

TÉCNICAS HISTOLÓGICAS DE ANÁLISE DO COLÁGENO TECIDUAL: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

HISTOLOGICAL TECHNIQUES FOR TISSUE COLLAGEN ANALYSIS: AN INTEGRATIVE REVIEW

Gabriela Botelho Martins¹; Ana Paula Araújo Teixeira¹; Hortência Resende dos Santos Della Cella¹

¹ Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Bahia, Brasil.

Resumo

Introdução: O colágeno é a proteína mais abundante dos tecidos conjuntivos, essencial para integridade estrutural, cicatrização e remodelação. Alterações em sua deposição associam-se a diversas patologias. Técnicas histológicas, com uso das colorações de Tricrômico de Masson e Sirius Red, permitem identificar fibras colágenas e compreender processos fisiológicos e patológicos nos tecidos. **Objetivo:** Sintetizar as principais técnicas histológicas utilizadas na análise do colágeno tecidual descritas na literatura. **Materiais e métodos:** Revisão integrativa da literatura, realizada por busca bibliográfica, em maio de 2024, nas bases SciElo, Lilacs e PubMed. Foram incluídos artigos publicados, entre 2019 e 2023, que cumpriram os critérios de seleção previamente definidos. **Resultados:** 4578 registros foram identificados. Destes, 25 artigos foram elegíveis para análise. Houve um maior número de estudos publicados em 2020, com predomínio da língua inglesa. O modelo de estudo e tecido da amostra se apresentaram heterogêneos nas publicações. Relativo à natureza da técnica histológica, a maioria dos autores utilizou de análise conjunta, seguida, respectivamente, da morfometria e morfologia. As colorações teciduais mais empregadas foram Sirius Red, seguida do Tricrômico de Masson. **Conclusão:** Observou-se uma considerável diversidade quanto ao tipo de amostra, tecido avaliado e método de análise, sem um predomínio ou preferência clara.

Palavras-Chave: Colágeno; Histologia; Técnicas de Avaliação.

Abstract

Introduction: Collagen is the most abundant protein in connective tissues, essential for structural integrity, healing, and remodeling. Alterations in its deposition are associated with various pathologies. Histological techniques, using Masson's Trichrome and Sirius

Red stains, allow the identification of collagen fibers and understanding of physiological and pathological processes in tissues. **Objective:** To summarize the main histological techniques used in tissue collagen analysis described in the literature. **Materials and methods:** Integrative literature review, conducted through a bibliographic search in May 2024 in the SciELO, Lilacs, and PubMed databases. Articles published between 2019 and 2023 that met the previously defined selection criteria were included. **Results:** 4,578 records were identified, of which 25 were eligible for analysis. A greater number of studies were published in 2020, with a predominance in English. The study design and sample tissue were heterogeneous across publications. Regarding the nature of the histological technique, most authors used conjoint analysis, followed by morphometry and morphology, respectively. The most commonly used tissue stains were Sirius Red, followed by Masson's Trichrome. **Conclusion:** There was considerable diversity in the sample type, tissue evaluated, and analysis method, with no clear predominance or preference.

Keywords: Collagen; Histology; Assessment Techniques.

Recebido em: 22-03-2025

Publicado em: 07-04-2026

Autor correspondente

Gabriela Botelho Martins

Endereço: Laboratório de Bioquímica Oral do Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia.

Avenida Reitor Miguel Calmon s/n, Vale do Canela, 4º andar, sala 413, CEP 40110-100, Salvador, BA, Brasil.

Email: gabrielabm@ufba.br

1. Introdução

Os tecidos conjuntivos desempenham um papel essencial na manutenção da integridade estrutural e funcional de órgãos e sistemas no corpo humano. Esses tecidos são compostos por diferentes tipos de células e uma matriz extracelular rica, que contém fibras proteicas e moléculas da substância fundamental essenciais para a arquitetura e funcionalidade dos tecidos. Entre as fibras presentes na matriz extracelular, o colágeno destaca-se como a proteína mais abundante e de maior relevância estrutural. O colágeno é

responsável por proporcionar resistência aos tecidos, que está associada ao empacotamento compacto das cadeias alfa na hélice tripla, além de participar de processos biológicos vitais, como cicatrização de feridas, regeneração tecidual e remodelamento em resposta a injúrias ou doenças.^{1,2}

O colágeno está presente em quase todos os tipos de tecidos conjuntivos, incluindo derme, tendões, ligamentos, cartilagem, ossos, vasos sanguíneos e na matriz intersticial de vários órgãos. Sua distribuição contribui para a função específica e a estrutura de cada tecido,

ajustando-se conforme as necessidades biomecânicas e estruturais locais. Na derme, por exemplo, o colágeno é essencial para a resistência, enquanto nos ossos, confere força.^{3,4} O colágeno também compõe a membrana basal, oferecendo suporte estrutural e facilitando a comunicação celular.^{3,4}

Apresenta-se em diversas formas, como fibras, fibrilas e redes, dependendo do tipo e da função tecidual. O colágeno fibrilar, principalmente o tipo I, é o mais comum e está organizado em feixes longos e resistentes, predominando na pele (derme), tendões e ossos. Já o colágeno tipo III, também fibrilar, está presente em órgãos ricos em vasos sanguíneos, como fígado e baço, nestes proporciona suporte estrutural e mantém a integridade dos tecidos.^{5,6}

Na cicatrização de feridas, o colágeno tipo III é inicialmente depositado para formar uma matriz provisória que permite a infiltração celular e o reparo tecidual. Com o tempo, esse colágeno é substituído pelo tipo I, que confere maior resistência mecânica à área reparada.⁷ Alterações na síntese, deposição ou remodelação do colágeno estão associadas a várias condições patológicas, como fibrose, cirrose hepática, doenças cardiovasculares e processos tumorais. Em condições de fibrose, a superprodução e acúmulo de colágeno levam à rigidez e perda de função dos tecidos. Em contraste, a degradação excessiva dessa proteína pode resultar em fraqueza tecidual e maior suscetibilidade a lesões.⁸

O colágeno não apenas mantém a integridade estrutural dos tecidos, mas também desempenha um papel fundamental na sinalização celular, regulação de processos inflamatórios e remodelamento tecidual. Sua presença e

variações são indicadores importantes de processos patológicos, além de ser fundamental em diagnósticos e prognósticos de diversas condições clínicas.⁶

Para a análise de colágeno em estudos histológicos, diversas técnicas de coloração são utilizadas, cada uma com propriedades específicas para destacar a organização e a quantidade de fibras de colágeno em diferentes tipos de tecido. A coloração de Tricrômico de Masson permite diferenciar colágeno de outros componentes teciduais, é útil para identificar a extensão e o padrão de deposição de colágeno em situações patológicas, como na fibrose.⁹ Já a técnica de *Sirius Red*, quando associada à microscopia de polarização, é amplamente utilizada para evidenciar fibras colágenas, distinguindo entre colágeno tipo I e III com base na birrefringência.¹⁰

Essas técnicas de coloração são essenciais para avaliar a deposição e remodelação do colágeno em condições normais e patológicas, oferecendo informações sobre o estado de saúde e a qualidade dos tecidos. A análise histológica do colágeno auxilia na compreensão de processos como cicatrização e fibrose, além de ser um indicador importante na avaliação prognóstica de doenças.^{9,10} Portanto, o presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão integrativa da literatura para sintetizar as principais técnicas histológicas na análise de colágeno tecidual descritas nas publicações científicas atuais.

2. Metodologia

Este trabalho consiste em uma revisão integrativa da literatura, que é um

delineamento utilizado para coletar, identificar, analisar e sintetizar publicações relacionadas a um assunto específico.¹¹

SELEÇÃO DA AMOSTRA

A seleção da amostra deu-se por meio do acesso às bases de dados: *Scientific Electronic Library Online* (SciELO) e *US National Library of Medicine* (PubMed), no mês de maio de 2024.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Como critério de inclusão, foram selecionadas publicações originais, em português ou inglês, de 2019 a 2023 (cinco anos), utilizando os descritores relacionados ao colágeno em combinação com técnicas de coloração e métodos de avaliação, aplicados com o operador booleano AND: “Collagen AND Picrosirius Red OR Trichrome Stain; Collagen AND Evaluation Reports; Collagen AND Critique; Collagen AND Critiques; Collagen AND Effectiveness; Collagen AND Theoretical; Collagen AND Evaluation Index; Collagen AND Evaluation Methodologies; Collagen AND Evaluation Methodology; Collagen AND Evaluation Report; Collagen AND Evaluation Research; Collagen AND Evaluation; Collagen AND Qualitative; Collagen AND Quantitative; Collagen AND Evaluations; Collagen AND Indexes; Collagen AND Methodologies; Collagen AND Methodology”.

Os critérios de exclusão foram estabelecidos para artigos que não abordassem a natureza da técnica de análise tecidual do colágeno ou que não a indicasse de forma clara, artigos não acessíveis gratuitamente na íntegra, além de documentos do tipo capítulos de livros, teses, dissertações, cartas aos

editores e todos os tipos de revisões, fossem elas narrativas, integrativas, de escopo ou sistemáticas.

ANÁLISE DOS ARTIGOS

Os artigos localizados nas bases de dados foram selecionados por dois avaliadores independentes (HRSDC e APAT), que avaliaram os títulos e resumos das publicações identificadas, aplicando os critérios de elegibilidade. Em situações de incerteza ou desacordo, um terceiro revisor foi consultado para decidir se o estudo deveria ser incluído ou não (GBM).

3. Resultados

Foi identificado um total de 4578 registros a partir das buscas, 612 pelo SciELO e 3966 pelo PubMed. Após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, 40 registros foram selecionados para leitura do resumo, e destes, 30 eleitos para a leitura completa. Ao final, foram incluídas 25 referências completas que estavam relacionadas ao tema e cumpriram os critérios de seleção previamente definidos. A Figura 1 ilustra o processo de seleção dos artigos, enfatizando o uso das palavras-chave de busca e a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão conforme delineado na metodologia, seguindo os princípios da estratégia PRISMA 2020.¹²

Os quadros 1, 2 e 3 incluem informações como ano de publicação, idioma, autoria, amostra, tecido avaliado, coloração empregada na análise do colágeno, a técnica de análise (morfológica, morfométrica ou ambas) e a metodologia utilizada na análise do colágeno.

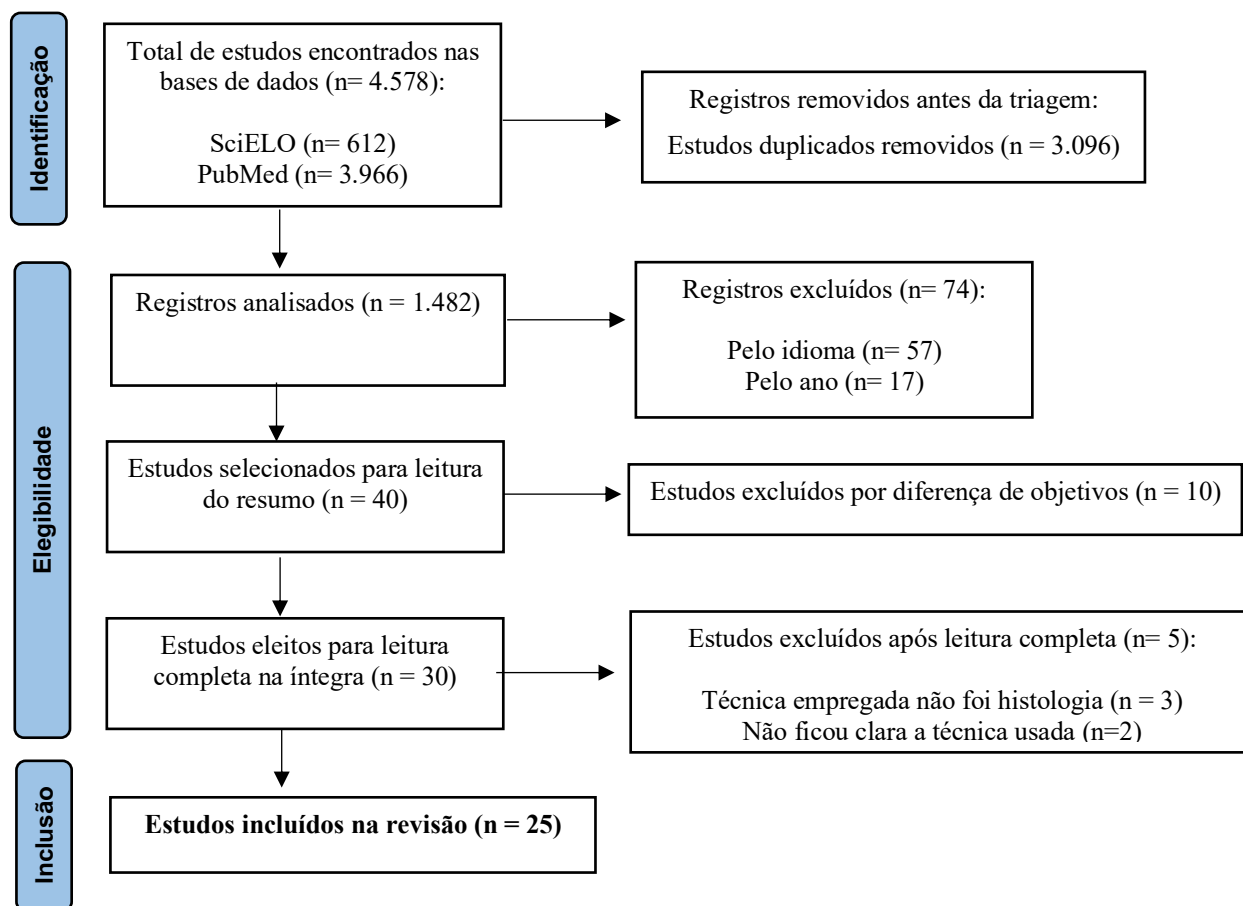


Figura 1 - Fluxograma de seleção e inclusão dos artigos adaptado do *Preferred Reporting Items for Systematic review and Meta-Analyses*.¹²

Quadro 1 - Artigos incluídos na revisão integrativa sobre as técnicas histológicas de análise morfológica do colágeno.

Autor/Ano/Idioma	Amostra/modelo de estudo	Tecido avaliado	Coloração para análise do colágeno	Metodologia para análise do colágeno
Garcia et al ¹³ , 2023, Português	12 ratos <i>Wistar</i>	Região de furca do primeiro molar inferior esquerdo	Sirius red	Microscópio de luz polarizada, para descrição do comportamento das fibras colágenas periodontais na região interradicular
Martini et al ¹⁴ , 2023, Inglês	30 dentes caninos humanos saudáveis	Dentina radicular	Tricrômico de Masson e Sirius red	Microscópio de luz polarizada, para avaliação microscópica da integridade das fibras colágenas, por escores.

Silva et al ¹⁵ , 2023, Inglês	16 ratos <i>Wistar</i> machos	Dorso dos animais a partir da borda de mini prótese e profundidade abaixo do plano muscular, incluindo o músculo panículo carnosos	Hematoxilina-Eosina e Sirius red	Microscopia de luz para avaliação descritiva da deposição de colágeno
Benedik et al ¹⁶ , 2020, Português	07 mulheres (mamas irradiadas e não irradiadas em um mesmo paciente)	Tecido capsular e músculo peitoral maior foram colhidas na região de maior retração cicatricial na mama irradiada; e na porção inferomedial próximo ao sulco submamário da mama não irradiada	Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Masson	Microscopia de luz: avaliados aspectos quantitativos (por escore) e qualitativos (descritivo) da derme, panículo adiposo e cápsula do implante.
Lassaigne et al ¹⁷ , 2020, Inglês	19 cães adultos	Tendões do tubérculo maior do úmero	Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Masson	Microscopia de luz: descrição das fibras de colágeno

Fonte: autoria própria (2024).

Quadro 2 - Artigos incluídos na revisão integrativa sobre as técnicas histológicas de análise morfométrica do colágeno.

Autor/Ano/Idioma	Amostra/modelo de estudo	Tecido avaliado	Coloração para análise do colágeno	Metodologia para análise do colágeno
Berger et al ¹⁸ , 2021, Inglês	60 ratos <i>Wistar</i>	Margem costal pósteroinferior, na linha média	Sirius red	Microscópio de luz polarizada: Porcentagem de colágeno tipo I e III
Flores et al ¹⁹ , 2021, Inglês	11 pacientes com peri-implantite	Tecido mole peri-implantar	Tricrômico de Masson	Quantificação de fibras de colágeno, que foi expressa como uma porcentagem da

				área total avaliada
Zhang et al ²⁰ , 2021, Inglês	20 pacientes com HCV submetidos a transplante de fígado	Biópsias de 05 diferentes regiões geográficas de fígados cirróticos	Tricrômico de Masson	Quantificação de toda a área de fibrose por porcentagem (machine learnig)
Pereira et al ²¹ , 2021, Inglês	08 cutias machos (8 meses de idade) e 08 preás-amarelos machos (8 meses de idade)	Margem da orelha	Tricrômico de Gomori	Densidade das fibras de colágeno através de porcentagem da área do colágeno, a partir da microscopia de luz
Barbosa et al ²² , 2020, Inglês	24 ratos <i>Wistar</i> machos	Dorso cutâneo	Sirius red	Avaliação de densidade das fibras de colágeno por birrefringência (luz polarizada)
Bi X et al ²³ , 2020, Inglês	09 pacientes com HOCM submetidos à cirurgia do septo ventricular	Miocárdio septal	Tricrômico de Masson	Determinação da fração de volume do colágeno, a partir extensão da fibrose miocárdica
Miles et al ²⁴ , 2020, Inglês	29 pacientes com morte não cardíaca	Análise de 06 regiões do coração	Sirius red	Quantificação da porcentagem de colágeno
Rezende et al ²⁵ , 2020, Português	24 coelhos brancos machos	Pele na região das linhas médias dorsal torácica e lombar	Sirius red	Microscópio de luz: Cálculo da área e a porcentagem de colágeno presente em cada ferida Microscópio eletrônico: diâmetro (nm) e densidade das fibrilas de colágeno (μm^2)

Bedoya et al ²⁶ , 2019, Português	08 equinos machos	Pele	Sirius red	Quantificação de colágeno por segmentação de cor e por contagem de pontos (391, 588 e 792 pontos de interseção)
Stasi et al ²⁷ , 2019, Inglês	Pacientes com doença hepática crônica relacionada ao HCV	143 amostras de biópsia hepática	Sirius red	Porcentagem da área total e de colágeno
Costa et al ²⁸ , 2019, Inglês	24 cães	Pele	Tricrômico de Masson e Sirius red	Porcentagem de deposição do colágeno cutâneo por área de campo. Utilização de luz polarizada para o sirius red

Fonte: autoria própria (2024).

Quadro 3 - Artigos incluídos na revisão integrativa sobre as técnicas histológicas, com associação de análises morfológicas e morfométricas do colágeno.

Autor/Ano/Idioma	Amostra/modelo de estudo	Tecido avaliado	Coloração para análise do colágeno	Metodologia para análise do colágeno
Dantas et al ²⁹ , 2023, Inglês	75 ratos <i>Wistar</i> machos	Dorso da língua dos ratos	Sirius red	Morfologia: descrição do padrão de deposição e a espessura das fibras colágenas Morfometria: porcentagem da área total de colágeno em relação à área total do tecido
Bhadravathi et al ³⁰ , 2023, Inglês	50 pacientes com lesões odontogênicas	Epitélio e conjuntivo da lesão	Sirius red	Morfologia: birrefringência por luz polarização correspondente à maturação das fibras Morfometria: medida da espessura do feixe de colágeno
Jordão et al ³¹ , 2022, Inglês	40 mulheres adultas saudáveis	Região pré-auricular próxima à inserção capilar	Sirius red	Morfologia: microscópio de luz polarizada com diferenciação entre fibras de colágeno tipo I e III, e de fibras novas e antigas Morfometria: quantificação das fibras colágenas

Carvalho-Júnior et al ³² , 2021, Inglês	12 coelhos adultos machos	Dorso	Sirius red	Morfologia: microscopia de luz polarizada identificando a presença de fibras de colágeno tipo I e tipo III Morfometria: densidade média dos dois tipos diferentes de fibras de colágeno
Casagrande et al ³³ , 2021, Inglês	34 ratos <i>Wistar</i> machos	Tendão de Aquiles	Hematoxilina-Eosina e Sirius red	Morfologia: microscópio óptico, com pontuação aritmética final da cicatrização, com descrição da organização da matriz extracelular Morfometria: porcentagem de área ocupada pelas fibras vermelhas e amarelas (colágeno I) e verdes (colágeno III), com luz polarizada
Leite et al ³⁴ , 2020, Português	60 ratos machos	Dorso	Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Gomori	Morfologia: microscopia de luz, com análise por escore (deposição de matriz extracelular) Morfometria: determinação da densidade das fibras colágenas neoformadas
Sanz-Martín et al ³⁵ , 2019, Inglês	20 pacientes	Palato e área da tuberosidade	Tricrômico de Masson e Sirius red	Morfologia: microscopia de luz, com análise descritiva Morfometria: porcentagem da área de colágeno
Simões et al ³⁶ , 2019, Inglês	20 fetos humanos	Articulação do quadril	Tricrômico de Masson, Sirius red e Safranina-O	Morfologia: microscópio de luz polarizada, para distinção das fibras colágenas Morfometria: percentual da densidade da matriz extracelular
Cunha et al ³⁷ , 2019, Inglês	60 ratos <i>Wistar</i> machos adultos	Dorso	Tricrômico de Masson e Sirius red	Morfologia: microscopia de luz polarizada, diferenciação entre fibras de colágeno tipo I e III Morfometria: densidade óptica da área ocupada pela deposição de colágeno

Fonte: autoria própria (2024).

A amostra incluiu 25 artigos originais (5 em português, 20 em inglês), distribuídos entre 2019 e 2023: seis (24%) em 2019,

sete (28%) em 2020, seis (24%) em 2021, um (4%) em 2022 e cinco (20%) em 2023. Sete estudos analisaram

especificamente o colágeno, enquanto 18 o utilizaram apenas metodologicamente.

Os modelos foram heterogêneos: tecidos humanos (n=11), ratos (n=8), coelhos (n=2), cães (n=2), equino (n=1), preá (n=1) e cutias (n=1). Os tipos de tecidos avaliados incluíram língua, região de furca do primeiro molar, dentina, dorso, tecido epitelial e tecido conjuntivo de lesões odontogênicas, região pré-auricular, margem costal, pele, tendões, tecidos moles peri-implantados, margem da orelha, fígado, tecido capsular, coração, palato, tuberosidade e articulação de quadril (Quadros 1, 2 e 3).

A distribuição dos estudos em relação à natureza da técnica, incluiu a análise morfológica (Quadro 1), a análise morfométrica (Quadro 2), e 9 foram mistos, no qual utilizaram morfologia e morfometria (Quadro 3).

A coloração mais usada para avaliação do colágeno foi a Sirius Red, seguida do Tricrômico de Masson. As descrições das colorações utilizadas pelos autores podem ser encontradas nos quadros descritivos (Quadro 1, 2 e 3). Os Quadros também descrevem as metodologias empregadas para análise morfológica e morfométrica do colágeno.

No geral, a técnica morfológica baseou-se em realizar a descrição das fibras do colágeno, e diferenciar os tipos das fibras através das cores, a partir da birrefringência de luz polarizada. A técnica da morfometria mostrou uma maior diversidade de aplicações, a partir da avaliação do cálculo da porcentagem da área de ocupação do colágeno em relação ao tecido, seja por segmentação de cor a partir dos *softwares* automatizados ou por contagem de pontos a partir de grades com pontos de inserção. Apesar de não estar evidente na

metodologia de todos os estudos que avaliaram a densidade das fibras de colágeno, geralmente essa análise acontece por birrefringência, que determina a fração de volume do colágeno.

4. Discussão

O colágeno, principal componente da matriz extracelular dos tecidos conjuntivos, desempenha um papel crucial na estrutura e funcionalidade dos tecidos.^{38,39} A realização desta revisão integrativa sobre técnicas histológicas de análise do colágeno tecidual se justifica pela importância crescente da análise do colágeno em diversas áreas das ciências biológicas e médicas, especialmente no contexto do reparo tecidual, doenças fibrosantes e engenharia tecidual, as quais fornecem informações valiosas sobre a organização, densidade e tipos de fibras colágenas.⁴⁰

A importância desta revisão está em proporcionar uma visão ampla sobre as técnicas histológicas atualmente empregadas na análise do colágeno tecidual, por meio da integração das evidências científicas disponíveis.

O estabelecimento da análise da literatura científica no período dos últimos cinco anos, ou seja 2019 a 2023, nas línguas portuguesa e inglesa, se deu no intuito de identificar as tendências emergentes, novas abordagens e avanços metodológicos, numa perspectiva internacional sobre as práticas atuais de análise histológica do colágeno.

Como observado nos resultados apresentados, os estudos selecionados apresentaram grande heterogeneidade nos modelos de estudos e nos tipos de

tecidos avaliados, o que está diretamente ligado à variabilidade biológica disponível, questões metodológicas e aos objetivos específicos do estudo. Embora Silva *et al.*, (2020)⁴¹, destaque que há um debate acirrado acerca da necessidade de políticas públicas que estimulem o desenvolvimento e a adoção de técnicas alternativas ao uso de animais na esfera do ensino, pesquisa e indústria, é válido ressaltar que a utilização de diferentes tipos de tecido e de regiões anatômicas amplia a representatividade e a validade dos achados. Essa abordagem aumenta a solidez científica das conclusões e sua aplicabilidade em cenários clínicos diversos, promovendo avanços no entendimento e no manejo de condições biológicas e patológicas.⁴²

Quanto às colorações mais empregadas atualmente para análise do colágeno nas técnicas histológicas, se destacam Tricrômico de Masson e *Picrosirius*, ou Sirius Vermelho,^{43,44,45} devido à sua capacidade de visualizar o colágeno com maior precisão.²⁸ Isso justifica os resultados desta revisão, no qual, nos estudos avaliados, teve-se o maior emprego da coloração de Sirius Red, seguida da Tricrômica de Masson.

Embora esses dois corantes possuam boa afinidade para fibras de colágeno devido às interações base-ácido⁴⁴, a principal diferença entre as colorações de Sirius Red e o Tricrômico de Masson reside na especificidade das fibras de colágeno que cada uma demonstra.⁴⁵ O Sirius Red tem uma maior afinidade por colágeno fibrilar, particularmente os tipos I e III, devido à sua estrutura química alongada que proporciona um contraste mais específico para essas fibras, já que presença de aminoácidos básicos nas moléculas do colágeno reagem fortemente com esse corante ácido, o que promove maior

birrefringência.^{46,47}

Por outro lado, o Tricrômico de Masson se baseia no uso de corantes em soluções ácidas, envolvendo etapas específicas: coloração dos núcleos com hematoxilina; coloração dos citoplasmas com um corante vermelho; diferenciação dos tecidos com o uso de ácido fosfotúngico ou fosfomolibdico para promover contraste; e coloração final das fibras colágenas com azul ou verde.⁴⁸ No entanto, ainda que o Tricrômico de Masson tenha a capacidade de corar uma variedade de componentes da matriz extracelular, ele não é tão específico para os distinguir os tipos de colágeno.²⁸ Além disso, as colorações tricrômicas mostram uma tendência a desbotamento.²⁸

De acordo com Montes e Junqueira (1991)⁴⁶, embora outras colorações tenham sido utilizadas ao longo do tempo, ficou evidente que elas apresentam limitações na intensidade da coloração gerada, o que pode resultar em insuficiência na marcação das estruturas e prejudicar a análise do colágeno.

As técnicas morfológicas e morfométricas são amplamente utilizadas na análise do colágeno, e proporcionam abordagens complementares para avaliar sua distribuição e quantidade em diferentes tecidos. A técnica morfológica consiste em métodos qualitativos que utilizam colorações histológicas específicas, como o Sirius Red para identificar e visualizar as fibras colágenas por meio de microscopia, revelando aspectos estruturais e organizacionais do colágeno no tecido. Tratando-se da técnica morfométrica, esta é quantitativa e envolve o processamento digital de dados ou estatística de imagens

histológicas, permitindo a mensuração de parâmetros como a densidade, área e volume ocupado pelo colágeno no tecido estudado, fundamental para correlações mais precisas em estudos comparativos e experimentais.⁴⁹

A análise morfométrica faz a utilização de ferramentas digitais como o plugin *OrientationJ* para *ImageJ/FIJI*, que permite uma análise automatizada e padronizada das propriedades isotópicas e de orientação das fibras colágenas. Essa abordagem reduz a subjetividade da análise manual, ampliando a confiabilidade dos resultados.⁵⁰ Ademais, os resultados apontam para a heterogeneidade dos modelos de estudo e tipos de tecido analisados, desde tecidos humanos até modelos animais, essa variabilidade de metodologias é fundamental para aumentar a generalização dos achados e promover avanços significativos na compreensão do papel do colágeno em condições normais e patológicas.^{41,42}

Embora não tenha sido o objetivo da presente revisão analisar e discutir quais tipos de *softwares* foram utilizados nos estudos selecionados, diversos foram citados: *ImageJ*, *ZEN 2*, *ImagePro Plus*, *Halo*, *Gimp2*, *Visiopharm*, *NIS-Elements*, *Axiovision*, *Zeiss KS300* e *ImageTool*. Essa diversidade dificulta a comparação de resultados, visto as diferenças nas versões e configurações de cada *software*, além das múltiplas técnicas de análise utilizada. A informação, no entanto, é interessante para aqueles que pretendem escolher um método de análise futura.

Em relação às técnicas utilizadas para a análise do colágeno vistas neste estudo, observou-se que os resultados encontrados reforçam a importância da combinação de técnicas morfológicas e

morfométricas para a análise do colágeno tecidual, permitindo uma compreensão mais abrangente de sua organização estrutural e funcional em diferentes contextos. Adicionalmente, a predominância do uso das colorações Sirius Red e Tricrômico de Masson nos estudos analisados demonstra a robustez dessas técnicas na caracterização do colágeno.^{45,46,47}

O uso combinado das técnicas de análises morfológicas e morfométricas, observada na maioria dos estudos incluídos (44%), demonstra um avanço significativo. De acordo com Costa *et al.*, (2019)²⁸ e Sharum *et al.*, (2021)⁴⁵, a integração de descrições qualitativas e quantitativas precisas fornece uma visão mais detalhada das alterações estruturais teciduais, especialmente em condições de cicatrização e fibrose. A microscopia de luz polarizada é, frequentemente, empregada nessas técnicas, e fundamental para evidenciar variações no padrão de birrefringência e na orientação das fibras colágenas.^{43,51}

Como limitação do presente estudo, embora esta revisão da literatura apresente uma série de informações relevantes, a considerável heterogeneidade nos parâmetros analisados, a saber: amostra, tecido, coloração, metodologia, e aqui também se inclui o tipo de *software*, a partir das evidências científicas dificulta determinar uma técnica de maior precisão para o emprego da análise do colágeno tecidual.

A combinação de técnicas morfológicas e morfométricas, aliada ao emprego de tecnologias de análise digital, torna-se essencial para estudos sobre colágeno, contribuindo para uma abordagem mais abrangente e detalhada das interações teciduais em diferentes contextos

biológicos.

5. Conclusões

Com base na análise realizada nesta revisão integrativa, baseada apenas em artigos originais, ficou evidente a falta de padronização das técnicas histológicas e histoquímicas para análise de colágeno tecidual. Embora a maior parte da amostra tenha sido composta por estudos em humanos, observou-se uma considerável diversidade quanto ao tipo de amostra, tecido avaliado e método de análise, sem um predomínio ou preferência clara.

Dessa forma, há de se considerar a complexidade metodológica na abordagem para a avaliação do colágeno tecidual, e por isso, a sumarização das técnicas encontradas a partir deste artigo permite que seja possível uma maior disseminação de conhecimento permitindo uma melhor escolha por outros autores em pesquisas futuras.

6. Declaração de conflito de interesses

Os autores afirmam não possuir conflitos de interesse que pudessem influenciar o desenvolvimento do estudo.

7. Referências

1. NELSON DL, COX MM. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2014. p. 127-130.
2. HONVO G, LENGELÉ L, CHARLES A, REGINSTER JY, BRUYÈRE O. **Role of Collagen Derivatives in Osteoarthritis and Cartilage Repair: A Systematic Scoping Review With Evidence Mapping**. *Rheumatol Ther*. 2020;7(4):703-40. doi: 10.1007/s40744-020-00240-5.
3. FRANTZ C, STEWART KM, WEAVER VM. **The extracellular matrix at a glance**. *J Cell Sci*. 2010;123(24):4195-200. doi: 10.1242/jcs.023820.
4. RICARD-BLUM S. **The collagen family**. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2011;3(1):a004978. doi: 10.1101/cshperspect.a004978.
5. KADLER KE, CHU ML, GALLAGHER JT, RUMMEL RL. **Collagens at a glance**. *J Cell Sci*. 2007;120(12):1955-8. doi: 10.1242/jcs.03453.
6. SHOULDERS MD, RAINES RT. **Collagen structure and stability**. *Annu Rev Biochem*. 2009;78:929-58. doi: 10.1146/annurev.biochem.77.032207.120833.
7. CAMPOS ACL, BORGES-BRANCO A, GROTH AK. **Cicatrização de feridas**. *Arq Bras Cir Dig*. 2007;20(1):51-8. doi: 10.1590/S0102-67202007000100010.
8. WESTERGREN-THORSSON G, LARSEN K, NIHLBERG K, ANDERSSON-SJÖLAND A, HALLGREN O, MARKO-VARGA G, et al. **Pathological airway remodelling in inflammation**. *Clin Respir J*. 2010;4(1):1-8. doi: 10.1111/j.1752-699X.2010.00190.x.
9. BANCROFT JD, GAMBLE M. **Theory and practice of histological techniques**. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2008.
10. JUNQUEIRA LC, BIGNOLAS G, BRENTANI RR. **Picosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections**. *Histochem J*. 2015;47(1):45-8. doi: 10.1007/BF01002772.
11. MENDES KDS, SILVEIRA RC de CP, GALVÃO CM. **Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de**

evidências na saúde e na enfermagem. Rev Latino-Am Enfermagem. 2008;17(4):758-64. doi: 10.1590/S0104-07072008000400018.

12. PAGE MJ, MCKENZIE JE, BOSSUYT PM, BOUTRON I, HOFFMANN TC, MULROW CD, et al. **The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews.** BMJ. 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71.

13. GARCIA ME, FARIA F de L, DAL OCA COSTA SILVA B, ERVOLINO E, NOVAES VCN, TORO LF. **Avaliação do comportamento das fibras colágenas periodontais durante a progressão da periodontite experimental em ratos.** Rev Odontol UNESP. 2023;52:e20230011. doi: 10.1590/1807-2577.01123.

14. MARTINI GR, BORTOLUZZI EA, MINAMISAKO MC, BORDIGNON NCT, RODRIGUES PM, GONDAK R. **Impact of radiotherapy on the morphological and compositional structure of intra-radicular dentin.** Braz Dent J. 2023;34(1):45-51. doi: 10.1590/0103-6440202305101.

15. SILVA CF, FELZEMBURGH VA, VASCONCELOS LQ, NUNES VLC, BARBOSA JÚNIOR AA, GIGLIOTI AF, et al. **Histomorphological evaluation of acellularized bovine pericardium in breast implant coverage.** Braz J Biol. 2023;83:e276220. doi: 10.1590/1519-6984.276220.

16. BENEDIK A, DIAS RCS, CAMPOS AC, CASTRO COP, CAMMAROTA MC, DAHER JC. **Comparação histológica entre mamas irradiadas e não irradiadas em reconstrução mamária.** Rev Bras Cir Plást. 2020;35(1):44-51. doi: 10.5935/2177-1235.2020RBCP0008.

17. LASSAIGNE CC, BOYER C, SAUTIER L, TAEYMANS O. **Ultrasound of the normal canine supraspinatus tendon:**

comparison with gross anatomy and histology. Vet Rec. 2020;186(17):e14. doi: 10.1136/vr.105552.

18. BERGER R, RIBAS FILHO JM, MALAFAIA O, NASSIF PAN, SILVA EN, SILVA ABD da, et al. **Histological evaluation of capsules formed by texturized silicone implants with and without polyester mesh coverage (Parietex®). A study on female rats.** Acta Cir Bras. 2021;36(5):e360505. doi: 10.1590/ACB360505.

19. FLORES V, VENEGAS B, DONOSO W, ULLOA C, CHAPARRO A, SOUSA V, et al. **Collagen Quantification in Peri-implant Soft Tissues in Human Peri-Implantitis Lesions.** Int J Morphol. 2021;39(3):683-7. doi: 10.4067/S0717-95022021000300683.

20. ZHANG X, SCHIANO TD, DOYLE E, BRANCH AD, FLORMAN S, FIEL MI. **A comparative study of cirrhosis sub-staging using the Laennec system, Beijing classification, and morphometry.** Mod Pathol. 2021;34(12):2175-82. doi: 10.1038/s41379-021-00881-z.

21. PEREIRA AF, AQUINO LVC, NASCIMENTO MB, BEZERRA FVF, BORGES AA, PRAXEDES ÉA, et al. **Ultrastructural and morphometric description of the ear skin and cartilage of two South American wild histricognate rodents (*Dasyprocta leporina* and *Galea spixii*).** Pesq Vet Bras. 2021;41:e06775. doi: 10.1590/1678-5150-PVB-6775.

22. BARBOSA LS, PARISI JR, VIANA LC, CARNEIRO MB, SILVA JRT, SILVA ML, et al. **The photobiomodulation (658, 830 and 904nm) on wound healing in histomorphometric analysis.** Fisioter Mov. 2020;33:e003318. doi: 10.1590/1980-5918.033.AO18.

23. BI X, YANG C, SONG Y, YUAN J, CUI J,

- HU F, et al. **Quantitative fragmented QRS has a good diagnostic value on myocardial fibrosis in hypertrophic obstructive cardiomyopathy based on clinical-pathological study.** BMC Cardiovasc Disord. 2020;20(1):298. doi: 10.1186/s12872-020-01590-2.
24. MILES C, WESTABY J, STER IC, ASIMAKI A, BOARDMAN P, JOSHI A, et al. **Morphometric characterization of collagen and fat in normal ventricular myocardium.** Cardiovasc Pathol. 2020;48:107224. doi: 10.1016/j.carpath.2020.107224.
25. REZENDE RS, EURIDES D, ALVES EGL, VENTURINI GC, ALVES RN, FELIPE RL. **Análise ultraestrutural do colágeno de feridas cutâneas de coelhos tratadas com plasma rico em plaquetas de equino.** Arq Bras Med Vet Zootec. 2020;72(3):827-35. doi: 10.1590/1678-4162-11035.
26. BEDOYA SAO, SOUZA MV, CONCEIÇÃO LG, VILORIA MIV, VALENTE FL, LOURES FH, et al. **Quantificação do colágeno dérmico equino por duas técnicas morfométricas: contagem de pontos e segmentação de cor.** Arq Bras Med Vet Zootec. 2019;71(3):761-9. doi: 10.1590/1678-4162-10487.
27. STASI C, TSOCHATZIS EA, HALL A, ROSENBERG W, MILANI S, DHILLON AP, et al. **Comparison and correlation of fibrosis stage assessment by collagen proportionate area (CPA) and the ELF panel in patients with chronic liver disease.** Dig Liver Dis. 2019;51(7):1001-7. doi: 10.1016/j.dld.2018.12.005.
28. COSTA GM, ARAUJO SL, XAVIER JÚNIOR FAF, MORAIS GB, SILVEIRA JAM, VIANA DA, et al. **Picrosirius red and Masson's trichrome staining techniques as tools for detection of collagen fibers in the skin of dogs with endocrine dermatopathologies.** Cienc Anim Bras. 2019;20:e55398. doi: 10.1590/1089-6891v20e-55398.
29. DANTAS JBL, FORTUNA T, DELLA CELLA HR, SILVA FLMSD, SANTANA RC, MARTINS GB. **Evaluation of the effect of Matricaria recutita monotherapy or in combination with photodynamic therapy on tissue repair in the dorsum of the tongue of rats.** J Appl Oral Sci. 2023;31:e20230211. doi: 10.1590/1678-7757-2023-0211.
30. BHADRAVATHI SD, NATARAJAN S, BOAZ K, LEWIS AJ, PALLAM NK, MANAKTALA N. **Variability in the Epithelial Expression of Ki67 and Polarization Characteristics of Collagen in Odontogenic Cysts and Tumours.** Pesqui Bras Odontopediatria Clín Integr. 2023;23:e220019. doi: 10.1590/pboci.2023.065.
31. JORDÃO JM, STOLIAR MFF, MELO SS, de CAMPOS GLM, de FORVILLE MESQUITA LA, SKARE TL. **Low-fluence and low-density CO2 laser: histological analysis of collagen fiber changes in skin and its clinical repercussions in photorejuvenation.** Lasers Med Sci. 2022;37(2):905-11. doi: 10.1007/s10103-021-03330-0.
32. CARVALHO-JUNIOR JC, ZANATA F, ALOISE AC, FERREIRA LM. **Acellular dermal matrix in skin wound healing in rabbits – histological and histomorphometric analyses.** Clinics (Sao Paulo). 2021;76:e2066. doi: 10.6061/clinics/2021/e2066.
33. CASAGRANDE SM, BIONDO-SIMÕES MLP, IOSHII S, ROBES RR, BIONDO-SIMÕES R, BOENO BR. **Histological evaluation of the effect of low-frequency electric stimulation on healing Achilles tendons in rats.** Acta Cir Bras.

2021;36(1):e360103. doi:
10.1590/ACB360103.

34. LEITE AGB, ESTEVÃO LRM, SILVA CJFL, LIMA JLS, BULHÕES AAVC, SOARES EBA, et al. **Avaliação morfo-histológica e morfo-histométrica de feridas cutâneas tratadas com *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski em ratos.** Arq Bras Med Vet Zootec. 2020;72(6):2211-22. doi: 10.1590/1678-4162-11785.

35. SANZ-MARTÍN I, ROJO E, MALDONADO E, STROPPA G, NART J, SANZ M. **Structural and histological differences between connective tissue grafts harvested from the lateral palatal mucosa or from the tuberosity area.** Clin Oral Investig. 2019;23(2):957-64. doi: 10.1007/s00784-018-2516-9.

36. SIMÕES MCD, AGOPIAN RG, CABRITA HAB de A, LIBERTI EA. **Morphofunctional and ultrastructural evaluation of Hip joint development in human fetuses.** Int J Morphol. 2019;37(4):1450-5. doi: 10.4067/S0717-95022019000401450.

37. CUNHA JLS, CARVALHO FMA, PEREIRA FILHO RN, RIBEIRO MAG, de ALBUQUERQUE-JÚNIOR RLC. **Effects of different protocols of low-level laser therapy on collagen deposition in wound healing.** Braz Dent J. 2019;30(4):317-24. doi: 10.1590/0103-6440201902400.

38. QUAN T, FISHER GJ. **Role of age-associated alterations of the dermal extracellular matrix microenvironment in human skin aging: a mini-review.** Gerontology. 2015;61(5):427-34. doi: 10.1159/000371708.

39. PAPAORDANOU F, OLIVEIRA GP, HEXSEL D, VATTIMO ACA. **Colágeno e pele: da estrutura às evidências de sua suplementação oral.** Surg Cosmet

Dermatol. 2022;14:20220110. doi:
10.5935/scd1984-8773.20221400110.

40. MANO JF, SILVA GA, AZEVEDO HS, MALAFAYA PB, SOUSA RA, SILVA SS, et al. **Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends.** J R Soc Interface. 2007;4(17):999-1030. doi: 10.1098/rsif.2007.0220.

41. SILVA TT, CORRÊA MCDV. **Inovação biomédica e ética: técnicas substitutivas na experimentação animal.** Rev Bioet (Impr). 2020;28(4):674-82. doi: 10.1590/1983-80422020284431.

42. VICENTE AM, COSTA MC. **Experimentação animal e seus limites: 831 core set e participação pública.** Physis Rev Saúde Coletiva. 2014;24(3):831-49. doi: 10.1590/S0103-73312014000300009.

43. STREET JM, SOUZA AC, ALVAREZ-PRATS A, HORINO T, HU X, YUEN OS, et al. **Automated quantification of renal fibrosis with Sirius Red and polarization contrast microscopy.** Physiol Rep. 2014;2(7):e12088. doi: 10.14814/phy2.12088.

44. COURTOY GE, LECLERCQ I, FROIDURE A, SCHIANO G, MORELLE J, DEVUYST O, et al. **Digital image analysis of Picrosirius Red staining: a robust method for multi-organ fibrosis quantification and characterization.** Biomolecules. 2020;10(11):1585. doi: 10.3390/biom10111585.

45. SHARUN K, DHAMA K, TIWARI R, GUGJOO MB, YATOO M, PATEL SK, et al. **Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review.** Vet Q. 2021;41(1):107-36. doi: 10.1080/01652176.2021.1882713.

46. MONTES GS, JUNQUEIRA LCU. **The use of the picrosirius-polarization**

method for the study of the biopathology of collagen. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1991;86:1-11. doi: 10.1590/S0074-02761991000700002.

47. CARNEIRO CG, SENNES LU, SALDIVA PHN, TSUJI DH, XIMENES FILHO JA. **Assessment of collagen deposits after implant of fascia lata and fat in the vocal folds of rabbits: histomorphometric study.** Braz J Otorhinolaryngol. 2005;71(6):798-802. doi: 10.1016/s1808-8694(15)31251-9.

48. SANTOS B, SILVA A, GOUVEIA R, RAMOS S. **Verhoeff & Tricrômio de Masson: Aplicações e Importância de um Protocolo Combinado.** Rev Téc Anat Patol. 2012;23-7.

49. JUNQUEIRA LC, CARNEIRO J. **Histologia básica: texto e atlas.** 12ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013.

50. ORIENTATIONJ. **Plugin OrientationJ para ImageJ/FIJI: uma ferramenta para análise morfométrica automatizada do colágeno** [Internet]. 2020 [acesso em: 11 dez. 2024]. Disponível em: <https://imagej.net/OrientationJ>.

51. RICH L, WHITTAKER P. **Collagen and picosirius red staining: A polarized light assessment of fibrillar hue and spatial distribution.** Braz J Morphol Sci. 2005;22(2):97-104.