

## COLORAÇÕES HISTOLÓGICAS PARA AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA DE FIBRAS MUSCULARES DE PACU *Piaractus mesopotamicus* \*

Marcelo Wendeborn Miranda de OLIVEIRA <sup>1</sup>; Rondinelle Artur Simões SALOMÃO <sup>2</sup>;  
Vander Bruno dos SANTOS <sup>3</sup>; Natália Cantuário de AGUIAR <sup>4</sup>; Ione KARASSAWA <sup>5</sup>

<sup>1</sup> Bolsista de Treinamento Técnico, APTA-Polo Alta Sorocabana, Presidente Prudente-SP. marcelo\_wendeborn@hotmail.com

<sup>2</sup> Colaborador: Pós-graduando, Departamento de Morfologia, IBB, UNESP-Botucatu - SP

<sup>3</sup> Pesquisador Científico, APTA-Polo Alta Sorocabana, Presidente Prudente - SP

<sup>4</sup> Colaboradora: Aluna do curso de Agronegócio, FATEC - Presidente Prudente - SP

<sup>5</sup> Oficial de apoio a pesquisa, APTA-Polo Alta Sorocabana, Presidente Prudente - SP

\* Apoio financeiro: FAPESP, processo 2012/11277-0; Bolsa TT3, processo 2012/24359-5

**Palavras-chave:** Azul de toluidina; hematoxilina; eosina; histologia.

### INTRODUÇÃO

As colorações biológicas são instrumentos para aprimorar a visualização dos componentes entre os tecidos, permitindo assim realizar análises histológicas. Esse processo é fundamental na confecção de lâminas histológicas, visando corar as estruturas teciduais encontradas nos cortes histológicos, que se apresentam previamente incolores após a microtomia (GARTNER e HIATT, 1999; GENESER, 2003; SALAS *et al.*, 2004).

Os principais representantes dos corantes são a hematoxilina (corante básico) e a eosina (corante ácido), sendo os mais utilizados na coloração histológica, em que sua ação é baseada na interação entre os radicais ácidos ou básicos dos seus elementos químicos com os dos tecidos (ROSS e ROMRELL, 1993; GARTNER e HIATT, 1999; GENESER, 2003).

Experimentos que incluem análises histológicas geralmente demandam a confecção de grande número de lâminas, consumindo tempo e recursos financeiros. O objetivo deste estudo foi avaliar diferentes protocolos de coloração e montagem de lâminas histológicas para avaliação morfológica de fibras musculares de pacu.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Histologia do Polo Alta Sorocabana - APTA, na cidade de Presidente Prudente - SP, onde foram removidas amostras de tecido muscular do pedúnculo caudal de um exemplar de pacu pesando 101 g e com 13 cm de comprimento.

As amostras foram fixadas em formol tamponado e preservadas em álcool 70% e, embebidas com historresina, secções transversais de 5 µm coradas em hematoxilina, eosina,

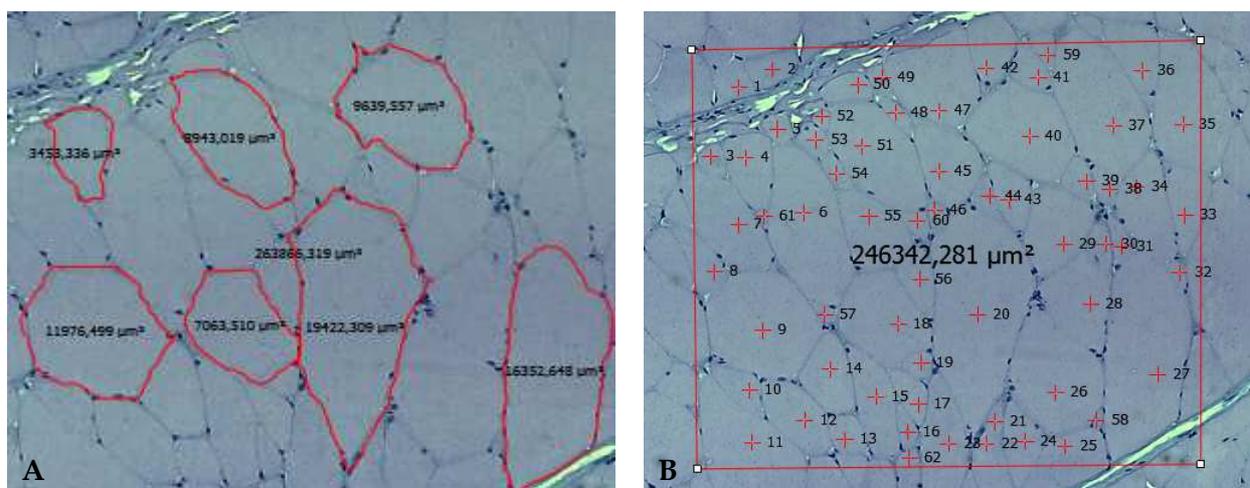
sendo preparadas duas lâminas para cada coloração: uma com lamínula e outra sem lamínula. Também testou-se a coloração com azul de toluidina. Durante o processo de coloração, as lâminas foram submetidas a diferentes tempos de imersão nas colorações (Tabela 1).

**Tabela 1.** Tratamentos do tecido muscular de pacu com diferentes corantes e tempos (minuto) de exposição.

Tratamento	Tempo	Corante	Tempo	Corante
1	20	Hematoxilina	5	Eosina
2	20	Hematoxilina	10	Eosina
3	20	Hematoxilina	15	Eosina
4	1	Azul de Toluidina		
5	15	Azul de Toluidina		

Após o preparo dos corantes e dos cortes, as lâminas foram lavadas em água corrente por um minuto e imergidas nos corantes, respeitando-se o tempo e os procedimentos necessários para cada tratamento. Em seguida, foram retiradas e lavadas por cinco minutos.

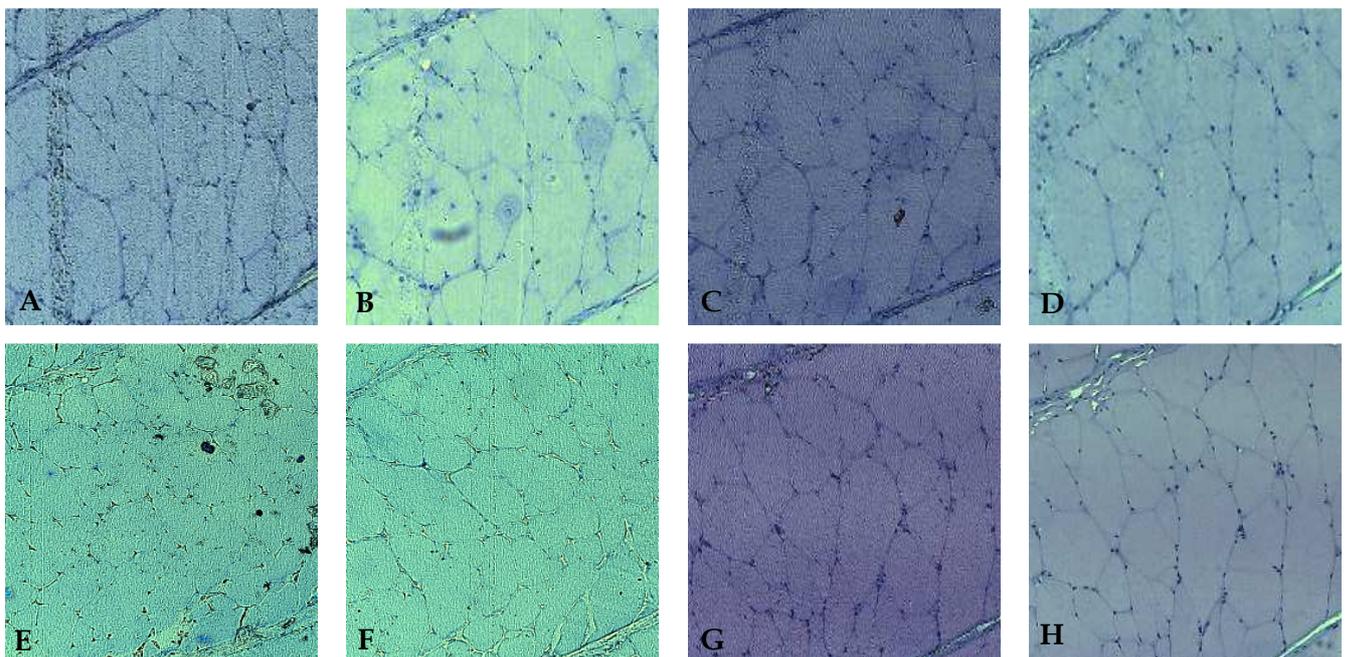
Os tratamentos corados em hematoxilina foram colocados em álcool 95% por um minuto e novamente lavados por dez minutos, sendo após emergidos em eosina, finalizando o processo com uma nova lavagem em água corrente por um minuto. Para a secagem das lâminas foi necessário aguardar aproximadamente três horas. Em seguida iniciou-se a desidratação e diafanização do material histológico para posterior colocação das lamínulas (utilizando-se a substância adesiva PermOUNT). Após esse processo, analisaram-se a densidade (fibras/mm<sup>2</sup>) e a área das fibras. As análises foram feitas usando um microscópio acoplado a um sistema de análise de imagem, de acordo com a Figura 1.



**Figura 1.** Análise do tecido muscular de pacu: (A), avaliação da área das fibras; (B), avaliação da densidade de fibras (fibras/mm<sup>2</sup>).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio de avaliação microscópica pode-se verificar que o tratamento a ser utilizado é o Hematoxilina/Eosina com maior tempo de imersão e com a utilização de lamínula, uma vez que para coloração neste tratamento o material permaneceu 20 minutos em Hematoxilina e 15 minutos em Eosina, resultando em uma visualização límpida dos cortes histológicos (Figura 2H). Ficou evidente que as demais colorações e tempos descritos na Tabela 1 não foram tão satisfatórias, faltando a nitidez para identificação das delimitações celulares. Isso dificultou a contagem do número de células por área, bem como a visualização do contorno do perímetro celular.



**Figura 2.** Colorações dos cortes histológicos do músculo branco de pacu: 20 min hematoxilina e 4 min eosina sem lamínula (A) e com lamínula (B); 20 min hematoxilina e 10 min eosina sem lamínula (C) e com lamínula (D); 1 min azul de toluidina (E); 15 min azul de toluidina (F); 20 min hematoxilina e 15 min eosina sem lamínula (G) e com lamínula (H).

## REFERÊNCIAS

- GARTNER, L.P. e HIATT, J.L. 1999 *Tratado de histologia em cores*. 1ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.
- GENESER, R.J. 2003 *Histologia*. 3ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.
- SALAS, V.W. *et al.* 2004 Utilidad de técnicas histológicas para el diagnóstico de infección en piezas anatómicas. *Rev. Cubana Med. Milit.*, 33(2).
- ROSS, M.H. e ROMRELL, L.J. 1993 *Histologia texto e Atlas*. 2ª ed. São Paulo: Médica-Panamericana.