



19º Salão de
Iniciação Científica

Implementação de análise de espinhos dendríticos em microscopia confocal no LabCEMM-PUCRS

Rafaela Barboza da Silvar¹, Léder Leal Xavier¹ (orientador)

¹Laboratório Central de Microscopia e Microanálises –
LabCEMM, PUCRS¹

APOIO TÉCNICO

Resumo

Espinhas dendríticas são estruturas especializadas de conectividade neuronal e sinalização no sistema nervoso, sendo estruturas com alta plasticidade, podendo alterar sua morfologia, densidade e motilidade sob diferentes situações. Em relação a sua estrutura, consistem de uma cabeça ligada a um pescoço, podendo ser classificados em diferentes tipos de acordo com sua morfologia. O objetivo do presente trabalho é implementar a técnica para avaliação da densidade e morfologia dos espinhos dendríticos através da análise de imagens 3D obtidas com o uso do microscópio confocal do LabCEMM da PUCRS. Para tanto, foram utilizados 18 ratos Wistar machos, submetidos a distintos protocolos comportamentais, eutanasiados e com seus encéfalos processados para a técnica histológica de coloração com Dil (CEUA PUCRS 8481). Para a obtenção das imagens dos neurônios e seus espinhos foi utilizado microscópio confocal SP8 (Leica, Alemanha). A partir da imagem em 3D, 8 neurônios de cada animal foram analisados no software de análise de imagens Image Pro-Plus 6.0. Foram obtidos dados quantitativos sobre o comprimento dos espinhos (CE), comprimento do pescoço (CP), diâmetro do pescoço (DP) e diâmetro da cabeça (DC) de cada espinho estudado. Ademais, estes foram classificados de acordo com a sua morfologia em: finos (quando $CE > DC$ e $DC > DP$), do tipo cogumelo ($DC > DP$), achatados/espessos ($DC \geq CE$) e ramificados (uma única haste que se divide em duas cabeças). A densidade total dos espinhos foi calculada como o número de espinhos (incluindo todos os tipos) por micrômetro do segmento do dendrito estudado, sendo também realizada a contagem do número de cada tipo de espinho de acordo com a sua classificação. Para padronização da análise, as análises iniciais foram monitoradas por pesquisadores experientes neste tipo de análise. Até o presente momento a técnica histológica de

DIL, a obtenção de imagens com microscopia confocal em 3D e a análise morfométrica tem sido implementadas com sucesso, sendo que a classificação dos parâmetros morfológicos obtidos no LabCEMM coincide com as classificações obtidas por outros pesquisadores com experiência neste tipo de estudo. Dessa maneira, a implementação da técnica histológica de Dil associada a microscopia confocal nos permitirá obter dados quantitativos sobre a morfologia, morfometria e densidade de espinhos dendríticos, podendo ser um método utilizado para a obtenção destes dados em diversas situações experimentais.

Palavras-chave: Morfologia; Dil; Confocal; Neurônios;