

TÉCNICA HISTOLÓGICA PARA A VISUALIZAÇÃO DO TECIDO CONJUNTIVO VOLTADO PARA OS ENSINOS FUNDAMENTAL E MÉDIO

Nilza Cristina Buttow ^{*✉}, Maria Euride Carlos Cancino^{**}

Buttow NC, Cancino MEC. Técnica histológica para a visualização do tecido conjuntivo voltado para os Ensinos Fundamental e Médio. Arq Mudi. 2007;11(2):36-40.

RESUMO. O ensino das disciplinas de Ciências e Biologia têm sido praticados com a transmissão de informações, na maioria das vezes, apenas de forma teórica. Apesar da sua importância, os conteúdos abordados nestas disciplinas têm sido conduzidos quase sempre de maneira desinteressante. A preocupação em desenvolver atividades práticas começa a aparecer como forma de alterar este quadro. Este trabalho objetiva abordar as aulas de tecido conjuntivo, demonstrando de maneira prática e barata uma técnica que pode ser utilizada para demonstrar alguns dos constituintes deste tecido.

PALAVRAS-CHAVE: Histologia; aula prática; tecido conjuntivo.

Buttow NC, Cancino MEC. Histological technique for the visualization of connective tissue, applicable to fundamental and medium school. Arq Mudi. 2007;11(2):36-40.

ABSTRACT. The teaching of the disciplines of Sciences and Biology has been practiced as the transmission of information, most of the times only with theoretical approaches. Despite their importance, the contents encompassed by these disciplines have been conducted almost always in an uninteresting manner. The concern in developing practical activities begins to emerge as a form of altering this scenario. This work aims at approaching the classes about connective tissue, demonstrating a practical and inexpensive technique that can be used to visualize some constituents of this tissue.

KEY WORDS: Histology; practice class; connective tissue.

INTRODUÇÃO

Vivenciamos no mundo moderno uma avalanche de informações que chegam facilmente aos jovens estudantes. A escola atual, por uma questão de sobrevivência, deve desencadear processos de aprendizado capazes de deflagrar alternativas pedagógicas habilitadas ao confronto destas informações. Como alternativa capaz de confrontar informações não-formais, causando impacto e despertando o interesse por parte dos alunos, concebemos que as práticas de laboratório podem gerar mecanismos pedagógicos capazes de contribuir na fixação dos conteúdos abordados nas aulas de Ciências.

Dentre os assuntos abordados temos aqueles referentes à reestruturação dos tecidos orgânicos que, na maioria das vezes, não é ministrado com a devida ênfase. Classicamente, o aprendizado de

histologia, no Ensino Médio e Fundamental, consiste em aulas teóricas abordadas, quase sempre, de maneira superficial. Este método de ensino, em geral, leva os estudantes a participarem da relação ensino-aprendizagem de forma passiva. Dessa forma, os estudantes não participam na geração do conhecimento, não são estimulados a desenvolverem técnicas e hábitos de estudo, habilidade de observação analítica e raciocínio morfofuncional (Junqueira et al., 1998).

A grande dificuldade encontrada pelos professores do Ensino Médio e Fundamental é a escassez de recursos e de material didático, o que limita a realização de aulas interessantes que cativem os alunos.

As técnicas geralmente utilizadas na preparação de lâminas histológicas consistem em cortes de amostras embebidas em parafina, as quais

*Docente do Departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá; **Técnica de Laboratório do Departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá. [✉]Av. Colombo, 5790, Maringá-PR, CEP 87020-900. e-mail: ncbuttow@uem.br.

requerem o uso de estufa e de micrótomo, um equipamento caro que não justifica sua aquisição pela escola. A necessidade deste equipamento baseia-se no preceito de que a visualização de material histológico ao microscópio óptico consiste na passagem de luz através do tecido. Como tecidos e órgãos são, geralmente, espessos demais para permitir a passagem da luz, torna-se necessário a realização de cortes histológicos para produzir camadas finas que permitem a passagem da luz (Junqueira e Carneiro, 2004). Após o processamento este material é corado, com substâncias como a hematoxilina e eosina e métodos tricrômicos, as quais são, igualmente, caras e necessitam de condições adequadas para seu preparo. Como alternativa, as escolas podem comprar lâminas histológicas permanentes para visualização microscópica. Esta é uma alternativa interessante, podendo ser utilizada. Contudo, acreditamos que a realização de uma aula prática onde o aluno inicia com a coleta do material biológico e chega até sua preparação, poderá despertar nos estudantes grande interesse pelo assunto abordado.

Assim, sugerimos uma técnica na qual os alunos participam da coleta do material biológico e, após a fixação deste material, da coloração para visualização ao microscópio. Objetiva-se que o aluno possa observar a morfologia de diferentes tipos celulares presentes no tecido conjuntivo, além de ponderar sobre proteínas filamentosas e Substância Fundamental Amorfa que estão entre as células, o que caracteriza o tecido conjuntivo (grande quantidade de matriz extracelular). Esta proposta dispensa a utilização do micrótomo, uma vez que, alguns tecidos, apresentam camadas delgadas, de modo que podem ser observados ao microscópio sem a necessidade de corte, como é o caso do mesentério.

Neste trabalho iremos orientar como o professor poderá coletar, fixar e corar com azul de metileno o mesentério de ratos para demonstrar a constituição deste tecido. Objetiva-se abordar, particularmente, as aulas de tecido conjuntivo, demonstrando de maneira prática uma técnica que pode ser utilizada para demonstrar alguns dos constituintes deste tecido.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Considerações sobre o tecido conjuntivo

O tecido conjuntivo fornece uma estrutura de suporte e ligação para todos os outros tecidos do corpo. Sua principal característica é apresentar

vários tipos celulares e abundância de matriz extracelular, além de ser vascularizado. A matriz extracelular consiste de diferentes combinações de proteínas fibrosas e de substância fundamental (Junqueira, Carneiro, 2004).

Apresenta como funções: suporte corpóreo, exercido pelas cartilagens, pelos ossos e pelo tecido conjuntivo propriamente dito; pode fazer a nutrição de alguns órgãos; preenchimento de espaços, e suas células auxiliam na defesa do organismo.

Matriz extracelular:

É composta por glicosaminoglicanas (GAGs) e proteínas, as quais podem se associar formando as proteoglicanas. As proteínas podem ser adesivas – como as integrinas, as lamininas e as fibronectinas – estando associadas ao fenômeno de migração celular; ou podem ser estruturais – como o colágeno e a elastina.

A matriz é organizada na forma de fibras possuindo ainda Substância Fundamental Amorfa (SFA). Tem como funções: migração celular; interação celular; serve de suporte a pressões, e auxilia na distribuição de nutrientes.

Fibras

Apresenta dois sistemas: *colágeno* e *elástico*.

O *sistema colágeno* é constituído por fibras colágenas e reticulares. Existem cerca 15 tipos de colágeno conhecidos. O colágeno é constituído por longas cadeias de prolina e glicina que formam uma rígida fita em tripla helicoidal. O colágeno do tipo I é o mais abundante e formador de fibrilas (este se associa com o colágeno do tipo V para formar a pele, ossos, ligamentos, tendões, tecido conjuntivo frouxo, etc.). Os colágenos associados a fibrilas são os do tipo IX e XII, que fazem a ligação entre as fibrilas e outros componentes da matriz. O colágeno tipo IV é considerado formador de rede e forma a lâmina basal juntamente com o colágeno do tipo VII.

As fibras reticulares são formadas por colágeno do tipo III e têm como característica apresentar de 6-12% de açúcares. Esta característica faz com que ele seja visualizado apenas pela impregnação argêntica.

O *sistema elástico* é constituído por fibras elásticas que são formadas por glicoproteínas e elastina as quais se organizam em uma trama irregular. Para sua visualização, geralmente, utiliza-se a orceína. A denominação de fibras elásticas deve-se ao fato de que estas, quando submetidas a

uma tensão, se esticam e depois retornam a sua forma original após cessar as forças deformantes.

Substância Fundamental Amorfa.

É formada por GAGs (polissacarídeos de repetição de uma única cadeia de dissacarídeos) sulfatadas e proteoglicanas. Trata-se de um gel altamente hidratado o qual funciona como barreira a penetração de microorganismos. Ela localiza-se entre as células e fibras do conjuntivo.

Células do tecido conjuntivo

Existem as células que são transitórias ou temporárias (como os leucócitos) e as permanentes ou residentes (originam-se no tecido conjuntivo ou migram para o mesmo e lá permanecem).

Fibroblastos: são células grandes e com prolongamentos, núcleo eucromático, e nucléolo evidente. É responsável pela produção de matriz extracelular. Quando apresentam em seu citoplasma grande quantidade de filamentos de actina, miosina e α -actinina, passa a ser chamado de miofibroblasto, sendo responsável pelo processo cicatricial (fechamento de feridas).

Macrófagos: têm sua origem a partir dos monócitos do sangue. Apresentam morfologia variada. Seu núcleo é, em geral, riniforme e pouco eucromático. São células de defesa, que fagocitam corpos estranhos e restos celulares. Fazem parte do Sistema Mononuclear Fagocitário, no qual estão incluídos as células precursoras dos monócitos, os próprios monócitos, a micróglia, os osteoclastos e os macrófagos em geral. Quando encontram um corpo estranho de grande tamanho são capazes de unirem-se para formar as células gigantes, células multinucleadas, as quais possuem capacidade, ainda maior, de defesa.

Plasmócitos: São células importantes, pois sintetizam e secretam imunoglobulinas (anticorpos) com alta especificidade. A secreção de anticorpos serve para a nossa defesa imunológica. Estas células são ovóides, com citoplasma basófilo e cromatina compacta com aspecto de rodas de carroça.

Mastócitos: são células grandes, contendo inúmeros grânulos metacromáticos (capazes de alterar a cor do corante) que armazenam substâncias quimioativas (mediadores químicos), responsáveis pela resposta inflamatória. Os mastócitos apresentam grânulos contendo condroitim sulfato, quando presentes nas membranas mucosas, ou heparina, quando em

outros locais; histamina que tem ação vasodilatadora, aumentando a permeabilidade vascular de importância nos processos inflamatórios; proteases neutras, e fator quimiotático dos eosinófilos e neutrófilos (Junqueira, Carneiro, 2004). Os mastócitos são capazes de sintetizar, através de fosfolipídios da membrana plasmática, os leucotrienos que promovem lentas contrações da musculatura lisa. A ação destas células consiste em: na primeira exposição ao antígeno (alérgeno), ocorre a produção de anticorpos (imunoglobulina E) que se prendem à superfície do mastócito; em uma segunda exposição, o antígeno se liga a estas imunoglobulinas promovendo a degranulação dos mastócitos. Em pessoas alérgicas a degranulação dos mastócitos pode ocasionar o choque anafilático, onde a liberação da histamina provoca a contração dos brônquios podendo ocasionar uma parada respiratória.

Neutrófilos, eosinófilos e basófilos: são granulócitos originados do sangue, considerados como células transitórias. São responsáveis pela defesa do organismo.

Organização do tecido conjuntivo:

O tecido conjuntivo pode ser classificado como:

1. *Tecido conjuntivo propriamente dito:* podendo ser frouxo ou denso. O denso apresenta predomínio de fibras em sua constituição e pode ser ainda subdividido em modelado ou não modelado, de acordo com a organização das fibras colágenas (exemplo: derme e tendão). O tecido conjuntivo frouxo é rico em células, é mole e cede facilmente à pressão (exemplo: mesentério) (Geneser, 2003).
2. *Tecido conjuntivo de propriedades especiais:* fazem parte deste tecido o adiposo, elástico, reticular ou hematopoietico, e o mucoso.
3. *Tecido Cartilaginoso*
4. *Tecido ósseo.*

PROCEDIMENTOS

Material

Lâminas e lamínulas de vidro;
azul de metileno;
conta-gotas;
solução salina 0,9%;
água destilada;
gilete;

formol 10%;
éter etílico;
pinça;
tesoura;
arame;
microscópio.

Metodologia

Primeiramente, deve-se anestesiá-lo com Tiopental® (45 mg/Kg de peso corporal). Após a anestesia do animal abra seu abdômen com a ajuda de pinça e tesoura. Neste momento, é possível mostrar aos alunos os órgãos abdominais, como intestinos (grosso e delgado), fígado, pâncreas, rins, etc... Banhando a cavidade abdominal com um pouco de solução salina 0,9 % (para um litro de água acrescentar 9 gramas de cloreto de sódio (NaCl)) e, com o auxílio de uma pinça, estimulando o intestino é possível observar alguns movimentos peristálticos. Isto se deve à inervação própria do intestino que conta com neurônios sensitivos, os quais, com o estímulo mecânico, promoverão uma resposta – o movimento das alças intestinais.

Coloca-se, então, um arame grosso encapado (4 ou 6 mm), com forma circular, no interior do intestino delgado (Fig. 1), de modo a distender o mesentério, o que proporcionará uma melhor fixação, coloração e montagem. Segue-se a lavagem com solução salina 0,9 % (soro fisiológico) e fixação, por imersão, no fixador formol 10 %. O material deve permanecer mergulhado no fixador por, pelo menos, 3 horas.

Decorrido este período, o material será retirado do fixador e passado em água destilada ou água de torneira. Em seguida, coloca-se o tecido em um recipiente com azul de metileno, deixando mergulhado por 10 minutos. Após este período deve-se proceder da seguinte forma: retirar o mesentério do corante; escorrer; passar rapidamente na água por 3 vezes; colocar diretamente sobre uma lâmina; recortar com a ajuda de uma gilete, em um pequeno pedaço; colocar uma gota de água, e cobrir com a lamínula. Para esta última etapa, colocar a lamínula em um ângulo de cerca de 45°, encostando-a na gota de água e deitando sobre o tecido lentamente; fazer uma leve pressão para retirar as bolhas. Em seguida o material poderá ser observado ao microscópio. Para visualizar os detalhes da morfologia celular, utilizar objetiva de maior aumento (40X).

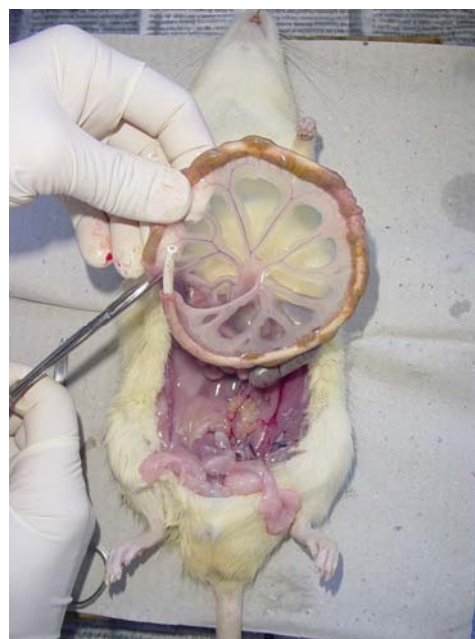


Figura 1. Intestino delgado de rato distendido com o auxílio de um arame.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com esta técnica, é possível observar alguns tipos celulares que constituem o tecido conjuntivo (Fig. 2), além de fibras dos sistemas elástico e colágeno.

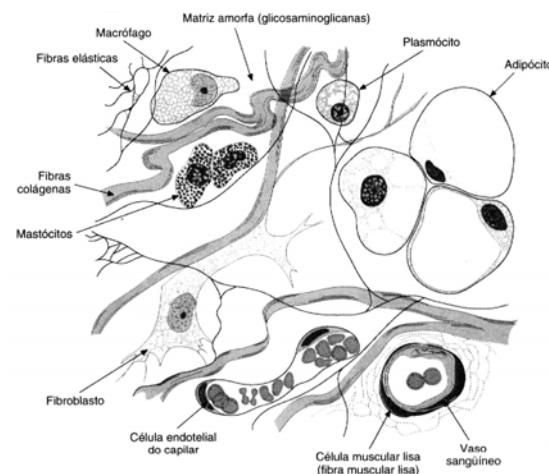


Figura 2. Desenho esquemático dos componentes principais do tecido conjuntivo: células, fibras e matriz amorfa (Reproduzido de Geneser, 2003).

As células que se destacam são os mastócitos, os quais apresentam importante papel nas reações alérgicas (Fig. 3). Sobre esta célula poderá ser abordada a constituição de seus grânulos e sua importância nas reações inflamatórias

Os plasmócitos que são visualizados aparecem com coloração mais forte devido a sua basofilia (afinidade por corantes básicos) citoplasmática (Fig. 3c), e são responsáveis pela produção de anticorpos.

Os macrófagos (Fig. 3d) são células fagocitárias, responsáveis pela fagocitose de células mortas e bactérias.

Os fibroblastos (Fig. 3e) são células responsáveis pela síntese da matriz extracelular (Fig. 3f, g, h). As

fibras colágenas são constituídas por espessas fibras. Já as fibras elásticas (Fig. 3f) são bem mais finas. É possível visualizar, no mesentério, vasos sanguíneos (Fig. 3a).

A utilização de uma simples aula prática poderá despertar no aluno o interesse pela disciplina ministrada.

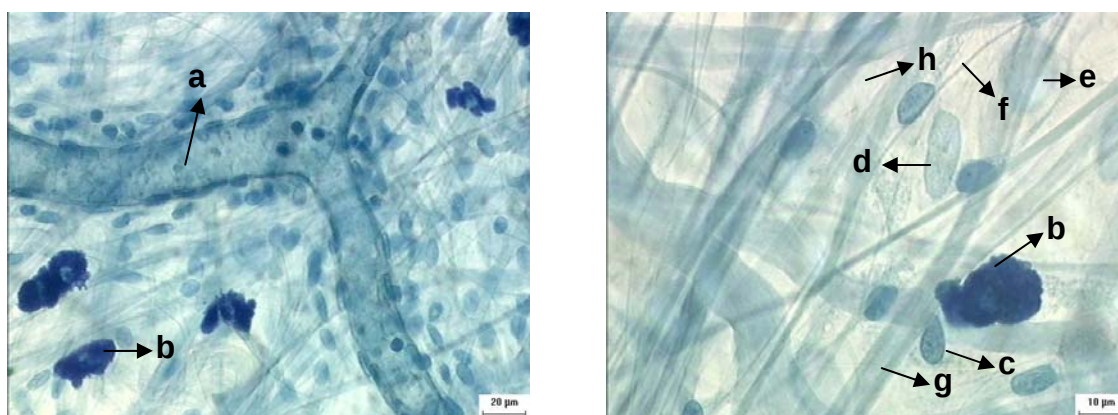


Figura 3. Eletromicrografia de mesentério de ratos corados com azul de metileno. As letras indicam: (a) vaso sanguíneo; (b) mastócito; (c) plasmócito; (d) macrófago; (e) fibroblasto; (f) fibra elástica; (g) fibra colágena; (h) matriz extracelular (glicosaminoglicanas). Barra corresponde a 20 μ m na primeira figura e a 10 μ m na segunda.

SUGESTÃO DE LEITURA

Gartner LP, Hiatt JL. Tratado de histologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.

Geneser F. Histologia com bases biomoleculares. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.

Junqueira LC, Carneiro J. Histologia básica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

Junqueira LCU, Vilela ASB, Kuchne B, Carvalho ETC, Araújo TH. Considerations on a formative and active method in the teaching of histology. Braz J Morphol Sci. 1998;15:117-23.

Kierszenbaum AL. Histologia e biologia celular uma introdução à Patologia. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda.; 2004.

Recebido em: 17.07.06

Aceito em: 20.10.07

Revista indexada no *Periodica*, índice de revistas Latino Americanas em Ciências <http://www.dgbiblio.unam.mx> (ISSN 1980.959X).

Continuação de: Arquivos da Apadec (ISSN 1414.7149)