

NOÇÕES BÁSICAS DE TÉCNICAS HISTOLÓGICAS

Ms. Adriana de Andrade Murashima

HISTÓRICO

- Histologia foi usado pela primeira vez em 1819 por Mayer que utilizou o termo “**tecido**”.

Mayer : histos = tecido e logos = estudo

- Dr. Xavier Bichat (anatomista francês) instituiu, muito tempo antes (1771-1802), para descrever macroscopicamente as diferentes camadas encontradas por ele no corpo animal.

HISTÓRICO

Bichat: pai da histologia e patologia modernas.



Xavier Bichat ¹

Apesar do fato dele ter trabalhado **sem um microscópio**, foi capaz de fazer avançar significativamente a compreensão do corpo humano, examinou 600 corpos e 21 tecidos humanos.

As doenças atacavam os tecidos em vez de todo o órgão.



OBJETIVOS

Ao final espero que compreendam:

- As necessidades específicas de cada experimento determina a escolha do processamento;
- As etapas do processamento histológico de um material biológico;
- O reconhecimento de etapas fundamentais em todo o processamento da amostra, visando atingir a melhor qualidade da amostra.

Preparação do tecido para estudo

Obtenção da amostra

Fixação

- Descalcificação
- Blocos Parafina
- Congelamento

Microtomia

- Colorações de rotina
- Imunoistoquímica

Microscopia

Processo de Fixação

Fixação Química

- ▶ Interrompe o metabolismo celular (evitar autólise).
- ▶ Estabiliza as estruturas e os componentes bioquímicos intra e extracelulares.
- ▶ Preserva e conserva os elementos teciduais.
- ▶ Permitir boa adesão dos corantes histológicos.
- ▶ Evitar danos extrínsecos (microorganismos).
- ▶ Permitir a penetração de outras substâncias subseqüentes à fixação.

Fixadores mais utilizados no processo histológico

- ❖ Formol 10% (formalina)
- ❖ Formaldeído a 4%



Tamponados em tampão fosfato 0,1 M pH = 7,4 para manter o equilíbrio osmótico e pH fisiológico

Tempo de fixação?



variável em função do tecido e dos objetivos a serem pesquisados



ESCOLHA DO FIXADOR

- Métodos de coloração
- Propriedade antigênica do elemento tecidual.
- Adequação do tipo de fixador com as propriedades bioquímicas de vários tipos de tecidos.



PONTOS IMPORTANTES

- ▶ Relação volume do fixador X tamanho da amostra: o volume deve ser 10x o tamanho da amostra.
- ▶ Os fragmentos devem possuir preferencialmente 3 mm de espessura, pois geralmente os fixadores não penetram mais do que isto em tempo hábil de evitar a autólise.

FIXAÇÃO

Fixação Física

- ▶ Atua impedindo a progressão da autólise e endurecendo o tecido.
- ▶ Evita difusão de solutos, deformação osmótica, e alteração bioquímica.

PROCESSO DE DESIDRATAÇÃO

- Retirar a água do material biológico
- Substâncias desidratantes
- Substância desidratante mais utilizada é o **álcool**
 - utilizado em concentrações crescentes (50%, 70%, 80%, 90%, 95%, Absoluto 1, Absoluto 2 e Absoluto 3.

DIAFANIZAÇÃO (clarificação)

Consiste na infiltração do tecido por um solvente da parafina que seja ao mesmo tempo desalcoolizante

Agentes diafanizadores



O xilol é o agente mais utilizado tornando o tecido semi-translúcido (quase transparente) servindo como um facilitador para a impregnação da parafina.

INCLUSÃO



Confecção de bloco de parafina e inclusão de material em parafina 60° ¹

Os tecidos são incluídos de maneira orientada, posicionados de acordo com os objetivos a serem analisados e posteriormente os blocos de parafina são conduzidos à microtomia.

1. Fonte: Disponível em: http://www.labmedpatologia.com.br/serv_blocos.htm Acesso em: 20/03/2021



Microtomia

- ▶ Obtenção de secções histológicas.
- ▶ A espessura do corte é muito importante par a penetração de corantes e de anticorpos, resolução de organelas.

Micrótomo para material incluído em parafina



Micrótomo

Micrótomo para material congelado - Criostato



Criostato

Adesão da secção à lâmina é um ponto importante

Substâncias para adesão



- ▶ Albumina de Mayer
- ▶ Gelatina
- ▶ Poli-Lisina
- ▶ Silano



Lâmina de vidro com corte histológico

Como é feita?



As secções são dispostas sobre a lâmina de vidro que contém uma camada de água destilada e em seguida colocada em uma platina aquecida a 42°C para que ocorra a distensão do corte.



Conclusão

- Inclusão em parafina: a preservação tecidual e os cortes são permanentes devido à fixação química, solventes orgânicos e a exposição a temperatura de 60°C na parafina.
- Congelamento: método rápido de se obter resultados. Sua fixação é realizada em baixas temperaturas e podem ser precedida ou não de fixação química.
- Ambas tem suas vantagens e desvantagens. Deverá ser escolhido o método que atinja os melhores objetivos.



RESUMO



Fixação Química

- Descalcificação
- Desidratação
- Diafanização (Impregnação)
- Impregnação –Infiltração
- Inclusão
- Microtomia
- Coloração
- Montagem

Fixação Física

- Inclusão
- Microtomia
- Coloração
- Montagem

Referências

- JUNQUEIRA, Luiz C. & CARNEIRO, José. Histologia Básica. 9ª Edição. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan S.A., 1999. ISBN 85-277-0516-8.
- <https://www.youtube.com/watch?v=RlyTg64AT9E>Técnicas histológicas – Fiocruz Acesso em: 17/03/2021
- <https://www.lifeder.com/xavier-bichat/>Acesso em: 20/03/2021
- http://www.labmedpatologia.com.br/serv_blocos.htm Acesso em: 20/03/2021