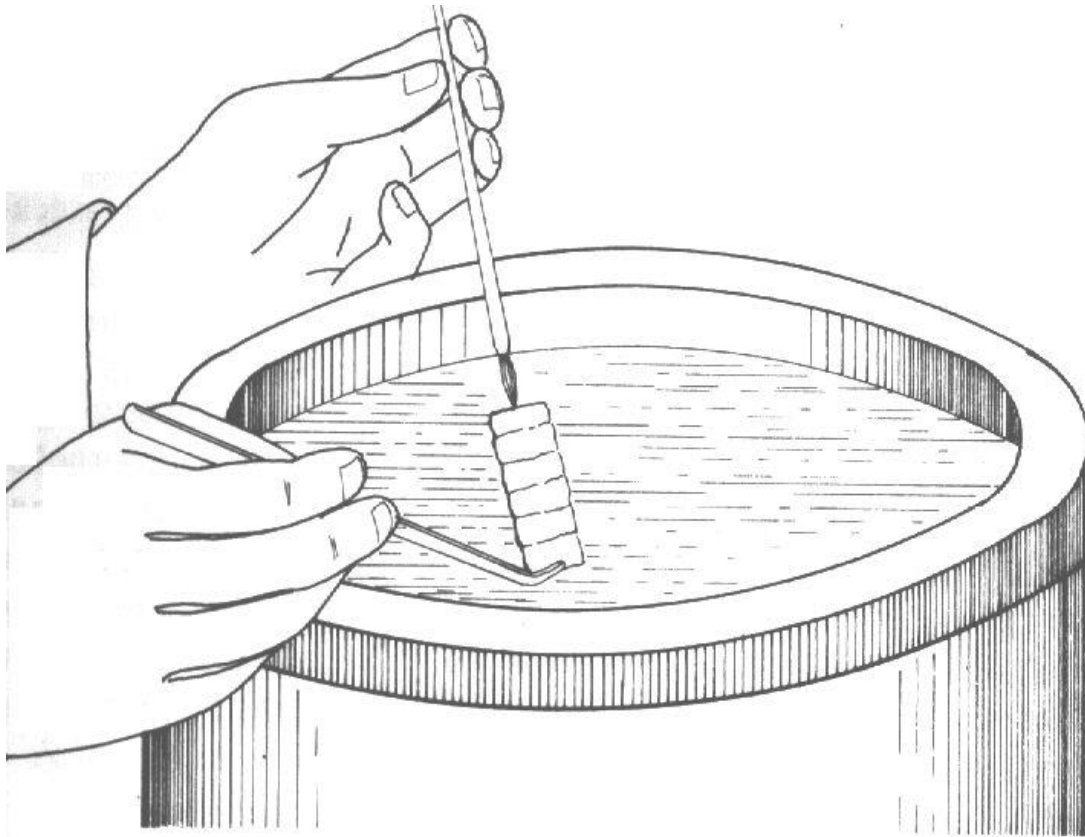


Espessura de corte: de 4 a 6  $\mu\text{m}$

# Microtomy



# Extensão e estiramento dos cortes em banho-maria



# Pesca dos cortes



**Estufa 60° C**

**Secagem – 1 a 2 horas**



**Albumina**

**Melhor adesão dos cortes**

**Para histologia**



# Coloração com hematoxilina e eosina



Mais antiga coloração combinada e a mais difundida em todos os laboratórios

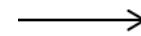
# Coloração pela Hematoxilina e eosina (HE)

## Hematoxilina (H)

Corante básico; cora estruturas ácidas (DNA, RNA)

estruturas basófilas

Coloração

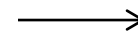


## Eosina (E)

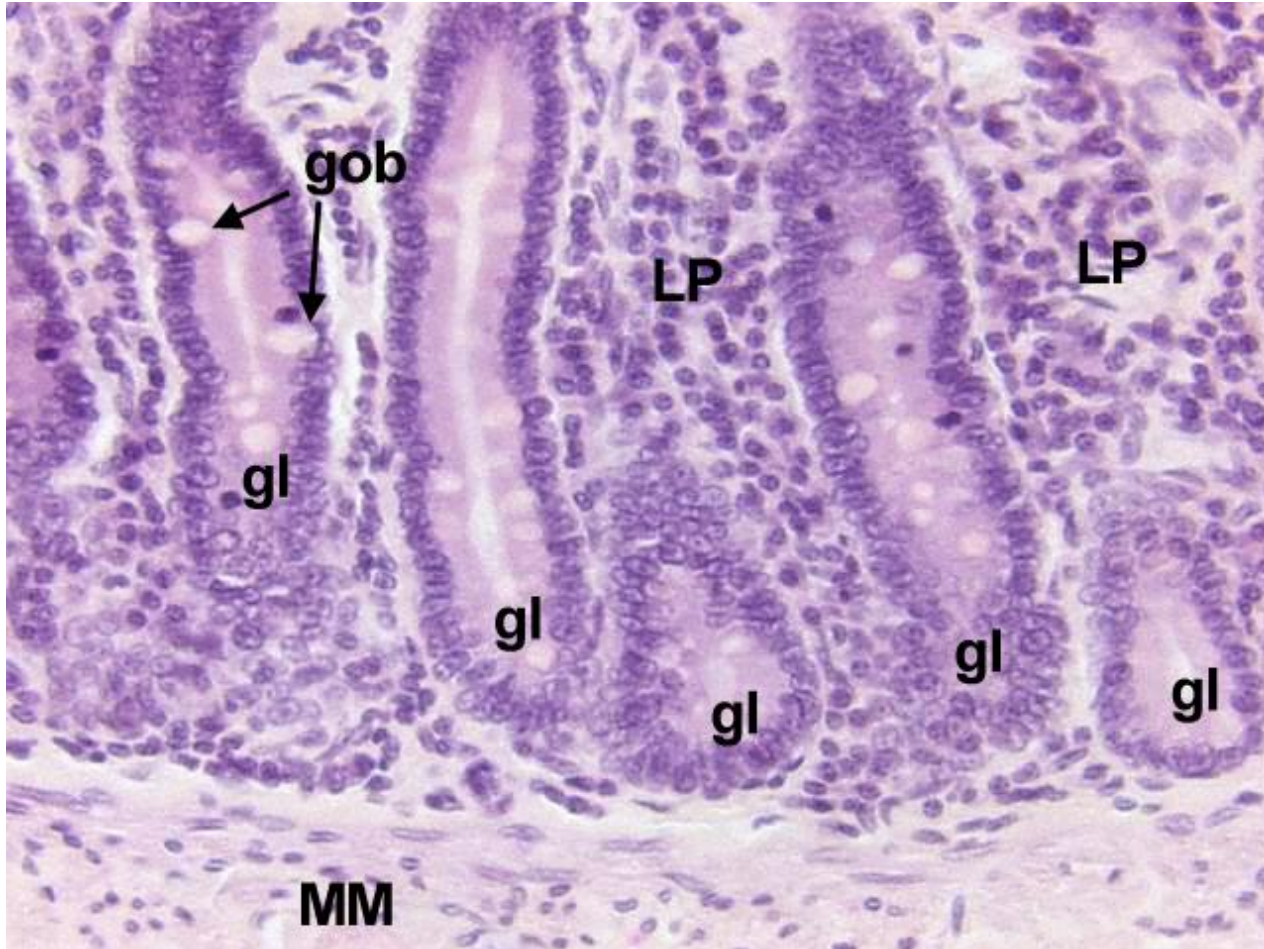
Corante ácido; cora estruturas básicas (citoplasma, componentes extracelulares)

estruturas eosinofílicas

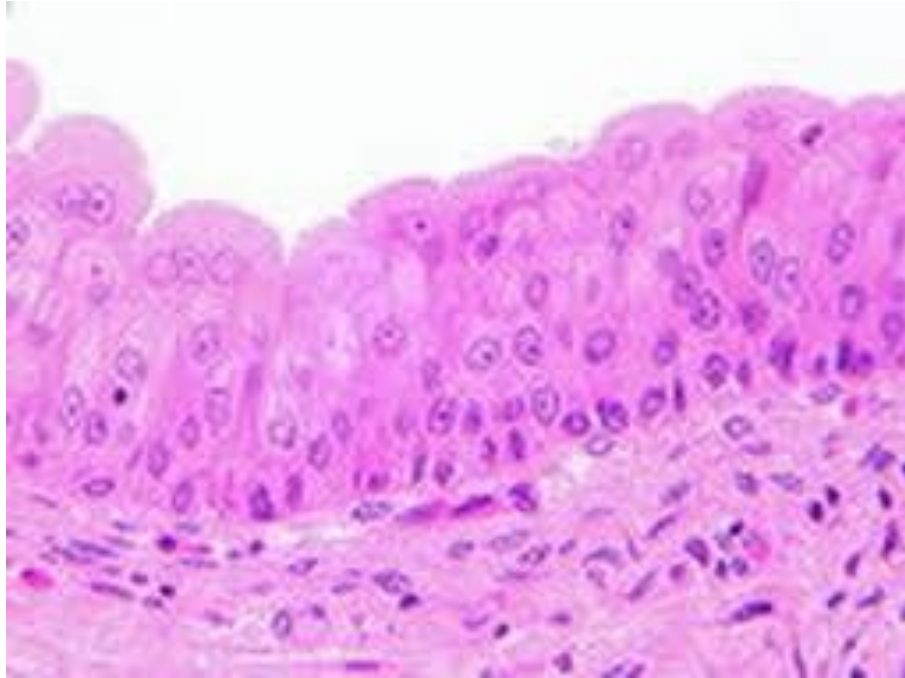
Coloração



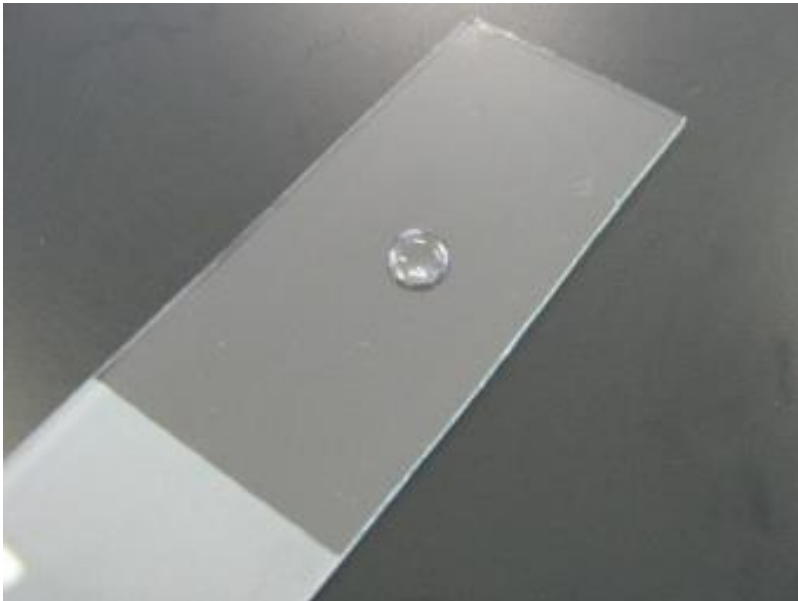
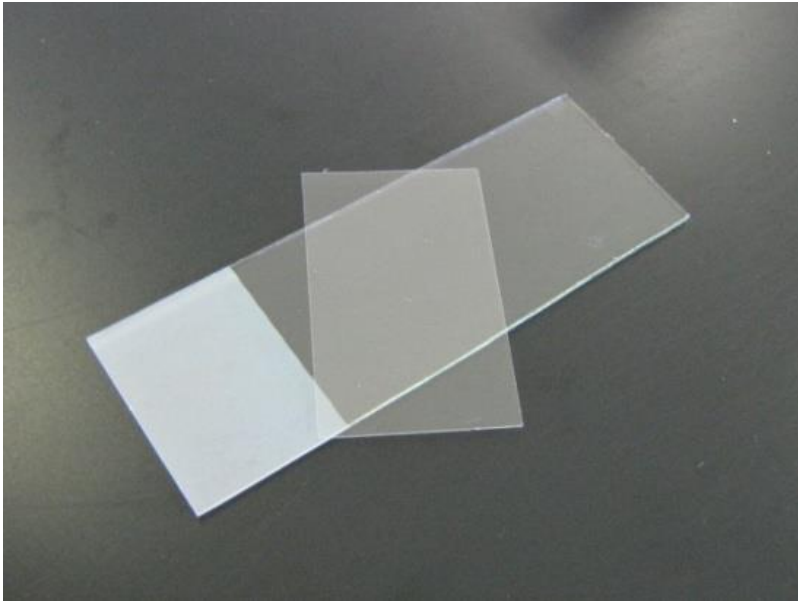
# Hematoxilina (H)

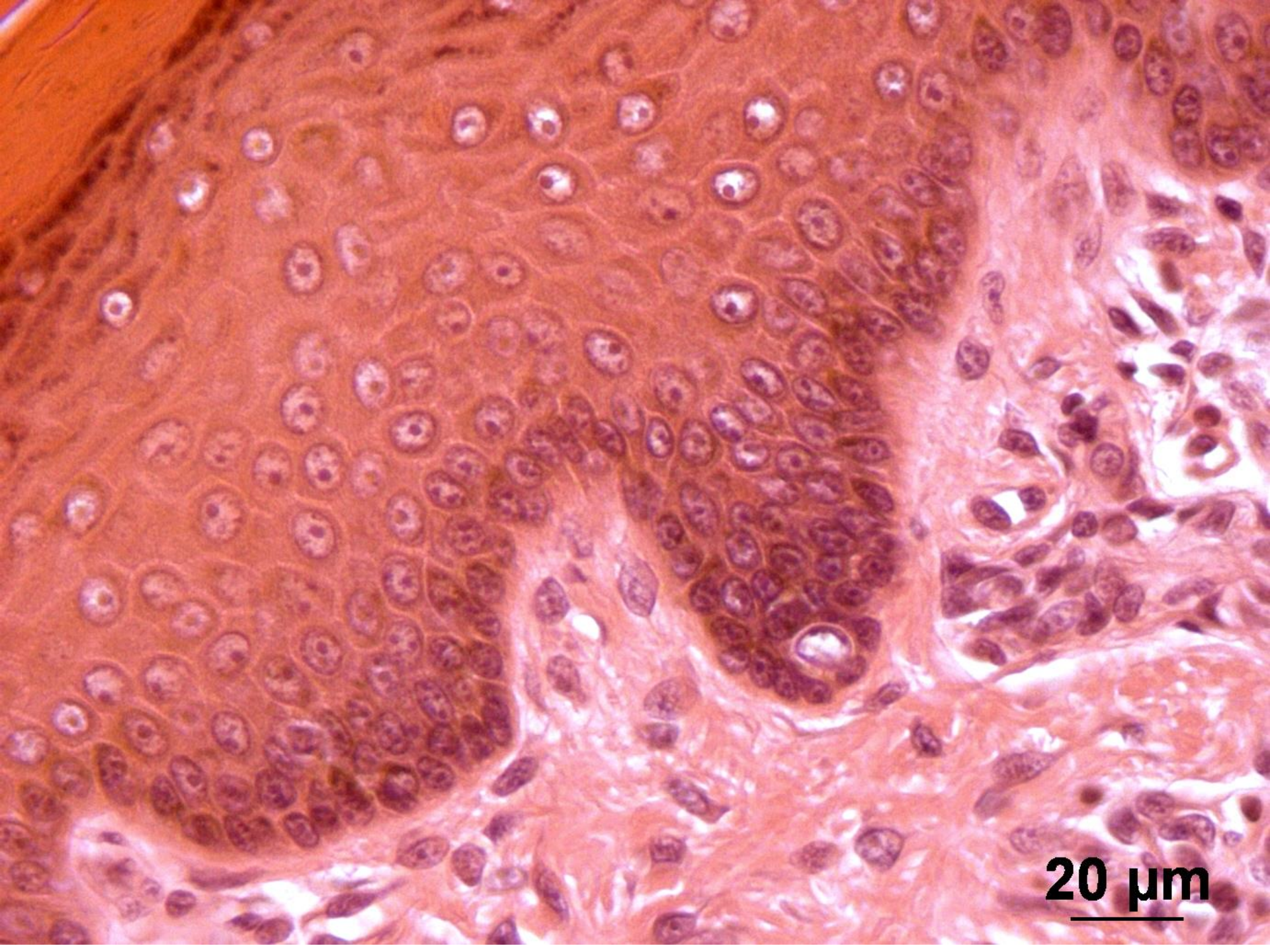


# Eosina (E)



# Montagem da lâmina



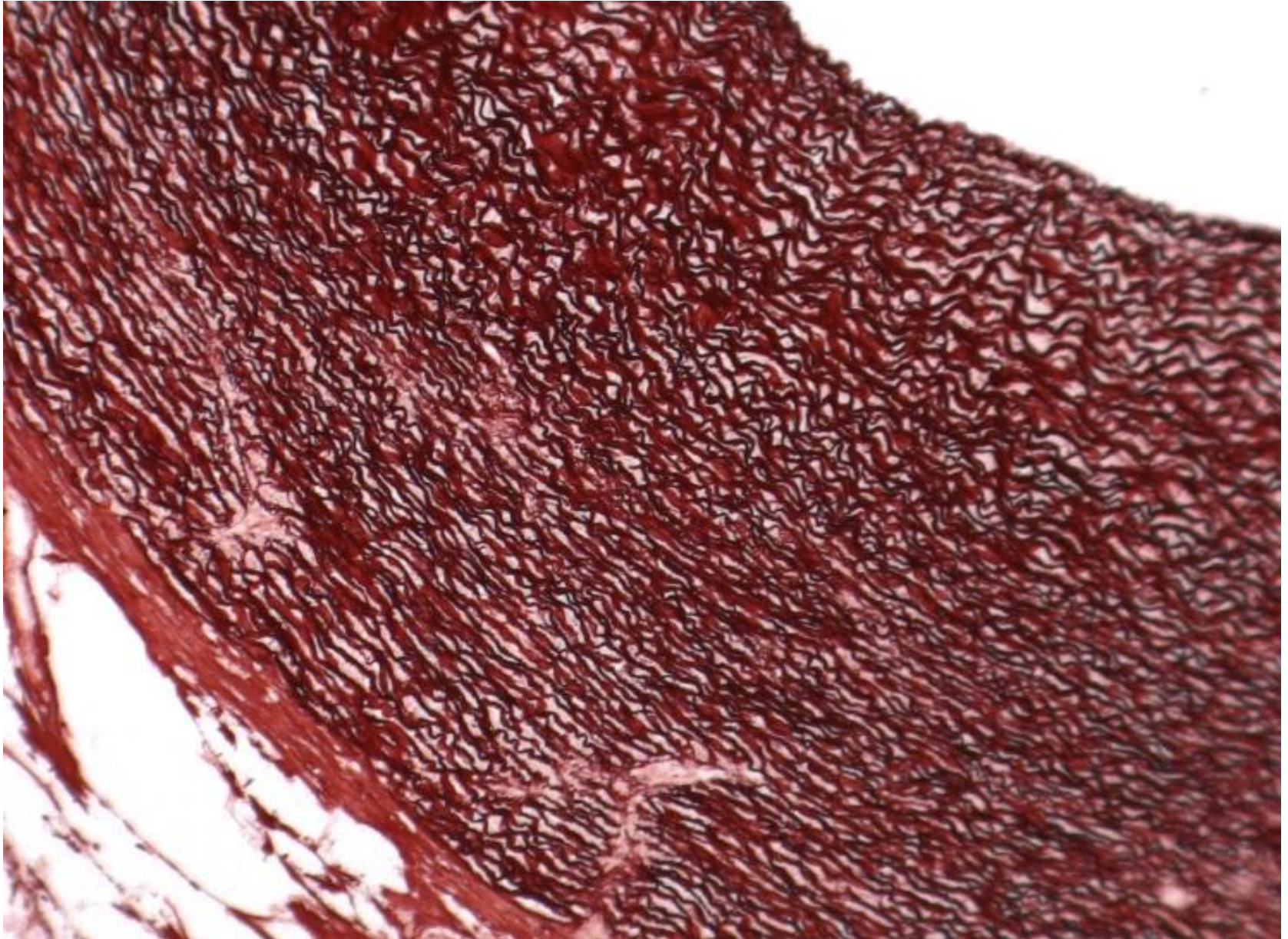


**20 μm**

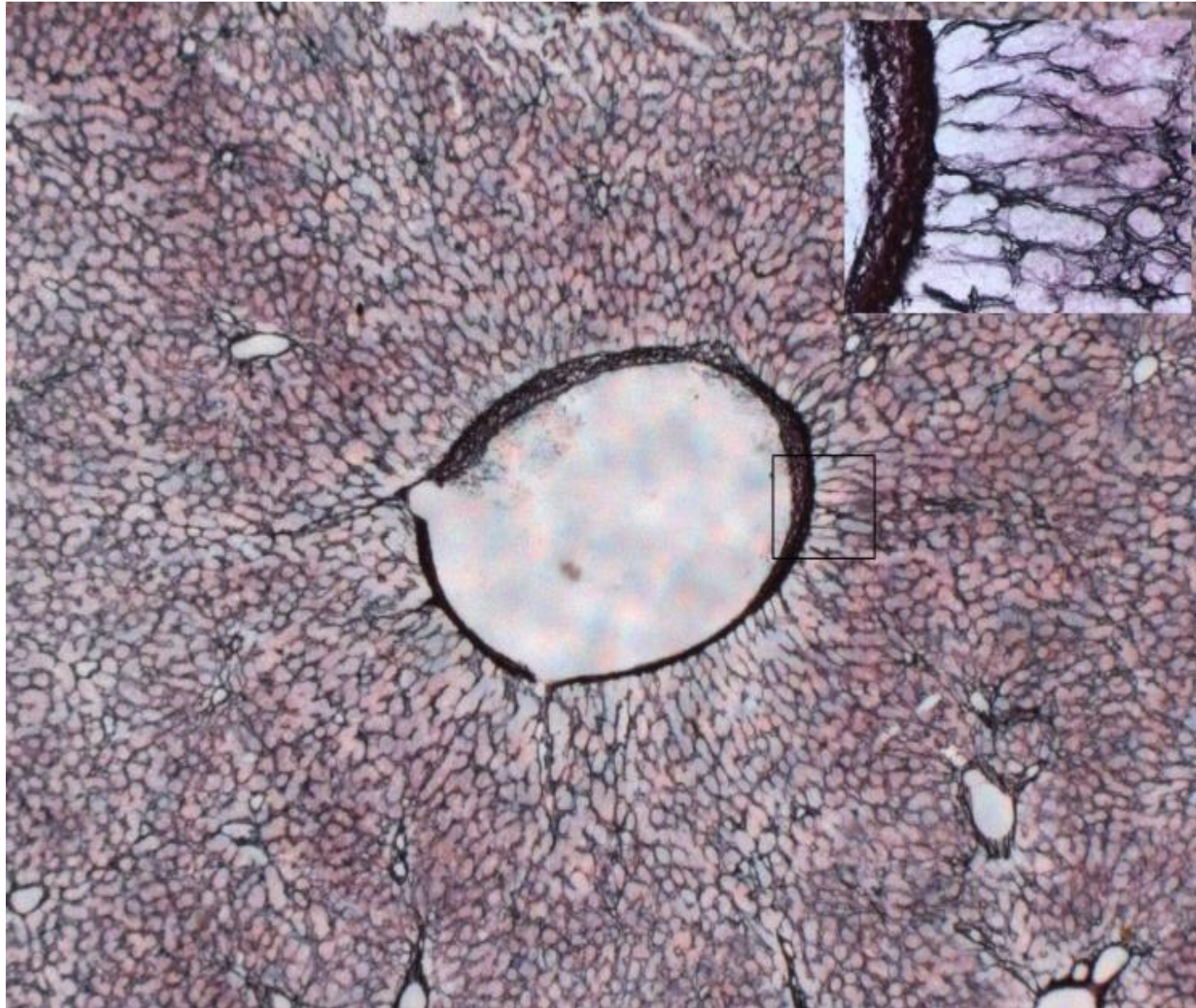
- Outros métodos de coloração
- Tricrômio
- Reticulina

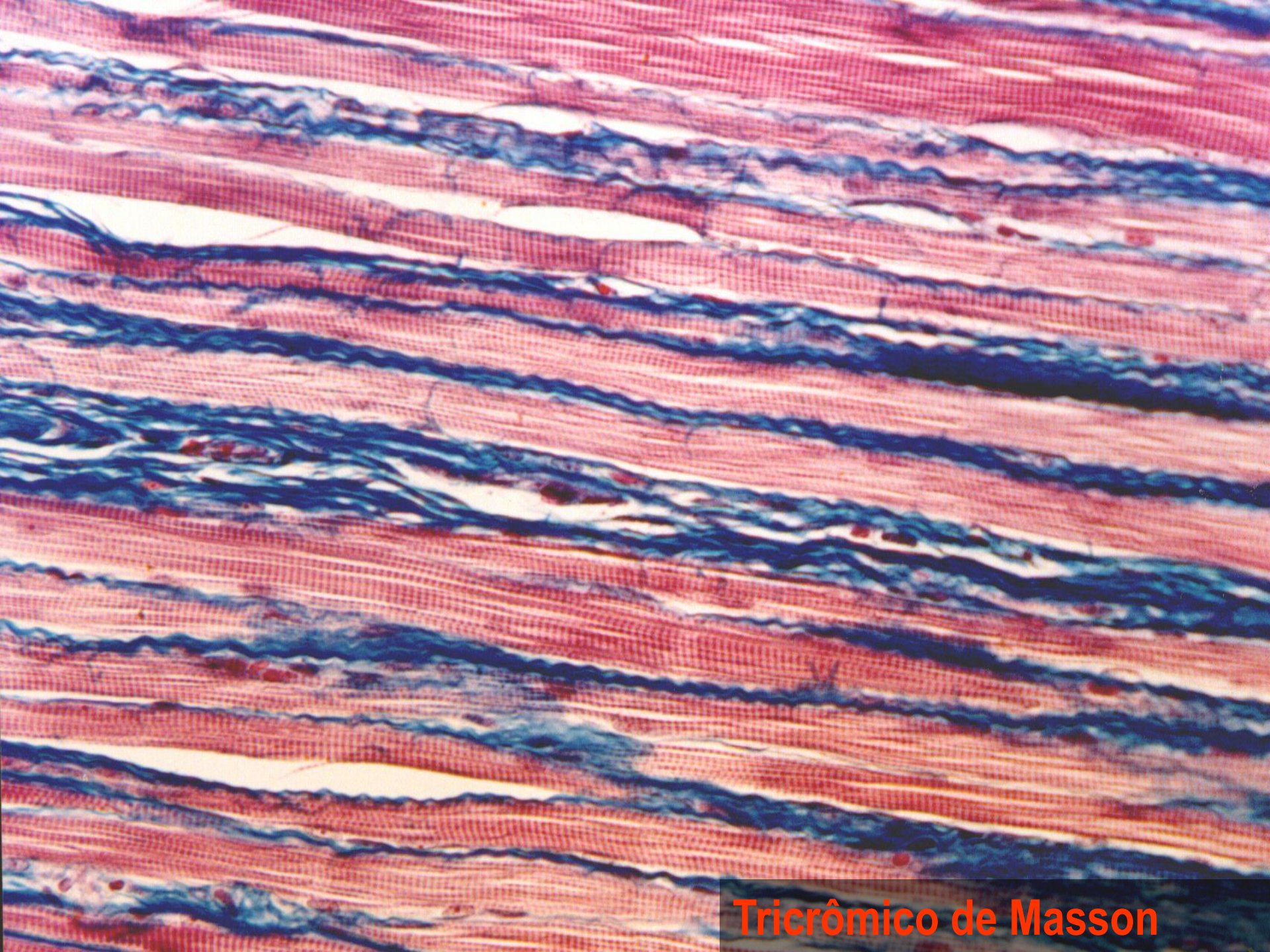


## Aorta: orceína (fibras elásticas)



# Impregnação pela prata: fibras reticulares





**Tricrômico de Masson**

# **Vários componentes são perdidos durante o processamento histológico de rotina**

- **Lipídios**
- **Glicogênio**
- **Proteoglicanos e GAGs**
- **Alternativa: fixadores não aquosos – álcool; Bouin alcoólico**
- **Não incluir em parafina**

# Cortes em congelação no criostato



Método de identificação

**Sudan Black**

**Congo Red**

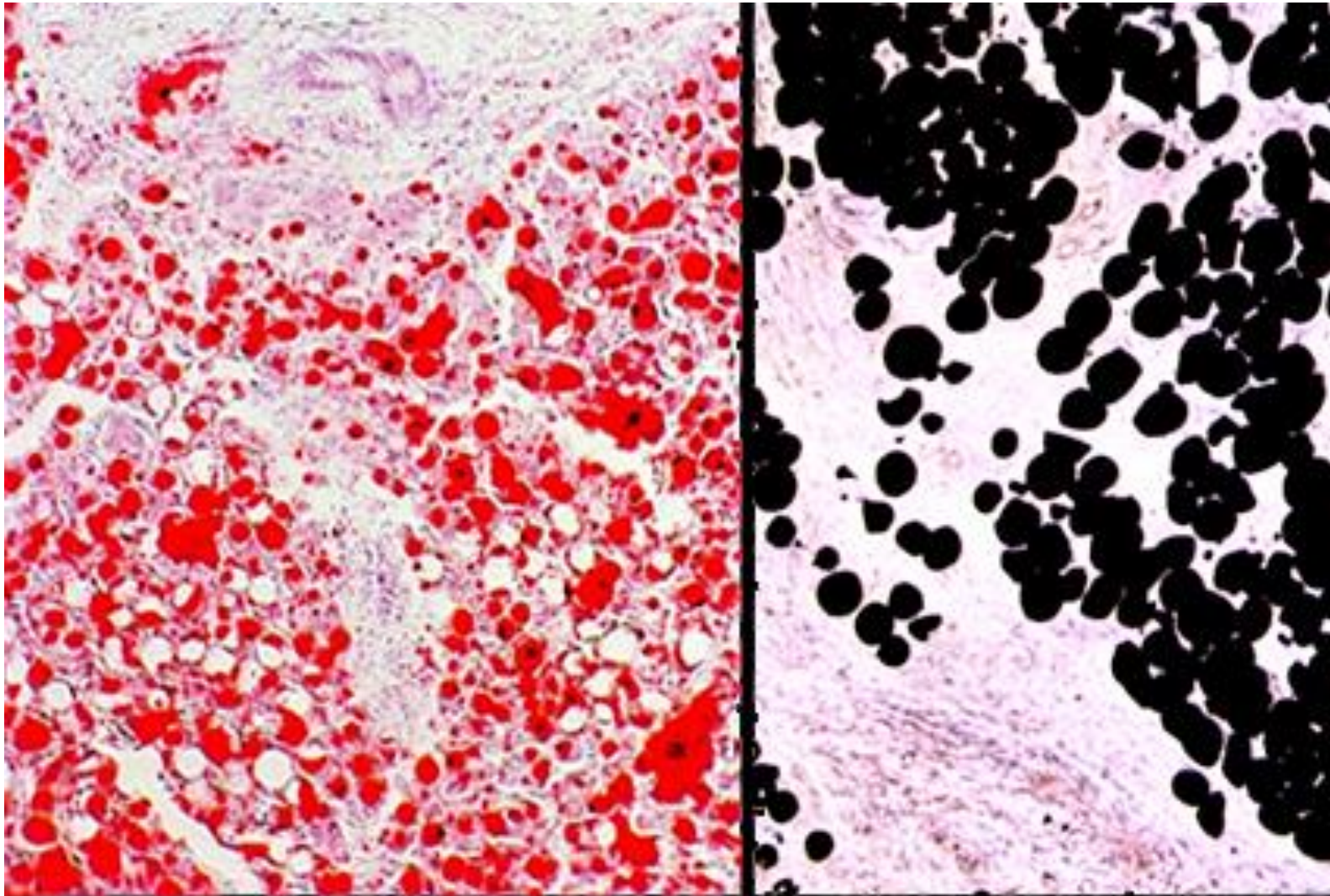
**Oil red O**

**Sulfato de azul do nilo**

**Tetróxido de ósmio**

**Monta-se a lâmina em glicerina**

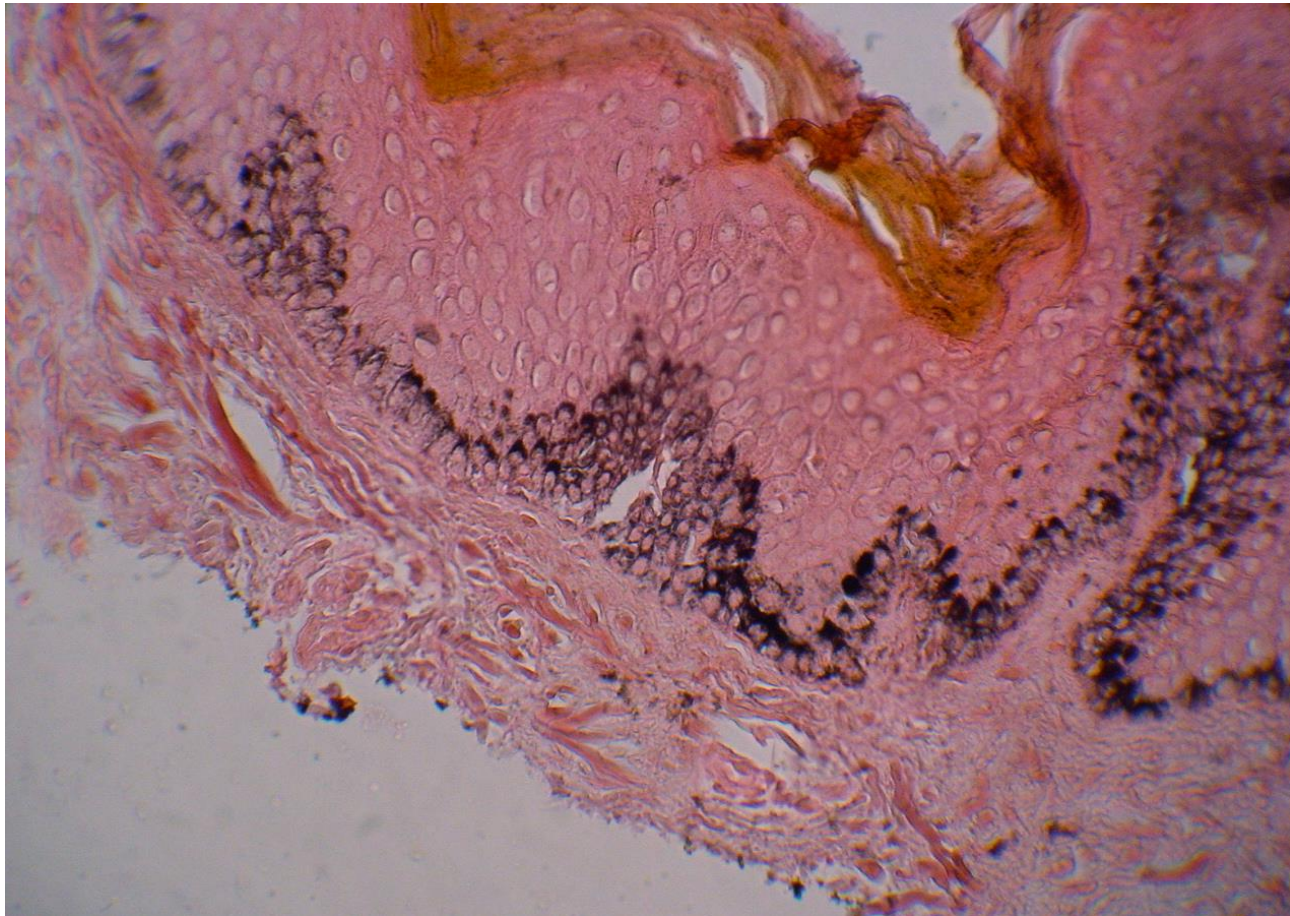
# Lipídios em cortes por congelação no criostato



**Appearance of lipids in light microscopy: left, Oil Red O; right, Sudan Black IV. These are stained frozen sections.**

# Imuno-Histoquímica

- Identifica por intermédio de anticorpos algumas proteínas próprias daquele tecido



# Microscopia eletrônica

