
Lípidos

Prof. Carina Ladeira

Maio de 2008

Lípidos

- Os lípidos podem ser definidos como substâncias que podem ser extraídas dos tecidos através de solventes orgânicos como o xilol e a etanol e são insolúveis em água
 - São constituintes normais dos tecidos e encontram-se armazenados no tecido adiposo como fonte de energia
 - Encontram-se usualmente combinados com carboidratos em glicolípidos ou com proteínas em lipoproteínas
-

Classificação dos lípidos

Lípidos não conjugados	Lípidos conjugados
Ácidos gordos livres	<i>Ésteres</i> Ésteres de colesterol, triglicéridos
Colesterol livre	<i>Fosfolípidos</i> Lecitinas baseadas em glicerol, cefalinas (fosfoglicéridos) e plasmalogénios
	<i>Baseado em Esfingosina</i> Esfingomielina, cerebrosídeos, gangliosídeos

Características dos lípidos

- As propriedades da superfície dos lípidos é muito importante para a sua demonstração
 - **Lípidos hidrofílicos** – lípidos que possuem afinidade para absorção de água, são miscíveis na água
 - **Lípidos hidrofóbicos** – lípidos que repelem a água e assumem uma forma globular ou em micélo em ambiente aquoso
-

Características dos lípidos

- Existem lípidos que são líquidos à TA
 - Alguns lípidos hidrofóbicos, em particular, ácidos gordos, são cristalinos à TA
 - Os triglicéridos e os ácidos são lípidos monorrefringentes
 - Os fosfolípidos, cerebrosídeos, esfingomielina, colesterol livre e esterificado são birrefringentes
 - Nota: **Refringência** é a dificuldade oferecida por um meio material à passagem da luz em seu interior. Quanto mais refringente for o meio, maior dificuldade a luz terá para atravessá-lo, e conseqüentemente menor será sua velocidade.
-

Técnicas de evidenciação de lípidos

Método	Lípidos
Bromine-Sudan black	Todos os lípidos
Sudan black, oil red O	A maioria dos lípidos
Sulfato azul do Nilo	Lípidos ácidos e neutros
Ácido Copper Rubeânico	Ácidos gordos livres
Ácido perclórico - naftoquinona	Colesterol e éstres livres
Ultravioleta Schiff	Lípidos insaturados
Tetróxido de ósmio	Lípidos insaturados
Lipase cálcio	triglicéridos
Hemateína ácida	Maioria dos lípidos ácidos
Hidróxido de sódio – hemateína ácida	esfingomiéline
Reacção plasmal	Fosfolípidos plasmalogénios
PAS modificado	cerebrosídeos
Copper orcinol	Gangliosídeos

Aplicação diagnóstica

- Desordens do armazenamento lípidico
 - Ateroma da aorta
 - Pnevmonia lípidica (provocada por aspiração de material lípidico da cavidade oral)
 - Determinados tumores com constituição lípidica
 - Xantoma da pele
 - Tecoma do ovário
 - Adenocarcinoma renal maligno
 - Adenocarcinoma adrenal e cortical
 - Liposarcoma
-

FIXAÇÃO DOS LÍPIDOS

- De forma a prevenir a dissolução dos lípidos durante o processamento histológico é necessário que os tecidos que possuem estes na sua constituição estejam congelados – **fixação por congelamento em azoto líquido**
- Os cortes obtêm-se por criotomia



Corantes solúveis em óleo

Generalidades

- São substâncias mais solúveis em lípidos do que nos seus solventes (isopropanol, propileno glicol, álcool a 70%, acetona)
 - A maioria não é considerada um verdadeiro corante, uma vez que não possuem grupo auxócromo, mas possuem cromogénio
 - A exceção é o Sudan black que possui grupo amino como auxócromo
 - Ex. de corantes solúveis em óleo: Sudan brown, blue ou green; Oli red O, blue NA e brown D
-

Corantes solúveis em óleo

Contraste

- O contraste destas técnicas apresenta problemas porque a maioria dos corantes difundem-se em meios aquosos
 - No caso dos Sudan blue e black apresentam grandes problemas porque o contraste recomendado (carmalum) requer longos períodos de coloração e, mesmo assim, cora os núcleos de forma fraca
 - Uma alternativa possível passa pela utilização da técnica de Feulgen que cora DNA antes de corar com Sudan black
-

SUDAN BLACK

- Lillie (1954) introduziu uma etapa de “brominação” de forma a diminuir a solubilidade dos lípidos insaturados em solventes orgânicos
 - “*Brominação*”- imersão em solução aquosa de Brometo
 - Bayliss & High (1990) verificaram que após brominação apenas os fosfolípidos eram selectivamente corados
 - Estas modificações providenciaram um método fácil e sensível para evidenciar todas as classes de lípidos
-

SUDAN BLACK

Protocolo

1. Imersão em solução aquosa de brometo
 2. Lavagem em água
 3. Tratamento com Metabissulfito de sódio
 4. Lavagem em água destilada
 5. Álcool a 70%
 6. Solução saturada de Sudan black em álcool a 70%
 7. Remoção do excesso por álcool a 70%
 8. Contraste (Carmalum)
-

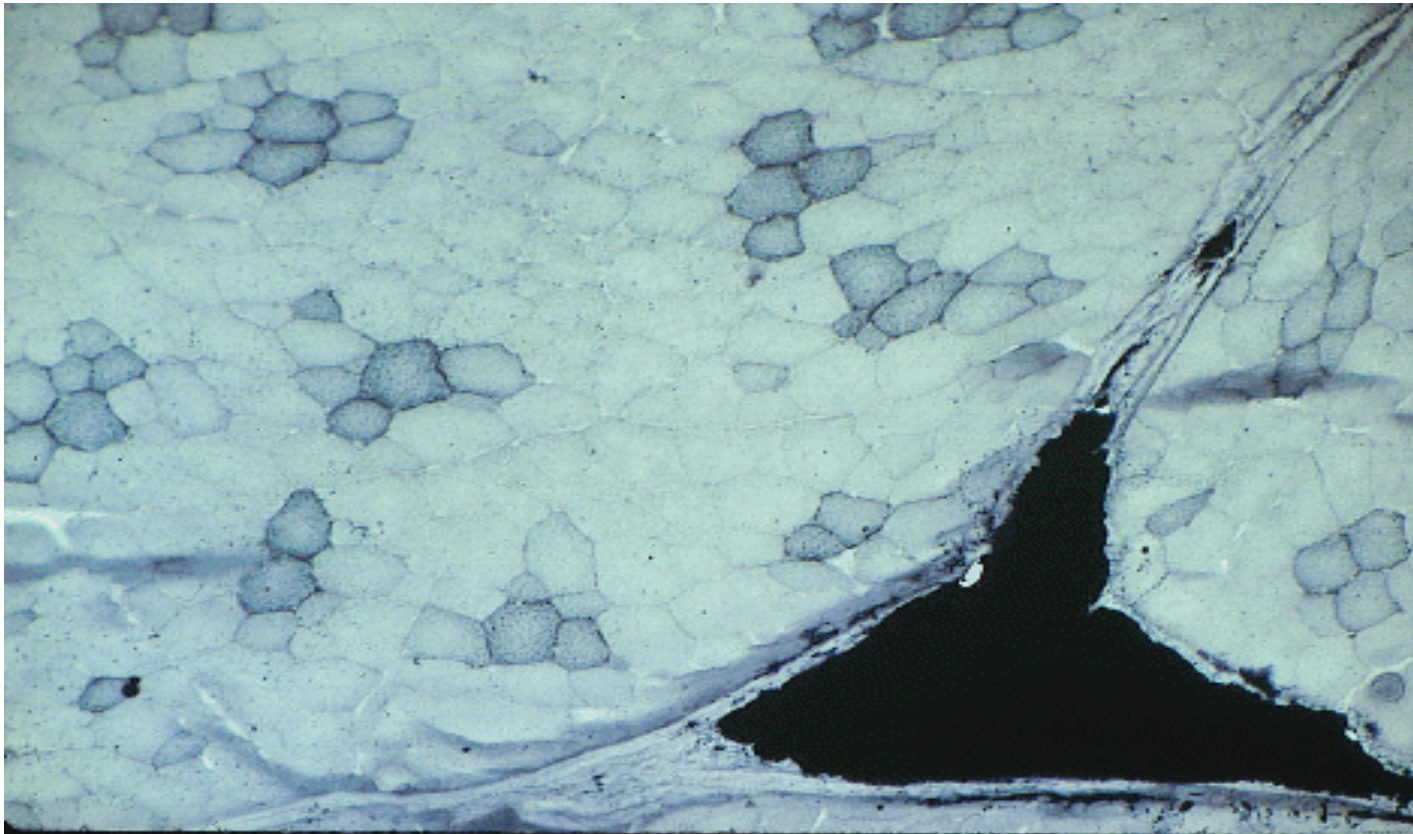
SUDAN BLACK

Resultados

- Lípidos insaturados, ésteres de colesterol, triglicéridos, alguns fosfolípidos, **lecitina, ácidos gordos livres e colesterol** – azul a preto
 - **Núcleos** – rosa pálido
-

SUDAN BLACK

Resultados



OIL RED O

- French, 1926, Lillie & Ashburn, 1943
 - Modificação por Pearse para evidenciação de lípidos neutros
 - A cor vermelha conferida por esta técnica, torna-a como uma das mais populares na evidenciação de lípidos
-

OIL RED O

Princípio

É um método físico de coloração, devendo obedecer aos seguintes pressupostos:

- O corante deve ser mais solúvel no tecido lípidico do que no solvente onde está dissolvido
 - Não deve ser solúvel em água
 - Deve corar fortemente
-

OIL RED O

Protocolo

1. Solução de Oil red O
 2. Lavagem em água corrente
 3. Hematoxilina de Harris ou Mayer (com Ácido acético)
-

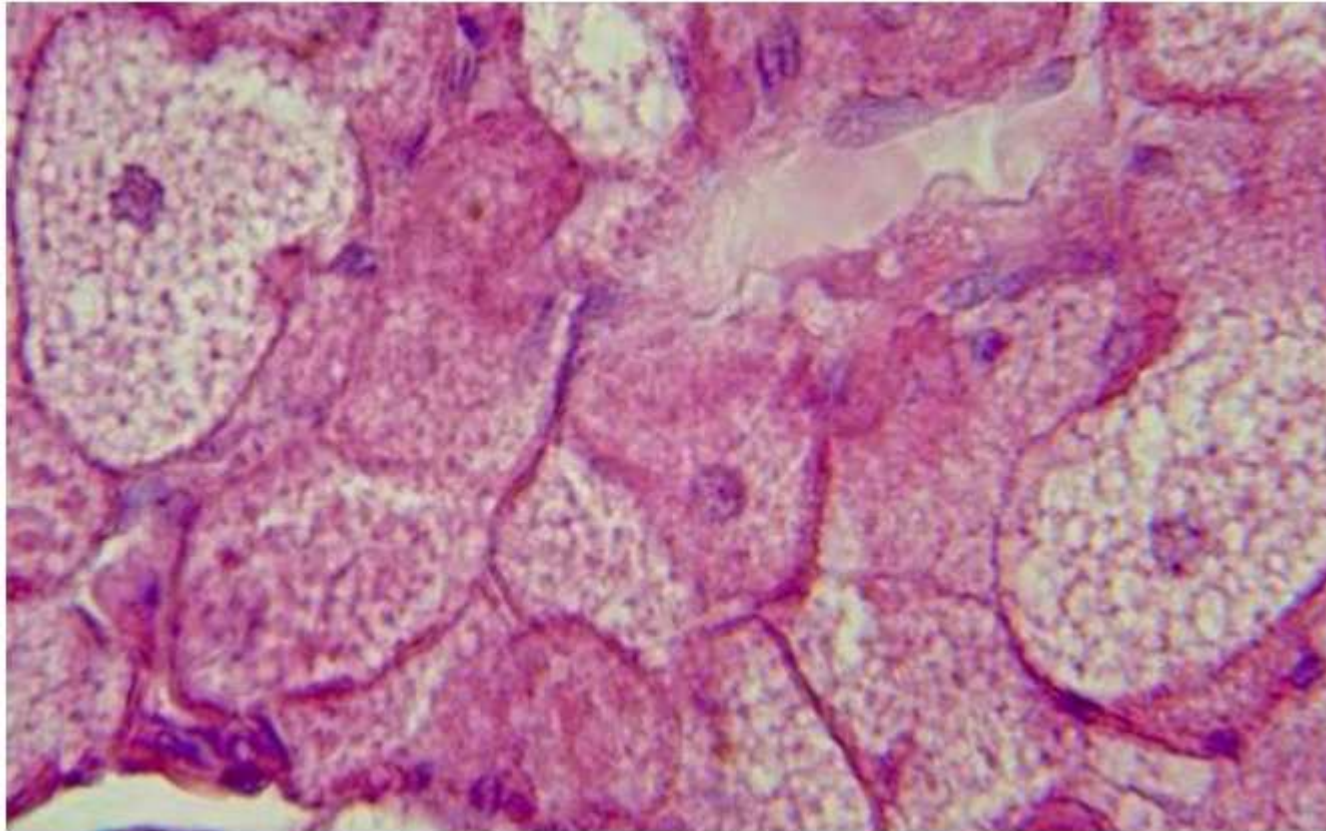
OIL RED O

Resultados

- Lípidos hidrofílicos insaturados, cerebrosídeos, triglicéridos, ésteres de colesterol– vermelho
 - Fosfolípidos - rosa
 - **Núcleos** – azuis
-

OIL RED O

Resultados



TETRÓXIDO DE ÓSMIO

- A utilização do Tetróxido de ósmio para demonstração de lípidos é provavelmente uma das técnicas mais antigas
 - Quimicamente o Tetróxido de ósmio combina-se com os lípidos, tornando-os pretos
 - Os lípidos que se encontram combinados com o Tetróxido de ósmio são insolúveis em álcool e xilol, podendo o tecido ser processado e incluído em parafina – técnica do Tetróxido de ósmio em cortes de parafina
-

TETRÓXIDO DE ÓSMIO

- O Tetróxido de ósmio torna os ácidos gordos insaturados e os seus ésteres, como o Ácido oléico de cor preta
 - Para a demonstração de lípidos saturados o tecido deve ser tratado com etanol
 - Nora: Relembrar a toxicidade do Tetróxido de ósmio
-

TETRÓXIDO DE ÓSMIO

Protocolo

1. Solução de Tetróxido de ósmio a 1%
2. Colocar num recipiente protegido da luz
3. **Ácido periódico**

No caso da Técnica do Tetróxido de ósmio em cortes de parafina

TETRÓXIDO DE ÓSMIO

Resultados

- Lípidos insaturados – preto
- Fundo – amarelo a castanho claro



RESUMO

- Caracterização
 - Aplicação diagnóstica
 - Sudan black
 - Oil Red O
 - Tetróxido de ósmio
-