

Uso de técnicas de análise histológica e imunohistoquímica em Odontologia

Technical analysis histological and immunohistochemical in dentistry

*El uso de técnicas histopatológicas y inmunohistoquímicas
en la practica odontologica*

Ellen Cristina **Gaetti Jardim**¹
Gustavo Rodrigues **Manrique**¹
José Carlos Garcia de **Mendonça**²
Ângela **Hanssessian**³
Rosana Mara Giordano de **Barros**⁴

¹*Cirurgião-Dentista Residente do Programa de Residência em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial (CTBMF) do Núcleo de Hospital Universitário "Maria Aparecida Pedrossian" – UFMS*

²*Especialista em CTBMF/ Mestre e Doutor em Ciências da Saúde (CTBMF) pela Faculdade de Medicina da UFMS / Professor Adjunto de CTBMF da FAODO-UFMS/ Coordenador do Programa de Residência em CTBMF do Núcleo de Hospital Universitário "Maria Aparecida Pedrossian" – UFMS*

³*Mestre em Estomatologia/ Professora Estomatologia da FAODO-UFMS*

⁴*Mestre e Doutora em Patologia Bucal/ Professora Associada III da Disciplina de Patologia Bucal da FAODO-UFMS*

Inúmeros são os métodos de detecção e o significado prognóstico deles para com as patologias bucais, sejam elas benignas ou malignas. Deste modo, é objetivo revisar a cerca dos vários métodos de coloração histológica, sobretudo o uso da hematoxilina e eosina e a imunohistoquímica e seu impacto no estadiamento dos pacientes. Para tanto, realizou-se uma revisão de literatura incluindo o tema nas bases de dados: Pubmed, Cochrane, ISI e Dentistry Oral Science nos últimos 20 anos. É indispensável para o clínico entender as manifestações e complicações da doença frente à terapia a ser empregada. A observação de métodos diagnósticos é imprescindível para a instituição de terapêuticas fidedignas e assim um sucesso da terapia.

Palavras chave: Técnicas Histológicas; Microtomia; Coloração e Rotulagem; Imunohistoquímica.

INTRODUÇÃO

Histologia é o ramo da anatomia que estuda os tecidos animais e vegetais. A maioria dos tecidos é formada por células e matriz extracelular. Nesta categoria se enquadram os diferentes tipos de tecidos conjuntivos especializados. cartilagenoso, adiposo, sangüíneo e ósseo além dos tecidos conjuntivo propriamente dito, muscular e nervoso¹.

As estruturas orais podem desenvolver neoplasias benignas e malignas de origens teciduais variadas e o conhecimento das entidades patológicas mais frequentemente encontradas na cavidade oral e de grande importância e interesse para o cirurgião-dentista já que a análise microscópica dos tecidos patológicos é primordial para a definição de um resultado diagnóstico².

Desta feita, inúmeras são as colorações empregadas para análise patológica dos tecidos bucais, dentre as quais a hematoxilina e eosina (HE) enquadram-se como as mais utilizadas. Nas células coradas com HE os ácidos nucleicos presentes no núcleo são corados pela hematoxilina, dando ao núcleo tom azul-púrpura. A eosina é atraída pelos elementos básicos da proteína do citoplasma da célula, corando-o de róseo a vermelho sendo a associação de ambas amplamente utilizadas.

Portanto, núcleos basófilos, bactérias, cálcio e outros são corados pela hematoxilina e o citoplasma eosinófilo e outros tecidos são corados de vermelho pela eosina³.

Outro tipo de análise microscópica enquadra-se a reação imunohistoquímica, que pode ser utilizada nas mais diferentes situações dentro de um laboratório de patologia. As mais importantes são: 1) elucidação do tecido de origem de uma neoplasia indiferenciada; 2) determinação do órgão de origem de uma neoplasia diferenciada; 3) subclassificação de linfomas; 4) pesquisa de fatores prognósticos, terapêuticos e índices proliferativos de algumas neoplasias; 5) identificação de estruturas, organismos e materiais secretados pelas células; 6) detecção de células neoplásicas metastáticas^{4,11}.

Para tanto, é objetivo deste trabalho ressaltar as características das colorações de hematoxilina e eosina e a aplicabilidade da imunohistoquímica para diagnóstico de lesões bucais por meio de uma revisão de literatura.

REVISÃO DE LITERATURA

Muitas são as técnicas utilizadas em histologia e não seria possível, abordá-las separadamente. Sendo assim, algumas técnicas frequentemente utilizadas serão abordadas a seguir de acordo com a sequência: Obtenção da peça a ser examinada (coleta do material), Fixação, Inclusão e Microtomia¹. Sem esquecer que para a análise sob microscopia óptica é necessária a confecção de lâminas delgadas dos tecidos que formam os órgãos. Estas lâminas podem ser permanentes ou

provisórias. A seguir, serão descritas as etapas de confecção de lâminas histológicas permanentes de acordo com¹.

1 Coleta do material

Inicialmente se dá a remoção de pequenos fragmentos do tecido/órgão para que possa ser analisada em um microscópio óptico.

2 Fixação do material

Importante etapa da confecção de uma lâmina histológica, esta etapa consiste na utilização de procedimentos físicos ou químicos para evidenciar multiplicação ou mesmo deterioração das substâncias constituintes das células e dos tecidos, fornecendo maior resistência para suportar as demais etapas, mantendo a arquitetura normal do tecido a ser analisado. O agente de fixação amplamente utilizado é o formol tamponado que fixa as proteínas evitando sua degradação.

O formol, por ser mais acessível e de uso simples, é o fixador mais utilizado nas técnicas histológicas, é confeccionado da seguinte forma de acordo com Junqueira, Junqueira³:

- . Formol (solução a 37% de formaldeído) _ 100ml
- . Água destilada _____ 900ml
- . Fosfato de sódio monobásico _____ 4,0g
- . Fosfato de sódio dibásico (anidro) _____ 6,5g

O tempo de fixação dependerá do tamanho do fragmento do tecido, podendo variar entre 6 e 24h. É recomendado que, sempre que possível, não ultrapasse a 3mm de espessura e se utilize, no mínimo, um volume 20 vezes maior de fixador, em relação ao tecido a ser fixado, para que o material reaja satisfatoriamente. Uma vez fixado, a peça deve ser transferida para álcool 70%, onde poderá permanecer indefinidamente.

3 Inclusão

Este procedimento consiste na impregnação do tecido com uma substância de consistência firme que permita, posteriormente, seccioná-lo em camadas finas, sendo a parafina a mais utilizada para este fim dada a facilidade de uso e resultados satisfatórios. Como ela

não é miscível em água, a primeira etapa da inclusão compreende a desidratação, quando ocorre a retirada da água dos tecidos e a sua substituição por álcool. A diafanização é a etapa seguinte, com a substituição do álcool, agora presente nos tecidos, por xilol. Finalmente, na impregnação, última etapa, o xilol é substituído por parafina fundida a 60° em pequenos blocos. Neste momento a catalogação do bloco é importante para a posterior identificação da peça.

4 Microtomia

Esta fase consiste, em utilizar um micrótomo (Figura 1), aparelho formado por uma lâmina de aço, afiada, e um braço ao qual se prende o bloco e que se desloca verticalmente para obter cortes sucessivos, delgados e uniformes, a partir dos blocos de parafina com as peças incluídas.



Figura 1- Fotografia de um micrótomo para cortes em resina (Retirado de Junqueira, Carneiro¹²)

5 Montagem da lâmina histológica

As fitas obtidas a partir do micrótomo são transferidas para um banho-maria, com o auxílio de uma pinça, para serem distendidas. A água deve estar entre 3° e 8° abaixo do ponto de fusão da parafina utilizada. Nesta etapa, são retiradas as dobras e evitadas as bolhas abaixo da fita. Após a distensão, os cortes são separados individualmente ou em grupos, conforme a conveniência, utilizando-se lâminas de vidro previamente limpas com detergente, estocadas em álcool 80% e previamente secas. Antes da utilização das lâminas, é necessário revestir suas superfícies com uma

fina camada de albumina para facilitar a adesão da peça. Os cortes obtidos podem ser transferidos, inicialmente, para uma estufa onde ficam alguns minutos (não mais que dez minutos) para posteriormente serem colocados em um suporte inclinado. Finalmente, os cortes devem ser depositados em uma estufa a 60° para secagem entre uma e 24 horas.

TÉCNICAS DE COLORAÇÃO DE CORTES HISTOLÓGICOS

A coloração consiste numa etapa essencial para a visualização das estruturas do tecido. Normalmente são utilizados corantes hidrossolúveis, sendo necessário, deste modo, a remoção da parafina da peça que foi preparada nas etapas descritas anteriormente e que permanece na lâmina de vidro. Uma série de corantes pode ser utilizada, mas de acordo Gartner, Hiatt⁷ podem ser agrupados em três classes distintas:

1. Corantes que diferenciam os componentes ácidos e básicos das células;
2. Corantes especializados que diferenciam os componentes fibrosos da matriz extracelular;
3. Sais metálicos que precipitam nos tecidos.

Os corantes mais utilizados nos procedimentos histológicos são a Hematoxilina e a Eosina (HE). A Hematoxilina é uma base que cora, preferencialmente, componentes ácidos das células em um tom de azul escuro. Como os componentes ácidos mais abundantes são o DNA e o RNA, tanto o núcleo, quanto certas partes do citoplasma, se tornam azulados. Esses componentes são chamados de basófilos.

A Eosina, ao contrário, é um ácido que cora as estruturas básicas da célula de rosa. Estas estruturas são abundantes no citoplasma e são chamadas de acidófilas⁷.

Em peça incluída em parafina a retirada da mesma se faz necessário. Esta fase é caracterizada por uma sequência de banhos em xilol, álcool e água, inversamente ao procedimento executado na etapa de inclusão. Segundo Junqueira, Junqueira³, o procedimento é o seguinte:

. 1° Banho de xilol _____ 5min

- . 2º Banho de xilol _____ 2min
- . 3º Banho de xilol _____ 1min
- . Álcool 100% _____ 1min
- . Álcool 95% _____ 1min
- . Álcool 70% _____ 1min
- . Água _____ 2min

Após a hidratação, os cortes são corados de acordo com o procedimento mais apropriado para a análise que será realizada posteriormente. Neste contexto o método da hematoxilina-eosina, por ser o mais utilizado e por ter um resultado final satisfatório será apresentado.

TÉCNICA DA HEMATOXILINA-EOSINA (HE)^{1,12}

a) Material necessário para a solução de Hematoxilina:

- . Hematoxilina _____ 2,5g
- . Álcool 100% _____ 25ml
- . Alúmen de amônio ou potássio _____ 50g
- . Água destilada _____ 500ml
- . Óxido vermelho de mercúrio _____ 1,25g
- . Ácido acético _____ 20ml

Inicialmente, a hematoxilina deve ser dissolvida no álcool e o alúmen seja ele de amônio ou de potássio, na água destilada. Posteriormente, as duas soluções devem ser misturadas e aquecidas até a fervura. O óxido de mercúrio é adicionado à solução que deve ser resfriada, mergulhando-se o frasco em água fria. O ácido acético é então colocado na solução fria para finalmente ser filtrada. O prazo de envelhecimento desta solução é entre dois e três meses. A partir desta data o corante perde suas propriedades e não reage adequadamente com o tecido.

b) Material necessário para a Eosina:

- . Eosina solúvel em água _____ 1g
- . Água destilada _____ 100ml

c) Procedimentos para a coloração:

Embora as etapas possam ser definidas, o tempo em cada fase depende da qualidade e da idade das soluções dos corantes. Deste modo, poderá ser

observada nas etapas abaixo uma variação muito grande em relação ao tempo que pode ser ajustado durante o procedimento no laboratório. De acordo com Junqueira, Junqueira³, as etapas são:

1. Remover a parafina e hidratar os cortes;
2. Corar em hematoxilina entre 5 e 15min;
3. Lavar em água corrente por 10min;
4. Corar em eosina entre 1 e 10min;
5. Lavar em água e desidratar em álcool 70% rapidamente;
6. Diafanizar e montar em resina.

d) Montagem Final da Lâmina:

Este processo consiste em depositar uma gota de resina líquida sobre o corte que está aderido à lâmina de vidro e cobri-lo com uma lamínula. Nesta etapa deve-se evitar as bolhas de ar que se formam na resina durante a colocação da lamínula. Finalmente a lâmina é catalogada. A resina depois de seca garantirá uma lâmina permanente que poderá durar anos (Figura 2).



Figura 2- Aumento de 10x evidenciando as colorações de hematoxilina e eosina

TÉCNICAS UTILIZADAS PARA CONFECCÃO DE LÂMINAS ÓSSEAS

Para a confecção de lâminas ósseas são utilizadas duas técnicas: a primeira consiste no desgaste do osso através do polimento com lixa. Inicialmente, é retirado um fragmento do osso a ser analisado. Esse fragmento é colado com bálsamo do Canadá sobre uma superfície de madeira plana. Em um bloco de madeira é colada uma lixa de granulometria grossa para o primeiro polimento. O polimento final é feito com uma lixa mais fina, com movimentos firmes e no mesmo sentido, até que se tenha obtido uma camada de osso delgada.

O osso é retirado da madeira com xilol e aderido à superfície da lâmina de vidro. Sobre ele é colocada uma lamínula e fixada com resina^{1,13}.

A segunda técnica implica na descalcificação do osso. Este procedimento tem por objetivo retirar o fosfato de cálcio do tecido ósseo para que possa ser seccionado posteriormente. A descalcificação pode ser feita por meio da imersão em ácidos ou compostos quelantes que são os responsáveis pela remoção dos íons metálicos (entre os quais o cálcio), dos tecidos. Uma das fórmulas mais usadas, segundo Junqueira, Junqueira³:

- . Etileno Diamino Tetra Acetato (EDTA) __ 5,5g
- . Água _____ 90ml
- . Formol _____ 10ml

Após a fixação, o material é lavado para retirar o excesso de fixador e transferido para um descalcificador. Não é recomendado utilizar fragmentos maiores do que 3mm de diâmetro. Deve-se usar, no mínimo, 40 vezes o volume do tecido, agitando o frasco várias vezes ao dia e trocando o descalcificador a cada 2 ou 3 dias. Os tecidos descalcificados não devem ser transferidos diretamente ao álcool 70%, e sim, lavados em água corrente por algumas horas. Para a confecção das lâminas histológicas de ossos descalcificados seguem-se as etapas rotineiras citadas anteriormente.

Para a visualização microscópica das lâminas confeccionadas alguns tipos de microscopia podem ser utilizados dentre as quais^{7,14}:

MICROSCOPIA ÓPTICA DE ALTA RESOLUÇÃO

Resolução das estruturas pela microscopia óptica é da ordem de 0,2 micrômetros Na prática histológica em parafina, raramente é inferior a 0,6 micrômetros, o que mesmo assim proporciona um bom resultado visual quatro lentes objetivas que ampliam a imagem em 4, 10 e 40 vezes e uma lente de imersão que amplia a imagem em 100 vezes, onde deve ser utilizado um óleo mineral.

MICROSCOPIA ELETRÔNICA

Nos microscópios ópticos, as lentes focalizam a luz visível (feixe de fótons). Nos microscópios

eletrônicos, os eletromagnetos focalizam um feixe de elétrons. A resolução é cerca de mil vezes maior do que a de um microscópio óptico, podendo ampliar em 150.000 vezes a imagem de um objeto.

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)

A preparação de amostras de tecido para o MET envolve as mesmas etapas básicas da microscopia óptica. Contudo, fixadores especiais (lutaraldeído, paraformaldeído, tetróxido de ósmio e permanganato de potássio) têm sido desenvolvidos, uma vez que as ligações cruzadas entre proteínas devem ser mais finas em função da alta resolução do aparelho além da inclusão também foi desenvolvida uma resina especial, como a resinas epóxi e o bloco resultante não maior do que 1mm³. Os tecidos são corados com metais pesados (urânio ou chumbo) que precipitam nas membranas lipídicas, fazendo com que os elétrons percam parte da sua energia cinética à medida que interagem com o tecido. É feito um registro permanente da imagem resultante, através da substituição de um filme sensível ao elétron no local da placa fluorescente, com a produção de um negativo a partir do qual pode ser impressa uma fotomicrografia em preto e branco.

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Diferentemente da MET, a Microscopia Eletrônica de Varredura é utilizada para observar a superfície de um espécime sólido (ao invés de cortes), proporcionando uma imagem tridimensional. O material é preparado com uma camada de metal pesado como ouro ou paládio, depositado na sua superfície. Conforme o feixe de elétrons varre a superfície do material, alguns se refletem (elétrons de dispersão) e outros são ejetados (elétrons secundários) a partir da cobertura do metal pesado. Estes elétrons são capturados por detectores, interpretados, coletados e mostrados em um monitor com uma imagem tridimensional. A imagem pode ser fotografada ou digitalizada.

INTERPRETAÇÃO DE CORTES HISTOLÓGICOS

Inicialmente se entender o que se está observando é ter em mente que apesar do órgão a ser analisado ser tridimensional, agora está seccionado, preparado, corado e fixado em uma lâmina de vidro então as estruturas, quando cortadas transversalmente, se apresentam de modo distinto de quando cortadas longitudinalmente embora fique evidente que a visualização será em duas dimensões apenas.

IMUNOHISTOQUÍMICA

A imunohistoquímica é uma técnica cada vez mais utilizada tanto em pesquisa quanto em diagnóstico. Sua contribuição no avanço do conhecimento em patologia é inquestionável e, em muitos casos, indispensável para um diagnóstico.

A imunohistoquímica surgiu com as pesquisas em imunopatologia que começaram na década de 1940. Só a partir de 1974, quando foi possível demonstrar alguns antígenos tissulares pela técnica de imunoperoxidase em tecidos fixados em formalina e incluídos em parafina, é que a imunohistoquímica foi aceita como um método simples e prático na rotina diagnóstica de patologia cirúrgica^{5,8,9,10,15}.

O desenvolvimento de anticorpos monoclonais, que propiciaram uma enorme fonte de reagentes altamente específicos para a demonstração de vários antígenos tissulares ou celulares, e o advento da recuperação antigênica foram fatos marcantes na evolução da imunohistoquímica⁵. Houve tal avanço na contribuição e na aplicação da imunohistoquímica na patologia cirúrgica que o fenômeno passou a ser conhecido como a revolução marrom do laboratório de histopatologia⁸.

Devem ser observadas todas as etapas de processamento do material, uma vez que este pode servir de instrumento a pesquisas futuras. Inicialmente, as peças precisam ser seccionadas em fragmentos não superiores a 1 cm, de modo a permitir uma fixação

homogênea garantindo que não ocorram variações na preservação das proteínas celulares ou ácidos nucléicos.

Quanto à etapa de fixação, afirma-se que o fixador mais comumente utilizado é a formalina neutra tamponada 10%, com a vantagem de ter um baixo custo e ser comprovadamente um bom fixador de tecidos.

Para uma perfeita fixação com essa solução, um dos aspectos a ser observado é o pH da formalina, capaz de afetar o tipo de reação cruzada que ocorrerá no tecido. Dessa forma, é conveniente o emprego da formalina neutra tamponada. Tanto o tamanho do fragmento quanto o tipo de fixador são determinantes ao perfeito processamento histológico⁸.

Quanto à importante etapa da técnica imunohistoquímica que é a recuperação antigênica, vários métodos, como recuperação com enzimas proteolíticas, uso de forno de microondas, panela de pressão, panela a vapor, autoclave, ultra-som e métodos químicos, enfatizando que a escolha deles depende do tecido e do anticorpo primário são utilizados (Figura 3).



Figura 3- Expressão de proteína p53 (coloração acastanhada). Extraído de Pinho¹⁶

Levando-se em conta a imunohistoquímica vem ganhando um grande destaque nos laboratórios de patologia, sobretudo no tocante a facilitação no diagnóstico de determinadas patologias, a mesma de acordo com os trabalhos de Pinho¹⁶ e Pereira¹⁷ segue tais etapas:

1. Definição da doença a ser estudada;
2. Levantamento bibliográfico a respeito das proteínas mais frequentemente envolvidas na fisiopatologia biomolecular da doença em questão.
3. Escolha da proteína a ser estudada;
4. Obtenção dos reagentes específicos para sua análise por imunistoquímica;
5. As amostras teciduais são descalcificadas quando se faz menção a estruturas ósseas, em ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA) a 5%, por 3 meses. Em seguida, as secções teciduais são incluídas em parafina e cortadas em micrótomo, a aproximadamente 5 µm de espessura. Para o processamento imunohistoquímico são utilizados como anticorpos primários e a detecção pode ser por imunoperoxidases e a utilização de um cromógeno a fim de possibilitar a visualização em nível microscópico;
6. As células positivas para as proteínas analisadas são avaliadas qualitativamente por meio de microscópio óptico com objetivas de aumento 16X e 20X. Parte das amostras teciduais seccionadas são coradas com HE servindo como referência para a citoarquitetura dos cortes processados pela imunistoquímica;
7. Definição de um protocolo de avaliação dos pacientes;
8. Correlação entre os resultados da imunistoquímica e os respectivos achados clínicos.

Com o passar do tempo, os sistemas de detecção foram aprimorados, de modo a tornarem-se cada vez mais sensíveis e menos sujeitos a reações cruzadas. A escolha do sistema de detecção empregado pode estar relacionada a custos; no entanto, não devemos esquecer que determinados marcadores exigem sistemas especiais. A técnica imunohistoquímica continua sendo aprimorada e otimizada, e ainda resultará em muitos avanços na solução de problemas clínicos. A técnica imunohistoquímica é sensível a vários fatores capazes de interferir nos resultados. É fato que é uma técnica que deve ser utilizada com muito critério, tanto para diagnóstico quanto para pesquisa, e que cada laboratório

deve empenhar-se para conseguir os resultados mais fiéis para cada anticorpo e material empregado.

DISCUSSÃO

A importância do conhecimento da Patologia Bucal pelo clínico e por outros especialistas reside no fato de que, quando na presença de doenças do complexo buco-maxilo-facial onde procedimentos de citopatologia e anatomia patológica serão requisitados, a coleta e conseqüente preservação e encaminhamento das amostras ao laboratório sejam feitos dentro de critérios técnicos adequados e acompanhados de informações clínicas que funcionarão como subsídio para o diagnóstico. Várias doenças bucais e até condições sistêmicas podem ser diagnosticadas através de exame anátomo-patológico. Assim, o diagnóstico resultará de uma atuação orquestrada do cirurgião-dentista requisitante e do patologista bucal, além de outros profissionais que atuarem em outros exames complementares.

Neste sentido, apesar da técnica de hematoxilina-eosina ser clássica, básica, dicrômica e geral, uma vez que possui dois corantes: hematoxilina, que cora todos os núcleos de todas as células, e eosina, que cora o citoplasma de todas as células, atua de forma inespecífica.

Deste modo é evidente que desde a sua introdução, na década de 70, as publicações científicas com aplicações da imunohistoquímica em patologia cirúrgica aumentaram significativamente. Esse fato apenas reflete a posição que a imunohistoquímica hoje ocupa em um laboratório de patologia cirúrgica, ou seja, a de técnica complementar indispensável na resolução de certos problemas de diagnóstico diferencial formulados nas lâminas coradas com a coloração básica de rotina de HE^{4,-9,10,18-25}.

Leong, Wright⁸, patologistas australianos, escreveram o primeiro artigo que avalia a contribuição da imunohistoquímica na área de diagnóstico de tumores. Segundo os autores, a imunohistoquímica foi particularmente de grande auxílio nos diagnósticos

diferenciais entre linfoma anaplásico e carcinoma, e na identificação de melanoma amelanótico; além disso, a escolha de um painel de anticorpos baseado nos diagnósticos presumidos nas lâminas coradas em HE é de grande ajuda para a diferenciação de tumores de células anaplásicas e fusiformes. Já para Werner et al.,¹¹ a imunohistoquímica rendeu um diagnóstico específico em 693 casos, ou 83%; a imunohistoquímica diminuiu o número de diagnósticos diferenciais, auxiliando parcialmente o patologista em 103 casos, ou 12%; e a imunohistoquímica não contribuiu para a conclusão diagnóstica em 39 casos, ou 5%. Isso significa que em 95% dos casos nos quais o patologista está diante de um caso de diagnóstico difícil nas lâminas coradas em HE, a imunohistoquímica pode ajudá-lo a firmar se não o diagnóstico correto pelo menos um diagnóstico apropriado.

Além de todo cuidado técnico necessário para que as reações imunohistoquímicas sejam de qualidade e possam ser interpretadas de maneira correta pelo patologista, a fase de escolha dos anticorpos a serem testados, após a análise da lâmina corada em HE, é igualmente importante^{6,26}. Rudiger et al.,²⁷ testaram a proficiência de 172 patologistas nos quesitos qualidade de reações imunohistoquímicas dos seus laboratórios e capacidade de interpretação dos resultados para a composição de um diagnóstico final adequado. Apenas 57% dos casos enviados aos patologistas retornaram com os diagnósticos finais corretos, e a baixa sensibilidade de algumas reações não foi relacionada com os erros diagnósticos. Os autores concluem que não é a qualidade das reações, mas a escolha dos anticorpos, a interpretação das colorações e a integração dos resultados imunohistoquímicos ao diagnóstico suscitado nas lâminas coradas em HE que são importantes para a formulação de um diagnóstico final pertinente. Tal fato nos leva a crer que a imunohistoquímica é eficaz quando há uma escolha direcionada do painel de anticorpos e este último fator é extremamente dependente da experiência do patologista.

Quando correlacionamos os resultados obtidos com a imunohistoquímica na decisão do tipo de tratamento a ser oferecido ao paciente Wick et al.,²⁸ em comparação com os obtidos pelo método de HE, são enfáticos em citar que a imunohistoquímica apresenta-se fundamental quando é usada para identificar agentes infecciosos e definir a linhagem celular de origem da neoplasia. Corroborados por Leong, Wright⁸ que citam que a mesma apresenta relação custo/benefício positiva, mas que as reações devem sempre ser interpretadas com cautela, levando em conta os achados morfológicos das lâminas coradas em HE e os dados clínicos.

Raab²⁰ como também citado por Werner et al.,²⁹ prova que mesmo se a imunohistoquímica custasse cinco a dez vezes mais, ainda assim traria grandes vantagens no seu uso, embora ainda seja pouco explorada, em detrimento do HE²⁴ o percentual de casos do laboratório que foram submetidos a reações imunohistoquímicas foi de 0,73% (todos casos de biópsias), apontando a diligência na indicação da técnica.

CONCLUSÃO

Considerando tudo o que foi exposto, é lícito crer que a técnica imunohistoquímica é sensível a vários fatores capazes de interferir nos resultados. Consolidase como uma ferramenta complementar e não essencial para o exercício da patologia cirúrgica.

ABSTRACT

There are countless methods of detection and prognostic significance to these pathologies mouth, whether benign or malignant. Review about various methods of staining histology, particularly the use of hematoxylin and eosin and immunohistochemistry and its impact on the staging of patients. For this there was a literature review including the issue on the basis of data: Pubmed, Cochrane, and ISI Science in Dentistry Oral last 20 years. It is indispensable to understand the clinical manifestations and complications of disease before therapy to be employed. Thus, observation of diagnostic methods is essential for the institution and thus a reliable therapeutic success of therapy.

Keywords: Histological Techniques; Microtomy; Staining and Labeling; Immunohistochemistry.

RESUMEN

Existen innumerables métodos de detección son numerosos, y la importancia pronóstica para ellos con las patologías orales, ya sea benigno o maligno. Por lo tanto, es opinión objetiva acerca de los diversos métodos de tinción histológicos, especialmente el uso de hematoxilina y eosina e inmunohistoquímica y su impacto en la puesta en escena de los pacientes. Por lo tanto, se realizó una revisión bibliográfica sobre el tema, incluyendo bases de datos: PubMed, Cochrane, Odontología y Ciencias oral ISI en los últimos 20 años. Es esencial para comprender las manifestaciones clínicas y complicaciones de la enfermedad frente a la terapia de ser empleados. La observación de los métodos de diagnóstico es imperativo para la institución y por lo tanto un éxito terapéutica confiable de la terapia.

Palabras clave: Técnicas Histológicas; Microtomía; Coloración y Etiquetado; Inmunohistoquímica.

REFERENCES

1. Timm LL. Técnicas rotineiras de preparação e análise de lâminas histológicas. Caderno La Salle XI. 2005; 2:231-9.
2. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Patología oral e maxilofacial. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
3. Junqueira LCU, Junqueira LMMS. Técnicas básicas de citología e histología. São Paulo: Ed. Santos; 1983.
4. Alves VAF, Bacchi CE, Vassallo J. Manual de inmunohistoquímica. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patología; 1999.
5. Bodey B. The significance of immunohistochemistry in the diagnosis and therapy of neoplasms. Expert Opin Biol Ther. 2002; 2: 371-93.
6. Jaffer S, Bleiweiss IJ. Beyond hematoxylin and eosin: the role of immunohistochemistry in surgical pathology. Cancer Invest. 2004; 22: 445-65.
7. Gartner LP, Hiatt JL. Tratado de histología. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
8. Leong ASY, Wright J. The contribution of immunohistochemical staining in tumor diagnosis. Histopathol. 1987; 11:1295-305.
9. Rosai J. Special techniques in surgical pathology. In: Ackerman's surgical pathology. 8. ed. Nova York: Mosby-Year Book; 1996.
10. Taylor CR, Cote RJ. Major problems in pathology. 2 ed. Nova York: WB Saunders; 1994. v. 19 (Immunomicroscopy: a diagnostic tool for the surgical pathologist).
11. Werner M, Chott A, Fabiano A, Battifora H. Effect of formalin tissue fixation and processing on immunohistochemistry. Am J Surg Pathol. 2000; 24:1016-9.
12. Junqueira LC, Carneiro J. Histología básica. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1995.
13. Amaral DM, Mendonça, OV, Laurino LB. Patología ósea: fundamentos. São Paulo: BYK; 1994.
14. Stevens A, Lowe J. Histología. São Paulo: Manole; 1995.
15. Swanson PE. Hieranarchy: the state of the art in immunohistochemistry. Am J Clin Pathol. 1997; 107:139-40.
16. Pinho MSL. Imunoistoquímica: o estudo da biología molecular ao alcance de todos. Rev bras Coloproct. 2005;25:188-191.
17. Pereira CCS. Avaliação comparativa da viabilidade celular imediata após osteotomia para implantes com fresas e piezocirurgia em tíbias de coelhos. Análise imunoistoquímica. [dissertação]. Faculdade de Odontologia de Araçatuba. 2010.
18. Hsi ED. A practical approach for evaluating new antibodies in the clinical immunohistochemistry laboratory. Arch Pathol Lab Med. 2001;125: 289-94.
19. Nadji M. Immunoperoxidase techniques: facts and artifacts. Am J Dermatopathol. 1986; 8: 32-6.
20. Raab SS. The cost-effectiveness of immunohistochemistry. Arch Pathol Lab Med. 2000; 124:1185-91.
21. Rickert RR, Maliniak RM. Intralaboratory quality assurance of immunohistochemical procedures. Recommended practices for daily application. Arch Pathol Lab Med. 1989; 113: 673-9.
22. Schmitt FC. Utilidade dos métodos imuno-histoquímicos para o diagnóstico anatomopatológico. Rev Hosp Clin Facul Med São Paulo. 1991;46: 26-30.
23. Taylor CR. The total test approach to standardization of immunohistochemistry. Arch Pathol Lab Med. 2000; 124: 945-51.
24. Torres LFB, Noronha L, Telles JE. A importância da imuno-histoquímica no diagnóstico anatomopatológico em hospital geral: análise de 885 casos. J Bras Patol Lab Med. 1995; 31:28-34.
25. Torres LFB. A contribuição da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica: experiência de 10 anos. Rev Med Paraná. 1998; 56: 31-8.
26. Chan JK. Advances in immunohistochemistry: impact on surgical pathology practice. Sem Diagn Pathol. 2000; 17: 170-7.
27. Rudiger T, Hofler H, Kreipe HH, Nizze H, Pfeifer U, Stein H, et al. Quality assurance in immunohistochemistry: results of an interlaboratory trial involving 172 pathologists. Am J Surg Pathol. 2002; 26: 873-82.

28. Wick MR, Ritter JH, Swanson PE. The impact of diagnostic immunohistochemistry on patient outcomes. Clin Lab Med. 1999; 19: 794-814.
29. Werner B. Uso prático da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica. J Bras Patol Med Lab. 2005; 41: 353-64.

Correspondência

Ellen Cristina Gaetti Jardim

Rua Uricuri, 475 Vila Olinda
Campo Grande – MS - CEP: 79060-040