



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XVII Jornada de Pesquisa

## ANÁLISE DAS LÂMINAS DE CÂNCER COLORRETAL, DE MAMA E DE OVÁRIO CONFECCIONADAS PELA TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA<sup>1</sup>

**Eliana Aparecida Cadoná<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup> Trabalho de Conclusão de Curso

<sup>2</sup> Aluna do Curso de Ciências Biológicas (elianacadona@yahoo.com.br)

**Resumo:** O conceito de câncer vem sendo discutido a muito tempo, onde os primeiros relatos de casos dessa doença remontam ao século V. O processo cancerígeno está ligado ao ciclo celular. O ciclo celular é a capacidade das células de crescer e se reproduzir. Quando ocorre um erro no ciclo celular o processo de carcinogênese está iniciado. O processo carcinogênico é dividido em três etapas: iniciação, promoção e progressão. A referida pesquisa foi desenvolvida com o intuito de analisar qual a interferência do formol nas peças patológicas, neste caso, câncer colorretal, de mama e de ovário, utilizadas para o estudo.

**Palavras-chave:** Processo cancerígeno; Técnica de Coloração; Lâminas patológicas.

O conceito de câncer e seu processo patológico vem sendo discutido a vários séculos, iniciando a descrição com Hipócrates, no século V. Câncer vem do grego “carcinós” que significa caranguejo, e foi definido por Hipócrates, devido a aparência da doença. Segundo o Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva, a definição de câncer é a seguinte:

Câncer é o nome dado ao conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores ou neoplasias malignas (INCA, 2011).

O processo cancerígeno. No caso das células eucariontes, o processo básico de gênese de novas células obedece a um padrão cíclico que começa com o crescimento celular, determinado por um aumento quantitativo coordenado dos milhares de tipos diferentes de moléculas que a célula possui, inclusive de seu material genético, e culmina com a partição de seu núcleo e citoplasma em duas células-filhas. As células originadas repetem o ciclo e o número de células aumenta exponencialmente. Quando ocorre um erro no ciclo celular, o processo cancerígeno inicia-se. Este sendo dividido em três etapas: a iniciação, a promoção e a progressão.

Iniciação - é o primeiro estágio da carcinogênese. Nele as células sofrem o efeito dos agentes cancerígenos ou carcinógenos que provocam modificações em alguns de seus genes. Nesta fase as células se encontram, geneticamente alteradas, porém ainda não é possível se detectar um tumor clinicamente. Encontram-se "preparadas", ou seja, "iniciadas" para a ação de um segundo grupo de agentes que atuará no próximo estágio.



**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XVII Jornada de Pesquisa

Promoção - é o segundo estágio da carcinogênese. Nele, as células geneticamente alteradas, ou seja, "iniciadas", sofrem o efeito dos agentes cancerígenos classificados como oncopromotores. A célula iniciada é transformada em célula maligna, de forma lenta e gradual. Para que ocorra essa transformação, é necessário um longo e continuado contato com o agente cancerígeno promotor. A suspensão do contato com agentes promotores muitas vezes interrompe o processo nesse estágio. Alguns componentes da alimentação e a exposição excessiva e prolongada a hormônios são exemplos de fatores que promovem a transformação de células iniciadas em malignas.

Progressão - é o terceiro e último estágio e se caracteriza pela multiplicação descontrolada e irreversível das células alteradas. Nesse estágio o câncer já está instalado, evoluindo até o surgimento das primeiras manifestações clínicas da doença.

O presente trabalho apresenta como hipótese a interferência que ocorre nas peças histopatológicas, ao serem retiradas do formol para utilização em aulas práticas, e seus objetivos são focados na revisão bibliográfica deste tema, realizar a comparação macroscópica entre a anatomia normal e patológica (neoplásica); caracterizar o processo de carcinogênese, essencial para entender o câncer como doença complexa; testar a técnica de Hematoxilina-Eosina (HE) no processo de montagem das lâminas permanentes, com peças patológicas, já que uma vez testado o processo não obteve resultados positivos, e a ciência é baseada em repetições.

Para isso nos limitaremos ao estudo específico dos cânceres de colorretal, de mama, de ovário e o leiomioma uterino, sendo estes de incidência preocupante em mulheres. Brevemente serão abordados alguns aspectos clínicos como o que é, os seus respectivos sintomas, e quais os tratamentos mais utilizados.

## METODOLOGIA.

O processo de produção de lâminas está em divididos em sete etapas que são: coleta de material, fixação, desidratação, diafanização, impregnação, inclusão, cortes e coloração. Neste caso, o material já havia sido coletado e fixado.

A seguir, apresentamos um quadro explicativo com as etapas de fixação, desidratação, clareamento, impregnação e inclusão, suas finalidades e durações, sendo a etapa de corte e coloração descrita a seguir.

Fixação em fixador simples ou em mistura fixadora (líquido de Bouin, Helly, etc. Com a finalidade de preservar a morfologia e a composição dos tecidos. Deve ser feito por cerca de 12 horas, dependendo do fixador e do tamanho da peça.

Desidratação em álcool etílico de concentrações crescentes, começando com álcool a 70% e terminando em álcool absoluto. Com a finalidade de remover a água dos tecidos, num período de 6 a 24 horas.

Clareamento ou diafanização em benzol, xilol ou tuluol, solventes do álcool e da parafina. Promove que a peça fique miscível com a parafina. De 1 a 6 horas.

Impregnação pela parafina fundida, geralmente realizada em estufa a 60°C. Para que a parafina penetre nos vasos, nos espaços intercelulares e mesmo no interior das células, impregnando o tecido e tornando mais fácil a obtenção dos cortes no micrótomo. Deve ser realizada de 30 minutos a 6 horas, dependendo do tamanho da peça.





**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XVII Jornada de Pesquisa

Inclusão: a peça é colocada num molde retangular contendo parafina fundida. Com a finalidade de obter o bloco de parafina de forma regular, para ser cortado no micrótomo.

Após 24 horas da inclusão, os blocos vão ao micrótomo, para ser realizados cortes a uma espessura média de 0,6µm.

Para a produção das lâminas deste trabalho, foram utilizados dois grupos, conforme a metodologia utilizada para a montagem dos blocos de parafina, estas serão descritas a seguir, e após a de coloração das lâminas. O grupo dois foi ainda subdividido em outros dois grupos em decorrência de alterações no processo de montagem dos blocos de parafina.

Após a montagem das peças em blocos de parafina, iniciamos o processo dos cortes, com o micrótomo, a uma espessura de 0,6 µm. Com os cortes realizados os mesmos eram separados em água quente, e após iam pelo período de 24 horas para a estufa em 46° C, e daí iniciava-se o processo de coloração das lâminas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Dos dois grupos que foram feitas as lâminas, o primeiro grupo teve que ser excluído do processo, pois ocorreu um desencontro de informações referentes aos tempos de lavagem no xilol.

Do grupo dois, resultaram seis blocos de parafina, sendo divididos em dois com câncer colorretal, dois de mama e dois de ovário, sendo um bloco para cada subgrupo. Os blocos do subgrupo dois foram excluídos do processo, após a montagem, pois por uma falha foi incluído xilol juntamente com a parafina. Ficando ao final três blocos.

Os que restaram trouxeram outra surpresa, ao irem para o corte, pois tanto a parafina como a peça tornaram-se quebradiças. Impossibilitando assim a retirada dos cortes para imersão em banho-maria, e prosseguimento da técnica.

A coloração foi feita com alguns problemas técnicos, e ao final ficaram com boa coloração e visualização no microscópio um total de oito lâminas. Que por sua vez apresentavam alguns artefatos, dobras de tecido e excesso de um dos corantes utilizados.

Ocorreram uma série de falhas durante o processo de lavagem e inclusão das peças que impossibilitaram o corte das mesmas, observando que ao ser colocado no xilol, as peças não se tornavam translúcidas como esperadas como em outros tecidos, e ainda a parafina não ficou inclusa nas peças. Acredito que o tempo de lavagem necessário deve ser maior para que esse processo ocorra.

## CONCLUSÕES.

No bloco utilizado como referência (leiomioma uterino), apesar de apresentar artefatos, dobras de tecidos e coloração em excesso, conseguimos visualizar com clareza os aspectos microscópicos de uma neoplasia - núcleo delimitado por uma cápsula, nucléolos, e delimitação com o tecido normal do referido órgão, como citados em literatura da área.

Toda a técnica utilizada não foi apropriada para peças com as características apresentadas, sugiro para trabalhos futuros, que a técnica de resina pode apresentar melhores resultados, esta se inicia diferentemente da técnica utilizada, e ainda necessita-se de materiais diferentes dos usados.





**Modalidade do trabalho:** Relatório técnico-científico

**Evento:** XVII Jornada de Pesquisa

#### AGRADECIMENTOS.

Aos técnicos de Laboratório Leonardo Francisco Diel e Glaucio Brum Teixeira, pelo auxílio na confecção das lâminas patológicas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

BRASIL, Ministério da Saúde, INCA, 2010. O que é o câncer. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/entendarede/site/home>; acessado em 17/08/2011 às 11:09

JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, José. Histologia Básica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 9ª Ed. 1999, 427 p.