

Métodos de estudos

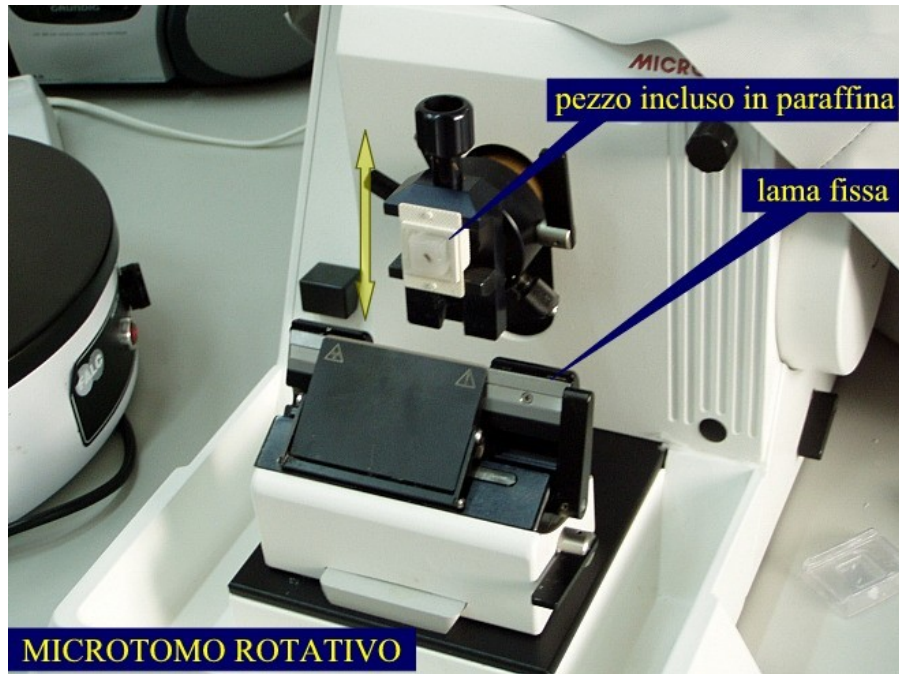
Inclusão em resina → LEICA HISTORESIN Embedding Kit → (2-Hydroxyethyl)-methacrylate e dibenzolperóxido

Microtomia → Micrótopo automático Leica → cortes de 0,5 – 2µm.

COLORAÇÃO

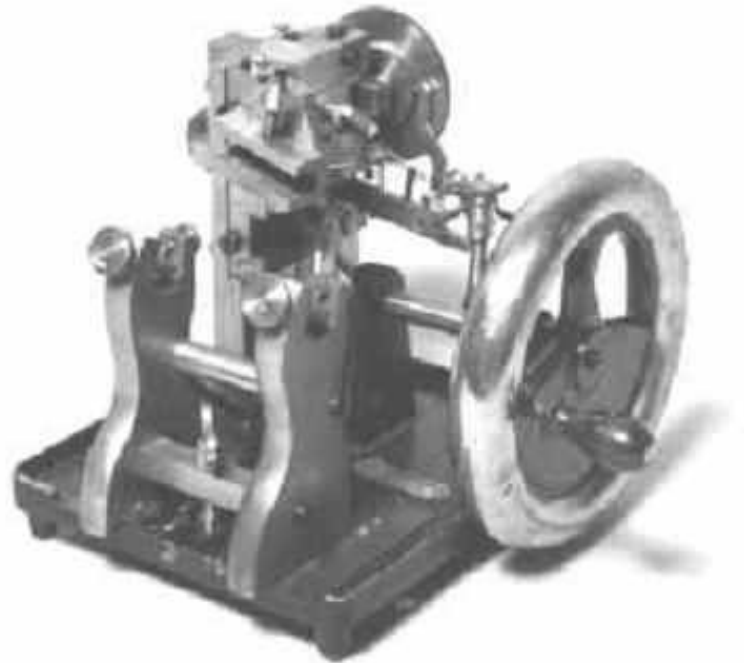
Corantes → são moléculas orgânicas insaturadas, ou seja, são compostos carbonados que apresentam em sua estrutura ligações as quais interagem com a luz dotando os corpos de capacidade absorptivas.

Micrótopo



Automático

Manual



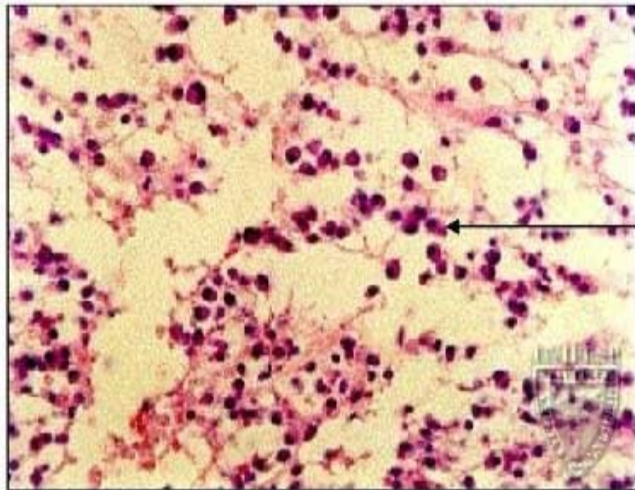
- **Corantes básicos ou catiônicos (+)**
- Liga-se a moléculas carregadas (-)
 - Ex: núcleo → DNA e RNA
 - Citoplasma → proteínas e carboidratos
 - BASOFILIA → a estrutura corada é BASÓFILA
 - Ex: Azul de Metileno, Azul de Toluidina

Corantes ácidos ou aniônicos (-)

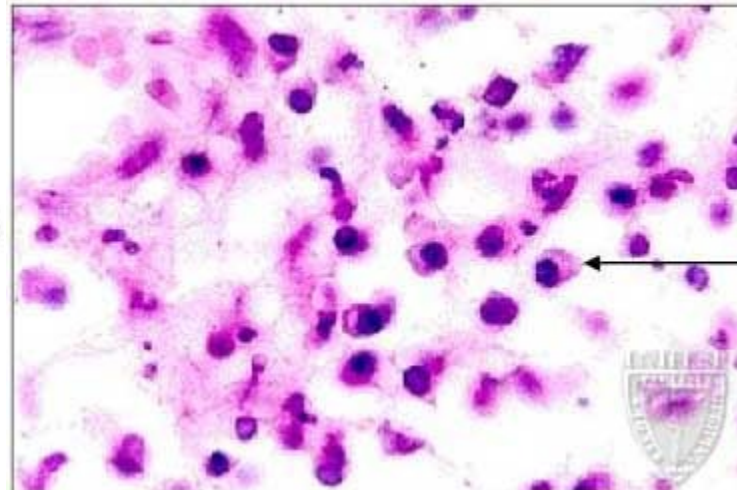
Liga-se a moléculas carregadas (+)

- Ex: citoplasma e núcleo → proteínas com carga (+)
 - ACIDOFILIA → a estrutura corada é ACIDÓFILA
- Ex: Xylidine Ponceau

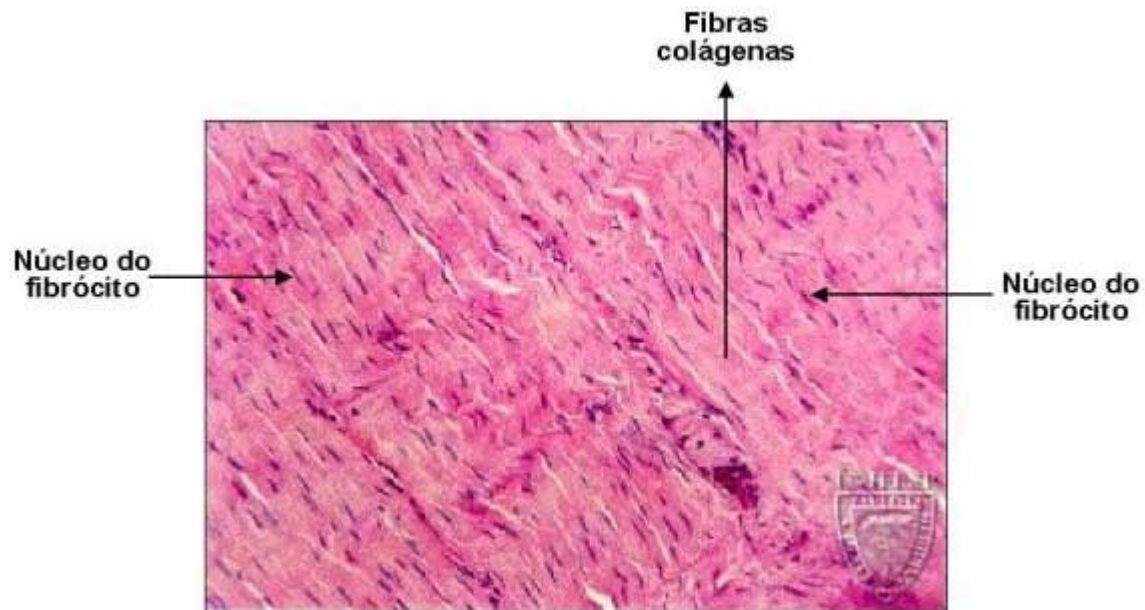
- **Grupo cromofórico** → região do corante a qual contém as duplas e triplas ligações e que captam a energia luminosa.
- **Métodos de coloração**
- **Métodos gerais de coloração** → permite a coloração de um amplo conjunto de substratos não havendo uma forma de quantificar os campos corados.
 - Ex: hematoxilina/eosina e Giensa
 - **HE** → **Hematoxilina** (+) → substratos (-) → fosfato do DNA e RNA → cora em roxo o núcleo e certas regiões do citoplasma.
 - **Eosina** (-) → cora citoplasma tonalidade rósea, atua sobre as fibras do colágeno.



Plasmócito

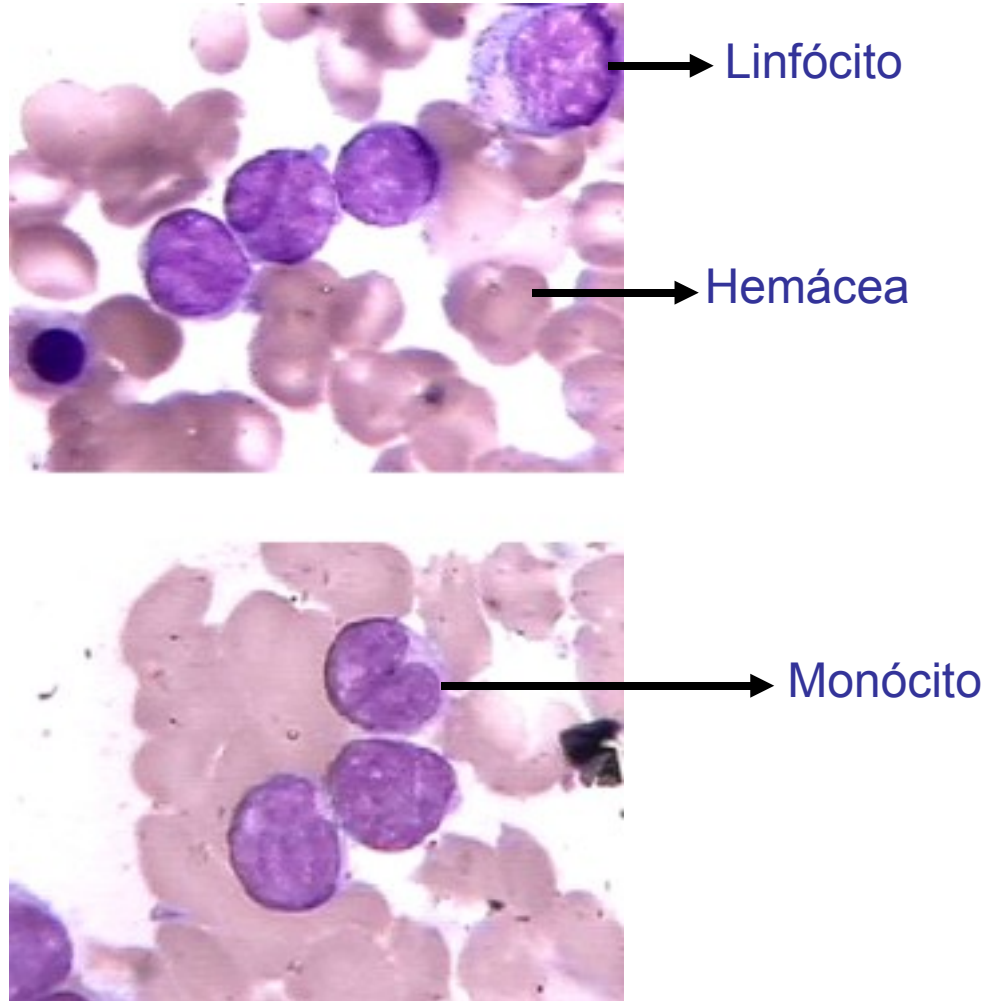


Plasmócito



- **Giensa** → empregado na coloração de cromossomos e células do sangue.
- **Azul II** → age sobre o núcleo e grânulos citoplasmáticos.
- **Eosina amarela (-)** → citoplasma.

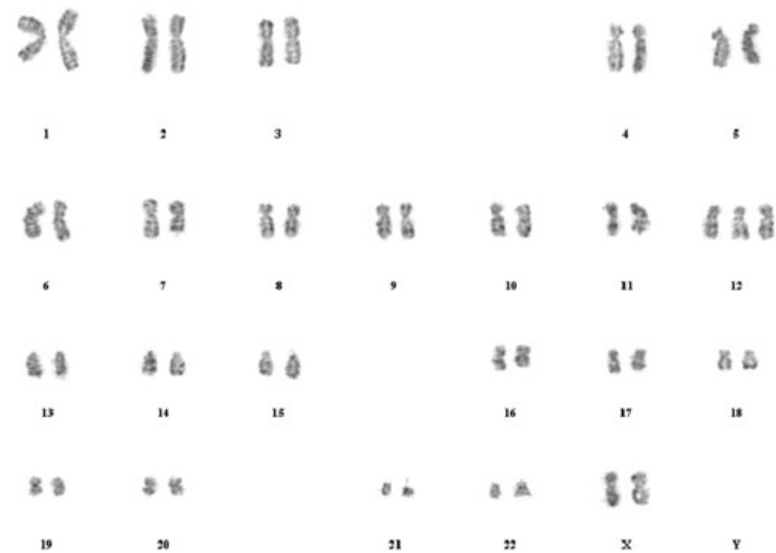
- Esfregaço sanguíneo



- **Cariótipo**



cromossomos



Métodos citoquímicos de coloração

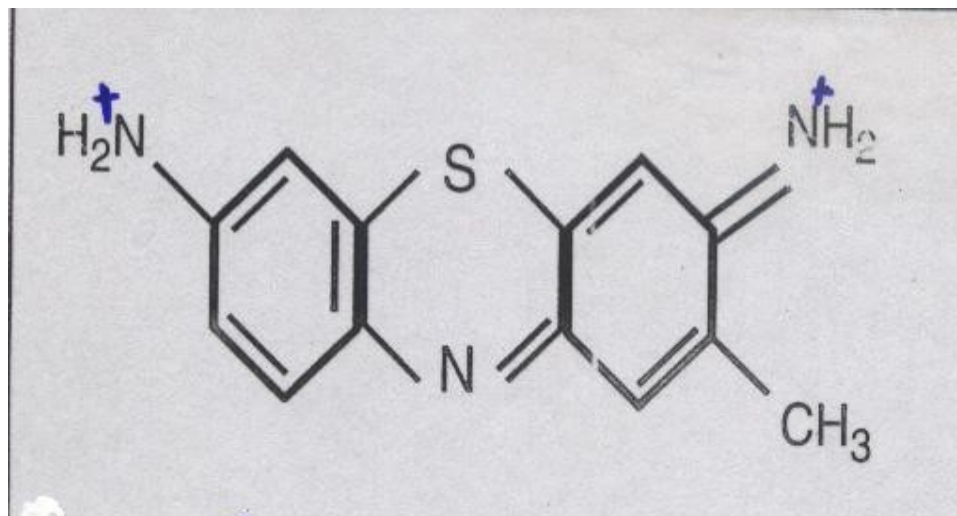
- São aqueles que se apresentam altamente específicos para os seus substratos, havendo técnica que permitem a quantificação destes substratos após a coloração.
- Ex: Azul de Toluidina, Xilydine Ponceau e Reativo de Schiff

- **Azul de Toluidina**

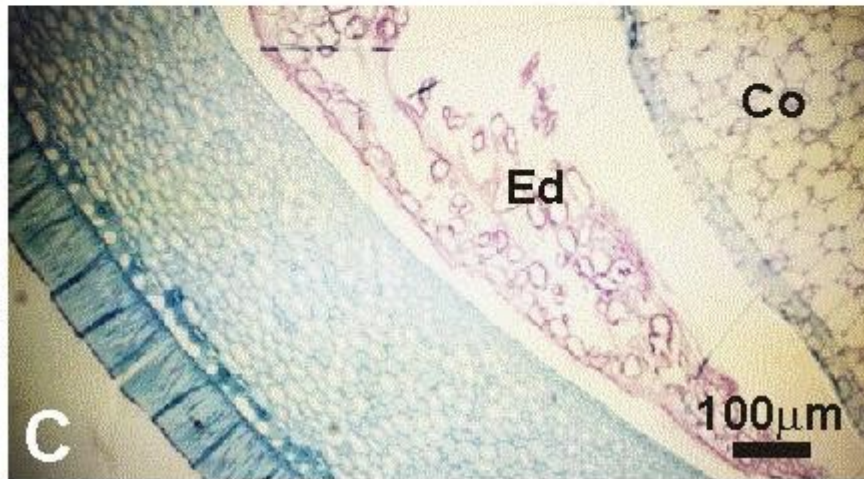
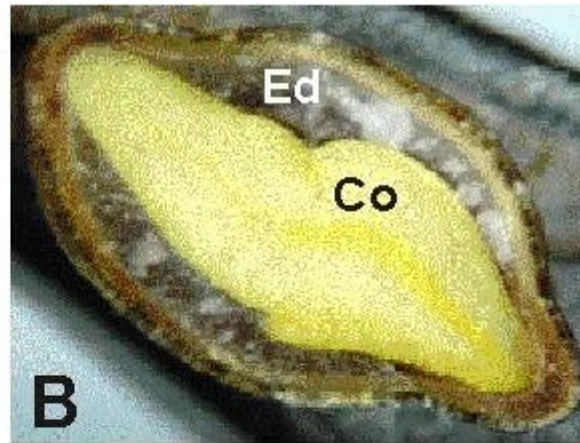
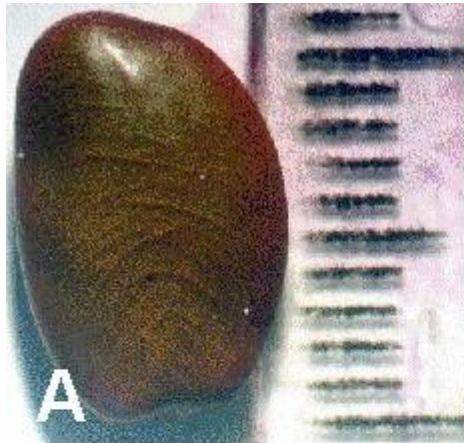
- Corante básico (+) cora substratos com grupamentos ácidos (-).
 - fosfatos do DNA e RNA.
- Carboxila e sulfato → presentes nos polissacarídeos ácidos.
 - Ácidos hialurônico e o condroitino sulfato.
- Significado químico do corante → altera-se em função do pH.

- pH 4,0 $\rightarrow$ 3 radicais mostram-se corados.
- pH 3,5 $\rightarrow$ apenas os grupamentos sulfato e fosfatos.
- pH 1,0 $\rightarrow$ somente os sulfatos.

Estrutura do Azul de Toluidina



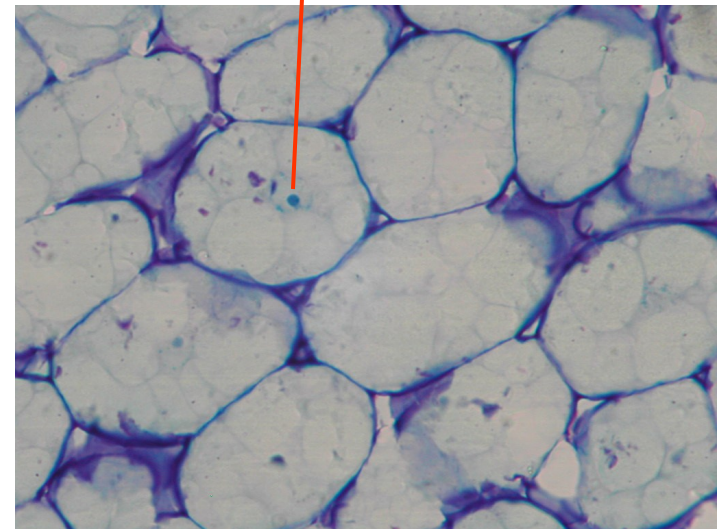
Metacromasia → a estrutura apresenta uma tonalidade rósea-avermelhada embora a cor do corante seja azul.

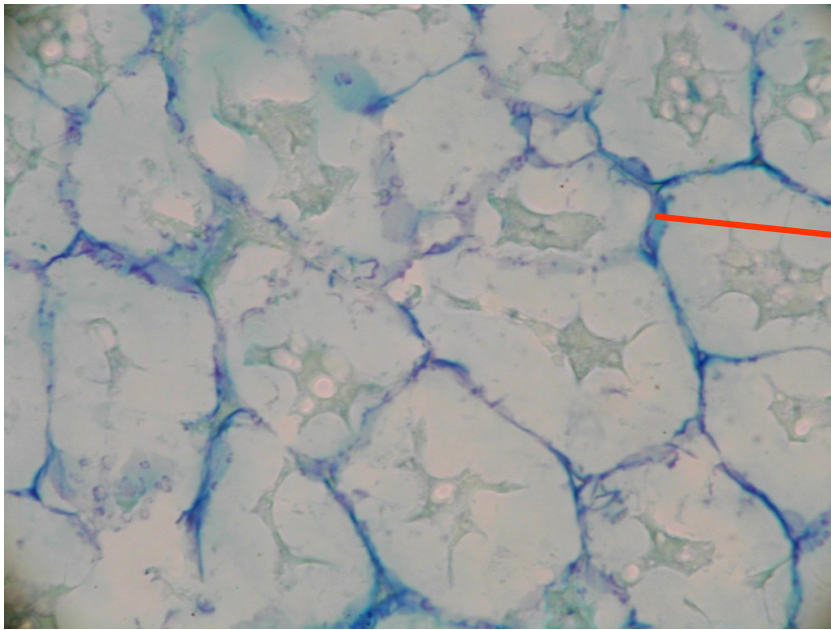


Jucá

Caesalpinia ferrea

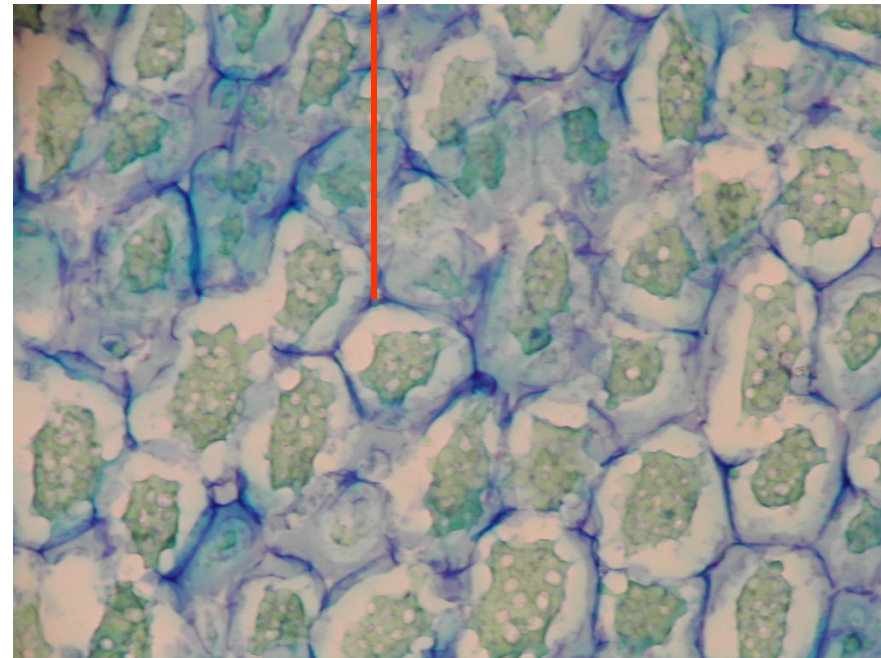
Núcleo e nucléolo





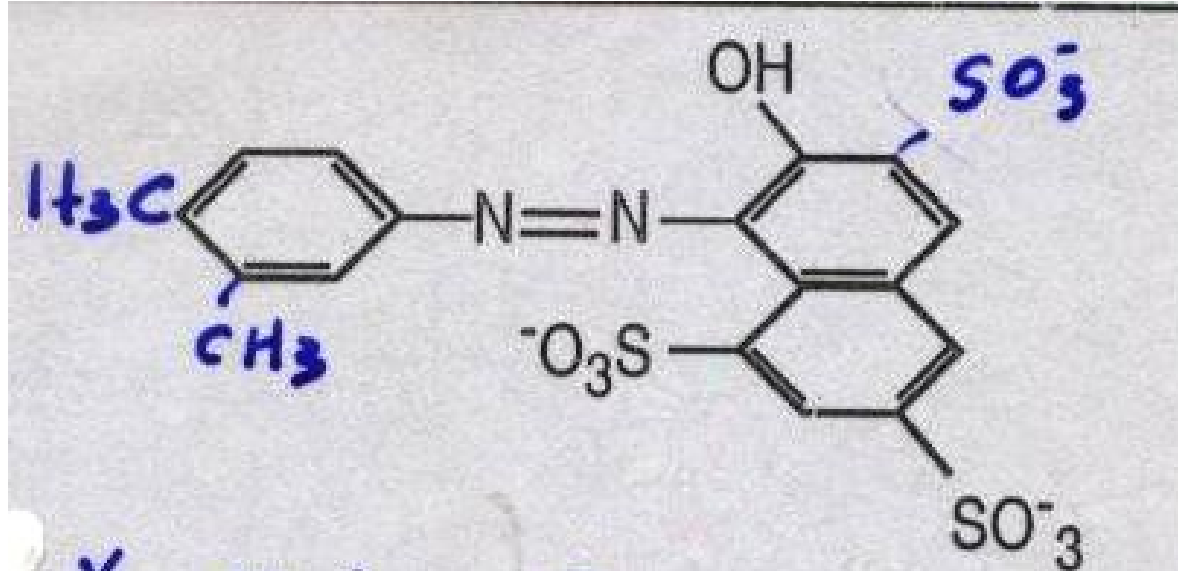
Parede Celular

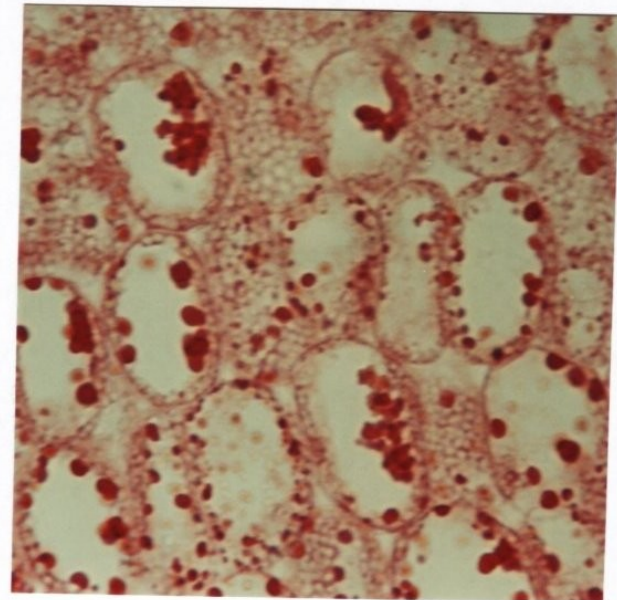
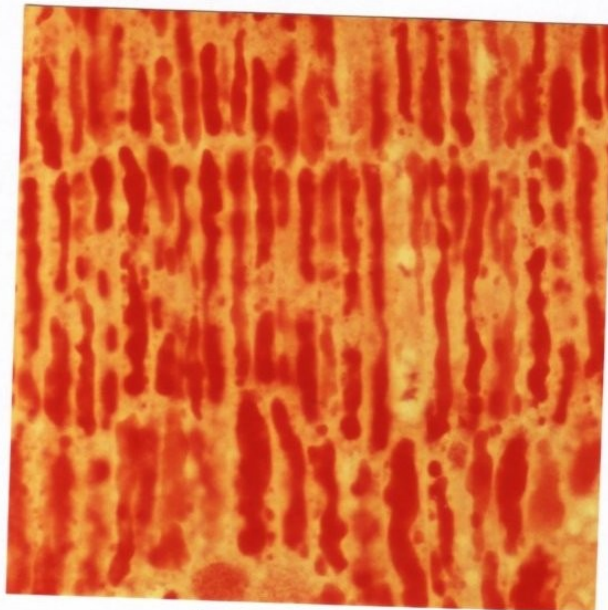
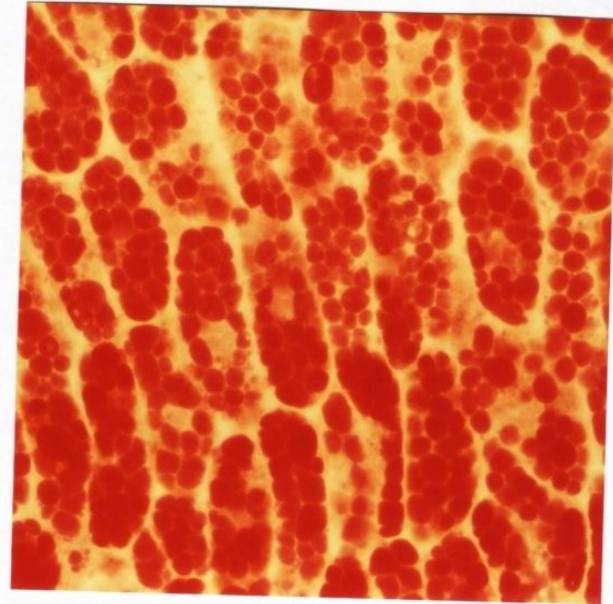
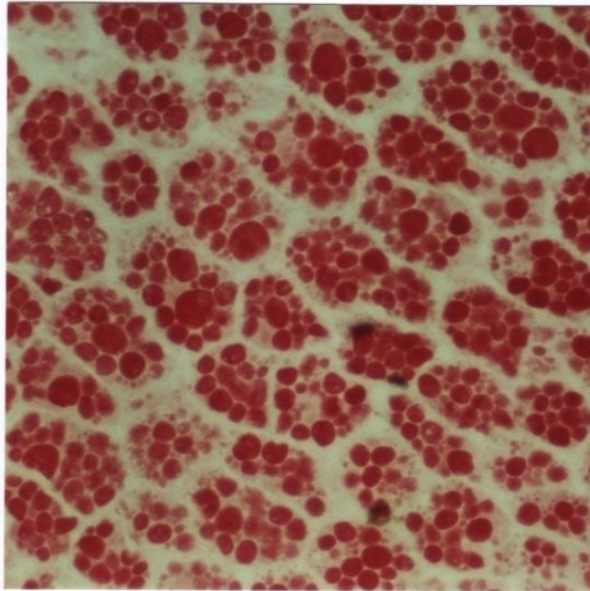
Mucuna sloaney

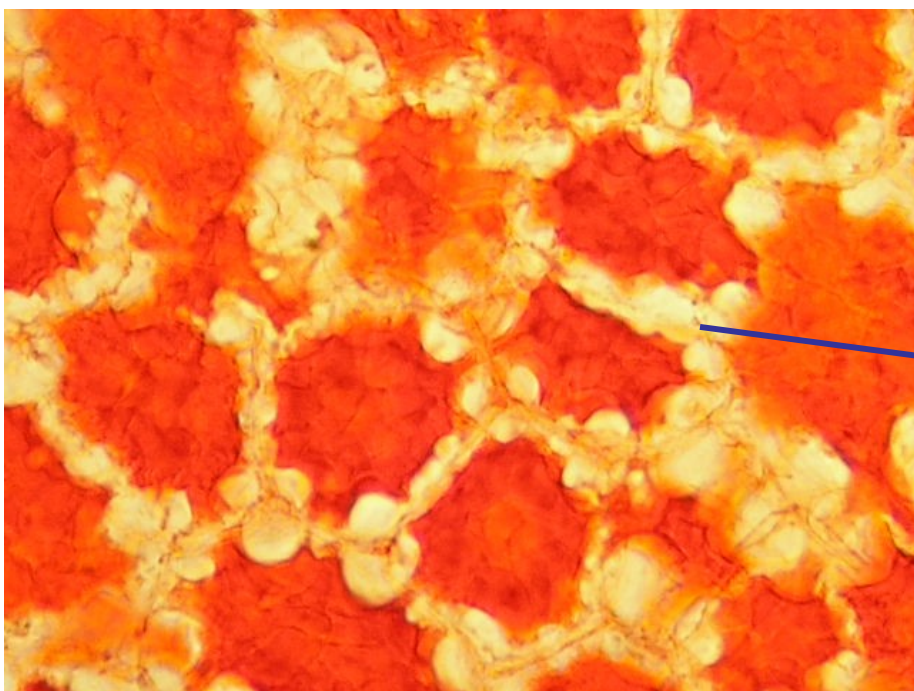


Xilydine Ponceau

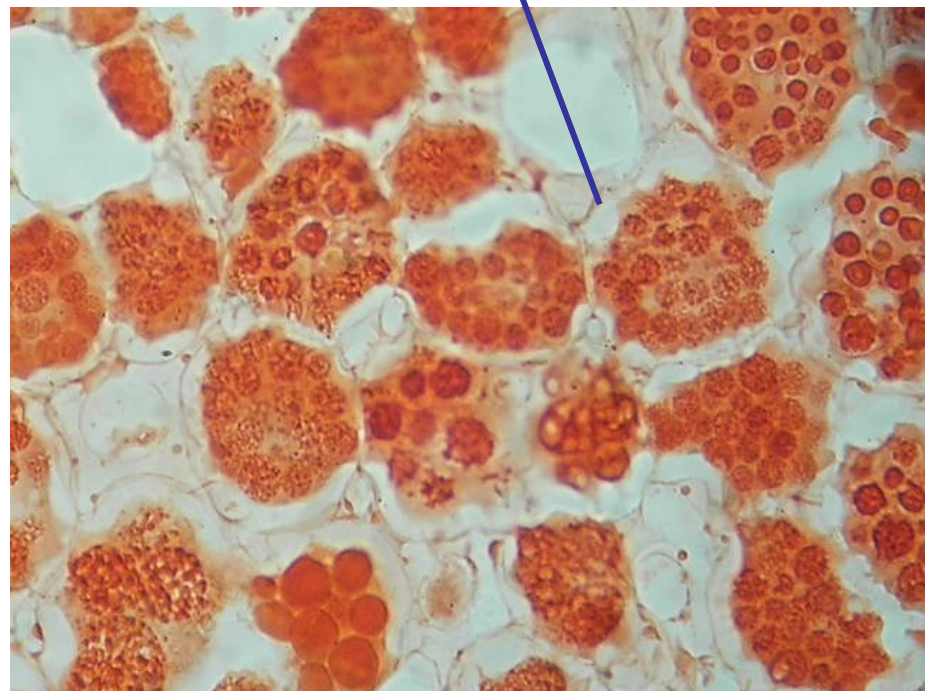
- Corante ácido (-) cora substratos com grupamentos ácidos (+).
 - Proteínas citoplasmáticas e dependendo do pH proteínas nucleares.







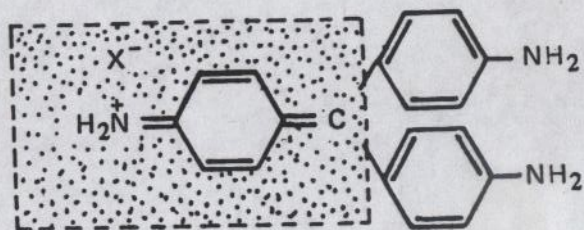
Parede Celular



Reativo de Schiff

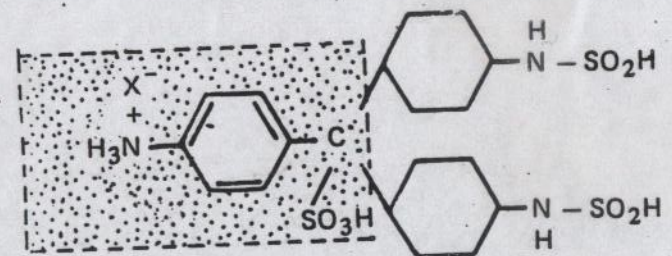
- Reação de Feulgen → detecção de DNA
- Reação do PAS → polissacarídeos neutros e ácidos e radicais glicídicos de glicoproteínas → glicogênio e glicoproteínas.

- Um pré tratamento determina a especificidade da coloração quando se utiliza o Reativo de Schiff.
- Reação de Feulgen → hidrólise ácida com HCl.
- Reação do PAS → oxidação com o ácido periódico.
- Reativo de Schiff é um leucoderivado (leuco = branco) de um corante chamado Fucsina Básica.



Fucsina

Schiff → leucoderivado em presença de SO₂ → metabissulfito de sódio



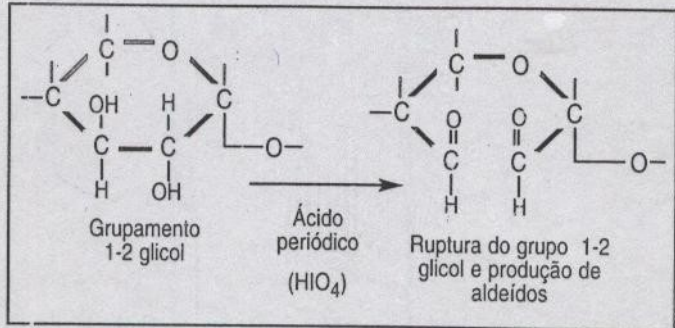
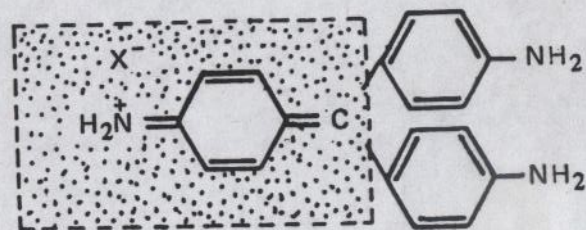


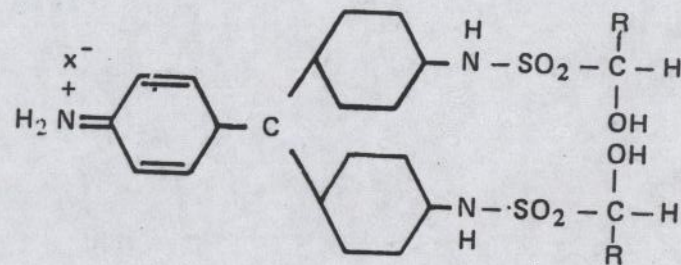
Figura 15. Mecanismo da reação do PAS. O tratamento pelo ácido periódico promove, na molécula, de carboidrato neutro, uma ruptura na porção 1-2: glicol, produzindo aldeídos que reagem com o reativo de Schiff.

Açúcar oxidado → liberação de grupamentos aldeídeos



Fucsina

Ligação com os radicais aldeídos liberados na oxidação

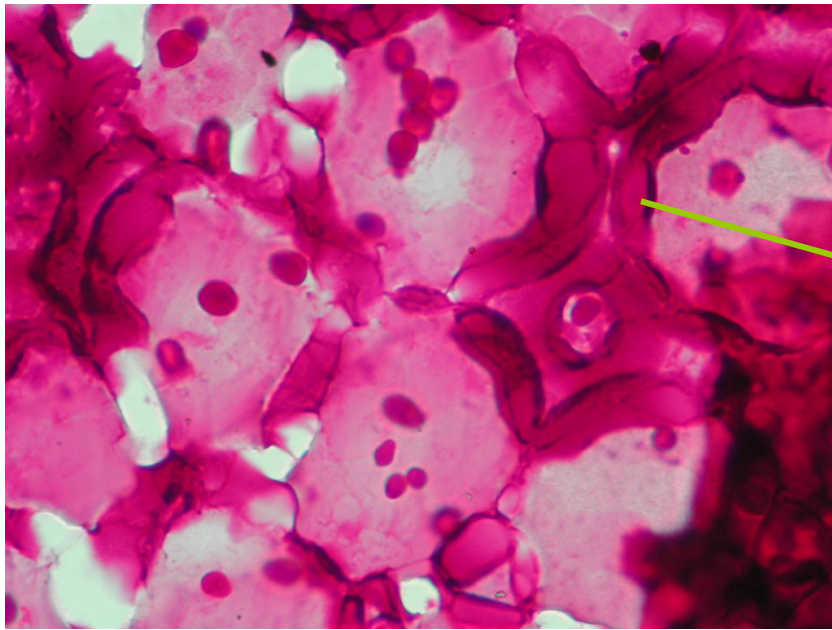


Reação de Feulgen

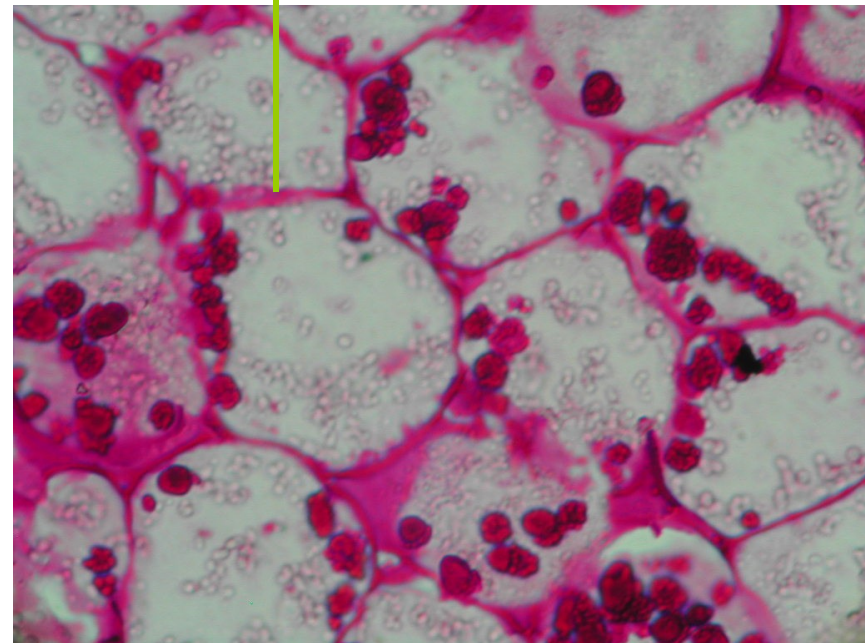
- **Ocorre em 2 etapas:**
2. Hidrólise ácida → remoção das bases púricas (A e G) → abertura da dupla hélice → hidrólise da ligação das purinas com pentoses → liberação do grupamento ALDEÍDO para reagir com o Reativo de Schiff.
 3. Os radicais aldeídos ligam-se ao reativo de Schiff restaurando o grupamento cromofórico da molécula, produzindo um composto corado.

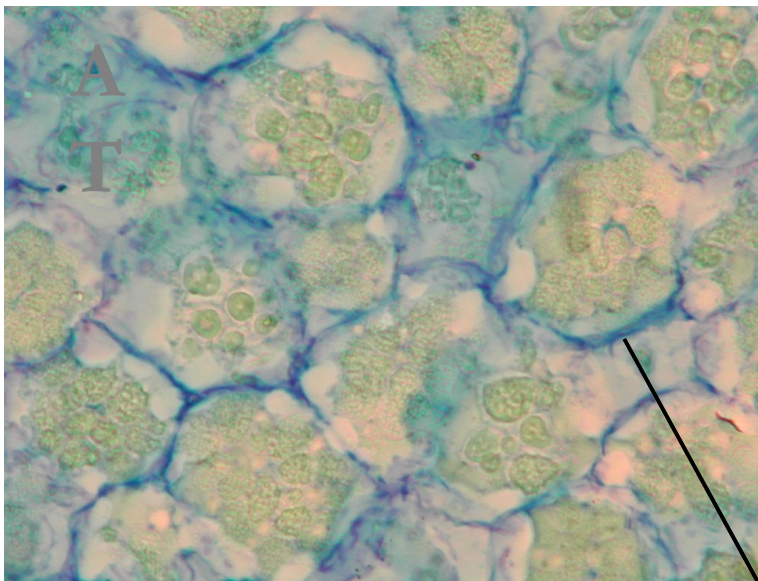
Reação do PAS (ácido periódico/Reativo de Schiff)

1. Oxidação do material com ácido periódico produção de radicais aldeídos nas moléculas de carboidrato.
3. Estes radicais aldeído vão se ligar ao leucoerivado da Fucsina básica restaurando o grupo cromofórico e produzindo um composto corado.

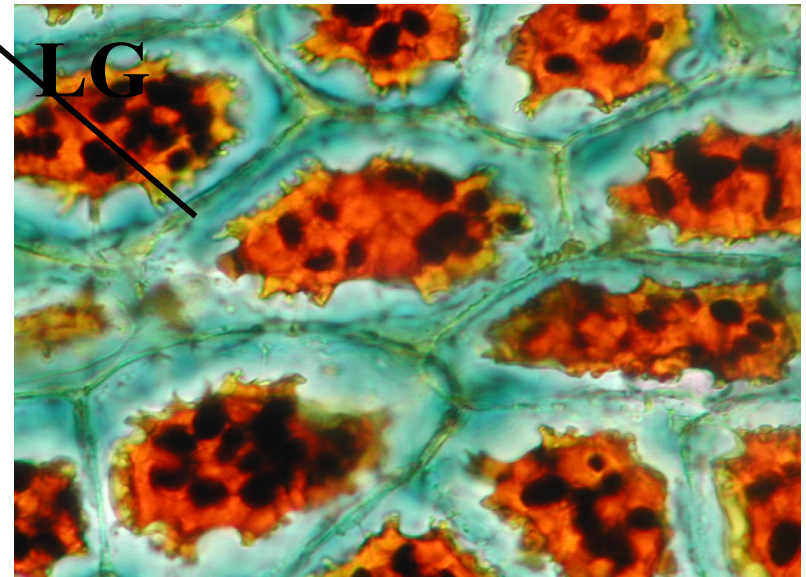
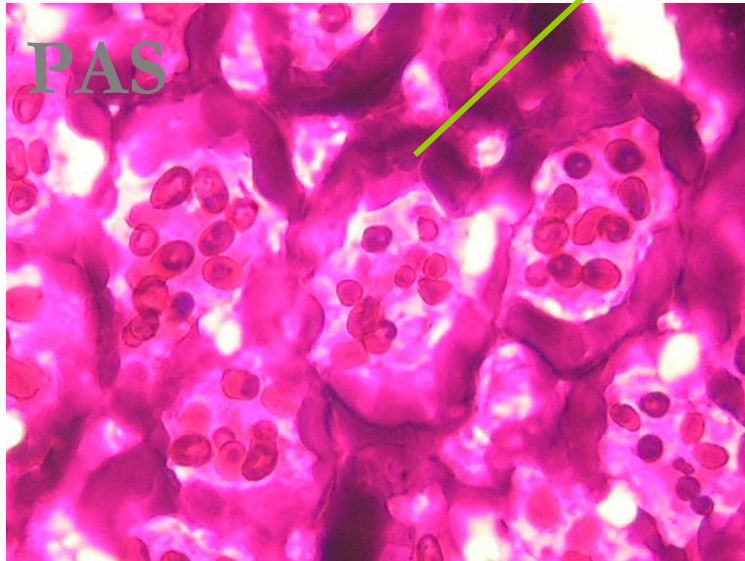


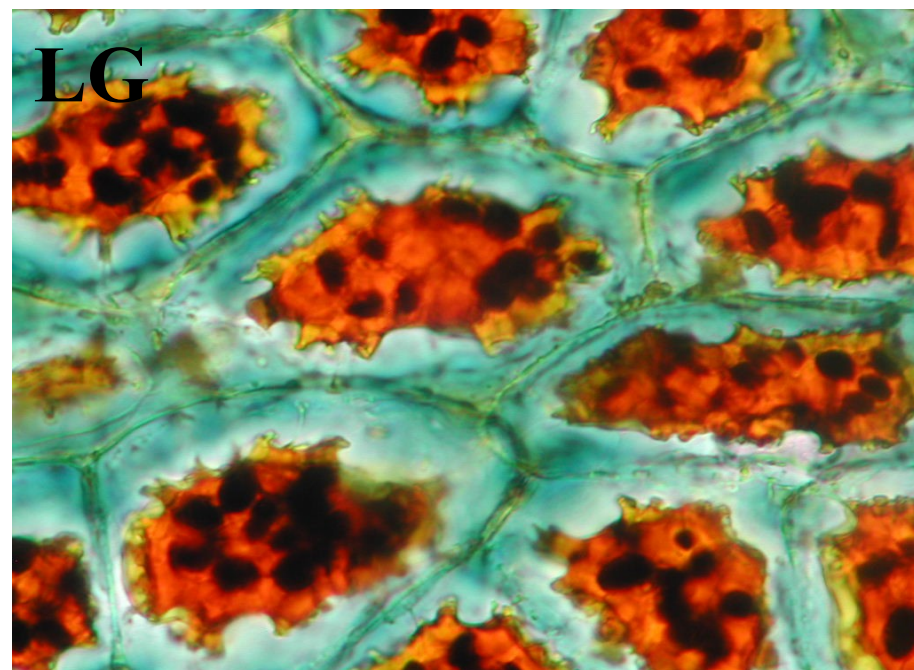
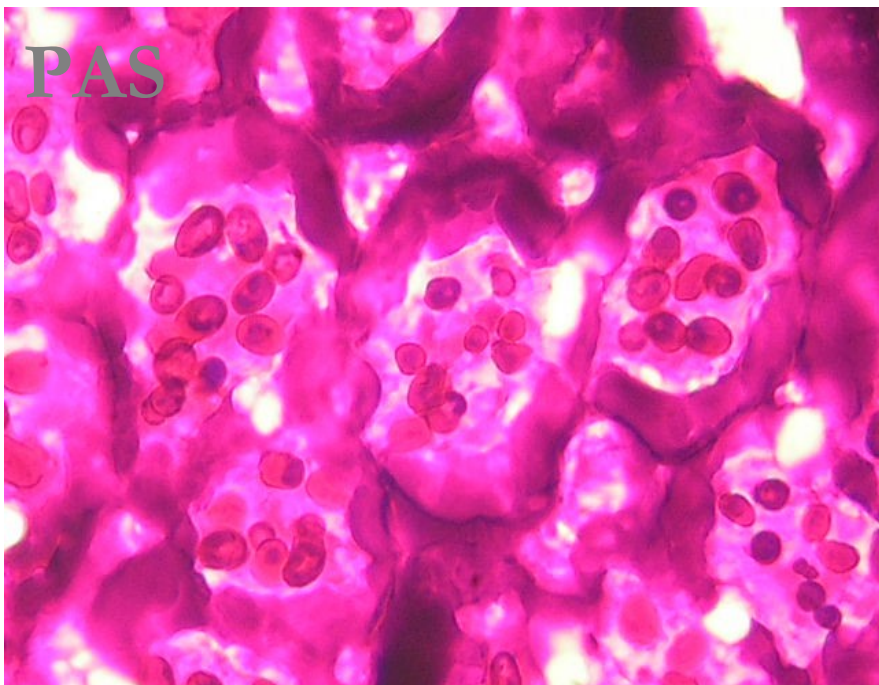
Parede Celular

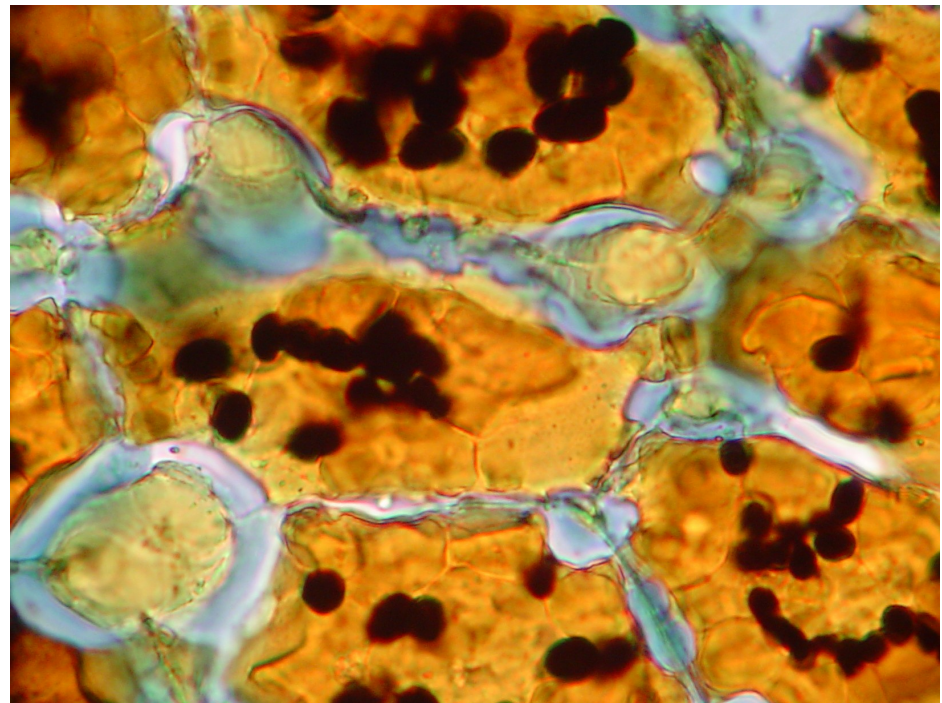
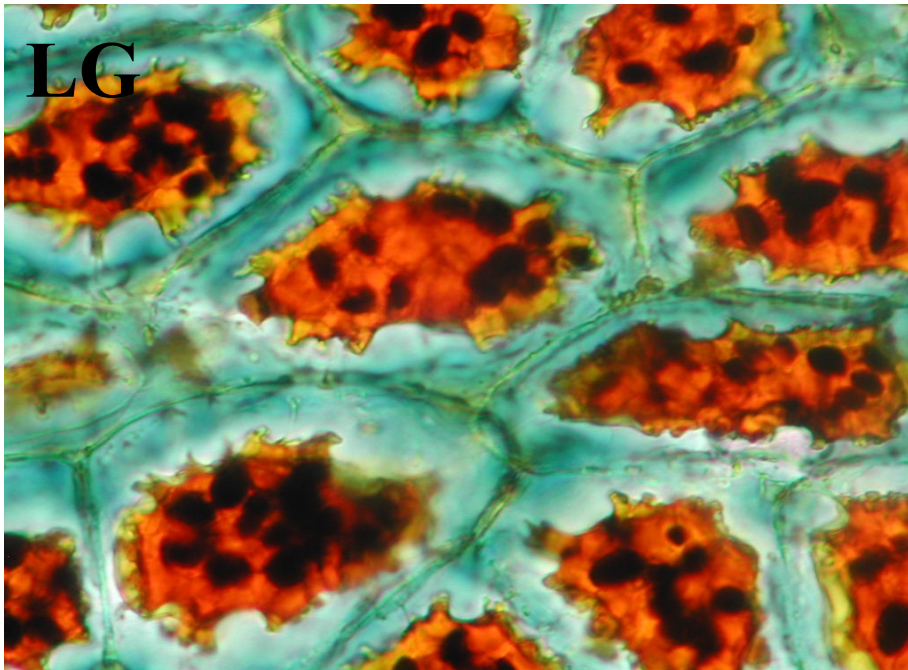


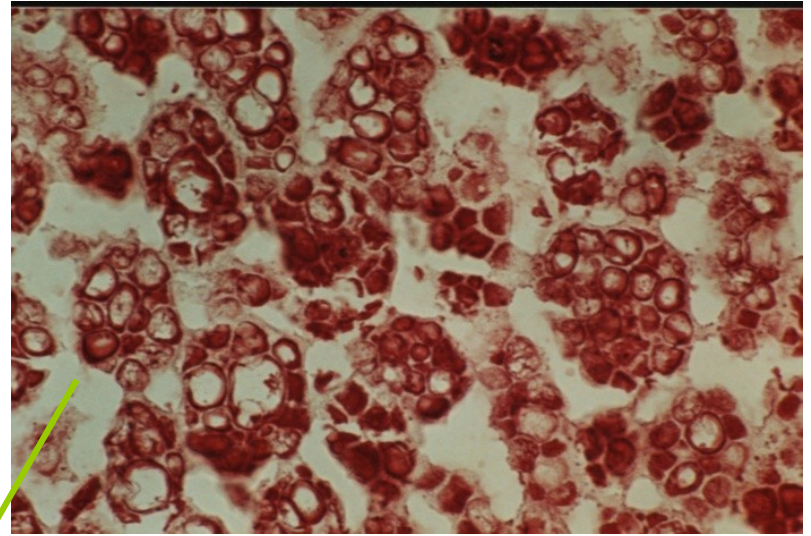
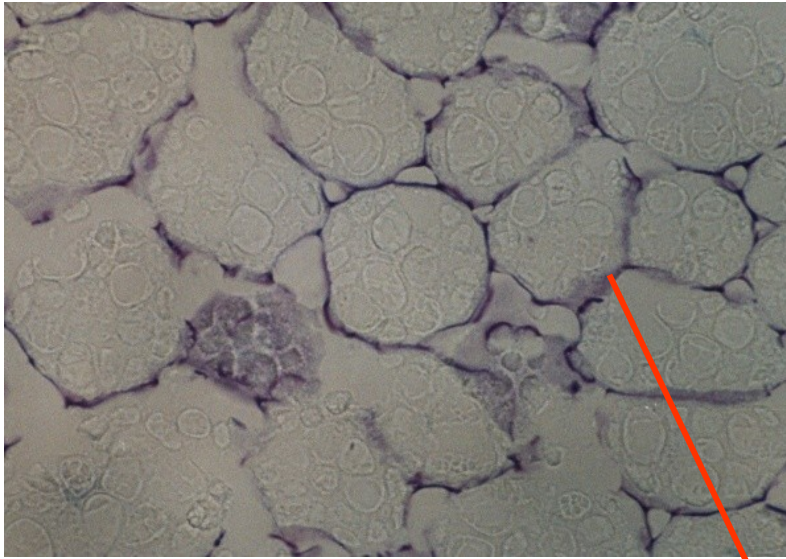


Parede Celular

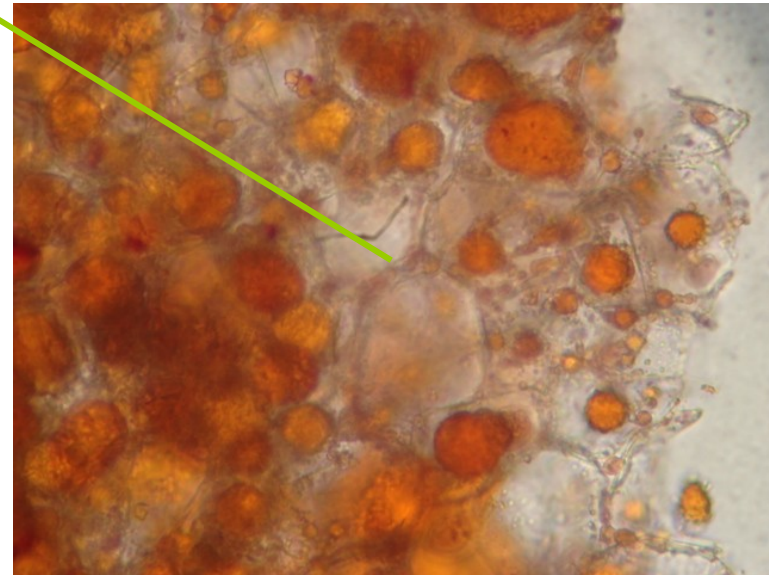
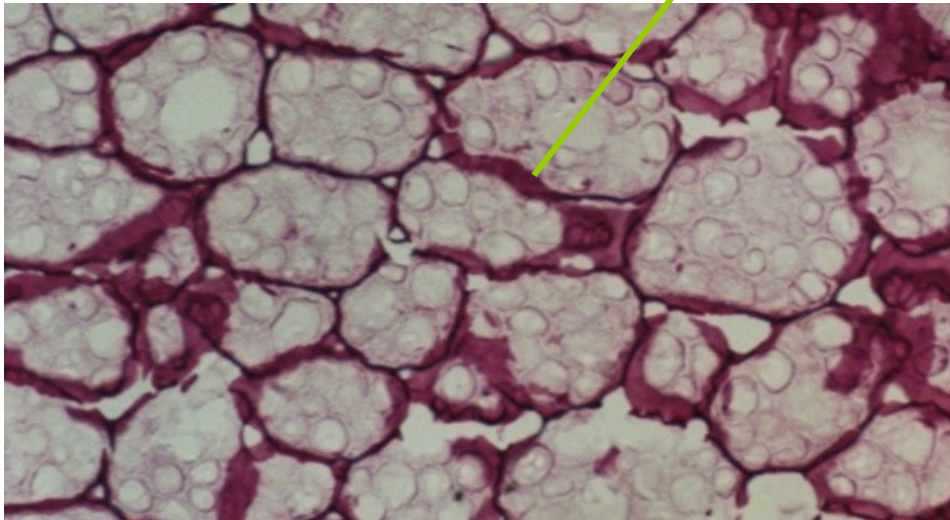








Parede Celular





Dra. Maria Izabel Gallão



Dra. Maria Izabel Gallão



Dra. Maria Izabel Gallão

FIM