

UNIFEOB
CENTRO UNIVERSITÁRIO DA FUNDAÇÃO DE ENSINO
OCTÁVIO BASTOS

ESCOLA DO BEM-ESTAR
BIOMEDICINA E CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MICROSCOPIA E HISTOTÉCNICAS

SÃO JOÃO DA BOA VISTA, SP

2022

UNIFEOB
CENTRO UNIVERSITÁRIO DA FUNDAÇÃO DE ENSINO
OCTÁVIO BASTOS

ESCOLA DO BEM-ESTAR
BIOMEDICINA E CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MICROSCOPIA E HISTOTÉCNICAS

NOME DO MÓDULO

Cálculos aplicados aos Sistemas Biológicos – Carlos Alberto Colozzo De Souza

Química dos Sistemas Celulares – Odair José dos Santos

Biologia Celular – Cíntia Lima Rossi

Projeto Integrado – Ricardo Alexandre Rosa

Estudantes:

Ana Laura **MELLO DE OLIVEIRA**

Ana Livia **MULINA**

Annalisa **PASSONI**

Gabriele **STRACIERI**

Heloisa **NUNES FRIZO**

João Victor **CORRÊA**

Livia **CONCEIÇÃO DE MELLO SILVA**

Manuela **CABRERA DA SILVA**

Taynara **CARDOSO**

Victória **PINHEIRO CARVALHO SILVA**

SÃO JOÃO DA BOA VISTA, SP

2022

MICROSCOPIA E HISTOTÉCNICAS

Ana Laura **MELLO DE OLIVEIRA**¹; Ana Livia **MULINA**¹; Annalisa **PASSONI**¹; Gabriele **STRACIERI**¹; Heloisa **NUNES FRIZO**¹; João Victor **CORRÊA**¹; Livia **CONCEIÇÃO DE MELLO SILVA**¹; Manuela **CABRERA DA SILVA**¹; Taynara **CARDOSO**¹; Victória **PINHEIRO CARVALHO SILVA**¹;

¹ Discente do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos

Amilton Cesar **DOS SANTOS**²; Carlos A. C. **SOUZA**²; CÍNTIA L. **ROSSI**²; Odair **SANTOS**²; Ricardo A. **ROSA**²;

² Docente do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos

Curso de Biomedicina Bacharelado
UNIFEOB

1-INTRODUÇÃO

Vemos que a histologia estuda as células e o material extracelular que constituem os tecidos do corpo, inicialmente a Histologia estava cerceada pela limitada capacidade do microscópio óptico mais com o tempo foram surgindo microscópio eletrônicos que ampliavam consideravelmente o campo de estudo da histologia. Por tanto este trabalho pretende demonstrar a utilização das técnicas histológicas para análise microscópica. Podemos observar que o mais utilizado para essa análise é o microscópio óptico que deixa a estrutura da amostra mais ampliada para melhor observação, para esse processo é preciso fazer a coleta de uma amostra do tecido de tal organismo, que pode ser retirado após o falecimento do “doador “ que é chamado de necropsia, ou durante uma biópsia. Para evitar a proliferação e impedir a autólise de microorganismo, preservando a sua morfologia real, oferecendo uma resistência maior para as próximas etapas, logo em seguida realizamos a clivagem que consiste em um processo de diminuição das dimensões dos fragmentos presentes na amostra coletada. Vale ressaltar que as microscopias de uso comum abrangem também a microscopia de contraste de fase, a microscopia confocal, e a microscopia eletrônica de transmissão e de varredura, Nota-se, assim, que a histologia, juntamente com suas técnicas de estudo, proporciona a identificação, a caracterização, a análise e a descrição das estruturas dos inúmeros tecidos e órgãos constituintes do organismo animal, resultando também em um diagnóstico, por meio de estudos comparativos de tecidos patológicos e saudáveis.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Materiais e Métodos

Para realizarmos essas análises utilizamos: pinça, pincel, lâmina, navalha, micrótomo, bandeja de madeira, cola de selagem, xilol, álcool, parafina.

Para conseguir observar qualquer tipo de tecidos e órgãos no microscópio é necessário que tenha um processo de preparação, esses cortes são feitos com um instrumento chamado MICRÓTOMO, afim de evitar a destruição das células por suas próprias enzimas, o tecido removido deve ser tratado imediatamente, esse tratamento é denominado FIXAÇÃO, a principal função dos fixadores é insolubilizar as proteínas dos tecidos, esse processo é essencial na fixação, pois as proteínas são as principais responsáveis pela estrutura das células e tecidos, utilizando assim rotineiramente a fixação dupla, ambas tamponadas, para melhor obtenção dos cortes a serem estudados no microscópio, os tecidos pela passagem dos mesmos em banhos de concentrações crescentes de etanol geralmente são de 70% até etanol puro (100%). Os tecidos embebidos nessas substância tornam-se translúcidos por isso o nome clareamento ou diafanização assim então mergulham-se os tecidos em resinas plásticas a temperatura ambiente ou parafina fundida numa estufa geralmente a 60 °C, conseqüentemente no calor o xilol ou benzol evaporam, assim os espaços anteriores que eram ocupados por eles se tornam ocupados pela parafina, deixando assim o tecido em um recipiente retangular contendo um pouco de parafina fundida deixando-se solidificar na temperatura ambiente assim formando um bloco de parafina com tecido no seu interior, assim os blocos de parafina contendo os tecidos influídos são seccionados, navalha aço do micrótomo Possuindo geralmente cortes de 6 a 8UM de espessura, além da inclusão em parafina recentemente se tem utilizado a inclusão em resina sintética para possibilitar a confecção de cortes mais finos, já na microscopia eletrônica é necessário cortes bem mais finos (com cerca de 0,02 a 0,1 um) Com os tecidos embebidos com resinas duras, e para corta-los utilizam navalhas de vidro ou diamante. Vemos que imersão dos tecidos em etanol, xilol ou benzol retira os lipídios ali presentes, quando se quer estudar evita-se o trabalho dos solventes, graças ao uso do micrótomo de congelação no qual o tecido é endurecido pela congelação permitindo assim o seu corte, que permite assim a obtenção mais rápida de cortes sem passar por todas as etapas ditas antes quando utilizado a parafina, o cristato é muito útil também na histoquímica porque o seu congelamento não inativas enzimas, não remove os lipídios e dificulta difusão de moléculas possibilitando o estudo dessas substâncias A maioria dos tecidos é incolor, o que causa a dificuldade de observar pelo microscópio. Como por exemplo azul de toluidina, azul de metileno (Corantes Básicos), orange G, eosina, fucsina ácida (Corantes Ácidos). Além dos corantes usa-se a impregnação metálica com sais de prata e ouro, utilizado em estudos do tecido nervoso. Logo após as lâminas são colocadas em uma cuba, e inicia-se a desparafinização, com dois banhos de xilol- Xilol I e Xilol II (10 minutos cada); Em seguida a hidratação, utilizando, Álcool absoluto I (1 min), Álcool absoluto II (1 min), Álcool 90% (1 min), Álcool 80% (1 min), Álcool 70% (1 min), Água destilada (1 min). A coloração é de suma importância para a visualização no microscópio de luz, seu processo é iniciado pelo corante hematoxilina(3 min), após levar a lâmina para a água corrente (10 min) e corar com eosina por 7 minutos, em seguida começa a desidratação é sua função retirar a água do tecido por meio de concentração de álcool crescentes. Álcool 70% (1 min), Álcool 80% (1 min), Álcool 95 (1min), Álcool absoluto I (3 min), Álcool absoluto II (3 min). Clarificação: usar o xilol para remover o álcool, e após realizar a montagem da lâmina, Xilol I e Xilol II (10 minutos), a selagem é a finalização de todo o processo, sua finalidade é cobrir o tecido com uma lamélula de

vidro, utilizando técnicas para fixar a lâmina a lamínula.

2.2 Resultados e Discussão

Imagem I- Tecido conjuntivo: Tecido de conexão, composto de grande quantidade de matriz extracelular, como células e fibras, tem como funcionalidade de fornecer sustentação e preencher espaços entre os tecidos além de nutri-los.



Imagem II- Tecido Adiposo: Armanamento de gordura, possuem um vacúolo central (que podem aumentar ou diminuir de acordo com o metabolismo do indivíduo).

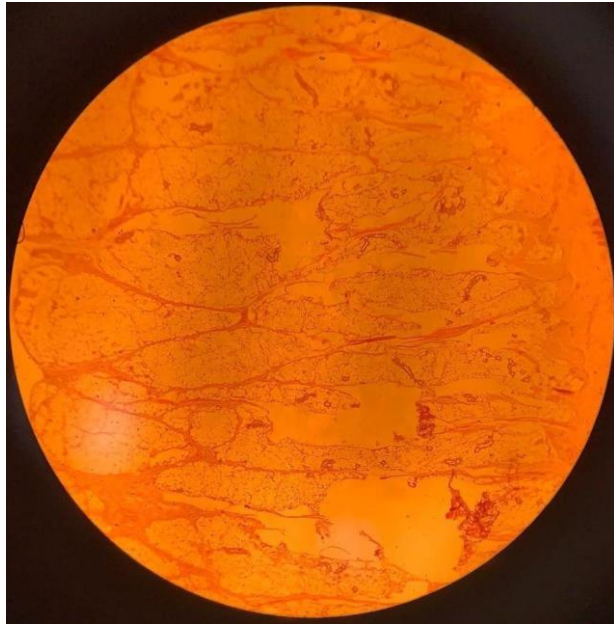
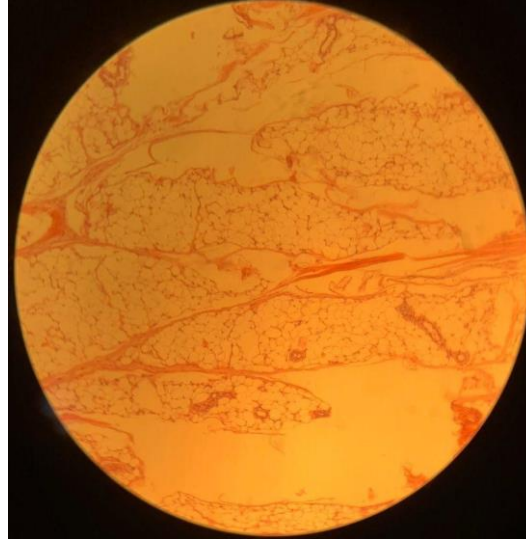


Imagem III- Hipoderme: camada mais profunda da pele é formada por lóbulos de adipócitos.



3 Importância da histoquímica

3.1 Metodologia

3 minutos hematoxilina vai pro H₂O, depois coloca um pouco de fucsina ácida e volta para a água no H₂O, ficando por 3 minutos, depois chacoalhar a lâmina e colocar 5 minutos na fucsina ácida, depois colocar novamente na água H₂O, depois colocar na solução fosfomobdico (10 minutos para selar o tecido, o ácido fosfomobdico prepara para receber o azul de anilina), depois da solução fosfomobdico ela vai para o azul de anilina (mortentifica o preparo) deixando por 10 minutos e depois colocar 3 minutos na água H₂O, logo em seguida colocar no ácido acético 3% por 3 minutos, depois colocar no álcool 95% por 2 minutos depois colocar no álcool 100% por 2 minutos, depois levar no xilol 1 por 5 minutos, depois levar novamente no xilol 2 por 5 minutos e por último levar no xilol 3 por 5 minutos (Xilol=solvente)

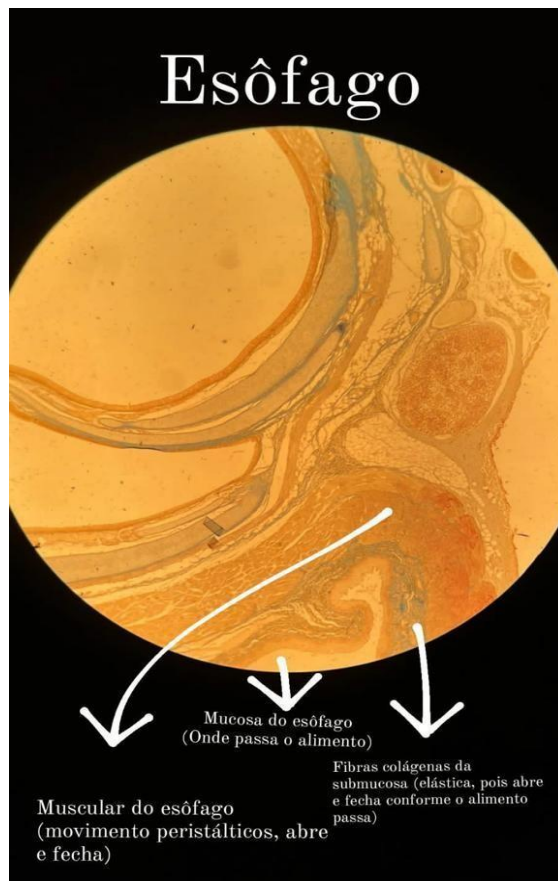
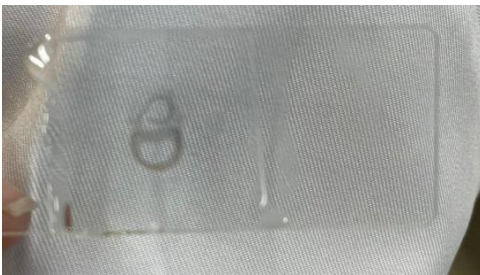
3.2 Tricromo e Resultados

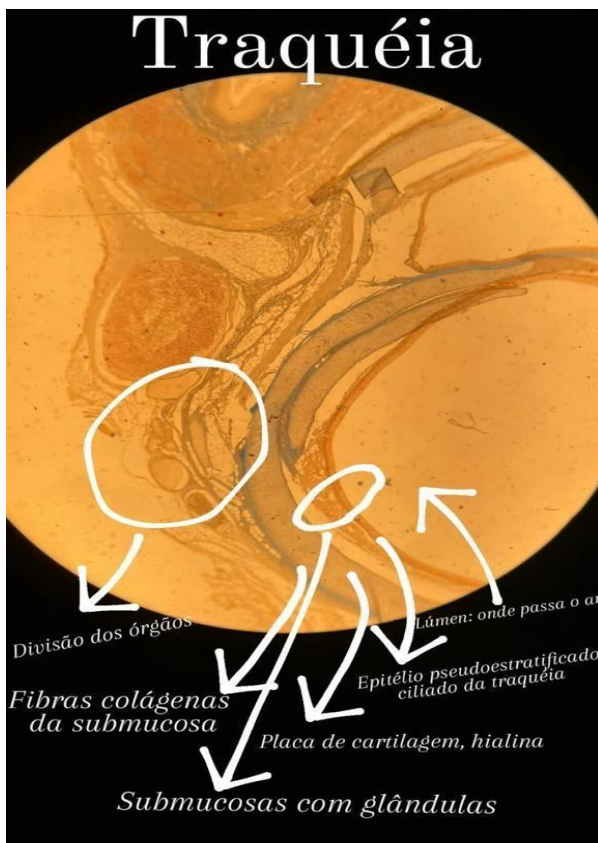
Para fazer a selagem utiliza-se uma cola especial chamada entellan pega a laminulas separada 24x24 (pois é um corte pequeno mais também tem lamínula 32x50, 32x50) passar um pano na laminula para limpar, pegar a lâminula e colocar no suporte de madeira pega uma pipeta de paster colocar uma gota da cola entellan no centro tirando todas as bolhas pega a lâmina da uma leve secada ao redor do tecido coloca uma gota de xilol em cima do tecido coloca a lâmina em pequena angulacao preenchendo todo o espaço sem bolha olhar no microscópio para conferir se não ficou nenhuma bolha.

● Traqueia



● Esôfago





CONCLUSÃO

Assim observamos os resultados obtidos com esse trabalho, que foram essas duas lâminas uma de esôfago e outra da traqueia com resultados nítidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAMSOHN, P. **Histologia**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/>>

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica** – texto e atlas. 13ª edição. Rio de Janeiro - RJ: Guanabara Koogan, 2017. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/>>