

PRÁTICA DA UTILIZAÇÃO DO MICRÓTOMO

Alexandre Pereira ¹, Aline Helena Araujo Machado ², Fernanda Maria Prado Braga ³, Gabriela de Barros Ferreira ⁴, Karina Carvalho de Oliveira ⁵, Renato Amaro Zângaro ⁶, Marcos Tadeu Tavares Pacheco ⁷.

1-5 Faculdade de Ciências da Saúde (FCS)
Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), Brasil, 12244-000
Fone: +55 12 3947 9999, Fax: +55 12 3947 9999
6-7 Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D),
Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), Brasil, 12244-000
Fone: +55 12 3947 9999, Fax: +55 12 3947 9999

alexhh@bol.com.br, alineharaujo@aol.com, fefelelezinha@ig.com.br, bibigabi02@yahoo.com.br, kakacoliveira@bol.com.br, zângaro@univap.br, mtadeu@univap.br

Palavras-chave: micrótomo, cortes histológicos, citologia, histologia.

Área do Conhecimento: Ciências biológicas.

Resumo - O projeto visa o conhecimento da prática da microtomia, que consiste basicamente em obter cortes sucessivos dos blocos de parafina contendo fragmentos de órgão. Quando o micrótomo está regulado e com todas as etapas de histologia realizadas de forma adequada, ocorrem cortes com exata precisão. O conhecimento prático da utilização do micrótomo é importante para identificar as falhas que comumente ocorrem na obtenção dos cortes histológicos.

Introdução

Micrótomo é um aparelho destinado a cortar blocos de tecido. A Microtomia consiste basicamente em obter cortes sucessivos dos blocos de parafina contendo fragmentos de órgão. É extremamente importante na microtomia que a faca esteja muito bem afiada. Existe também a opção de utilizar para a microtomia lâminas descartáveis em vez de facas.

Os micrótomos tem um mecanismo pelo qual se pode controlar a espessura dos cortes a serem obtido. Com raras exceções, quanto mais fino o corte, melhor os resultados. Em geral trabalha-se com cortes entre 5 µm e 7 µm.

Ocasionalmente algumas técnicas exigem cortes entre 10 µm à 15 µm. Os cortes assim obtidos são dispostos em lâminas de vidro.

Há micrótomos para cortes de blocos de parafina, de congelação e criostático.

Micrótomo de Parafina (Rotativo)

É um aparelho destinado a cortar blocos de tecido incluídos em parafina ou celoidina.

Os cortes poderão ter espessura mínima de 1 µm, sendo que na prática diária, são cortados com 5 µm de espessura.

Aplicações

A correta observação do material biológico, em microscopia fotodinâmica, implica uma série de procedimentos técnicos prévios.

Estes procedimentos denominam-se técnicas histológicas, que são as seguintes:

Fixação

É o processo empregado com a finalidade de se evitar que as células sejam destruídas por suas próprias enzimas ou pela ação das enzimas de bactérias decompositoras. As substâncias que executam o processo de fixação são denominadas fixadores, e têm como principal função desnaturar as proteínas e insolubilizá-las, de modo a tornarem o tecido a ser estudado mais rígido e com as suas características estruturais preservadas.

Inclusão e corte

Denomina-se inclusão ao procedimento que tem como finalidade impregnar os tecidos com uma substância de consistência firme que permita, em etapa posterior cortá-los em fatias finas para depois corá-los, possibilitando assim a sua visualização no microscópio.

Pelo fato de ser mais simples e dar bons resultados, a quase totalidade das inclusões é feita em parafina. A inclusão conta de várias etapas: desidratação, diafanização e impregnação.

Desidratação

A desidratação visa à substituição da água ou do solvente aquoso do fixador por um solvente não polar.

Diafanização

A clarificação tem como objetivo remover o álcool, que substituíra a água no interior dos tecidos, por um solvente que seja, ao mesmo tempo miscível com álcool e com a parafina.

Impregnação, Coloração e Montagem

O xilol é substituído por parafina fundida a 60°C.

A coloração tem por finalidade aumentar o contraste entre os diferentes elementos constituintes do tecido. A maioria dos corantes comporta-se como base ou ácido.

Objetivo

Conhecer a prática da utilização do micrótomo, a identificação de suas limitações e realizar cortes histológicos.

Materiais

Inclusora;
Banho-Maria;
Microscópio;
Parafina;
Amostra tecidual (fígado de rato);
Micrótomo.

Metodologia

Coletou-se uma amostra do material a ser analisado.

Foram-se obtidos fragmentos do tecido colhido, onde foram aparados para a fixação.

Após a fixação do material, o mesmo foi submetido a um processo de desidratação crescente de álcool.

Realizou-se o processo de inclusão em parafina e após um certo tempo obteve-se blocos de parafina.

A seguir, esses blocos foram colocados no micrótomo e obteve-se cortes histológicos sucessivos.

Logo após, esses cortes foram colocados em banho-maria a 37°C e distendidos em lâminas para secagem.

Retirou-se a parafina do material com o auxílio do Xilol, onde a amostra foi submetida à hidratação em concentrações decrescente de álcool.

O material submeteu-se a coloração por hematoxilina.

Após desidratação em concentrações crescente de álcool, o material está pronto para ser analisado.

Resultados

Num total de 100 secções obtivemos 10 lâminas que apresentaram resultados satisfatórios para sua posterior observação microscópica. Utilizamos como material de análise fígado de rato onde foi submetido a cortes com espessuras que variam de 3 µm à 5 µm, onde o tamanho ideal para corte neste tipo de tecido é de 3 µm devido sua característica de coloração.

A espessura de corte e o tipo de coloração varia conforme o tipo de tecido e para qual finalidade ele está sendo analisado.

Conclusão

Podemos concluir que quando o micrótomo está regulado e com todas as etapas de histologia realizadas de forma adequada, ocorrem cortes com exata precisão. Das 100 secções realizadas 10 lâminas foram preparadas onde seus cortes variaram de 3 µm à 5 µm .

O micrótomo é útil para obtenção dos cortes histológicos, porém, algumas limitações são encontradas no desenvolvimento desta técnica que atribuímos ao aparelho, a parafina, com

alguma das etapas de histologia, ou com o tecido.

O conhecimento prático da utilização do micrótomo é importante para identificar as falhas que comumente ocorrem na obtenção dos cortes histológicos.

Bibliografia

BEHMER, Oswaldo Arruda - Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica; editora Edart - São Paulo livraria editora; ano 1976.

JUNQUEIRA, L.C. - Técnicas Básicas de Citologia e Histologia - SP; 1ª Edição; 1983.
SOBOTTA - Histologia/ Atlas Colorido de Citologia, Histologia e Anatomia Microscópica Humana; Editora Guanabara Koogan; 5ª Edição.

Disponível em:

<http://www.icb.ufmg.br/~biocelch/metodosestu/métodos.html#3.3.Microtomia>

Disponível em:

<http://www.lhefafis.hpg.ig.com.br/lhe8apostila.html>.