



Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Ciências Básicas da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Neurociências

**ESTUDO SOBRE OS NEURÔNIOS DE VON  
ECONOMO DO PRÉ-CÚNEO HUMANO**

**Francisco Javier Fuentealba Villarroel**

**Porto alegre**

**2018**



Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Ciências Básicas da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Neurociências

**ESTUDO SOBRE OS NEURÔNIOS DE VON  
ECONOMO DO PRÉ-CÚNEO HUMANO**

**Francisco Javier Fuentealba Villarroel**

**Orientador: Prof. Dr. Alberto Antônio Rasia Filho.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

**Porto alegre**

**2018**

*In memoriam aos doadores dos cérebro que possibilitaram esta pesquisa, que de forma altruísta e generosa trazem benefícios, ainda após sua morte.*

*Que todos os seres possam se beneficiar.*

## **INSTITUIÇÃO E FONTE FINANCIADORA**

O Presente estudo foi financiado com recursos do laboratório de Fisiologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA, financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>a</b>	Espinho dendrítico atípico
<b>fMRI</b>	Imagem por ressonância magnética funcional
<b>IQCODE</b>	<i>Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly</i>
<b>m</b>	Espinho dendrítico com formato de cogumelo
<b>MRI</b>	Imagem por ressonância magnética nuclear
<b>PC</b>	Pré-cúneo
<b>PCL</b>	Lóbulo paracentral
<b>PEm</b>	<i>Área parietalis superior magnocellularis</i>
<b>PEp</b>	<i>Área parietalis superior parvocellularis</i>
<b>PEy</b>	<i>Área parietalis superior posterior gigantopyramidalis</i>
<b>PNH</b>	Primatas não humanos
<b>r</b>	Espinho dendrítico ramificado
<b>s</b>	Espinho dendrítico achatado
<b>SB</b>	Substância branca
<b>SMA</b>	Área motora suplementaria
<b>sbsp</b>	Sulco subparietal
<b>t</b>	Espinho dendrítico fino
<b>TA</b>	Temperatura ambiente
<b>TF</b>	Tampão fosfato
<b>TPO</b>	Córtex temporoparietooccipital
<b>VEN</b>	Neurônios de von Economo
<b>w</b>	Espinho dendrítico espesso

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fotografias representando a localização anatômica do córtex cerebral correspondente ao pré-cúneo humano.....25
- Figura 2.** Fotomicrografia de secção histológica do pré-cúneo anterior corada pela técnica de Nissl e demonstrando as diversas lâminas celulares e os neurônios de von Economo.....35
- Figura 3.** Fotomicrografia de secção histológica do pré-cúneo intermediário corada pela técnica de Nissl e demonstrando as diversas lâminas celulares e os neurônios de von Economo.....37
- Figura 4.** Reconstrução de imagem a partir de fotomicrográfias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi e classificado como VEN de tipo 1 da porção intermediária do pré-cúneo humano.....39
- Figura 5.** Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi e classificado como VEN de tipo 2 da porção anterior do pré-cúneo humano.....41
- Figura 6.** Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi e classificado como VEN de tipo 2 da porção anterior do pré-cúneo humano.....43
- Figura 7.** Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi e classificado como VEN de tipo 3 da porção intermediária do pré-cúneo humano.....45
- Figura 8.** Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônios impregnado pela técnica de Golgi da porção intermediária do pré-cúneo humano.....47
- Figura 9.** Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi da porção intermediária do pré-cúneo humano.....49
- Figura 10.** Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi da porção intermediária do pré-cúneo humano.....51

<b>Figura 11.</b> Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi da porção intermediária do pré-cúneo humano.....	53
<b>Figura 12.</b> Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi da porção anterior do pré-cúneo humano.....	55
<b>Figura 13.</b> Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi da porção intermediária do pré-cúneo humano.....	57
<b>Figura 14.</b> Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônios impregnado pela técnica de Golgi da porção intermediária do pré-cúneo humano.....	59
<b>Figura 15.</b> Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônios impregnado pela técnica de Golgi da porção anterior do pré-cúneo humano.....	61
<b>Figura 16.</b> Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi demonstrando similaridade com VEN de tipo 1 da porção anterior do pré-cúneo humano.....	63
<b>Figura 17.</b> Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi demonstrando similaridade com VEN dos tipos 2 ou 3 da porção anterior do pré-cúneo humano.....	65
<b>Figura 18.</b> Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi da porção anterior do pré-cúneo humano.....	67
<b>Figura 19.</b> Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi da porção intermediária do pré-cúneo humano.....	69

## RESUMO

O pré-cúneo (PC, área de Brodmann 7m) é uma estrutura localizada na porção pósteromedial do córtex parietal, de maior volume comparado com os primatas não humanos, ao qual são atribuídas funções sensório-motoras, cognitivas e visuais. Não obstante, pouco se conhece sobre os tipos celulares presente no PC humano, as diferenças entre os padrões de ramificação dendrítica e as características de seus espinhos dendríticos. Desta forma, este estudo teve como propósito revelar a presença e estudar os neurônios de von Economo (VENs) da lâmina cortical V, assim como variantes dos VENs na lâmina cortical VI, das regiões anteriores e intermediárias do PC humano, utilizando a técnica de Nissl e o método adaptado de “seção única” de Golgi para tecido cerebral *postmortem* (2 mulheres e 3 homens, entre 49 a 91 anos de idade, sem achados neurológicos relevantes), analisados sob microscopia de luz. Foram observados VENs basicamente nas lâminas V, os quais foram classificados como VENs do tipo 1, que apresentam pouca ramificação dendrítica e espinhos esparsos, VENs do tipo 2, que apresentam um aspecto intermediário e VENs do tipo 3, com uma maior arborização dendrítica e maior densidade de espinhos dendríticos. São descritos neurônios com morfologia celular similar aos VENs na lâmina cortical VI do PC. Esses resultados aportam evidência inédita sobre a existência de VENs no PC humano. A distribuição de espinhos dendríticos, cuja forma se associa com função, sugere a ocorrência de sinapses com número e impactos diferentes nos três tipos de VENs. Em conjunto, os dados têm implicações morfológicas, por descobrir a presença de tipo específico de neurônio no PC humano, e funcionais por sugerir a elaboração de processamento sináptico de cada segmento dendrítico e seus espinhos, o que acresce à especialização celular representada pelos VENs e identificada no cérebro humano, incluindo-se o PC neste momento.

**Palavras-chave:** Neocórtex, espinhos dendríticos, método de Golgi, citoarquitetura cortical.



## ABSTRACT

The precuneus (PC, Brodmann area 7m) is located in the posteromedial parietal cortex, higher volume than no human primates, with sensorimotor, cognitive and visual functions. However, few is known about the cells types in the human PC, differences in the dendritic architecture or spine features of these cells. Here, our aim was to reveal the presence and characterize of von Economo neurons (VENs) in layer V, as well as VENs variants in layer VI in anterior and intermediate regions of human PC, using both Nissl method and the adapted “single-section” Golgi method for *postmortem* adult brain tissue (2 woman and 3 men, ranging 49-91 years-old, normal neurological values) and light microscopy. VENs were observed in layers III and V, and classified in 3 types according to morphological features: Type 1 VENs have few dendritic branches and sparse spine, type 2 VENs shows an intermediate aspect, and type 3 VENs display a more profuse dendritic ramification and the highest density of spines. Neurons with similar cell morphology to VENs in the layer VI were described. These results provide unprecedented evidence on the VENs in the human PC. The distribution of dendritic spines, whose shape and function are associated, suggests the occurrence of synapses with different number and strength in the three VENs types. In conjunct, these data have morphological implications, due to the discovery of a specific type of neuron in the human PC, and functional implications by suggesting the elaboration of the synaptic processing in each dendritic segment and spines. This is the first report of the cellular specialization represented by the VENs and identified in the human PC.

Key words: Human brain/cytology, dendritic spines, Golgi method, cortical cytoarchitecture.

## SUMÁRIO

### 1. INTRODUÇÃO

1.1 <i>Morfologia do pré-cúneo e suas conexões</i> .....	13
1.2 <i>Funções do pré-cúneo e seu correlato comportamental</i> .....	15
1.3 <i>Citoarquitetura do pré-cúneo e os neurônios de von Economo</i> .....	16
1.4 <i>Espinhas dendríticas: estrutura e função</i> .....	18
1.5 <i>Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly</i> .....	21

### 2. OBJETIVOS

2.1 <i>Objetivo geral</i> .....	23
2.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	23

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 <i>Amostras de tecido</i> .....	24
3.2 <i>Fixação do tecido e procedimentos histológicos</i> .....	24
3.2.1 <i>Técnica de Nissl</i> .....	25
3.2.2 <i>Técnica de Golgi</i> .....	26
3.2.3 <i>Obtenção de imagens microscópicas</i> .....	28

### 4. RESULTADOS

4.1 <i>Técnica de Nissl</i> .....	30
4.2 <i>Técnica de Golgi</i> .....	31

5. <b>DISCUSÃO</b> .....	71
--------------------------	----

6. <b>CONCLUSÕES</b> .....	78
----------------------------	----

7. <b>PERSPECTIVAS</b> .....	79
------------------------------	----

8. <b>REFERÊNCIAS</b> .....	80
-----------------------------	----

9. <b>ANEXOS</b> .....	90
------------------------	----

## 1. INTRODUÇÃO

O pré-cúneo (PC) humano é uma estrutura localizada na região posterior do córtex parietal-medial, limitada anteriormente pelo ramo marginal do sulco cingulado, posteriormente pela fissura parietooccipital e inferiormente pelo sulco subparietal (Critchley, 1953; Cavanna e Trimble, 2006; Bruner et al., 2014).

Em 2009, Margulies e colaboradores identificaram que o PC humano exhibe três padrões de conexões que sugerem uma divisão anatômica e funcional anteroposterior, a saber: (i) uma zona anterior ao longo do ramo marginal do sulco cingulado e que apresenta uma estreita correlação funcional com regiões sensório-motoras; (ii) uma zona central cognitiva que exhibe conexões com a parte posterior do lobo parietal inferior, com o giro angular e com o córtex pré-frontal dorsolateral; (iii) uma zona posterior ao longo da fissura parietal-occipital, que apresenta conexões com o córtex pré-estriado do cúneo e a região occipital dorsolateral. Essas diferenças anteroposteriores no PC também são expressas por sua organização citoarquitetônica, tanto em humanos como em primatas não humanos (PNH; Brodmann, 1909; von Economo et al., 2008; Scheperjans et al., 2008).

Empregando-se técnicas de imageamento cerebral funcional para estudo do PC humano foi possível determinar sua participação em tarefas que incluem a localização espacial visual (Selemon e Goldman-Rakic, 1988), de memória (Naghavi e Nyberg, 2005) e consciência (Cavanna e Trimble, 2006). Ademais, o PC humano têm sido associado com a patogênese de desordens psiquiátricas e neurológicas, como estados iniciais de demência (Mak et al., 2017) e doença de Alzheimer (Ikonovic et al., 2011), esquizofrenia (Gong et al., 2014), autismo (Cheng et al., 2015), transtorno de estresse pós-traumático (Akiki et al., 2018) e transtorno de ansiedade social (Jung et al., 2018).

Para todos os dados anteriormente apresentados fazem-se necessários estudos mais detalhados sobre os neurônios do PC humano, sua morfologia detalhada e a presença de espinhos dendríticos. Os espinhos dendríticos incrementam a densidade de sinapses por volume de tecido (Bourne e Harris, 2008) e estão envolvidos principalmente em sinapses excitatórias (Rocheffort e Konnerth, 2012; Yuste, 2013; Stewart et al., 2014; Tønnesen et al., 2014; Hayashi-Takagi et al., 2015). Tais apresentam ampla gama de formas, tamanho e funções: promovem

respostas sensíveis à voltagem acopladas ao dendrito adjacente, funcionam para tamponar a quantidade de cálcio intracelular, iniciam sequências bioquímicas intracelulares que modulam o processamento da informação e sua integração em redes neurais específicas (Shepherd, 1996; Desmond e Weinberg, 1998; Nusser et al., 1998; Hering e Sheng, 2001; Dall'Oglio et al., 2015). A forma e as propriedades plásticas dos espinhos dendríticos podem variar de acordo com as demandas sinápticas e a capacidade integrativa dos neurônios de áreas encefálicas, apresentando características particulares intra- e interespecífica, algumas específicas entre humanos e grandes primatas (Yuste, 2013; Dall'Oglio et al., 2015; Junior, 2018).

Desta forma, a presente dissertação teve como propósito revelar a presença e estudar os neurônios de von Economo (VENs) da lâmina cortical V, assim como variantes dos VENs, na lâmina cortical VI, do PC humano. Isso porque tais neurônios, descritos com detalhe em 1926 por von Economo, apresentam uma maior distribuição na lâmina V do córtex cingulado anterior, ínsula e pré-frontal e, menos descrito, em outras regiões límbicas. Outros neurônios com variáveis, que são semelhantes à morfologia dos VENs, são observados na lâmina cortical profunda pleomórfica VI, chamados como pequenos fusiformes (Butti et al., 2013), neurônios horizontais ou neurônios piramidais modificados (Braak, 1980; Nimchinsky et al., 1995). Para o PC humano, porém, ainda faltam dados morfológicos básicos sobre a presença e forma de tais neurônios nas lâminas corticais. E, por ser o PC uma região conectada morfológica e funcionalmente com partes cerebrais de desenvolvimento evolutivo antigo (como é o caso do córtex retrosplenial e cingulado posterior; Vann et al., 2009), passa a existir grande relevância filogenética, ontogenética e funcional elaborar as implicações que tem a presença dos VENs no PC humano, assim como a morfologia e distribuição de seus espinhos dendríticos. O embasamento teórico para tais ideias será apresentado a seguir.

### *1.1 Morfologia do pré-cúneo e suas conexões*

O PC (ou lóbulo quadrado de Foville; Foville, 1844), situa-se imediatamente anterior ao cúneo (Cavanna e Trimble, 2006; Bruner et al., 2014) e é delimitado anteriormente pelo ramo marginal do sulco cingulado, posteriormente pela porção

medial da fissura parietooccipital e inferiormente pelo sulco subparietal (Critchley, 1953). Sua forma é variável: quadrado, em forma de “T”, “H” ou com três ramos (Cavanna e Trimble, 2006; Margulies et al., 2009; Bruner et al., 2014). Variações de seus limites têm sido relatados à luz dos achados em neuroimagem e que são relevantes no momento de definir *in situ* o PC. De fato, o sulco cingulado finaliza acima do ramo marginal, cuja presença marca a divisão entre o PC e a área sensorial primária; a fissura parietooccipital tem uma extensão que se limita inferiormente com a curvatura superior da fissura calcarina ou, em alguns casos, em posição ligeiramente anterior (Salamon et al., 2003). O sulco subparietal constitui a margem inferior do PC e continua seu curso ao redor do cíngulo posterior (Bruner et al., 2014). Os limites anterior e posterior do PC são facilmente reconhecíveis nas imagens de ressonância magnética (MRI), enquanto a morfologia interna e os limites inferiores não se apresentam constantes nem recorrentes como padrões morfológicos claros (Talairach e Tournoux, 1988; Margulies et al., 2009; Bruner et al., 2014).

O PC é o principal determinante da variabilidade do cérebro adulto humano em plano sagital (Bruner et al., 2014) e sua presença está envolvida com a variabilidade e o abaulamento da curvatura frontoparietal (Bruner, 2010). Esta variabilidade não seria explicada por fatores alométricos (Bruner, 2007, 2010; Bruner et al., 2014). Entre PNH, demonstrou-se que a variabilidade morfológica interespecífica do PC é explicada por aumento das regiões frontais e occipitais, o que leva a uma modificação morfológica secundária do PC a expensas das variações dessas regiões corticais (Pereira-Pedro et al., 2017). O PC é proporcionalmente maior em humanos quando comparados com chimpanzés, tanto em seu tamanho absoluto como quando relacionado a outras regiões corticais (Bruner et al., 2017). Esses achados apoiam a hipótese de que uma expansão evolutiva do PC em humanos modernos não seria consequência de um incremento do volume geral do cérebro, mas sim representaria uma mudança morfológica espécie-específica em nossa linhagem (Pereira-Pedro et al., 2017). De fato, mudanças ocorridas no lobo parietal têm sido fortemente associadas com a origem do *Homo sapiens*; assim, a variação morfológica no PC poderia representar adaptações da espécie e uma evolução por meio de uma divergência não randômica (Bruner et al., 2003).

Por outro lado, as conexões do PC, sejam uni- ou bidirecionais, são múltiplas. O PC tem conexões córtico-corticais recíprocas com o córtex cingulado posterior e retrosplenial, conectados com seus homólogos no hemisfério oposto e com funcionamento acoplado (Bruner et al., 2003; Vann et al., 2009; Pereira-Pedro et al., 2017). O PC também está conectado com o opérculo parietal-caudal, o lóbulo parietal superior e inferior e o sulco intraparietal (IPS; Cavada e Goldman-Rakic, 1989). As conexões extraparietais do PC são estabelecidas com o lobo frontal, especificamente com a área pré-motora dorsal, área motora suplementar (SMA), o córtex cingulado anterior (Selemon e Goldman-Rakic, 1988; Cavada e Goldman-Rakic, 1989; Leichnetz, 2001) e com o campo ocular frontal (Leichnetz, 2001). Demais conexões extraparietais envolvem o córtex pré-estriado medial, a área visual parietooccipital e a zona de confluência cortical temporoparietooccipital (TPO; Blum et al., 1950).

Aferências talâmicas que chegam ao PC originam-se do tálamo dorsal, que contém núcleos conectados com outras áreas associativas corticais, o núcleo talâmico ventrolateral, o núcleo central do complexo intralaminar e o pulvinar lateral (Cavanna e Trimble, 2006). Demais conexões subcorticais incluem o claustró, o núcleo caudado dorsolateral, putâmen, zona incerta, área pré-tectal e o núcleo reticular da ponte (Leichnetz, 2001).

### *1.2 Funções do pré-cúneo e seu correlato comportamental*

Com base nas conexões estabelecidas, foi possível inferir as principais funções do PC. Assim como em estudos anatômicos experimentais em macacos, três padrões de conectividade foram identificados para o PC humano relacionado com cada uma de suas regiões: um padrão sensório-motor anterior, um padrão central cognitivo e um padrão visual posterior (Margulies et al., 2009).

Estudos tractográficos realizados em PNH igualmente têm demonstrado padrões de conectividade associados com cada sub-região anteroposterior específica do PC (Margulies et al., 2009). Cada qual se relaciona com funções bem determinadas: a porção anterior para integração de informação somatossensorial e motora, enquanto a região posterior, em contato com o lobo occipital, integra informação visual (Cavanna e Trimble, 2006; Margulies et al., 2009). A região

intermediária estaria envolvida em integração visuoespacial, memória episódica, alerta e atenção (Cavanna e Trimble, 2006; Margulies et al., 2009). Nessas áreas, as informações somatossensoriais e visuais seriam integradas em tarefas de orientação visuo-espacial, “navegação mental”, imaginação e no monitoramento do sucesso de operações baseadas na representação interna de imagens visuais (Fletcher et al., 1995; Oshio et al., 2010; Bruner et al., 2014).

Em humanos, com bases estudos empregando ressonância magnética funcional (fMRI), o PC estaria dividido em três regiões anteroposteriores: a região anterior apresenta conexão com a extensão medial do córtex sensório-motor central, a SMA e a área pré-motora, o córtex motor cingulado adjacente, o córtex motor primário, o córtex somatossensorial primário e secundário, a ínsula (Morecraft et al., 2004), a região parahipocampal e o giro temporal superior, o que sugere ser essa região uma área de representação e integração sensório-motora (Margulies et al., 2009). A região intermediária do PC tem grande conexão com o lobo parietal inferior posterior, o giro angular e o córtex pré-frontal dorsolateral (Margulies et al., 2009). Assim, as conexões bidirecionais estabelecidas entre o PC e o córtex pré-frontal sustentariam funções como o monitoramento de informação para memória de trabalho e planificação de ações (Hagmann et al., 2008; Margulies et al., 2009), sendo uma região de processamento eminentemente cognitivo ou multimodal (Margulies et al., 2009). A região posterior do PC apresenta conexões com o córtex visual do cúneo, com a região pré-estriada visual, giro fusiforme posterior, córtex cingulado posterior e retrosplenial, o que indica papel no processamento de informações visuais (Margulies et al., 2009). Tais dados indicam a importância de conhecer os componentes celulares do PC e como se fazem os contatos sinápticos locais para processamento de cada uma dessas informações.

### *1.3 Citoarquitetura do pré-cúneo e os neurônios de von Economo*

O PC humano possui espessura média de 3,0 a 3,15 mm (Scheperjans et al., 2008), com uma superfície caracterizada por sua estrutura isocortical diferenciada, apresentando um padrão colunar dividido nas camadas molecular (I), granular externa (II), piramidal externa (III), granular interna (IV), piramidal interna (V) e plexiforme (VI), um afinamento cortical quando comparado com o restante do

neocórtex (Seltzer e Pandya, 1989) e uma banda celular característica que pode ser observada abaixo da lâmina V (Zilles et al., 2003; Scheperjans et al., 2008).

Brodmann (1909), em seu mapeamento citoarquitetônico do encéfalo humano, identificou o PC como a continuação medial do córtex parietal lateral 7, denominando-o como área 7m (Talairach e Tournoux, 1988). Anos depois, von Economo e Koskinas (1925) identificaram três áreas, de anterior à posterior, no PC humano, nomeadas *área parietalis superior magnocellularis* (PEm), *área parietalis superior parvocellularis* (PEp) e *área parietalis superior posterior gigantopyramidalis* (PEy). A região PEm, que corresponde às áreas de Brodmann 5, 7 e 7a (von Economo et al., 2008), tem por característica ser uma zona com neurônios piramidais grandes, enquanto que a região PEp, que corresponde às áreas de Brodmann 5b, 7 e 7b (von Economo et al., 2008) apresentam neurônios piramidais pequenos. A terceira região, mais posterior, nomeada como PEy (áreas de Brodmann 5b, 7 e 7b) possui neurônios piramidais ainda maiores que as regiões anteriores (von Economo e Koskinas, 1925; von Economo et al., 2008; Scheperjans et al., 2008).

Ademais, o PC humano está conectado com a região cingulada posterior e com o córtex retrosplenial (área de Brodmann 23 e 31; Vann et al., 2009), que são áreas corticais descritas por Papez (1937) como encarregadas por conferir “cor emocional ao processamento psíquico”. Isso confere um exemplo de organização funcional do grande lobo límbico e para o *continuum* citoarquitetônico desde o alocórtex (formação parahipocampal e o hipocampo propriamente dito), passando pelas áreas de Brodmann 26 e 29 com quatro lâminas corticais, seguindo pela área 30 de Brodmann, caracterizada por ser uma região disgranular com lâminas pobremente definidas, para chegar até a área 23 de Brodmann, com seis lâminas corticais bem definidas (Vann et al., 2009). Neste *continuum* pode também estar o giro do cíngulo anterior (áreas 24 e 32 de Brodmann) onde se encontram, como na ínsula e no córtex pré-frontal, os neurônios fusiforme de von Economo (VENS) na lâmina V cortical (von Economo e Koskinas, 1925). Ngowyang (1936) descreveu esses neurônios fusiformes também no córtex subicular e entorrinal do hipocampo humano, demonstrando que os VENS não estão restritos as regiões corticais anteriores.



Os VENs são neurônios piramidais modificados identificados pela forma alongada e fusiforme do corpo celular, com dois ramos dendríticos primários principais, um com orientação em direção à superfície pial e outro orientado à substância branca (Nimchinsky et al., 1995; Watson et al., 2006; Fajardo et al., 2008; Junior, 2018). Por serem variante dos VENs e supostamente excitatórios, não apresentam imunorreatividade para parvalbumina, calbindina ou calretinina (Nimchinsky et al., 1995). Os VENs encontram-se geralmente agrupados e com padrão de densidade decrescente em sentido rostrocaudal quando comparados com outros PNH (Nimchinsky et al., 1995; Raghanti et al., 2015). Os VENs do córtex cingulado anterior encontram-se em maior quantidade nas partes ascendentes dos giros em comparação com o fundo dos sulcos locais e correspondem a cerca de 5-6% das células quando comparados com o total de neurônios piramidais presentes na lâmina cortical V (Raghanti et al., 2015).

Estima-se que os VENs no córtex cingulado anterior apareceram nos últimos 15 milhões de anos de evolução dos mamíferos (Kaya et al., 2016), além de que emergem após o nascimento humano e atingem maior número perto do oitavo mês de vida pós-natal, mantendo-se estável em quantidade até os 4 anos, aproximadamente, para, a seguir, reduzir seu número durante a vida adulta (Allman et al., 2010; Raghanti et al., 2015). Tratam-se, portanto, de neurônios diferenciados no córtex humano e que, até o momento, não tem sido relatados no PC.

#### *1.4 Espinhos dendríticos: estrutura e função*

Historicamente, o PC tem sido a região menos estudada do córtex parietal humano devido a dificuldades metodológicas, como a baixa frequência de acidentes vasculares ou traumáticos (Cavanna e Trimble, 2006), sua anatomia complexa e heterogênea e à dificuldade no acesso anatômico, seja cirúrgico ou por dissecação (Bruner et al., 2014). Assim, a descrição citológica do PC tem se reduzido ao emprego de técnicas de histologia básica que permitem a descrição apenas da distribuição espacial dos componentes celulares desta área. A técnica de Nissl, por exemplo, tem sido a mais empregada no estudo citoarquitetônico cortical. Tal técnica cora estruturas basófilas intracelulares, como retículo endoplasmático rugoso e polirribosomas (Conn, 1953), o que permite evidenciar as células do tecido nervoso

e sua distribuição espacial (Schumann e Amaral, 2005). Não obstante, para conhecer quais são os neurônios presentes em cada área nervosa humana é necessário empregar técnicas adicionais, como a de Golgi, que, ao impregnar os neurônios pela prata, permite descrever sua morfologia de modo mais detalhado, incluindo-se o estudo da estrutura dendrítica, da presença, distribuição, número e forma dos espinhos dendríticos (Dall'Oglio et al., 2010, 2015; Reberger et al., 2018).

A ramificação dendrítica está diretamente relacionada à maior superfície de membrana celular disponível para contatos sinápticos, logo, diretamente relacionada à capacidade computacional do neurônio (Watson et al., 2006). Os espinhos dendríticos são especializações morfológicas, geralmente excitatórias, com comprimento médio de 0,5 – 2  $\mu\text{m}$  (Chicurel e Harris, 1992; Harris e Kater, 1994) e volume variando de 0,01  $\mu\text{m}^3$  a 0,8  $\mu\text{m}^3$  (Harris, 1999). Morfológicamente, os espinhos dendríticos são classificados como finos, ramificados, espesso ou achatado, tipo cogumelo, “outras formas”, em transição entre classes ou não classificáveis por conta de sua forma mais complexa e irregular (Peters e Kaiserman-Abramof, 1970; Chang e Greenough, 1984; Harris et al., 1999; Brusco et al., 2010; Dall'Oglio et al., 2015). Ou seja, conforme revisado em Dall'Oglio et al. (2012), “[...] Em geral, os espinhos são classificados de acordo com sua morfologia na seguinte nomenclatura: a) “fino” o qual apresenta pescoço fino e uma cabeça bem definida e que parece ser um tipo mais lábil e capaz de ainda modificar sua forma; b) “espesso”, que não apresenta pescoço diferenciado, e se mostra como uma elevação a partir dos contornos dendríticos; c) em forma de “cogumelo”, que apresenta pescoço mais espesso conectado com uma cabeça de maior tamanho e que parece ser o espinho mais estável em termos da mudança numéricas e contatos sinápticos duradouros; d) “ramificado”, onde um pescoço pode dar origem a mais de uma cabeça de espinho; e) e outras formas complexas, incluindo algumas com presença de “espínula”, uma protrusão que surge do próprio espinho (Peters e Kaiserman-Abramof, 1970; Peters e cols., 1991; Hering e Sheng, 2001; González-Burgos, 2004; Brusco e col., 2010). Os filopódios são classificados à parte e têm por característica não apresentar uma cabeça definida, serem finos e compridos e poderem ser uma forma precursora, porém ainda imatura, dos espinhos ainda procurando estabelecer novas sinapses (Nimchinsky e col., 2002) ... ”.

É importante considerar que o número e a forma dos espinhos dendríticos podem ser influenciados pela demanda sináptica (Parnass et al., 2000; Rochefort e Konnerth, 2012; Yuste, 2013) e pode ser mais variada e complexa no tecido encefálico humano (Fiala et al., 1998; Dall'Oglio et al., 2015). Aos diferentes formatos dos espinhos são atribuídas diferentes capacidades de modulação sináptica (Bourne e Harris, 2008). Assim, as diferenças no comprimento e diâmetro dos componentes dos espinhos podem servir para modular diretamente o impacto, em termos de voltagem, de cada sinapse no tempo e no espaço (Tønnesen et al., 2014). Além disso, a espinogênese fundamenta o desenvolvimento encefálico e armazenamento de informações em seus circuitos, sendo dependentes das experiências vividas pelo indivíduo (Lai e Ip, 2013), existindo uma transição contínua entre uma determinada proporção das formas dos espinhos em neurônios maduros (Hering e Sheng, 2001). Estes processos são altamente regulados por fatores genéticos, epigenéticos, hormonais e ambientais relacionados com o rearranjo rápido do citoesqueleto (Oertner e Matus, 2005; Tada e Sheng, 2006) e a plasticidade sináptica (Dunaevsky et al., 1999; Bhatt et al., 2009). Neste contexto, a técnica de Golgi permite a visualização dos neurônios e seus componentes estruturais com coloração de parda a negra, a qual contrasta com um fundo mais claro. Tal técnica serve para estudar neurônios de diferentes espécies (Ramón y Cajal, 1901; Ramon-Moliner, 1962; Woolley e McEwen, 1992; Fairén, 2005; Larriva-Sahd, 2006; Rasia-Filho et al., 2012). As dificuldades em se trabalhar com a técnica de Golgi estão no fato de que o mecanismo de como os neurônios são impregnados ainda não é compreendido, o que faz com que se considere que neurônios sejam observados aleatoriamente no tecido ou em diferentes secções. Aproximadamente 1-10% dos neurônios presentes na área a ser estudada serão visualizados quando a técnica for bem executada e gerar resultados aceitáveis (Ramón y Cajal, 1901; Dall'Oglio et al., 2007). Foi também preciso adaptar tal técnica ao tecido humano *postmortem* (Dall'Oglio et al., 2010, 2013, 2015). Provavelmente, devido a tais dificuldades inerentes de estudo, nenhum estudo foi publicado utilizando a técnica de Golgi para a análise dos neurônios no PC humano até o momento.

### 1.5 Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly

Como os dendritos e seus espinhos podem estar alterados em quadros demenciais (Seeley et al., 2008; Ikonovic et al., 2011; Mak et al., 2017), é preciso que os estudos morfológicos do tecido nervoso humano também se associem com uma forma de identificação de declínio cognitivo e rastreamento de possíveis quadros de demência quando da seleção de amostras de pacientes em situação normal. Os meios de avaliação com base no relato do informante que acompanha o período da necropsia permitem avaliações longitudinais, buscam avaliar as alterações no desempenho cognitivo e funcional dos indivíduos e podem ser utilizados quando da impossibilidade de se terem dados dos sujeitos em testes cognitivos disponíveis antes do falecimento. Dentre as entrevistas padronizadas para este fim, o *Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly* (IQCODE) é uma forma utilizada para identificação de possíveis casos de demência na população em geral (Sanchez e Lourenço, 2009; Lourenço e Sanchez, 2014). Desta forma, para este trabalho, que utilizou encéfalos humanos, informações clínicas dos doadores foram obtidas, após o óbito, junto ao familiar de convívio mais próximo, por meio de questionário para rastreamento de declínio cognitivo IQCODE. Consideram-se todas as informações obtidas a partir dos questionários respondidos pelos entrevistados como verdadeiras e como dados para compor o presente estudo. Para o IQCODE, toma-se como 'ponto de corte' para demência a pontuação mínima de 3,27, indicando que valores abaixo de 3,27 são considerados como de indivíduos sem manifestações demenciais (Lourenço e Sanchez, 2014). Desta maneira, é possível identificar e classificar o indivíduo quanto à possível demência em casos em que não se possui o diagnóstico clínico do paciente em vida. Esse questionário (anexo I) está validado para a população brasileira (Lourenço e Sanchez, 2014).

Com base no anteriormente exposto, a presente dissertação buscou gerar conhecimento, de forma inédita, sobre os VENs presentes na lâmina V do PC humano, além de dados adicionais sob as variantes dos VENs encontrados na lâmina VI desta mesma região, como evidenciados pelo método de Nissl e a técnica de Golgi adaptada para tecido cerebral adulto *postmortem* sob microscopia de luz. Os presentes dados revelam que VENs no PC humano apresentam formas diversas quando analisados quanto ao aspecto e o padrão de ramificação dendrítica. Adicionalmente, foram elaboradas reconstruções de imagens que demonstram a

presença, distribuição, tipos e diversidade de espinhos dendríticos, tanto dos VENs (na camada V) como dos variantes dos VENs (na camada VI) do PC humano.

## **2. OBJETIVOS**

### *2.1 Objetivo geral*

Descrever a morfologia dos VENs e dos variantes dos VENs no PC humano empregando-se as técnicas de Nissl e de Golgi.

### *2.2 Objetivos específicos*

2.2.1 Descrever os tipos e a variação morfológica dos VENs na lâmina V e as variantes dos VENs na lâmina VI do PC humano;

2.2.2 Detalhar o formato do corpo celular e o padrão de ramificação dendrítica dos VENs e das variantes dos VENs do PC humano;

2.2.3 Descrever a presença, a distribuição, o número e a forma dos espinhos dendríticos dos VENs e das variantes dos VENs do PC humano;

2.2.4 Classificar as formas dos espinhos dendríticos encontrados nos VENs e nas variantes dos VENs do PC humano;

2.2.5 Elaborar as implicações morfológicas e funcionais dos presentes dados.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Amostras de tecido

Foram estudadas amostras de tecido nervoso de cinco adultos, 2 mulheres e 3 homens, entre 49 e 91 anos. A idade, sexo, intervalo de tempo *postmortem* até a obtenção do tecido para estudo e a causa de morte (quando conhecida) estão descritos na Tabela I.

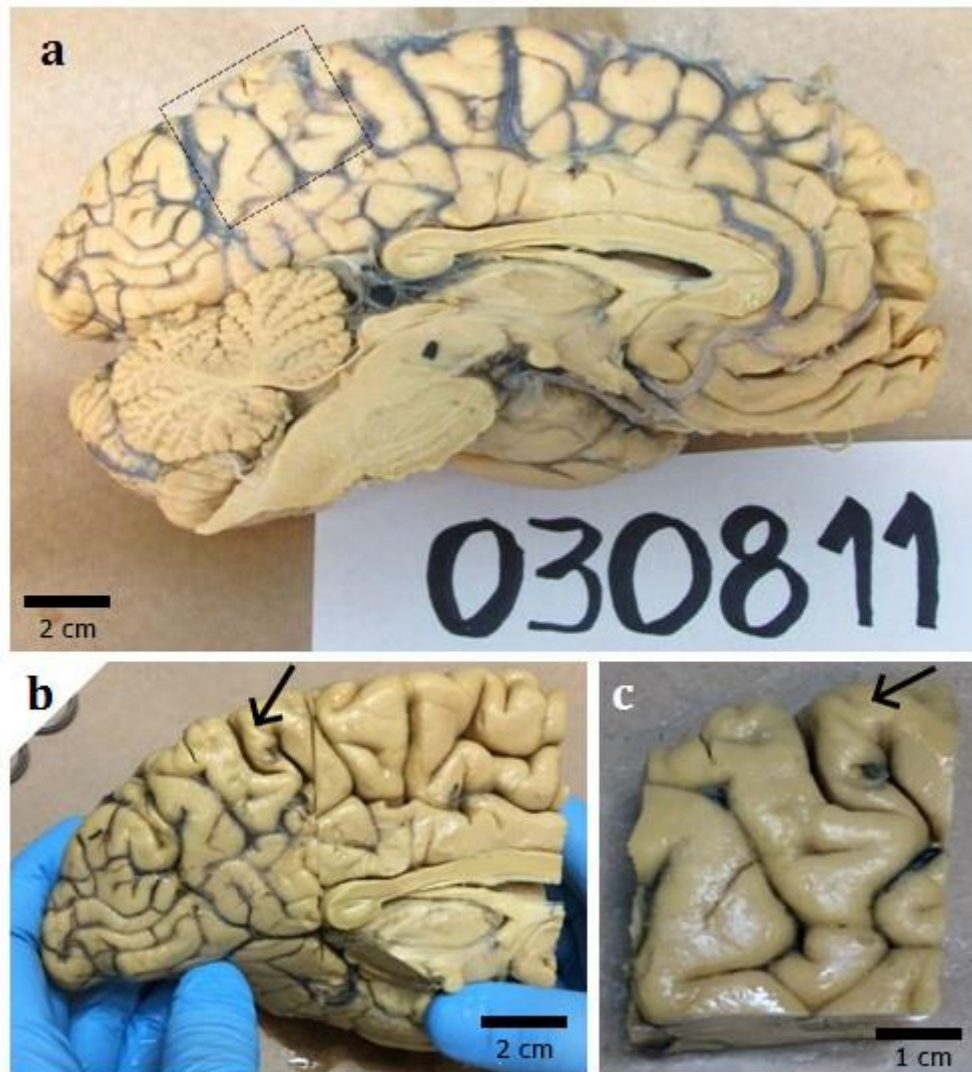
Os procedimentos éticos e legais foram seguidos de acordo com os padrões regulatórios internacionais (baseados na declaração de Helsinki de 1964) e os procedimentos metodológicos foram analisados e aprovados pelos Comitês de Ética do Departamento de Medicina Legal do Estado do Rio Grande do Sul (processo nº 03/08) e da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA; nº 62336116.6.0000.5345) disponível na Plataforma Brasil (Anexo II).

Dados clínicos gerais e de comorbidades conhecidas foram obtidas por meio de entrevistas a familiares ou representantes legais de cada doador e, a seguir, foi assinado termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo III). Os sujeitos foram reportados sem achados neurológicos ou psiquiátricos relevantes, nem submetidos a neurocirurgia prévia. A seguir, foram avaliados utilizando o questionário IQCODE, como publicado por Rodrigues Neto e colaboradores (2017). Apenas casos com pontuação menor a 3,27 foram estudadas. Em paralelo, os tecidos amostrados foram analisados por inspeção macroscópica e por avaliação histológica por neurologista experiente em neuropatologia (Dra. Arlete Hilbig, Departamento de Clínica Médica/Neurologia – UFCSPA) para confirmar a ausência de alterações vasculares ou lesões neurodegenerativas evidentes e mais.

#### 3.2 Fixação do tecido e procedimentos histológicos

Blocos contendo o lobo parietal foram imersos em formaldeído 10% não tamponado e mantidos armazenados nessa mesma solução de fixação por 5-6 anos, em temperatura ambiente. Do bloco original, amostras do pré-cúneo foram selecionadas (a estrutura de interesse está representada na Figura 1). O sulco cingulado anterior, o sulco parietooccipital e o sulco subparietal serviram como referências anatômicas para localização do PC (von Economo et al., 2008; Margulies

et al., 2009; Bruner et al., 2014). Por estar intacto, somente o PC do hemisfério cerebral esquerdo foi estudado nos cinco casos obtidos.



**Figura 1.** Fotografias representando a localização anatômica do córtex cerebral correspondente ao pré-cúneo humano (retângulo em a e setas em b, c) em encéfalo fixado em formol a 10% por longo período.

### 3.2.1 Técnica de Nissl

As características e os componentes citoarquitetônicos foram identificados com o emprego da técnica de Nissl (caso1; Tabela 1). Utilizando um micrótomo de lâmina vibratória (vibrátomo 1000S; Leica, Alemanha) foram feitos cortes seriados de 50  $\mu\text{m}$ , ao longo do eixo anteroposterior, colocados em lâminas histológicas



gelatinizadas e deixadas para secar em temperatura ambiente (TA) durante 24 h. Os cortes foram, a seguir, imersos em solução contendo paraformaldeído a 4% em tampão fosfato (0,1M e pH 7,4; TF) durante 7 dias e a 4°C protegidos da luz. Após secar durante 24 h em TA, as secções foram colocadas em solução de etanol a 70% por mais um dia.

Para a coloração dos cortes, foram realizadas as seguintes etapas: (1) colocação em concentrações crescentes de etanol e diafanizadas em xilol absoluto, (2) em soluções com concentrações decrescentes de etanol e, por fim, em água destilada, (3) em solução de violeta de cresil a 0,25% durante 2 min, (4) em água destilada para remover o excesso de corante, imersas novamente em soluções com concentração crescente de etanol e, a seguir, em solução contendo 95% de etanol e 1% de ácido acético e xilol absoluto. Por fim, as secções foram cobertas por bálsamo sintético e lamínulas.

**Tabela 1.** Descrição dos indivíduos e das amostras estudadas

<b>Caso</b>	<b>IPM (horas)</b>	<b>Idade da morte (anos)</b>	<b>Sexo</b>	<b>Causa da morte</b>	<b>IQCODE</b>
1	6:00 – 20:00	56	M	Indeterminado	3,00
2	6:00 – 20:00	91	F	Pneumonia	1,32
3	6:00 – 20:00	79	M	Tamponamento cardíaco	3,15
4	6:00 – 20:00	49	M	Indeterminado	3,00
5	6:00 – 20:00	62	F	Indeterminado	3,00

IPM, Intervalo *postmortem* até obtenção da amostra.

M, masculino

F, feminino

### 3.2.2 Técnica de Golgi

Para o estudo da morfologia neuronal, estrutura dendrítica e padrão de ramificação, presença e características dos espinhos dendríticos empregou-se variação do procedimento denominado “single-section Golgi method” (Gabbott e Somogyi, 1984) após desenvolvimento metodológico para poder ser utilizado em tecido humano fixado em formol por longa data, como descrito originalmente por Dall’Oglio et al. (2010).

Desta forma, para os casos 2 até 5 (Tabela 1) foram realizadas as seguintes etapas: (1) os blocos de PC foram colocados em solução de pós-fixação contendo paraformaldeído a 4% e ácido pícrico a 1,5% diluídos em TF durante 30 dias em TA e protegido da luz. A seguir, (2) as amostras foram seccionadas coronalmente (200 µm de espessura) utilizando-se vibrátomo e os cortes foram transferidos para solução de paraformaldeído a 4% e ácido pícrico a 1,5% diluídos em TF durante 72 hem TA e protegidos da luz. Posteriormente, os cortes foram (3) lavados em TF e transferidos para uma solução de tetróxido de ósmio a 0,1% (Sigma Chemicals Co., EUA) em TF por 30 min, sob agitação e protegidas da luz, e novamente lavados com TF por 1 a 2 min; (4) imersos em dicromato de potássio a 3% (Merck, Alemanha) dissolvido em água deionizada e mantidas na mesma solução, no escuro, à 4°C por 2 dias. Após, (5) foram lavados em água destilada e feitos “sanduíches” entre lamínulas de vidro, nos quais foi colocado cola epóxi nos quatro cantos das lamínulas para diminuir a velocidade de entrada da solução de impregnação, a qual continha nitrato de prata a 1,5% (Merck, Alemanha) diluído em água deionizada em TA. Após 24 horas, (6) as lamínulas foram então quebradas, as secções foram lavadas em água destilada e removido o excesso de precipitados inespecíficos de cromo e prata sobre os cortes. Finalmente, (7) os cortes foram colocados em lâminas, secos à TA tomando-se o cuidado de evitar que se tornassem quebradiços, imersos em água destilada durante 3 min, desidratados em séries ascendentes de álcool (70% e 80%, uma vez cada durante 3 min; 95% e 100%, duas vezes cada durante 3 min), diafanizados em solução de xilol e álcool absoluto na proporção de 1:1 e 2:1 (3 min cada) e xilol absoluto (2 vezes de 3 e 30 min cada) e, a seguir, (8) com bálsamo sintético não ácido como meio de inclusão (Soldan, Brasil), lamínulas histológicas, evitando-se bolhas de ar sobre os cortes, e deixados em TA durante tempo mínimo de 24h. A qualidade da técnica e dos resultados foi conferida por observação direta à microscopia de luz, identificando-se neurônios e astrócitos com impregnação argêntica com coloração escura contrastando com o fundo mais claro.

Os critérios para seleção dos neurônios a serem estudados foram os seguintes: (1) os corpos celulares deveriam estar localizados indubitavelmente na área de interesse e nas lâminas V e VI, tomando-se a substância branca e a citoarquitetura do PC como referências para a identificação de cada lâmina cortical (Scheperjans et al., 2008; Bruner et al., 2014; Mai et al., 2016), (2) estar

relativamente isolados de outras células impregnadas pela prata para evitar dendritos com aspecto emaranhado ou que pudesse gerar identificações equivocadas quanto à origem e ramificação desses elementos, (3) os dendritos deveriam estar bem impregnados pela prata e com coloração homogênea, apresentar bordos definidos e ter ramos afiando-se ao longo de seu comprimento e, (4) os espinhos deveriam estar nítidos e distinguíveis em relação ao fundo e/ou ao precipitado inespecífico de prata no neurópilo.

### 3.2.3 *Obtenção de imagens microscópicas*

Todas as lâminas foram observadas em campo claro à microscopia de luz empregando-se microscópio Olympus BX-61 (Japão) acoplado a uma câmara CCD (DP72, Japão) e a computador com programa de análise de imagem (Image-Pro Plus 7.0, Media Cybernetics, EUA).

As imagens que serviram para identificar a forma neuronal foram obtidas com aumento final de 260x utilizando-se lente objetiva de 20x (planapocromática, abertura numérica 0,6; Olympus-UPlanSApo, Japão), magnificação adicional de 1,3x, obtidas com resolução de 1360x1024 pixels e submetidas a deconvolução logo quando coletadas (Dall'Oglio et al., 2013; Reberger et al., 2018). As imagens selecionadas foram convertidas a imagens monocromáticas de 8 bits. A reconstrução de cada neurônio para identificação de sua morfologia geral foi feita, segmento por segmento, de imagens nas coordenadas espaciais “x”, “y” e “z”, somando-se as imagens onde se encontravam o corpo celular e os bordos dendríticos mais nítidos ao longo de todo o comprimento e de suas ramificações. A imagem final bidimensional foi reconstruída utilizando-se o programa Adobe Photoshop CS3 (Adobe Systems, Inc., EUA). Pequenos ajustes de brilho ou contraste de fundo foram feitos utilizando-se tal programa sem alterar, no entanto qualquer dado morfológico real.

As imagens para o estudo dos espinhos dendríticos foram obtidas com aumento final de 1300x utilizando-se lente objetiva de 100x de imersão em óleo (planapocromática, abertura numérica de 1,4; Olympus-UPlanASpo, Japão), obtidas com alta resolução (2070x1548 pixels) e igualmente submetidas ao processo de deconvolução logo de sua aquisição (Dall'Oglio et al., 2013; Reberger et al., 2018).

Espinhos foram amostrados ao longo do eixo “z”, adquirindo-se cada sequência de imagem a cada 0,1  $\mu\text{m}$  de avanço. Posteriormente, os arquivos salvos como .tif foram convertidos em imagens monocromáticas de 8 bits. Para cada espinho foi observado (1) presença, comprimento e diâmetro do pescoço, (2) o número de protrusões de um único pescoço, (3) o diâmetro da cabeça, e (4) a forma da cabeça. De acordo com suas características morfológicas, os espinhos foram classificados como (1) “fino” (t), ou seja, com um único pescoço longo terminando-se em uma única cabeça e o comprimento do espinho sendo maior que o diâmetro do pescoço ou da cabeça; (2) “achatado” (s) ou “espesso” (w), apresentando-se como uma protrusão única sem pescoço aparente e com comprimento igual ou superior a seu diâmetro; (3) em formato de “cogumelo” (m), com uma cabeça caracteristicamente grande e maior que o diâmetro do pescoço; (4) “ramificado” (r), onde um único pescoço dá origem a duas ou mais cabeças pequenas de aspecto bulboso; (5) outros tipos que incluem “formas de transição” entre as anteriores ou com aspectos “atípicos”, onde se encontram espinhos com formato complexo e com múltiplas formas, como é o caso de espinhos “duplos” (com um pescoço inicial dando origem a uma cabeça a qual, por sua vez, gera outro pescoço e outra cabeça distais no mesmo elemento). Esses espinhos atípicos foram todos classificados como “a”. Pequenas protrusões provenientes da cabeça do espinho foram classificadas com espínulas (Brusco et al., 2014). Finalmente, as imagens coletadas foram ajustadas quanto ao contraste utilizando-se o programa Photoshop CS3, sem alterar a forma ou a classificação dos espinhos.

## 4. RESULTADOS

As características citoarquitetônicas das diferentes lâminas corticais e o aspecto típico da substância branca do PC humano esquerdo foram observadas em seções de tecido submetidos à técnica de Nissl (Figuras 2 e 3). Com base nos resultados, os critérios morfológicos para classificar os VENs localizados na lâmina V foram: a forma e o tamanho somático, o número, a simetria e a orientação espacial dos dendritos primários. Ademais, empregando-se a técnica de Golgi, neurônios que se enquadravam nos critérios de inclusão para estudo foram encontrados nas regiões anteriores e intermediária do PC, os quais serão descritos a seguir. Por motivos desconhecidos, provavelmente inerentes à técnica de Golgi, não se obtiveram os mesmos resultados na região posterior do PC humano. Os dados fornecidos pela técnica de Golgi geraram dados adicionais sobre os padrões de ramificação dendrítica e a presença, distribuição, número e forma dos espinhos dendríticos nos VENs, dados esses adicionados aos critérios da classificação para este tipo neuronal. Os espinhos dendríticos mostraram um *continuum* de formas e tamanhos; desde pequenas protrusões achatadas ou espessas, até protrusões longas finas, com cabeças proeminentes, ramificados ou com aspecto atípico. As variedades morfológicas de espinhos foram encontradas isoladas ou formando agrupamentos, com diferentes densidades nos ramos dendríticos de posição proximal à distal. As variantes dos VENs foram identificados em um *continuum* entre as lâminas V e VI do PC humano e formam grupo heterogêneo com base nos mesmos critérios morfológicos de classificação neuronal acima descritos.

### 4.1 Técnica de Nissl

Ambas as porções anterior e intermediária do PC humano apresentaram-se com citoarquitetura neocortical, ou seja, com seis lâminas celulares distinguíveis e, na lâmina V, neurônios piramidais foram identificados como característicos desse local (Figuras 2 e 3). Todos os neurônios identificados nas camadas V e VI apresentam um aspecto nuclear típico com um nucléolo evidente. Ambos, VENs e variante dos VENs, foram encontrados nos casos examinados aqui. Os VENs foram comumente observados na lâmina V, entre os neurônios piramidais locais, e, mais esporadicamente, na lâmina III. Os VENs da lâmina V encontravam-se isolados ou

constituindo agrupamentos celulares e presentes em maior quantidade nas partes superiores dos giros do PC que no fundo do sulco.

Os VENs das regiões anterior (Figura 2) e intermediária (Figura 3) do PC humano caracterizam-se por serem neurônios fusiformes, com dois dendritos primários, um em direção à superfície pial e o outro em direção à substância branca. Não se observou abundância de células gliais ao redor do corpo celular, nem dos dendritos proximais, mas os VENs dispunham-se entre neurônios piramidais (Figuras 2 e 3). As variantes dos VENs foram encontrados no *continuum* entre as lâminas V e VI, notavelmente nesta última lâmina polimórfica, e apresentaram-se com formato ovoide, triangular ou fusiforme (Figuras 2 e 3).

#### 4.2 Técnica de Golgi

Foram obtidos neurônios bem impregnados nas regiões anterior e intermediária do PC humano, os quais foram observados nas lâminas corticais V e VI, e todos com presença de espinhos dendríticos (Figuras 4-19). Não obstante, foi observada uma ampla variabilidade no número de neurônios bem impregnados nas secções estudadas em cada caso.

Ao longo das secções anteroposteriores do PC foram encontrados diferentes tipos de VENs, todos com corpo celular fusiforme, mas diferenciáveis entre si quanto à ramificação e extensão dendrítica bem como a distribuição e número de espinhos dendríticos. Neste sentido, VENs do tipo 1 apresentam ambos dendritos, ascendente e descendente, com pouca ramificação e ou ausência ou poucos espinhos nos segmentos dendríticos proximais (Figura 4). Quando presentes, tais espinhos dendríticos pleomórficos estão preferentemente isolados uns dos outros (Figura 4a,d). O número de espinhos por segmento dendrítico aumenta em direção aos segmentos intermediários a distais onde passam a ter maior gama de formas, incluindo-se finos, em formato de cogumelo, ramificados ou atípicos (Figura 4b,c).

Nos VENs do tipo 2 observam-se os dendritos primários em direção oposta, seguindo um curso perpendicular às lâminas corticais. Sua arborização dendrítica tende a ser mais numerosa quando comparado com os VENs do tipo 1, embora ainda seja limitada (Figuras 5 e 6). Os troncos dendríticos proximais apresentam

espinhos dendríticos esparsos (Figuras 5a e 6a,b), os quais aumentam em densidade e variação de forma em direção intermediária à distal (Figuras 5b-d e 6c-e). Os espinhos dendríticos proximais são, em grande parte, espessos e achatados (Figuras 5a e 6a,b). Em segmentos neuronais intermediários nota-se um aumento na densidade dos espinhos, assim como um aumento na variedade de suas formas adicionais, como os com formato fino, atípico e os com espínulas (Figura 6c,e). São também observados espinhos com formato de cogumelo e essas diversas formas de espinhos apresentam-se frequentemente mescladas entre as demais (Figura 5d). Em segmentos intermediários a distais observa-se aumento de espinhos dendríticos com várias formas, incluindo-se vários atípicos como os com aspecto de espinho duplo (Figura 5b) ou com formato de cogumelo e com presença de espínula (Figura 6d).

Os VENs do tipo 3 igualmente apresentam dois ramos dendríticos principais, os quais orientam-se em direção oposta, perpendicular às lâminas corticais e com um afilamento em sentido proximal-distal. Como característica, este tipo neuronal apresenta maior arborização dendrítica e maior densidade de espinhos dendríticos que os demais de mesma classificação somática (Figura 7). Exibem, no segmento inicial do dendrito primário, ausência de espinhos dendríticos, os quais aparecem à medida que se avança nos micrômetros seguintes em sentido centrífugo, e são principalmente de formato achatado ou espesso (Figura 7a). Ramos dendríticos colaterais ocorrem nesses segmentos, os quais, logo após sua ramificação, exibem espinhos com diversas formas, como são os achatados e finos (Figura 7f). Em segmentos dendríticos intermediários, depois de maior ramificação dendrítica, ocorrem espinhos em maior densidade e com vários formatos coexistes, alguns formando agrupamentos, e com aspectos atípicos (Figura 7b). Nos segmentos distais desses neurônios segue a maior densidade de espinhos dendríticos, mas com formas muito variadas como é caso de espinhos finos longos, em forma de cogumelo, ramificados e atípicos, entre espessos e achatados, alguns com espínulas (Figura 7c-e).

O PC também exhibe vários tipos neuronais que diferem relativamente da forma clássica dos VENs, embora existam na mesma lâmina V do PC (vejam-se o VEN à direita comparado com o neurônio multipolar à esquerda na Figura 8). Tal neurônio multipolar ainda apresenta dois dendritos primários principais mais

espessos e poucos ramos colaterais surgindo do soma com menor espessura e praticamente sem ramificação proximal (Figura 9). Esse tipo de neurônio apresenta-se com ramificação dendrítica evidente, o que se assemelha a um VEN de tipo 2 como acima descrito. Identicamente há uma baixa densidade de espinhos proximais e, quando presentes, são do tipo espesso ou achatado (Figura 9a). Logo a seguir, em direção aos segmentos intermediários, a densidade e a complexidade dos espinhos dendríticos aumenta (Figura 9g), aparecendo uma variedade de formas como os finos longos, ramificados e formas de transição entre finos e com aspecto de cogumelo (Figura 9b), além de várias formas atípicas (Figura 9f). Esse padrão segue em direção aos ramos dendríticos mais distais, onde se observam espinhos pleomórficos, incluindo-se os finos longos, atípicos variados, alguns com espínula (Figura 9 c-e).

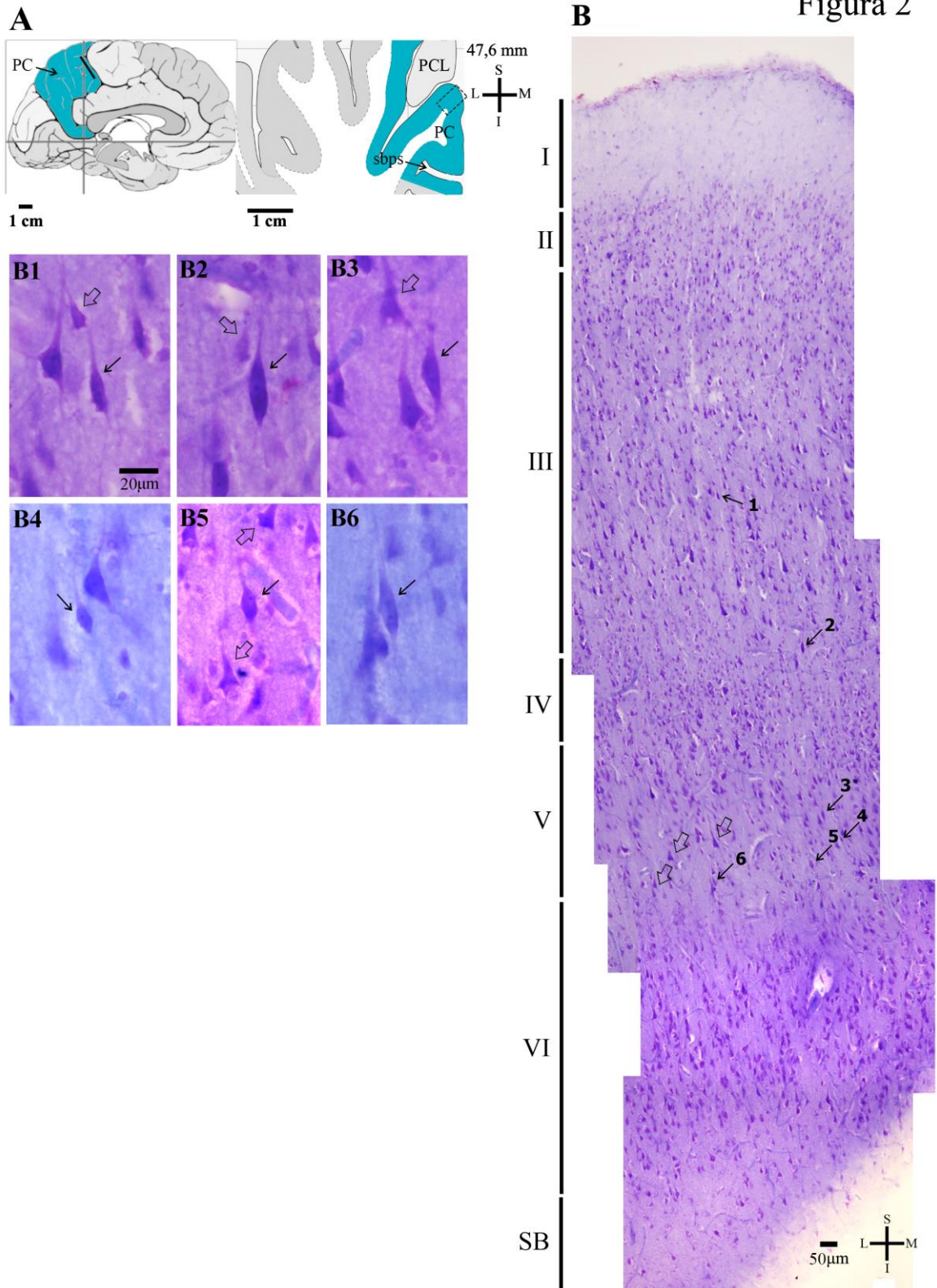
Outros neurônios na lâmina V do PC apresentam soma com aspecto fusiforme e dois troncos dendríticos primários, mas com angulações que não apresentam exatamente a mesma orientação dos VENs (veja-se o ramo dendrítico primário colocado à direita inferior da Figura 10). Adicionalmente ao que se poderiam considerar variantes dos VENs locais, há neurônios que apresentam soma fusiforme, dois troncos dendríticos primários espessos, mas ramos colateral somático com divisão proximal, além de vários pequenos ramos colaterais secundários e terciários dos dendritos principais (Figura 11). Exemplo adicional dessa última forma neuronal encontra-se representado na Figura 12, onde se observa a baixa densidade de espinhos dendríticos com menor variabilidade e complexidade de formas desde ramos proximais às porções intermediárias e distais (Figura 12 a-f). Neste mesmo sentido, existem neurônios cujo corpo celular parece um intermediário entre fusiforme e piramidal, que apresenta dois troncos dendríticos espessos surgindo praticamente de polos opostos somáticos e com orientação e notável ramificação longitudinal no neurópilo do PC. Há a presença de um terceiro ramo dendrítico, mas que não se relaciona com o aspecto clássico de ramo dendrítico basal piramidal (célula ao centro na Figura 8 e, em maiores detalhes, na Figura 13). Esses neurônios também possuem muito poucos dendritos proximais (Figura 13a,f), com aumento nos micrômetros a seguir tanto na densidade como na complexidade dos tipos de espinhos dendríticos (Figura 13b,c), incluindo-se as mais diversas formas, tamanhos e presença de espínulas (Figura 13d-f). Outro desses



neurônios pode ser observado na Figura 14 (à esquerda), juntamente com outro neurônio local de aspecto somático fusiforme (à direita da mesma imagem).

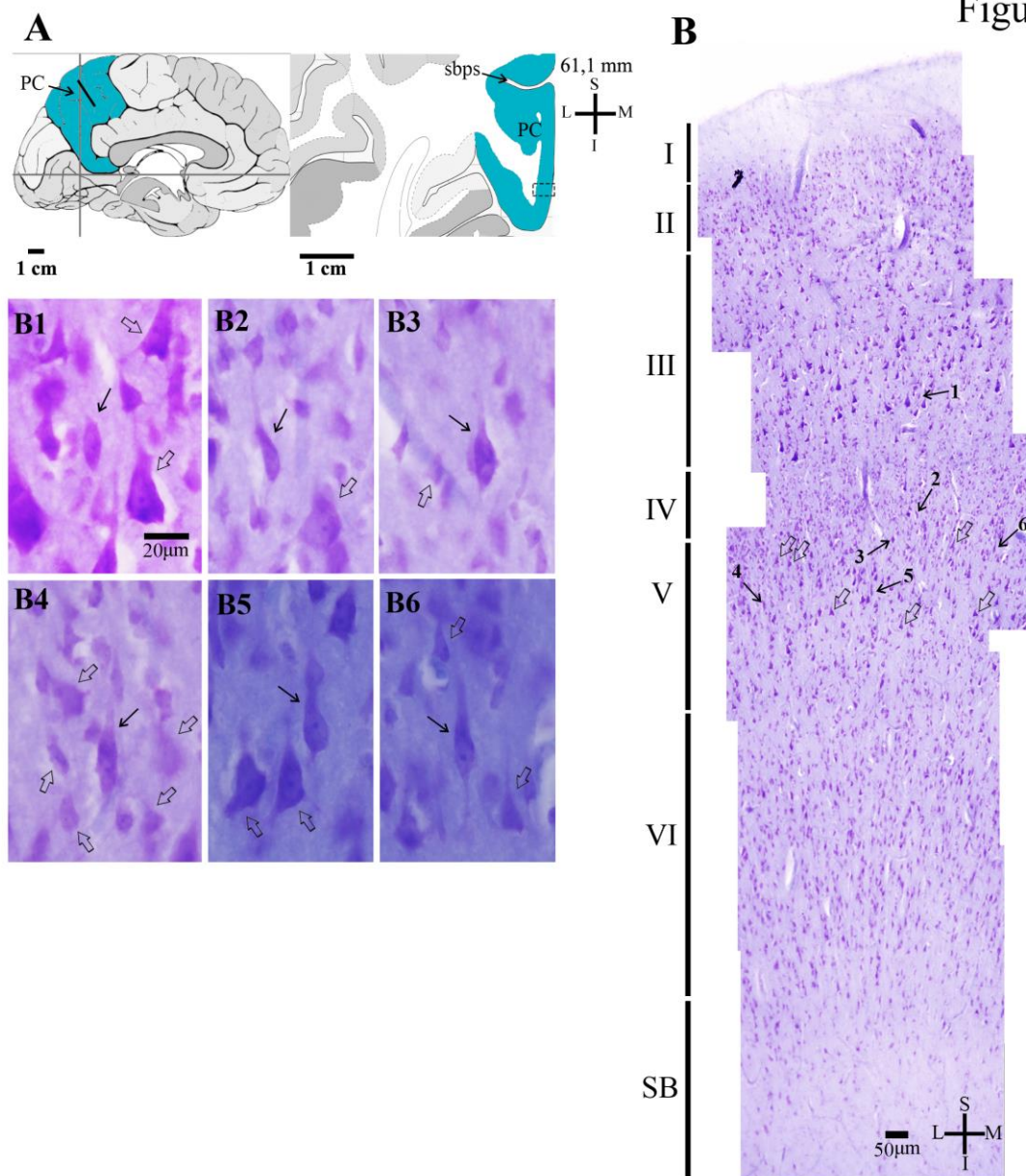
Da lâmina V em direção à lâmina VI no PC encontram-se outros tipos neuronais com espinhos dendríticos. Ou seja, na lâmina cortical pleomófica VI, alguns neurônios, exibem aspecto similar aos VENs observados na camada V, tanto no seu formato somático quanto nas características dendríticas (Figura 15). Por exemplo, observa-se neurônio fusiforme com dois dendritos primários deslocando-se em sentidos opostos, um em direção à superfície pial e outro à substância branca (Figura 16). Há poucos espinhos nos ramos dendríticos e, quando ocorrem, estão isolados e são de formato basicamente achatado ou espesso (Figura 16 a, b), o que lembra muito os VENs tipo 1 da lâmina V. Com o mesmo formato de soma e orientação espacial dos dois dendritos primários há neurônios com maior ramificação proximal e maior densidade de espinhos dendríticos, o que lembra as características de VENs do tipo 3 da lâmina V (Figura 17). Por fim, na lâmina VI também se identificam neurônios com formato de corpo celular entre fusiforme a piramidal, embora não se identifiquem ramos apical ou basais, mas dois ramos primários, um com orientação apical e outro angulado em relação à substância branca (Figura 18). Também ocorrem neurônios com formato fusiforme, mas com múltiplos ramos dendríticos e aspecto de arborização radial proximal, o que confere aspecto de “fork-cell” para esse tipo celular (Figura 19).

Figura 2



**Figura 2.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção anterior, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo dos neurônios das lâminas corticais V e VI. sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Fotomicrografia de secção histológica do PC anterior corada pela técnica de Nissl e demonstrando as diversas lâminas celulares, desde a de número I abaixo da superfície pial (parte superior da imagem) até a VI próximo à substância branca (parte inferior da imagem). As setas pretas indicam a presença de neurônios fusiformes com dois dendritos primários com surgimento em polos opostos do corpo celular. Tais neurônios são mostrados em maior aumento nas imagens B1, B2 e B3. Neurônios B1 e B2 estão presentes na camada cortical III, B3 está presente na camada cortical V. As setas abertas indicam os outros tipos celulares presentes na camada cortical. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA). Escala: B = 10 $\mu$ m; B1-B3 = 3 $\mu$ m.

Figura 3



**Figura 3.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção intermediária, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo dos neurônios das lâminas corticais V e VI. sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Fotomicrografia de secção histológica do PC anterior corada pela técnica de Nissl e demonstrando as diversas lâminas celulares, desde a de número I abaixo da superfície pial (parte superior da imagem) até a VI próximo à substância branca (parte inferior da imagem). As setas pretas indicam a presença de neurônios fusiformes com dois dendritos primários com surgimento em polos opostos do corpo celular. Tais neurônios são mostrados em maior aumento nas imagens B1, B2, B3 e B4. As setas abertas indicam outros tipos celulares presentes na camada cortical. Neurônios B1 está presentes na camada cortical III, B2, B3 e B4 estão presentes na camada cortical V. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA). SB: substância branca. Escala: B = 10 $\mu$ m; B1-B4 = 2 $\mu$ m.



**Figura 4. (A)** Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção intermediária, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de neurônio de von Economo (VEN) na lâmina cortical V (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). **(B)** Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi e classificado como VEN de tipo 1. Observe o corpo celular fusiforme e o padrão restrito da ramificação dendrítica. Imagens em maior aumento correspondentes a cada segmento são indicadas por letras correspondentes. O ângulo de visualização dos ramos dendríticos e seus espinhos foi modificado do original para permitir uma visualização dos elementos. Os espinhos dendríticos foram classificados em: achatado (s), espesso (w), fino (t), em formato de cogumelo (m), ramificado (r) ou atípico (a). Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).



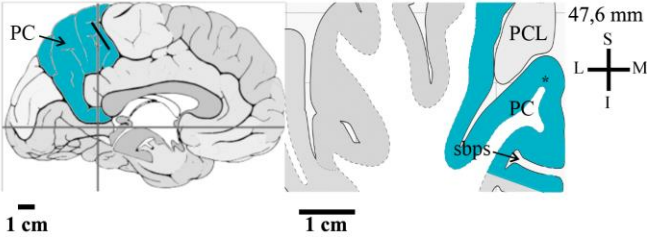




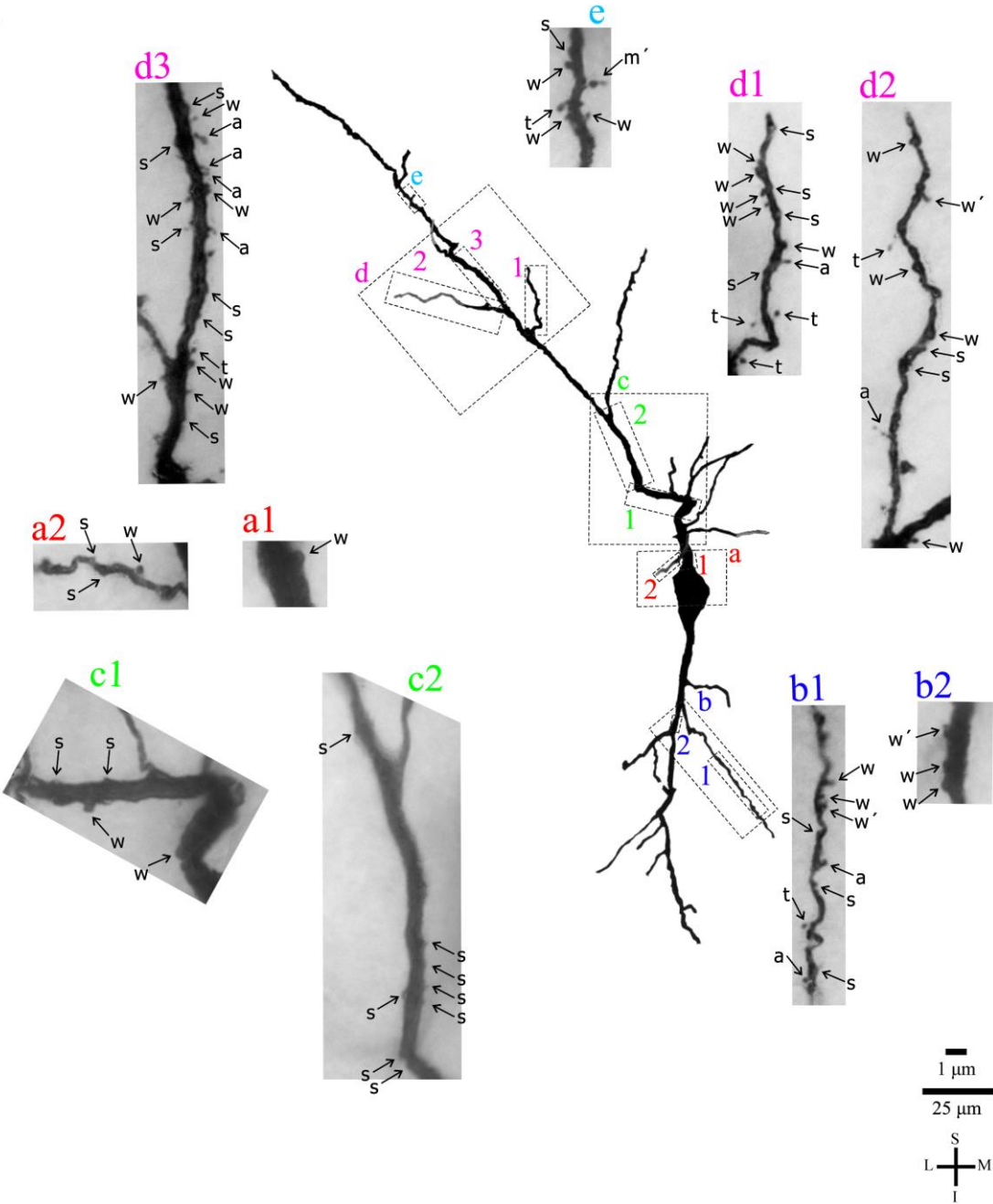
**Figura 5.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção anterior, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de neurônio de von Economo (VEN) na lâmina cortical V (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi e classificado como VEN de tipo 2. Observe o corpo celular fusiforme e o maior número de ramos dendríticos que os VEN de tipo 1. Imagens em maior aumento correspondentes a cada segmento são indicadas por letras correspondentes. O ângulo de visualização dos ramos dendríticos e seus espinhos foi modificado do original para permitir uma visualização dos elementos. Os espinhos dendríticos foram classificados em: achatado (s), espesso (w), fino (t), em formato de cogumelo (m), ramificado (r) ou atípico (a). Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

Figura 6

A

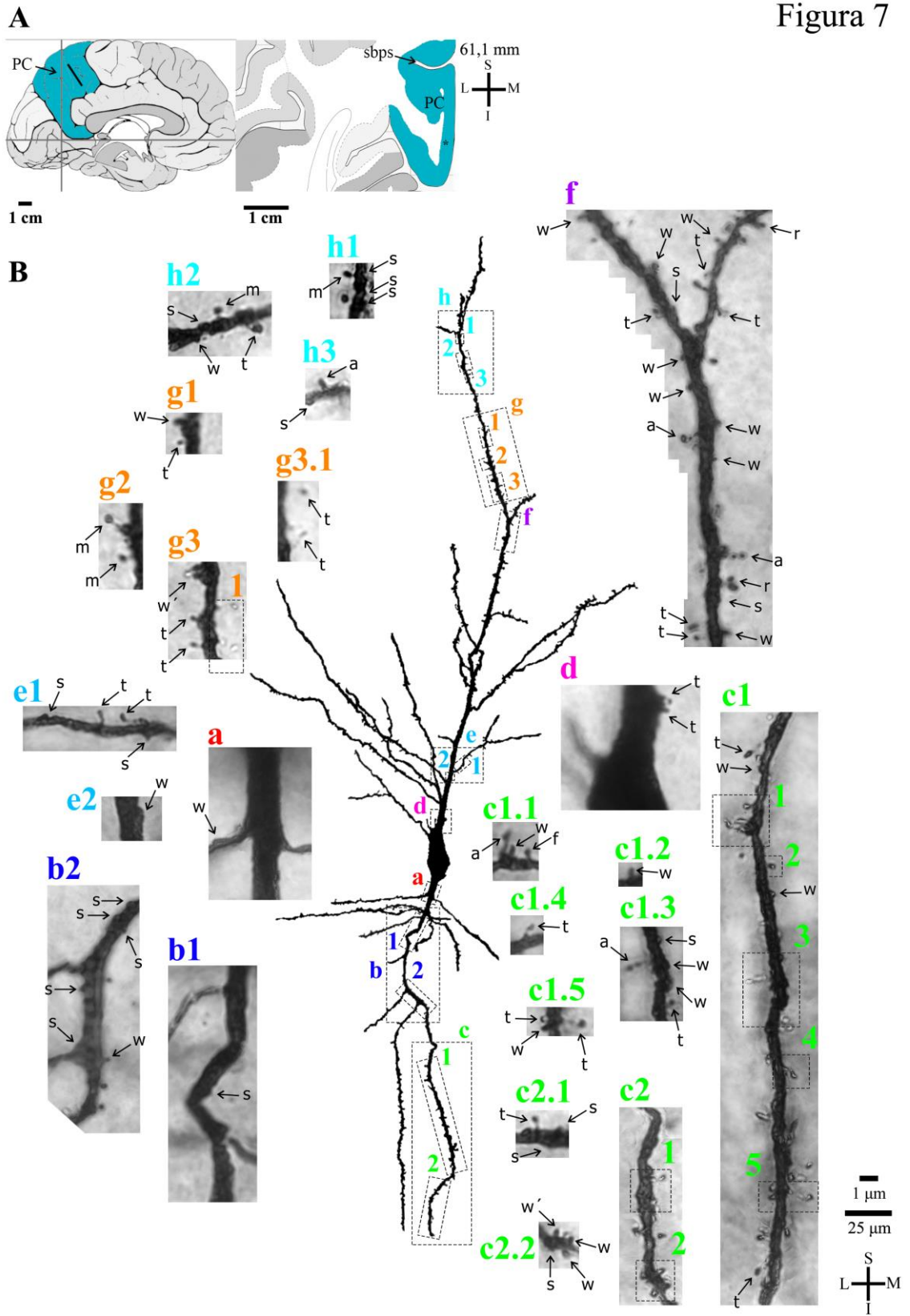


B



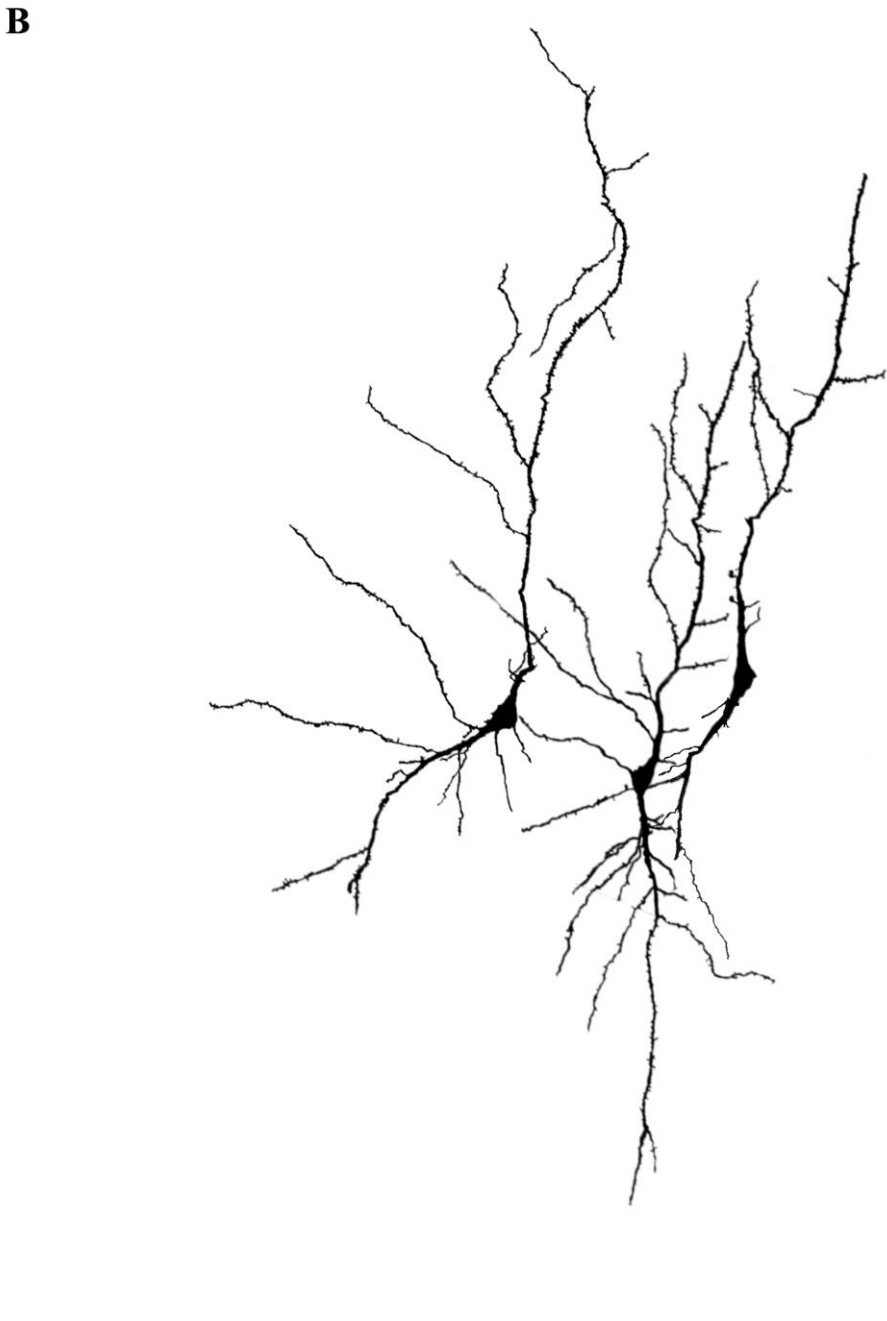
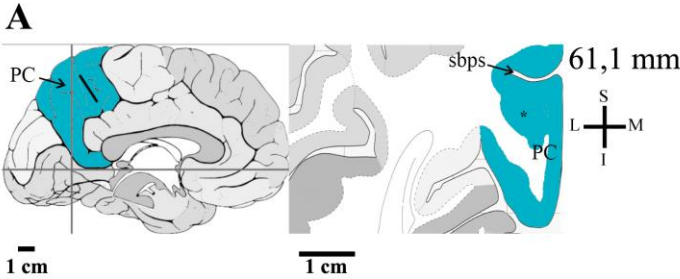
**Figura 6.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção anterior, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de neurônio de von Economo (VEN) na lâmina cortical V (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi e classificado como VEN de tipo 2. Observe o corpo celular fusiforme e o maior número de ramos dendríticos que os VEN de tipo 1. Imagens em maior aumento correspondentes a cada segmento são indicadas por letras correspondentes. O ângulo de visualização dos ramos dendríticos e seus espinhos foi modificado do original para permitir uma visualização dos elementos. Os espinhos dendríticos foram classificados em: achatado (s), espesso (w), fino (t), em formato de cogumelo (m), ramificado (r) ou atípico (a). O asterisco acima de uma letra significa a presença de espínula no espinho dendrítico correspondente. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

Figura 7



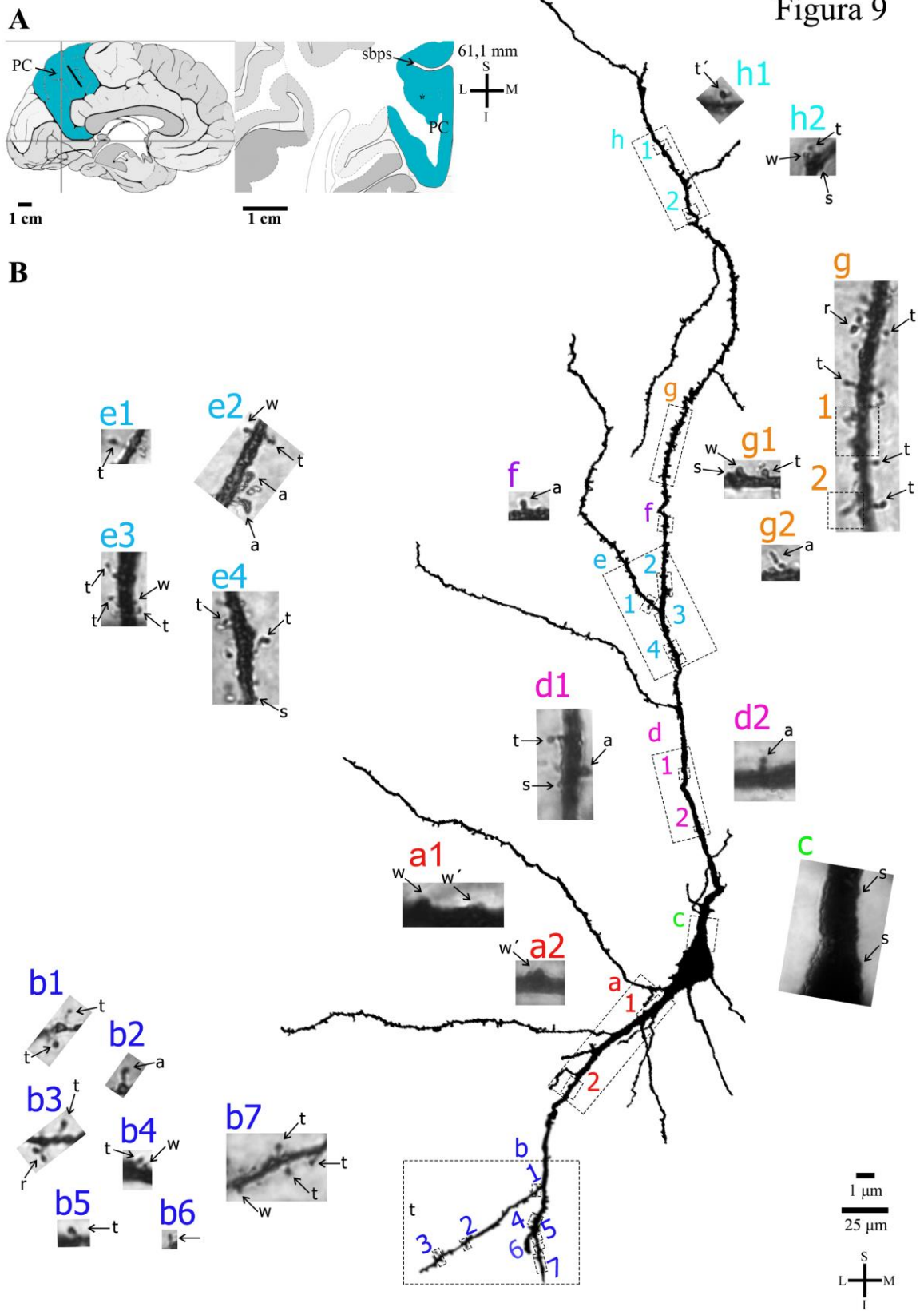
**Figura 7. (A)** Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção intermediária, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de neurônio de von Economo (VEN) na lâmina cortical V (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). **(B)** Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi e classificado como VEN de tipo 3. Observe o corpo celular fusiforme e o grande número de ramos dendríticos e suas ramificações com espinhos dendríticos pleomórficos. Imagens em maior aumento correspondentes a cada segmento são indicadas por letras correspondentes. O ângulo de visualização dos ramos dendríticos e seus espinhos foi modificado do original para permitir uma visualização dos elementos. Os espinhos dendríticos foram classificados em: achatado (s), espesso (w), fino (t), em formato de cogumelo (m), ramificado (r) ou atípico (a). O asterisco acima de uma letra significa a presença de espínula no espinho dendrítico correspondente. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

Figura 8



**Figura 8.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção intermediária, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de neurônio de von Economo (VEN) na lâmina cortical V (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônios impregnado pela técnica de Golgi. Observe os formatos dos corpos celulares fusiforme e o aspecto dos principais ramos dendríticos primários e dos demais prolongamentos celulares. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

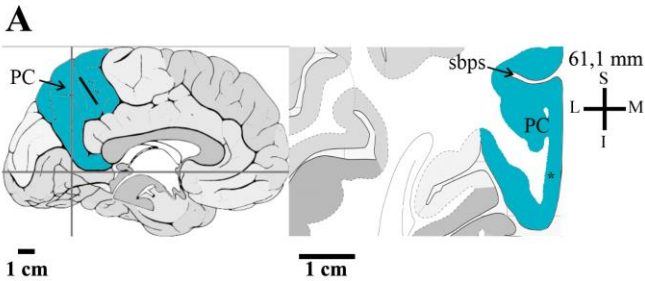
Figura 9





**Figura 9.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção intermediária, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de variantes morfológicas dos neurônios de von Economo (VEN) na lâmina cortical V (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi. Observe o corpo celular fusiforme, a presença de dois troncos dendríticos primários principais e dois ramos colaterais somáticos sem ramificação proximal. Os ramos dendríticos apresentam ramificações com espinhos dendríticos pleomórficos. Imagens em maior aumento correspondentes a cada segmento são indicadas por letras correspondentes. O ângulo de visualização dos ramos dendríticos e seus espinhos foi modificado do original para permitir uma visualização dos elementos. Os espinhos dendríticos foram classificados em: achatado (s), espesso (w), fino (t), em formato de cogumelo (m), ramificado (r) ou atípico (a). O asterisco acima de uma letra significa a presença de espínula no espinho dendrítico correspondente. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

Figura 10

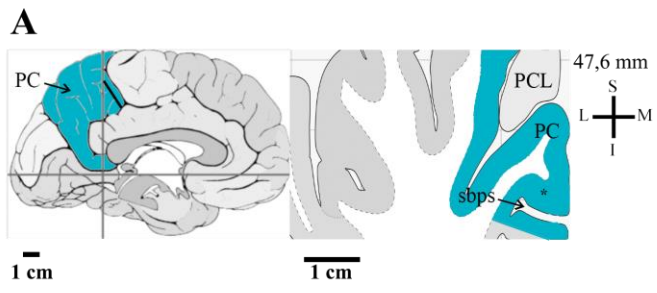


**B**



**Figura 10.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção intermediária, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de variantes morfológicas dos neurônios de von Economo (VEN) na lâmina cortical V (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi. Observe o corpo celular fusiforme e a presença de dois troncos dendríticos primários principais com angulação aguda entre si. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

Figura 11



**B**

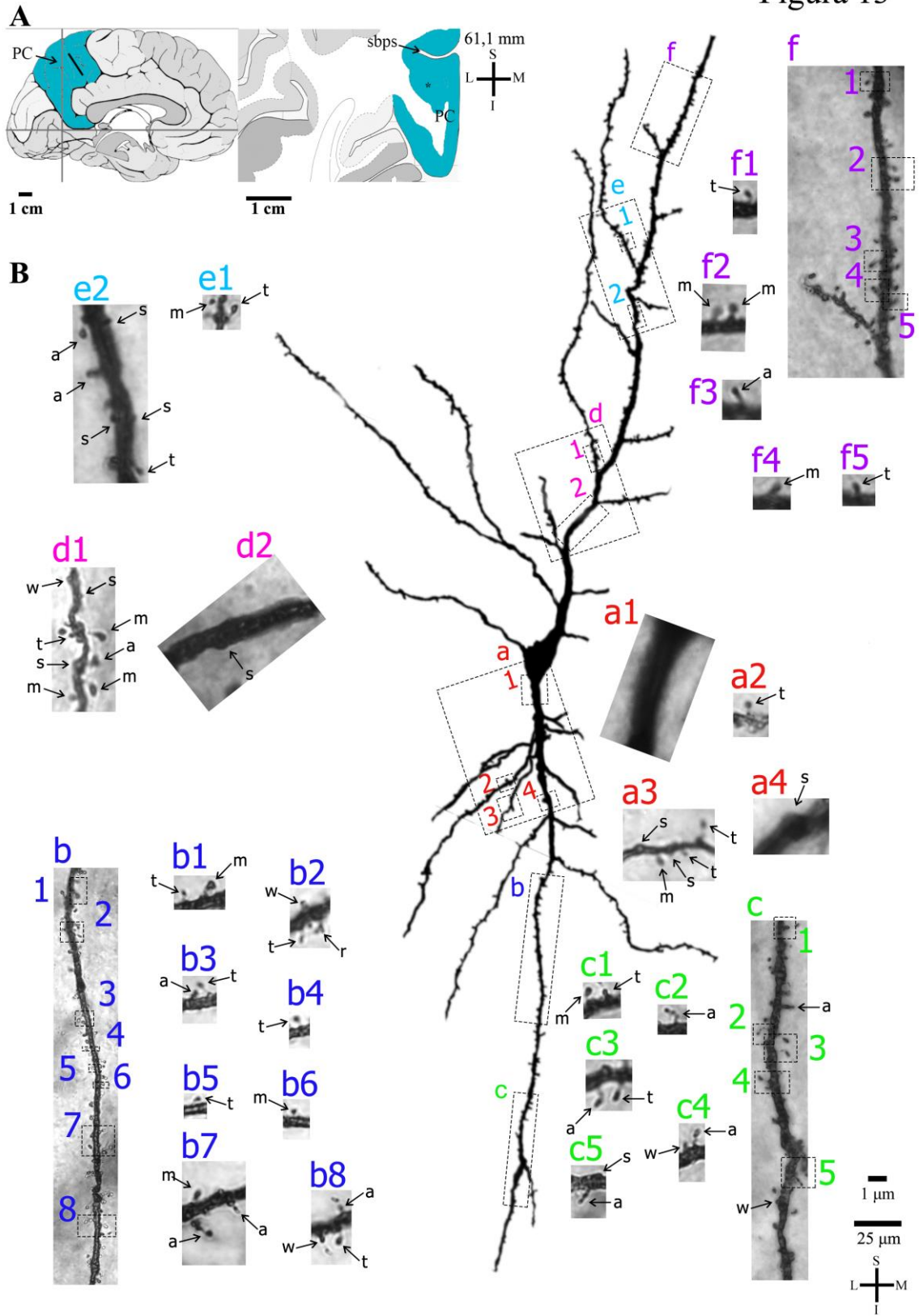


**Figura 11.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção anterior, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de variantes morfológicas dos neurônios de von Economo (VEN) na lâmina cortical V (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi. Observe o corpo celular fusiforme e a presença de dois troncos dendríticos primários principais, ramo colateral somático mais fino e pouca ramificação dendrítica subsequente. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).



**Figura 12. (A)** Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção anterior, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de variantes morfológicas dos neurônios de von Economo (VEN) na lâmina cortical VI (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). **(B)** Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi. Observe o corpo celular fusiforme e a presença de dois troncos dendríticos primários principais, dois ramos colaterais somático mais finos e padrão maior de ramificação dendrítica subsequente que o neurônio apresentado na figura anterior. Imagens em maior aumento correspondentes a cada segmento são indicadas por letras correspondentes. O ângulo de visualização dos ramos dendríticos e seus espinhos foi modificado do original para permitir uma visualização dos elementos. Os espinhos dendríticos foram classificados em: achatado (s), espesso (w), em formato de cogumelo (m) ou atípico (a). Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

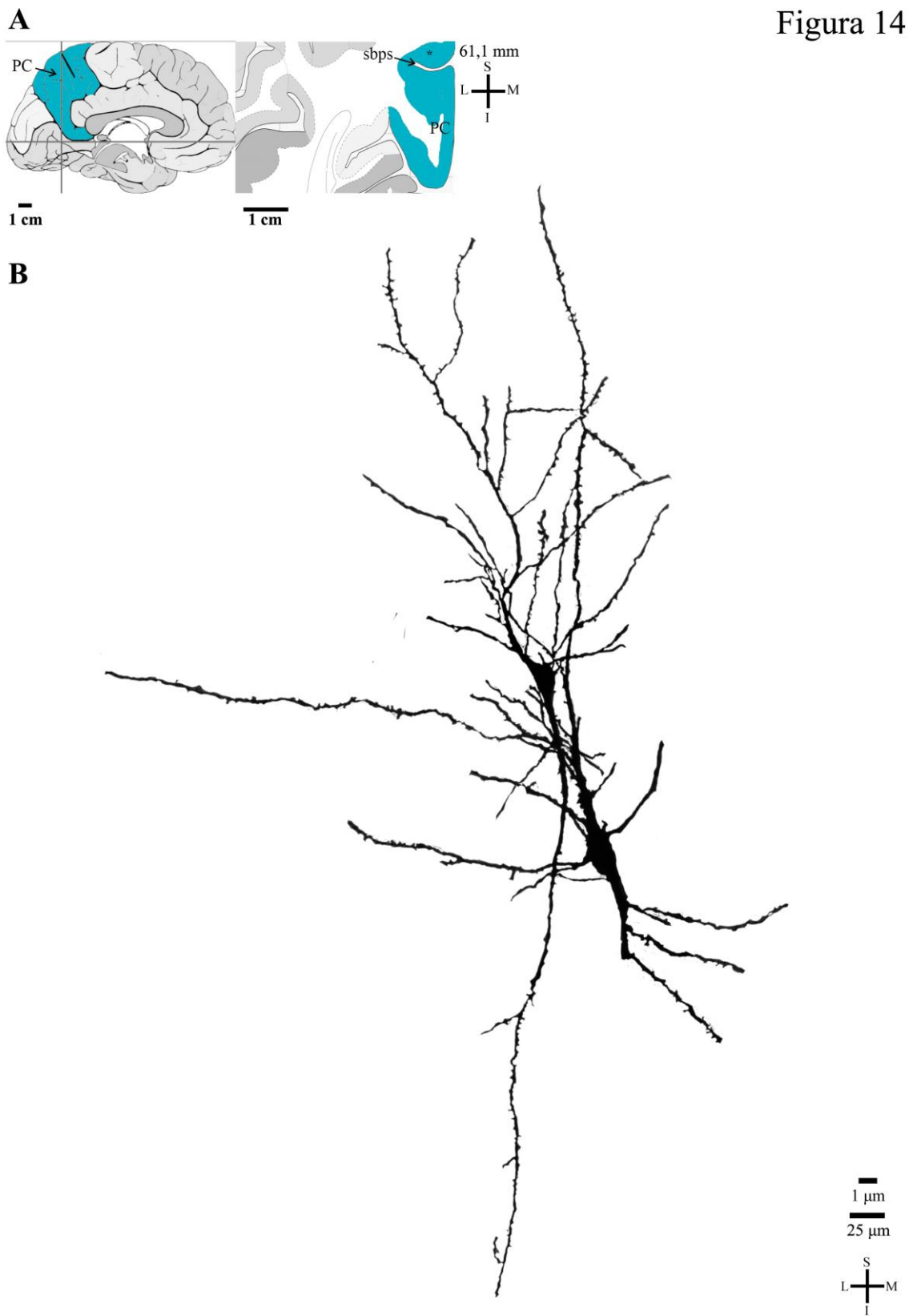
Figura 13





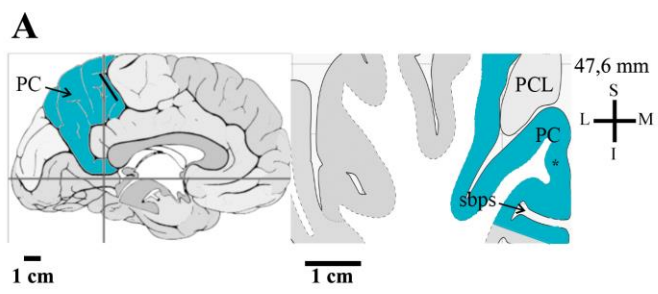
**Figura 13.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção intermediária, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de variantes morfológicas dos neurônios de von Economo (VEN) na lâmina cortical V (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi. Observe o corpo celular de aspecto entre fusiforme e piramidal, presença de dois troncos dendríticos primários principais em polos opostos além da presença de um terceiro ramo dendrítico primário sem característica de ramo basal piramidal. Os ramos dendríticos apresentam ramificações com espinhos dendríticos pleomórficos. Imagens em maior aumento correspondentes a cada segmento são indicadas por letras correspondentes. O ângulo de visualização dos ramos dendríticos e seus espinhos foi modificado do original para permitir uma visualização dos elementos. Os espinhos dendríticos foram classificados em: achatado (s), espesso (w), fino (t), em formato de cogumelo (m), ramificado (r) ou atípico (a). O asterisco acima de uma letra significa a presença de espínula no espinho dendrítico correspondente. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

Figura 14

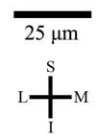


**Figura 14.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção intermediária, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de variantes morfológicas dos neurônios de von Economo (VEN) na lâmina cortical VI (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônios impregnado pela técnica de Golgi. Observe os formatos dos corpos celulares fusiforme (à direita) ou fusiforme a piramidal (à esquerda) e o aspecto dos principais ramos dendríticos primários e dos demais prolongamentos celulares. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

Figura 15

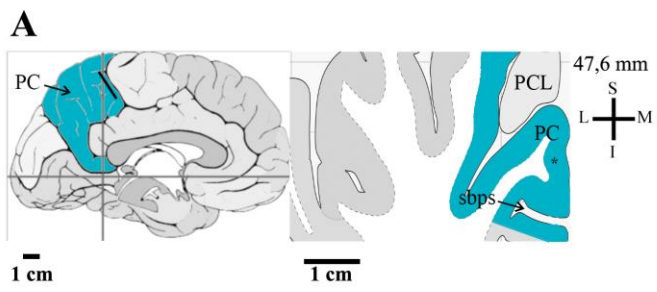


**B**

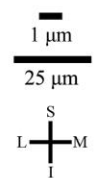
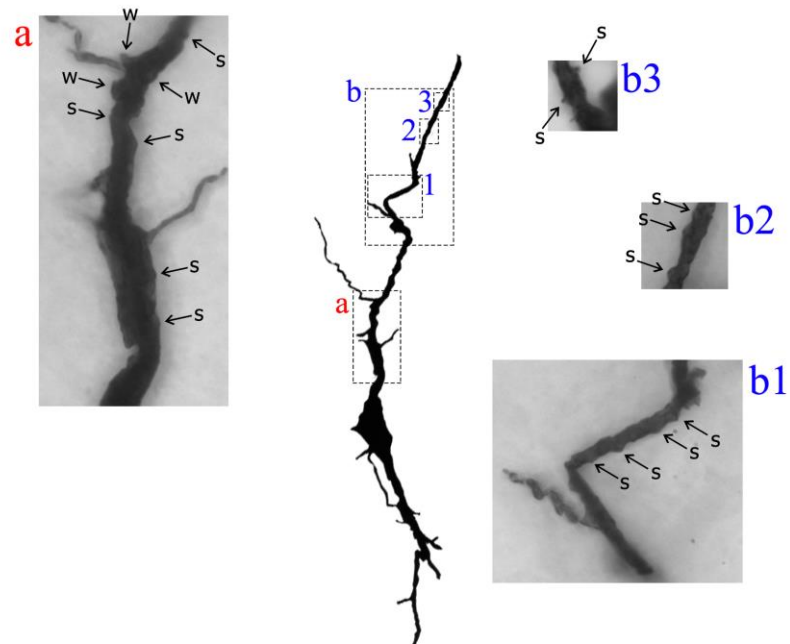


**Figura 15.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção anterior, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de variantes morfológicas dos neurônios de von Economo (VEN) na lâmina cortical VI (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal; PCL: lóbulo paracentral. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônios impregnado pela técnica de Golgi. Observe os formatos dos corpos celulares, ambos fusiformes, a presença de dois ramos dendríticos primários e a diferença no padrão de ramificação dendrítica subsequente. O neurônio à direita tem similaridade com VEN de tipo 1 e o neurônio à esquerda com VEN de tipo 2 ou 3 de lâmina V do PC. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

Figura 16



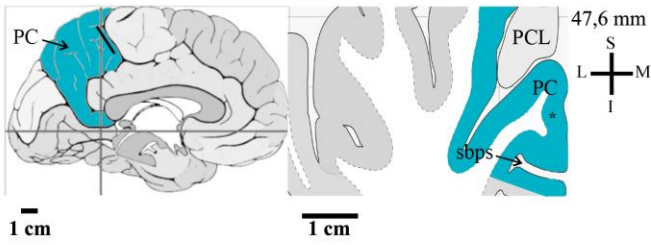
**B**



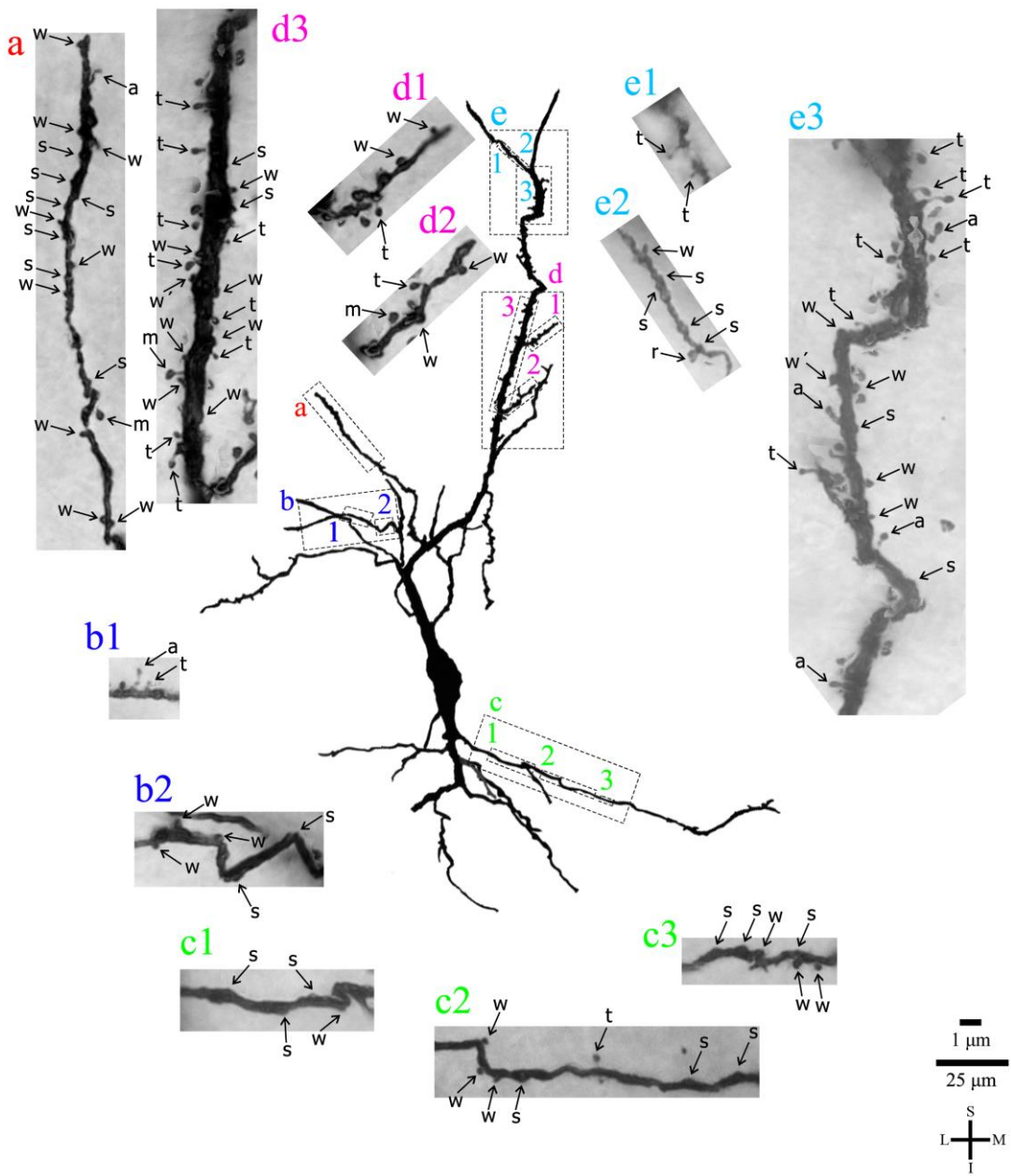
**Figura 16.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção anterior, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de variantes morfológicas dos neurônio de von Economo (VEN) na lâmina cortical VI (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal; PCL: lóbulo paracentral. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi demonstrando similaridade com VEN de tipo 1. Observe o corpo celular fusiforme e o padrão restrito da ramificação dendrítica. Imagens em maior aumento correspondentes a cada segmento são indicadas por letras correspondentes. O ângulo de visualização dos ramos dendríticos e seus espinhos foi modificado do original para permitir uma visualização dos elementos. Os espinhos dendríticos foram classificados como achatado (s) ou espesso (w). Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

Figura 17

**A**



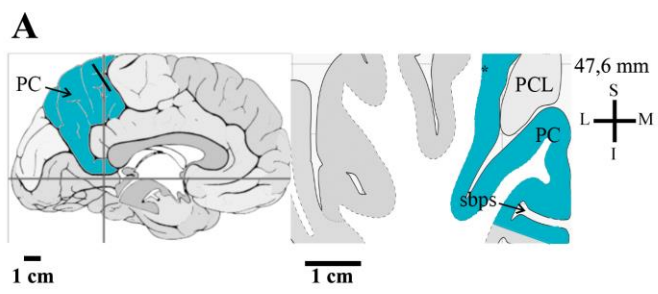
**B**



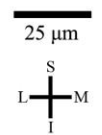


**Figura 17. (A)** Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção anterior, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de variantes morfológicas dos neurônio de von Economo (VEN) na lâmina cortical VI (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal; PCL: lóbulo paracentral. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). **(B)** Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi demonstrando similaridade com VEN dos tipos 2 ou 3. Observe o corpo celular fusiforme e o padrão mais profuso da ramificação dendrítica com espinhos dendríticos pleomórficos. Imagens em maior aumento correspondentes a cada segmento são indicadas por letras correspondentes. O ângulo de visualização dos ramos dendríticos e seus espinhos foi modificado do original para permitir uma visualização dos elementos. Os espinhos dendríticos foram classificados em: achatado (s), espesso (w), fino (t), em formato de cogumelo (m), ramificado (r) ou atípico (a). Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

Figura 18

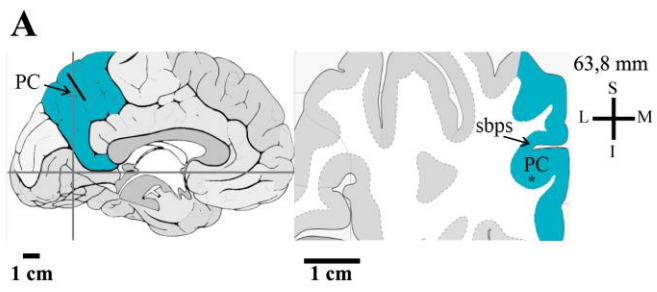


**B**

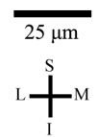
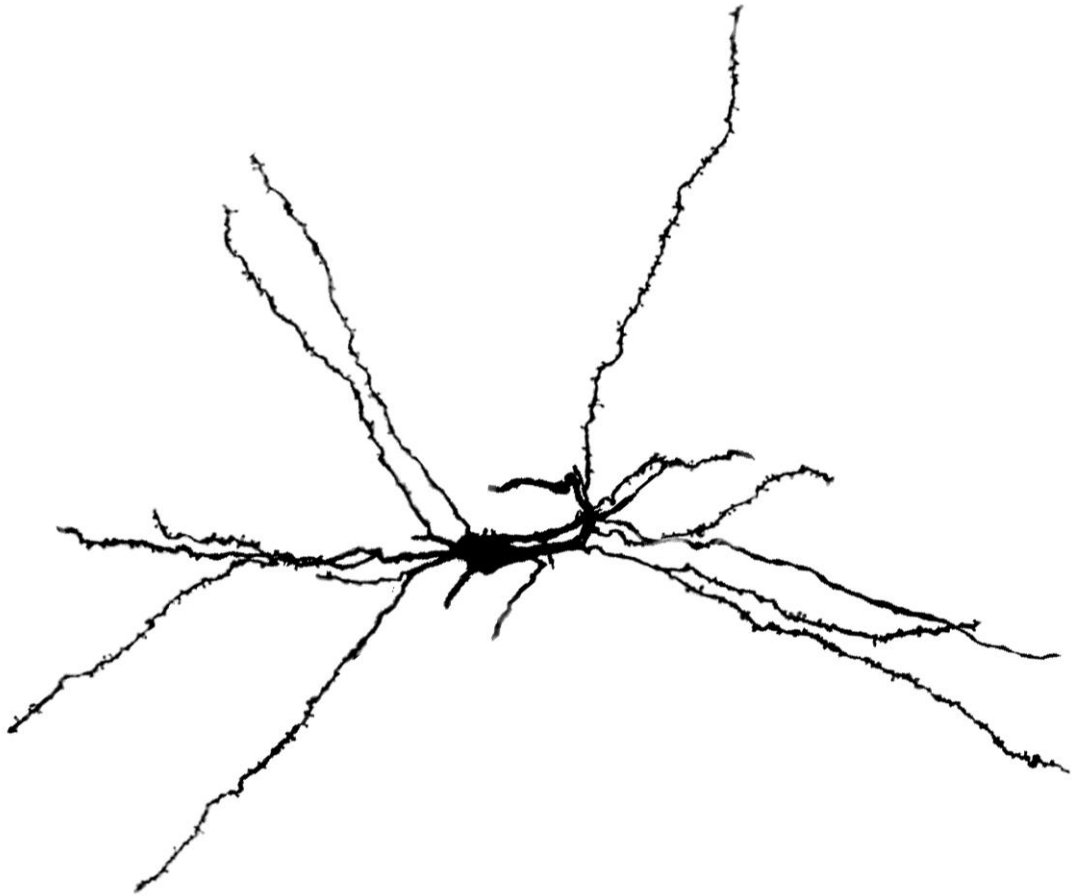


**Figura 18.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção anterior, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de variantes morfológicas dos neurônios de von Economo (VEN) na lâmina cortical VI (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal; PCL: lóbulo paracentral.. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi. Observe o corpo celular entre fusiforme a piramidal, a presença de dois troncos dendríticos primários principais com angulação aguda entre si e pouca ramificação subsequente. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

Figura 19



**B**



**Figura 19.** (A) Desenho esquemático de visão medial do encéfalo humano indicando a localização do córtex pré-cúneo (PC), porção intermediária, de onde foram provenientes amostras de tecido para estudo de variantes morfológicas dos neurônios de von Economo (VEN) na lâmina cortical VI (indicada por um asterisco). sbps: sulco subparietal. Adaptado do atlas de Mai et al. (2008). (B) Reconstrução de imagem a partir de fotomicrografias de neurônio impregnado pela técnica de Golgi. Observe o corpo celular com aspecto fusiforme, a presença de vários ramos dendríticos primários com espessuras diferentes e o padrão de ramificação subsequente. Ajustes de contraste na imagem foram feitas com o programa Photoshop CS3 (Adobe Systems, EUA).

## 5. DISCUSSÃO

O estudo da forma dos neurônios tem implicação na elaboração de hipóteses sobre seu funcionamento, principalmente no encéfalo humano e todas as dificuldades inerentes a seu estudo (Ramón y Cajal, 1911; Dall'Oglio et al., 2013, 2015). Embora com a técnica de Nissl não se tenha possível evidenciar diferenças entre os VENs da lâmina V do PC humano, as particularidades morfológicas de cada um desses neurônios ficaram evidente com o emprego complementar da técnica de Golgi. Com isso, a ramificação dendrítica a partir de dois dendritos primários e o padrão de ocorrência e distribuição dos espinhos dendríticos sugere fortemente que os VENs do PC têm diferenças morfofuncionais entre si. De fato, os neurônios aqui observados apresentam corpo celular fusiforme e dois ramos dendríticos primários com orientação longitudinal, o que é característicos dos VENs, tanto isolados ou formando agrupamentos, na lâmina cortical V, como tem sido descrito na literatura para outras regiões corticais, incluindo-se o giro do cíngulo anterior e a região fronto-insular (Nimchinsky et al., 1995; Watson et al., 2006; Butti et al., 2013; Raghanti et al., 2015). A estrutura dendrítica é determinante para compreender o processamento sináptico e a variabilidade na arborização dendrítica, somado ao padrão de distribuição, o número e a forma dos espinhos dendríticos, indica especialização de funções neurais integradas em circuitos respectivos (Liu e Sanes, 2017). Neste sentido, nossos dados sugerem que os neurônios estudados nas lâminas corticais V e VI constituem peças-chave no processamento e integração sináptica nas regiões anterior e intermediária do PC, as quais estão associadas funcionalmente com um processamento sensório-motor e cognitivo, respectivamente (Margulies et al., 2009; Bruner et al., 2014). A importância dos VENs e de suas variantes será descrita a seguir. Não obstante, é preciso ressaltar que este é o primeiro relato na literatura da presença de VENs no PC humano.

Conforme recentemente revisado e descrito por Junior (2018), adaptando-se os conhecimentos existentes para o PC humano, tem-se que *“esses dados morfológicos também podem ter implicações diretas na forma com que se faz a integração sináptica pelos VENs nos diversos circuitos neuronais, uma vez que dendritos mais longos e ramificados oferecem superfície maior para múltiplas conexões axonais (Jacobs et al., 1997; Dall'Oglio et al., 2008; Spruston et al., 2013)”*. Devido à sua orientação vertical, os VENs estão implicados em redes

neurônios que integram a informação dentro de sua própria coluna cortical e com os axônios que chegam nas diversas lâminas corticais. Pouquíssimo se sabe sobre os espinhos dendríticos dos VENs no giro do cíngulo anterior (Watson et al., 2006) ou em outras áreas corticais humanas. Essa carência de dados ocorre devido ao fato de que a maior parte da literatura sobre VENs é composta por estudos sobre densidade celular utilizando-se a técnica da tionina ou de Nissl, o que não permite identificar os espinhos dendríticos precisamente (por exemplo, Brun e Gustafson, 1976; Allman et al., 2010; Cauda et al., 2014). Os relatos referentes à forma dos VENs valeram-se até o momento de técnicas histológicas básicas ou imunomarcação para componentes estruturais neuronais (Nimchinsky et al., 1995; Vetter et al., 2001; Allman et al., 2005; Seeley, 2008). Além disso, os VENs representam apenas 3% de todos os neurônios presentes na camada V do giro do cíngulo humano, por exemplo (Fajardo et al., 2008), e a técnica de Golgi impregna aleatoriamente por volta de 1% a 10% das células de uma determinada área nervosa (Ramón y Cajal 1901, 1911; Dall'Oglio et al., 2007). Isso torna a chance dos VENs serem impregnados pela técnica de Golgi baixa. Por outro lado, quando os resultados são satisfatórios provêm dados que permitem a classificação neuronal como foi feita no presente estudo.

Os VENs apresentam diferenças na presença, distribuição, número e variedade de formas dos espinhos dendríticos. Considerando que a arquitetura dendrítica é determinante da função neuronal, a diversidade na distribuição e forma dos espinhos dendríticos fornece requisitos estruturais adicionais para a modulação da atividade sináptica e da integração da informação (Liu e Sanes, 2017). Os espinhos dendríticos servem para aumentar a área de contato sináptico em um mesmo volume espacial (Bourne e Harris, 2008) e a maior parte desses contatos serve para transmissão excitatória (Fortin et al., 2012; Harnett et al., 2012; Brusco et al., 2014). A forma, função e propriedades plásticas dos espinhos podem variar de acordo com a demanda sináptica (González-Ramírez et al., 2014; Stewart et al., 2014) bem como prover cada área nervosa com maior capacidade de elaboração de funções (Spruston et al., 2013; Lepousez et al., 2014). A atividade sináptica proporciona aos espinhos a capacidade de modular respostas bioquímicas discretas, algumas fazendo com que haja uma compartimentalização da informação (Yuste, 2013), ou gerar alterações no citoesqueleto e no formato do próprio espinho,

transformando-o de uma forma mais imatura em madura (Fischer et al., 1998; Saneyoshi et al., 2010). Assim, a forma do espinho está relacionada diretamente com a estabilidade e intensidade da conexão sináptica e o número de espinhos por segmento dendrítico se reflete na capacidade integrativa local (Oertner e Matus, 2005; Tada e Sheng, 2006). Em humanos, dada a complexidade dos circuitos nervosos, podem existir espinhos multisinápticos estabelecendo dois contatos excitatórios e um inibitório, em posições diferentes, mesmo que no mesmo elemento pós-sináptico (Dall'Oglio et al., 2013, 2015). Ademais, a distância, em relação ao soma, onde a sinapse é realizada no dendrito pode afetar o quanto de voltagem é modificada neste neurônio. E há dados tanto para considerar processamentos passivos como ativos envolvendo as propriedades dos dendritos e seus canais iônicos dependentes de voltagem (Spruston et al., 2013). A esse raciocínio somam-se os espinhos dendríticos e o formato de cada espinho, impondo mais ou menos resistência para redução ou amplificação da voltagem induzida pela atividade sináptica (Yuste, 2013). Sinapses proximais geram maior potencial excitatório em relação a sinapses realizadas nas porções distais do dendrito, embora nas partes proximais possam ocorrer mais contatos inibitórios diretos no tronco dendrítico (Peters e Kaiserman-Abramof, 1970). Tudo isso precisa ser elucidado a partir de agora para os VENs e suas variantes do PC humano, o que acrescenta informação absolutamente relevante para compreensão da função complexa desta área cortical.

Conforme Raghanti et al. (2015), *“os VENs estão presentes em cérebros relativamente grandes e mais elaborados. Isso sugere que os VENs evoluíram de populações neuronais que provavelmente tinham uma morfologia piramidal em áreas corticais homólogas em mamíferos ancestrais... Considerando a relação entre morfologia e função..., a notável forma dos VENs pode estar relacionada com a conexão de áreas corticais e subcorticais distantes... com aumento da flexibilidade e modularidade das funções... Pode-se, então, comparar VENs com células Betz em camada Vb do córtex motor e as células Meynert na camada VI do córtex visual, respectivamente... Similarmente, as células de Betz e Meynert têm restrita distribuição, forma de agrupamentos e exibem especialização morfológica e funcional...”*. Neste sentido, o PC humano representa uma das maiores incógnitas no que se refere a seu desenvolvimento ao longo na evolução e de nosso desenvolvimento como espécie. Durante muito tempo foi esquecido do foco de



estudos devido em grande parte às dificuldades metodológicas, tanto no seu acesso, na ocorrência de quadros degenerativos específicos desta área ou quanto à sua manipulação experimental (Cavanna e Trimble, 2006). Os resultados de imageamento funcional, como descritos na Introdução, foram fundamentais para entender o valor funcional desta região. Não obstante, o PC é uma região altamente variável quanto à sua forma no cérebro humano em termos populacionais (Bruner et al., 2014). O PC exhibe diferenças no aspecto macroscópico de sua superfície medial, podendo ser observado encurtado ou alongado, em forma quadrada ou com maior comprimento rostrocaudal (Cavanna e Trimble, 2006). Apesar disso, pode ser que tal variação anatômica não venha a implicar em significância fisiológica diferente no ser humano (Bruner et al., 2014).

Quando comparados com primatas não-humanos, o PC humano parece ter tido desenvolvimento próprio no processo de especiação, o qual poderia ter contribuído à curvatura fronto-occipital e ao aumento de volume da região parietal posterior (Bruner et al., 2003, 2017). Assim, chama a atenção o papel fundamental do PC no processo de hominização, papel que poderia se igualar ao conferido pelo córtex pré-frontal. Isso poderia implicar que os VENs e suas variantes venham a ter tido participação no processo evolutivo com capacidade computacional diferenciada em comparação aos neurônios piramidais presentes na mesma lâmina V cortical (Watson et al., 2006). Duas hipóteses poderiam ser elaboradas nessa condição: a primeira sugere que o aumento de volume celular no PC no processo de especiação pode ter “diluído” os VENs nessa região em comparação com a quantidade de neurônios piramidais locais; ou, outra possibilidade, propõe-se que os VENs poderiam ter aparecido com o aumento do volume do PC no processo de especiação, sendo um tipo celular fundamental que levou ao desenvolvimento de funções sensório-motoras e cognitivas de ordem superior na nossa espécie e no contexto de maior organização social e emocional. É provável que ambos os VENs e suas variantes e os neurônios piramidais da lâmina V e/ou VI sejam parte de um *continuum* de organização e função neural celular que caracteriza a região posterior funcionalmente (Cavanna e Trimble, 2006; Vann et al., 2009; Bruner et al., 2014), incluindo desde o alocórtex hipocampal, áreas de transição e até chegar nas proções retrosplenial, do giro cingulado posterior até, por fim, no PC. De fato, tem-se descrito VENs nessas regiões, as quais tem sido associadas (baseado nas supostas

funções dos VENs locais) com funções cognitivas de ordem superior. Na região posterior cerebral humana, os diferentes tipos de VENs, como apresentados neste trabalho, seriam fundamentais na formação dos circuitos e na integração funcional da rede neural que interpreta e gera comportamentos baseado em informações visuoespaciais, emocionais, interpretativas e de auto-consciência (Cavanna e Trimble, 2006; Vann et al., 2009; Bruner et al., 2014).

Com base nos dados morfológicos básicos descritos nesta dissertação, torna-se essencial que estudos adicionais venham a ser feitos para avaliar a presença e distribuição dos VENs no córtex cingulado posterior, retrosplenial e parahipocampal tanto no cérebro humano quanto em outros primatas. A estimativa de quando ocorreu o surgimento filogenético dos VENs nas regiões posteriores cerebrais, onde está o PC como o conhecemos hoje, pode contribuir para a compreensão do processo evolutivo das funções neurais mais complexas. Ademais, a diferenciação anteroposterior do PC humano se reflete no processamento das funções sensório-motoras elaboradas na região anterior, cognitiva multimodal na região medial e visual na região posterior (Margulies et al., 2009). Ao serem observados VENs com três tipos de complexidade nas regiões anteriores e mediais, é possível hipotetizar sua importância funcional com níveis de integração sináptica e funcional crescentes. Ou seja, adaptando-se o descrito por Watson et al. (2006) para o giro do cíngulo anterior humano, *“a arquitetura dendrítica mais estreita dos VENs sugere que ela apenas processa informação em um subespaço de uma minicoluna, que é relatado para ser 35-60 µm de largura em seres humanos ... No caso de qualquer entrada sináptica ou extrassináptica, os VENs provavelmente recebem a neurotransmissão apenas dentro de suas minicolunas individuais ... Assim, os VENs podem ser uma especialização que facilita essa rápida transmissão do sinal radial, fornecendo uma resposta de saída que reflete a entrada sináptica minicolunar...”*. Esse tipo de raciocínio bem vale para os VENs de tipo 1, mas precisa ser adaptado para compreender que os VENs de tipos 2 e 3 possuem radiação dendrítica maior e mais extensa lateralmente. Como no PC encontram-se os três tipos morfológicos de VENs, é muito plausível sugerir que, estrategicamente entre regiões sensório-motoras primárias, occipital e parietal lateral, a presença de mais tipos neuronais no PC seria essencial na integração da informação sensório-motora, cognitiva e visual. De fato, a afirmação de que *“... VENs são computacionalmente simples comparados*

*com neurônios piramidais*” (Watson et al., 2006) valeria para os de tipo 1, mas teria de ser expandida e possivelmente retificada para os tipos 2 e 3, como demonstrados aqui e, recentemente, no giro do cíngulo anterior humano (Junior, 2018).

Por fim, os presentes dados também podem servir para estudos com implicações patológicas. O córtex parietal posteromedial menos frequentemente encontra-se lesionado por acidentes vasculares ou traumáticos (Cavanna e Trimble, 2006). Não obstante, há relatos de que lesões parietais mediais e laterais provocam ataxia óptica (Karnath e Perenin, 2005) e simultagnosia na síndrome de Balint (Le et al., 1998). As causas mais comuns desta condição é um dano occipitoparietal que atinge o PC (Raichle et al., 2001). Outras condições patológicas tem sido associadas a lesões no PC, como quadros de ansiedade (Akiki et al., 2018), esquizofrenia (Gong et al., 2014) e autismo (Cheng et al., 2015). O PC tem sido identificado como sítio onde ocorre depósito de beta-amilóide no parênquima nervoso (Villemagne et al., 2009), em região que é afetada anos antes do diagnóstico de demência (Love e Miners, 2016). Em estudo utilizando tomografia por emissão de pósitrons, observou-se padrão reduzido de utilização de glicose no PC bilateralmente, no lóbulo parietal inferior e no córtex cingulado posterior em pacientes que apresentavam doença de Alzheimer (Eustache et al., 2004). A perda de espinhos dendríticos poderia alterar a complexa rede funcional da região cerebral posterior e, de fato, isso ocorre na região do PC e se relaciona com os diferentes graus de deficiência cognitiva presentes na doença de Alzheimer (Mi et al., 2017). Assim, o conhecimento sobre a existência de diversos tipos de VENs e suas variantes no PC humano pode contribuir no entendimento da função normal e seu comprometimento em diversas doenças, as quais tem como base o comprometimento das funções primárias dessa região. Realizar estudos sobre co-localização entre VENs, marcadores de espinhos dendríticos e de alterações neurodegenerativas em sujeitos com doença de Alzheimer permitirá evidenciar a real contribuição dos VENs na fisiopatogenia de doenças cognitivas.

Não se conheciam os diferentes tipos de VENs e suas variantes no PC humano. Nossos dados são os primeiros a detalhar esse grupo celular cortical claramente heterogêneo. Em conjunto, os dados morfológicos aqui apresentados contribuem para avançar o conhecimento do PC humano e propor novas linhas de

investigação promissoras para sua citoarquitetura, hodologia e implicações funcionais e patológicas.

## 6. CONCLUSÕES

Neurônios com aspecto morfológico de VENs existem no PC humano como evidenciado pelas técnicas de coloração de Nissl e pela impregnação pela prata com o emprego da técnica de Golgi adaptada para tecido nervoso *postmortem*.

Há três tipos de VENs na lâmina V das porções anterior e intermediária do PC humano.

Variantes morfológicas dos VENs são encontradas em ambas lâminas V e VI do PC humano.

## **7. PERSPECTIVAS**

Estudar possíveis modificações na estrutura dos ramos dendríticos, na forma e no número dos espinhos dendríticos dos VENs da lâmina V do PC humano em caso de quadros demenciais.

Empregar técnica de microscopia eletrônica de transmissão para estudo do tipo de contato e o aspecto ultraestrutural sináptico nos troncos e espinhos dendríticos de cada tipo de VEN no PC humano.

Estabelecer as semelhanças e diferenças morfológicas e de organização sináptica entre os VENs e os neurônios piramidais da lâmina V do PC humano.

Determinar se os tipos morfológicos que parecem variantes dos VENs possuem marcadores celulares que permitam identificá-los como sendo de uma mesma família neuronal ou se são subpopulações diferentes celulares.

## 8. REFERÊNCIAS

- Akiki TJ, Averill CL, Wrocklage KM, Scott JC, Averill LA, Schweinsburg B, Alexander-Bloch A, Martini B, Southwick SM, Krystal JH, Abdallah CG. 2018. Default mode network abnormalities in posttraumatic stress disorder: A novel network-restricted topology approach. *Neuroimage* 176, 489-498.
- Allman JM, Tetreault NA, Hakeem AY, Manaye KF, Semendeferi K, Erwin JM, Park S, Goubert V, Hof PR. 2010. The von Economo neurons in frontoinsular and anterior cingulate cortex in great apes and humans. *Brain Struct Funct* 214(5-6), 495-517.
- Allman JM, Watson KK, Tetreault NA, Hakeem AY. 2005. Intuition and autism: a possible role for Von Economo neurons. *Trends Cogn Sci* 9, 367–73.
- Bhatt DH, Zhang S, Gan WB. 2009. Dendritic spine dynamics. *Annu Rev Physiol* 71, 261-82.
- Blum JS, Chow KL, Pribram KH. 1950. A behavioral analysis of the organization of the parieto-temporo-preoccipital cortex. *J Comp Neurol* 93, 53–100.
- Bourne JN, Harris KM. 2008. Balancing Structure and Function at Hippocampal Dendritic Spines. *Annu Rev Neurosci* 31, 47–67.
- Braak H. 1980. *Architectonics of the Human Telencephalic cortex*. Berlin: Springer-Verlag.
- Brodmann K. 1909. *Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*. Leipzig: JA Barth.
- Brun A, Gustafson L. 1976. Distribution of cerebral degeneration in Alzheimer's disease. A clinico-pathological study. *Arch Psychiatr Nervenkr* 223, 15–33.
- Bruner E. 2007. Cranial shape and size variation in human evolution: structural and functional perspectives. *Child's Nerv Syst* 23, 1357–1365.
- Bruner E. 2010. Morphological Differences in the Parietal Lobes within the Human Genus. *Curr Anthropol* 51, S77–S88.
- Bruner E, Manzi G, Arsuaga JL. 2003. Encephalization and allometric trajectories in the genus *Homo*: Evidence from the Neandertal and modern lineages. *Proc Natl*

Acad Sci 100, 15335–15340.

- Bruner E, Preuss TM, Chen X, Rilling JK. 2017. Evidence for expansion of the precuneus in human evolution. *Brain Struct Funct* 222, 1053–1060.
- Bruner E, Rangel de Lázaro G, de la Cuétara JM, Martín-Loeches M, Colom R, Jacobs HIL. 2014. Midsagittal brain variation and MRI shape analysis of the precuneus in adult individuals. *J Anat* 224, 367–376.
- Brusco J, Merlo S, Ikeda ÉT, Petralia RS, Kachar B, Rasia-Filho AA, Moreira JE. 2014. Inhibitory and multisynaptic spines, and hemispherical synaptic specialization in the posterodorsal medial amygdala of male and female rats. *J Comp Neurol* 522, 2075–88.
- Butti C, Santos M, Uppal N, Hof PR. 2013. Von Economo neurons: clinical and evolutionary perspectives. *Cortex* 49, 312–26.
- Cauda F, Geminiani GC, Vercelli A. 2014. Evolutionary appearance of von Economo's neurons in the mammalian cerebral cortex. *Front Hum Neurosci* 8:104.
- Cavada C, Goldman-Rakic PS. 1989. Posterior parietal cortex in rhesus monkey: II. Evidence for segregated corticocortical networks linking sensory and limbic areas with the frontal lobe. *J Comp Neurol* 287, 422–45.
- Cavanna AE, Trimble MR. 2006. The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. *Brain* 129, 564–583.
- Chang FL, Greenough WT. 1984. Transient and enduring morphological correlates of synaptic activity and efficacy change in the rat hippocampal slice. *Brain Res.* 309, 35-45.
- Cheng W, Rolls ET, Gu H, Zhang J, Feng J. 2015. Autism: reduced connectivity between cortical areas involved in face expression, theory of mind, and the sense of self. *Brain* 138, 1382–1393.
- Chicurel ME, Harris KM. 1992. Three-dimensional analysis of the structure and composition of CA3 branched dendritic spines and their synaptic relationship with mossy fiber boutons in the rat hippocampus. *J Comp Neurol* 325, 169-82.



- Conn HJ. 1953. Biological stains; a handbook on the nature and uses of the dyes employed in the biological laboratory , 1886-1975.
- Critchley M. 1953. The parietal lobes. Oxford: Williams and Wilkins.
- Dall'Oglio A, Dutra ACL, Moreira JE, Rasia-Filho AA. 2015. The human medial amygdala: structure, diversity, and complexity of dendritic spines. *J Anat* 227, 440–59.
- Dall'Oglio A, Ferme D, Brusco J, Moreira JE, Rasia-Filho AA. 2010. The “single-section” Golgi method adapted for formalin-fixed human brain and light microscopy. *J Neurosci Methods* 189, 51–55.
- Dall'Oglio A, Gehlen G, Achaval M, Rasia-Filho AA. 2008. Dendritic branching features of posterodorsal medial amygdala neurons of adult male and female rats: further data based on the Golgi method. *Neurosci Lett* 430, 151–6.
- Dall'Oglio A, Marcuzzo S, De Castilhos J, Rasia-Filho AA. 2007. Método de Golgi. Em: Bittencourt JC, Elias CF, editors. Métodos em neurociência. Roca.
- Dall'Oglio A, Xavier LL, Hilbig A, Ferme D, Moreira JE, Achaval M, Rasia-Filho AA. 2013. Cellular components of the human medial amygdaloid nucleus. *J Comp Neurol* 521, 589–611.
- Desmond NL, Weinberg RJ. 1998. Enhanced expression of AMPA receptor protein at perforated axospinous synapses. *Neuroreport* 9, 857–60.
- Dunaevsky a, Tashiro A, Majewska A, Mason C, Yuste R. 1999. Developmental regulation of spine motility in the mammalian central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA*. 96, 13438-43.
- Eustache F, Piolino P, Giffard B, Viader F, Sayette VDL, Baron J-C, Desgranges B. 2004. “In the course of time”: a PET study of the cerebral substrates of autobiographical amnesia in Alzheimer’s disease. *Brain* 127, 1549–1560.
- Fairen A. 2005. pioneering a golden age of cerebral microcircuits: the birth of combined Golgi-electron microscope methods. *Neurosci* 136, 607-14.
- Fajardo C, Escobar MI, Buriticá E, Arteaga G, Umbarila J, Casanova MF, Pimienta H. 2008. Von Economo neurons are present in the dorsolateral (dysgranular)

- prefrontal cortex of humans. *Neurosci Lett* 435, 215–218.
- Fiala JC, Feinberg M, Popov V, Harris KM. 1998. Synaptogenesis via dendritic filopodia in developing hippocampal area CA1. *J Neurosci* 18, 8900-11.
- Fischer M, Kaech S, Knutti D, Matus A. 1998. Rapid actin-based plasticity in dendritic spines. *Neuron* 20, 847–54.
- Fletcher PC, Frith CD, Baker SC, Shallice T, Frackowiak RSJ, Dolan RJ. 1995. The Mind's Eye—Precuneus Activation in Memory-Related Imagery. *Neuroimage* 2, 195–200.
- Fortin DA, Srivastava T, Soderling TR. 2012. Structural Modulation of Dendritic Spines during Synaptic Plasticity. *Neurosci* 18, 326–341.
- Foville A (Dr). A du texte. 1844. *Traité complet de l'anatomie, de la physiologie et de la pathologie du système nerveux cérébro-spinal*. Available from: <http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k62313656>
- Gabbott PL, Somogyi J. 1984. The “single” section Golgi-impregnation procedure: methodological description. *J Neurosci Methods* 11, 221–30.
- Gong X, Lu W, Kendrick KM, Pu W, Wang C, Jin L, Lu G, Liu Z, Liu H, Feng J. 2014. A Brain-wide association study of DISC1 genetic variants reveals a relationship with the structure and functional connectivity of the precuneus in schizophrenia. *Hum Brain Mapp* 35, 5414–5430.
- González-Ramírez MM, Velázquez-Zamora DA, Olvera-Cortés ME, González-Burgos I. 2014. Changes in the plastic properties of hippocampal dendritic spines underlie the attenuation of place learning in healthy aged rats. *Neurobiol Learn Mem* 109, 94–103.
- Harris KM. 1999. Structure, development, and plasticity of dendritic spines. *Curr Opin Neurobiol.* 9, 343-9.
- Harris KM, Kater SB. 1994. Dendritic spines: cellular specialization imparting both stability and flexibility to synaptic function. *Annu Rev Neurosci.* 17, 341-71.
- Hagmann P, Cammoun L, Gigandet X, Meuli R, Honey CJ, Wedeen VJ, Sporns O. 2008. Mapping the Structural Core of Human Cerebral Cortex. *PLoS Biol* 6, 159.

- Harnett MT, Makara JK, Spruston N, Kath WL, Magee JC. 2012. Synaptic amplification by dendritic spines enhances input cooperativity. *Nature* 491, 599–602.
- Hayashi-Takagi A, Yagishita S, Nakamura M, Shirai F, Wu YI, Loshbaugh AL, Kuhlman B, Hahn KM, Kasai H. 2015. Labelling and optical erasure of synaptic memory traces in the motor cortex. *Nature* 525, 333–8.
- Hering H, Sheng M. 2001. Dendritic spines: structure dynamics and regulation. *Nat Rev Neurosci* 2, 880–888.
- Ikonomovic MD, Klunk WE, Abrahamson EE, Wu J, Mathis CA, Scheff SW, Mufson EJ, DeKosky ST. 2011. Precuneus amyloid burden is associated with reduced cholinergic activity in Alzheimer disease. *Neurology* 77, 39–47.
- Jacobs B, Driscoll L, Schall M. 1997. Life-span dendritic and spine changes in areas 10 and 18 of human cortex: a quantitative Golgi study. *J Comp Neurol* 386, 661–680.
- Jung Y-H, Shin JE, Lee YI, Jang JH, Jo HJ, Choi S-H. 2018. Altered Amygdala Resting-State Functional Connectivity and Hemispheric Asymmetry in Patients With Social Anxiety Disorder. *Front Psychiatry* 9, 164.
- Junior N. 2018. Estudo sobre a morfologia dos neurônios de von Economo e células piramidais modificadas do giro do cíngulo humano. Dissertação (Mestrado em Biociências) - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.
- Karnath H-O, Perenin M-T. 2005. Cortical Control of Visually Guided Reaching: Evidence from Patients with Optic Ataxia. *Cereb Cortex* 5, 1561–1569.
- Kaya Y, Uysal H, Akkoyunlu G, Sarikcioglu L. 2016. Constantin von Economo (1876-1931) and his legacy to neuroscience. *Childs Nerv Syst* 32, 217–20.
- Lai KO, Ip NY. 2013. Structural plasticity of dendritic spines: the underlying mechanism and its dysregulation in brain disorders. *Biochim Biophys Acta* 1832, 2257-63.
- Larriva-Sahd J. 2006. histological and cytological study of the bed nuclei of the stria terminalis in adult rat. II. Oval nucleus: extrinsic inputs, cell types, neuropil, and neuronal modules. *J Comp Neurol* 497, 772-807.

- Le TH, Pardo J V., Hu X. 1998. 4 T-fMRI Study of Nonspatial Shifting of Selective Attention: Cerebellar and Parietal Contributions. *J Neurophysiol* 79, 1535–1548.
- Leichnetz GR. 2001. Connections of the medial posterior parietal cortex (area 7m) in the monkey. *Anat Rec* 263, 215–36.
- Lepousez G, Nissant A, Bryant AK, Gheusi G, Greer CA, Lledo P-M. 2014. Olfactory learning promotes input-specific synaptic plasticity in adult-born neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 111, 13984–9.
- Liu J, Sanes JR. 2017. Cellular and Molecular Analysis of Dendritic Morphogenesis in a Retinal Cell Type That Senses Color Contrast and Ventral Motion. *J Neurosci* 37, 12247–12262.
- Lourenço RA, Sanchez MA dos S. 2014. Accuracy of the Brazilian version of the informant questionnaire on cognitive decline in the elderly at screening for dementia in community-dwelling elderly participants: findings from FIBRA-RJ study. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 27, 212–9.
- Love S, Miners JS. 2016. Cerebrovascular disease in ageing and Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 131, 645–658.
- Mai JK, Paxinos G, Voss T. 2016. *Atlas of the Human Brain*.
- Mak E, Gabel S, Mirette H, Su L, Williams GB, Waldman A, Wells K, Ritchie K, Ritchie C, O'Brien J. 2017. Structural neuroimaging in preclinical dementia: From microstructural deficits and grey matter atrophy to macroscale connectomic changes. *Ageing Res Rev* 35, 250–264.
- Margulies DS, Vincent JL, Kelly C, Lohmann G, Uddin LQ, Biswal BB, Villringer A, Castellanos FX, Milham MP, Petrides M. 2009. Precuneus shares intrinsic functional architecture in humans and monkeys. *Proc Natl Acad Sci* 106, 20069–20074.
- Mi Z, Abrahamson EE, Ryu AY, Fish KN, Sweet RA, Mufson EJ, Ikonomic MD. 2017. Loss of precuneus dendritic spines immunopositive for spinophilin is related to cognitive impairment in early Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 55, 159–166.
- Morecraft RJ, Cipolloni PB, Stilwell-Morecraft KS, Gedney MT, Pandya DN. 2004.

- Cytoarchitecture and cortical connections of the posterior cingulate and adjacent somatosensory fields in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 469, 37–69.
- Naghavi HR, Nyberg L. 2005. Common fronto-parietal activity in attention, memory, and consciousness: Shared demands on integration? *Conscious Cogn* 14, 390–425.
- Ngowyang G. 1936. Neuere Befunde über die Gabelzellen. *Zeitschrift für Zellforsch und Mikroskopische Anat* 25, 236–239.
- Nimchinsky EA, Vogt BA, Morrison JH, Hof PR. 1995. Spindle neurons of the human anterior cingul. Ate cortex. *J Comp Neurol* 355, 27–37.
- Nusser Z, Lujan R, Laube G, Roberts JD, Molnar E, Somogyi P. 1998. Cell type and pathway dependence of synaptic AMPA receptor number and variability in the hippocampus. *Neuron* 21, 545–59.
- Oertner TG, Matus A. 2005. Calcium regulation of actin dynamics in dendritic spines. *Cell Calcium* 37, 477–482.
- Oshio R, Tanaka S, Sadato N, Sokabe M, Hanakawa T, Honda M. 2010. Differential effect of double-pulse TMS applied to dorsal premotor cortex and precuneus during internal operation of visuospatial information. *Neuroimage* 49, 1108–15.
- Papez JW. 1937. A proposed mechanism of emotion. *Arch Neurol Psychiatry* 38, 725.
- Parnass Z, Tashiro A, Yuste R. 2000. Analysis of spine morphological plasticity in developing hippocampal pyramidal neurons. *Hippocampus*. 10, 561-8.
- Pereira-Pedro AS, Rilling JK, Chen X, Preuss TM, Bruner E. 2017. Midsagittal Brain Variation among Non-Human Primates: Insights into Evolutionary Expansion of the Human Precuneus. *Brain Behav Evol* 90, 255–263.
- Peters A, Kaiserman-Abramof IR. 1970. The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex. The perikaryon, dendrites and spines. *Am J Anat* 127, 321–355.
- Raghanti M, Spurlock L, Uppal N, Sherwood C, Butti C, Hof P. 2015. von Economo Neurons. Em: *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 81–91.
- Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL. 2001.

- A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci* 98, 676–682.
- Ramon-Moliner E. 1962. An attempt at classifying nerve cells on the basis on their dendritic patterns. *J Comp Neurol* 119, 211-27.
- Ramon y Cajal S. 1901. Estudios sobre la corteza cerebral humana. *Trab Inst Cajal Invest Biol*.
- Ramón y Cajal S. 1911. *Histologie Du Système Nerveux De l'Homme Et Des Vertébrés*. Paria: Maloine.
- Rasia-Filho AA, Dalpian F, Menezes IC, Brusco J, Moreira JE, Cohen RS. 2012. Dendritic spines of the medial amygdala: plasticity, density, shape, and subcellular modulation by sex steroids. *Histol Histopathol* 27, 985-1011.
- Reberger R, Dall'Oglio A, Jung CR, Rasia-Filho AA. 2018. Structure and diversity of human dendritic spines evidenced by a new three-dimensional reconstruction procedure for Golgi staining and light microscopy. *J Neurosci Methods* 293, 27–36.
- Rocheffort NL, Konnerth A. 2012. Dendritic spines: from structure to in vivo function. *EMBO Rep* 13, 699–708.
- Rodrigues Neto E, Fonseca MK, Guedes ÁCB, Oliveira FH, Hilbig A, Fernandez LL. 2017. Neuropathological findings in entorhinal cortex of subjects aged 50 years or older and their correlation with dementia in a sample from Southern Brazil. *Dement Neuropsychol* 11, 24–31.
- Salamon G, Salamon-Murayama N, Mongkolwat P, Russell EJ. 2003. Magnetic resonance imaging study of the parietal lobe: anatomic and radiologic correlations. *Adv Neurol* 93, 23–42.
- Sanchez MA dos S, Lourenço RA. 2009. Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly (IQCODE): adaptação transcultural para uso no Brasil. *Cad Saude Publica* 25, 1455–1465.
- Saneyoshi T, Fortin DA, Soderling TR. 2010. Regulation of spine and synapse formation by activity-dependent intracellular signaling pathways. *Curr Opin Neurobiol* 20, 108–115.

- Scheperjans F, Hermann K, Eickhoff SB, Amunts K, Schleicher A, Zilles K. 2008. Observer-Independent Cytoarchitectonic Mapping of the Human Superior Parietal Cortex. *Cereb Cortex* 18, 846–867.
- Schumann CM, Amaral DG. 2005. Stereological estimation of the number of neurons in the human amygdaloid complex. *J Comp Neurol* 491, 320–329.
- Seeley WW. 2008. Selective functional, regional, and neuronal vulnerability in frontotemporal dementia. *Curr Opin Neurol* 21, 701–707.
- Seeley WW, Crawford R, Rascofsky K, Kramer JH, Weiner M, Miller BL, Gorno-Tempini ML. 2008. Frontal paralimbic network atrophy in very mild behavioral variant frontotemporal dementia. *Arch Neurol* 65, 249–55.
- Selemon LD, Goldman-Rakic PS. 1988. Common cortical and subcortical targets of the dorsolateral prefrontal and posterior parietal cortices in the rhesus monkey: evidence for a distributed neural network subserving spatially guided behavior. *J Neurosci* 8, 4049–68.
- Seltzer B, Pandya DN. 1989. Intrinsic connections and architectonics of the superior temporal sulcus in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 290, 451–471.
- Shepherd GM. 1996. The dendritic spine: a multifunctional integrative unit. *J Neurophysiol* 75, 2197–210.
- Spruston N, Häusser M, Stuart G. 2013. Information processing in dendrites and spines. In: Squire L, Berg D, Bloom F, du Lac S, Gosh A, Spitzer N, editors. *Fundamental Neuroscience*. Fourth. Academic Press. 231–260.
- Stewart M, Popov V, Kraev I, Medvedev N, Davies H. 2014. Structure and complexity of the synapse and dendritic spine. In: Pickel V, Segal M, editors. *The Synapse*. New York: Academic Press. 1–20.
- Tada T, Sheng M. 2006. Molecular mechanisms of dendritic spine morphogenesis. *Curr Opin Neurobiol* 16, 95–101.
- Talairach J, Tournoux P. 1988. *Co-Planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain*. Stuttgart.
- Tønnesen J, Katona G, Rózsa B, Nägerl UV. 2014. Spine neck plasticity regulates

- compartmentalization of synapses. *Nat Neurosci* 17, 678–85.
- Vann SD, Aggleton JP, Maguire EA. 2009. What does the retrosplenial cortex do? *Nat Rev Neurosci* 10, 792–802.
- Vetter P, Roth A, Häusser M. 2001. Propagation of Action Potentials in Dendrites Depends on Dendritic Morphology. *J Neurophysiol* 85, 926–937.
- Villemagne VL, Ataka S, Mizuno T, Brooks WS, Wada Y, Kondo M, Jones G, Watanabe Y, Mulligan R, Nakagawa M, Miki T, Shimada H, O’Keefe GJ, Masters CL, Mori H, Rowe CC. 2009. High Striatal Amyloid  $\beta$ -Peptide Deposition Across Different Autosomal Alzheimer Disease Mutation Types. *Arch Neurol* 66, 1537–1544.
- von Economo C, Koskinas GN, Triarhou LC. 2008. Atlas of cytoarchitectonics of the adult human cerebral cortex. Karger.
- von Economo C, Koskinas G. 1925. Die Cytoarchitektonik der Hirnrinde des erwachsenen Menschen. Berlin: Springer.
- Watson KK, Jones TK, Allman JM. 2006. Dendritic architecture of the von Economo neurons. *Neuroscience* 141, 1107–12.
- Woolley CS, McEwen BS. 1992. Estradiol mediates fluctuation in hippocampal synapse density during the estrous cycle in the adult rat. *J Neurosci* 12, 2549–54.
- Yuste R. 2013. Electrical Compartmentalization in Dendritic Spines. *Annu Rev Neurosci* 36, 429–449.
- Zilles K, Eickhoff S, Palomero-Gallagher N. 2003. The human parietal cortex: a novel approach to its architectonic mapping. *Adv Neurol* 93, 1–21.



## 9. ANEXOS

### ANEXO I

#### 9.1 Questionário IQCODE adaptado para o Brasil conforme Lourenço & Sanchez, 2014

Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly (IQCODE-BR): versão para uso no Brasil.

“Gostaria que o(a) Senhor(a) recordasse o estado em que o Sr(a) X se encontrava há dez anos, em 19\_\_\_, e o comparasse com seu estado atual. Descrevemos abaixo situações em que ele(a) tenha de usar a memória ou o raciocínio e eu gostaria que o(a) Sr(a) dissesse se, nesse aspecto, ele(a) melhorou, piorou, ou permaneceu na mesma nos últimos 10 anos. É muito importante comparar o desempenho atual do Sr(a) X com o de 10 anos atrás. Deste modo, se há dez anos ele(a) sempre se esquecia onde havia deixado as coisas e isso ainda acontece, então isto será considerado como “POUCA MUDANÇA”. Diga-me, a seguir as mudanças que o(a) Senhor(a) observou, apontando no cartão a melhor resposta para cada item. Comparado com seu estado há dez anos, com está o Sr(a) X para...”.

Itens	Muito melhor	Um pouco melhor	Pouca mudança	Um pouco pior	Muito pior
1. Lembrar de rostos de parentes e amigos	1	2	3	4	5
2. Lembrar dos nomes de parentes e amigos	1	2	3	4	5
3. Lembrar de fatos relacionados a parentes e amigos como, por exemplo: suas profissões, aniversários e endereços	1	2	3	4	5
4. Lembrar de acontecimentos recentes	1	2	3	4	5
5. Lembrar de conversas depois de poucos dias	1	2	3	4	5
6. No meio de uma conversa, esquecer o que ele(a) queria dizer	1	2	3	4	5
7. Lembrar do próprio endereço e telefone	1	2	3	4	5
8. Saber o dia, o mês em que estamos	1	2	3	4	5
9. Lembrar onde as coisas são geralmente guardadas	1	2	3	4	5
10. Lembrar onde encontrar coisas que foram guardadas em lugares diferentes daqueles em que costumava guardar	1	2	3	4	5
11. Adaptar-se a qualquer mudança no dia-a-dia	1	2	3	4	5
12. Saber utilizar aparelhos domésticos	1	2	3	4	5
13. Aprender a utilizar um novo aparelho existente na casa	1	2	3	4	5
14. Aprender coisas novas em geral	1	2	3	4	5
15. Lembrar das coisas que aconteceram na juventude	1	2	3	4	5
16. Lembrar de coisas que ele(a) aprendeu na juventude	1	2	3	4	5
17. Entender o significado de palavras pouco utilizadas	1	2	3	4	5
18. Entender o que é escrito em revistas e jornais	1	2	3	4	5
19. Acompanhar histórias em livros ou em programas de televisão	1	2	3	4	5
20. Escrever uma carta para amigos ou com fins profissionais	1	2	3	4	5
21. Conhecer importantes fatos históricos	1	2	3	4	5
22. Tomar decisões no dia-a-dia	1	2	3	4	5
23. Lidar com dinheiro para as compras	1	2	3	4	5
24. Lidar com assuntos financeiros, por exemplo: aposentadoria e conta bancária	1	2	3	4	5
25. Lidar com outros cálculos do dia-a-dia, por exemplo: quantidade de comida a comprar, há quanto tempo não recebe visitas de parentes ou amigos	1	2	3	4	5
26. Usar sua inteligência para compreender e pensar sobre o que está acontecendo	1	2	3	4	5

## ANEXO II

9.2 Parecer de aprovação do CEP (Comitê de Ética em Pesquisa) da UFCSPA aprovado sob número 2.135.108.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** ESTUDO SOBRE A DENSIDADE E A MORFOLOGIA DOS ESPINHOS DENDRÍTICOS NOS NEURÔNIOS DE VON ECONOMO: RELAÇÃO COM QUADROS DEMENCIAIS HUMANOS

**Pesquisador:** ALBERTO ANTONIO RASIA FILHO

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 62336116.6.0000.5345

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.135.108

#### Apresentação do Projeto:

Os neuronios multipolares de Von Economo (VENs) estão em áreas do lobo límbico cortical mais desenvolvidas para a interpretação de emoções, empatia, percepção de estímulos sensoriais e comportamentos sociais em seres humanos, o que pode estar afetado em condições neuropatológicas degenerativas.

#### Objetivo da Pesquisa:

# Objetivo Primario:

O objetivo deste trabalho é estudar a morfologia de espinhos dendríticos de VENs e avaliar seu envolvimento em alterações demenciais em seres humanos.

# Objetivo Secundario:

Como objetivo específico pretende-se correlacionar a morfologia e a densidade de espinhos dendríticos de neuronios VENs humanos com o diagnóstico clínico e teste neurológico para diagnóstico de alterações demenciais, em comparação com indivíduos normais, empregando-se a técnica de Golgi, a reconstrução tridimensional de imagem microscópica e o teste do IQCODE.

**Endereço:** Rua Sarmiento Leite, 245

**Bairro:** Sarmiento

**CEP:** 90.050-170

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)3303-8804

**E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

Continuação do Parecer: 2.135.108

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

# Riscos:

Não se aplica.

# Benefícios:

Conhecer a morfologia do SNC humano em indivíduos normais e com demência permite que se desenvolvam tratamentos e medicamentos futuros que atuem nestas demências, qualificando a vida do paciente.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de um projeto de mestrado do PROGRAMA DE POS-GRADUACAO EM BIOCENCIAS, com envolvimento do DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BASICAS DA SAUDE/FISIOLOGIA e DEPARTAMENTO DE CLINICA MEDICA/NEUROLOGIA.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os termos já foram entregues anteriormente.

**Recomendações:**

Recomenda-se a aprovação após esclarecimento quanto à solicitação de emenda anterior que encontrava-se inconsistente.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O motivo da solicitação desta emenda se deu pela inclusão dos nomes dos alunos de pós-graduação da UFCSPA (Nivaldo Diniz Corrêa Junior e Francisco Javier Fuentealba Villarreal) que também trabalham neste projeto, de modo a oficializar as suas participações. Salienta-se, entretanto, que no Projeto descrito na Plataforma Brasil, na versão anterior, o Nivaldo Diniz Corrêa Junior já estava constando como membro da equipe de pesquisa. Apenas o Francisco Javier Fuentealba Villarreal não constava.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

De acordo com o parecer do relator.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_901851	22/05/2017		Aceito

**Endereço:** Rua Sarmento Leite, 245

**Bairro:** Sarmento

**CEP:** 90.050-170

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)3303-8804

**E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 2.135.108

Básicas do Projeto	E1.pdf	18:32:09		Aceito
Declaração de Pesquisadores	termocompromissorelatorio.docx	28/12/2016 14:59:29	ALBERTO ANTONIO RASIA FILHO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOMESTRADONivaldo27122016rtbs.docx	27/12/2016 13:00:03	ALBERTO ANTONIO RASIA FILHO	Aceito
Outros	ANEXOQuestionario.doc	27/12/2016 12:31:56	ALBERTO ANTONIO RASIA FILHO	Aceito
Outros	ANEXOIQCODE.doc	27/12/2016 12:28:49	ALBERTO ANTONIO RASIA FILHO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ANEXOtermodeconsentimentoquestionario.doc	27/12/2016 12:27:59	ALBERTO ANTONIO RASIA FILHO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Parecer_CEP_assinado_2.jpg	07/11/2016 11:39:25	ALBERTO ANTONIO RASIA FILHO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Parecer_CEP_assinado_1.jpg	07/11/2016 11:39:05	ALBERTO ANTONIO RASIA FILHO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Justificativa_TCLE.jpg	07/11/2016 11:38:26	ALBERTO ANTONIO RASIA FILHO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	07/11/2016 11:36:16	ALBERTO ANTONIO RASIA FILHO	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto_Rasia.pdf	07/11/2016 11:33:47	ALBERTO ANTONIO RASIA FILHO	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

PORTO ALEGRE, 23 de Junho de 2017

Assinado por:

**Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima**  
(Coordenador)

**Endereço:** Rua Sarmento Leite ,245

**Bairro:** Sarmento

**CEP:** 90.050-170

**UF:** RS

**Município:** PORTO ALEGRE

**Telefone:** (51)3303-8804

**E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

## ANEXO III

### 9.3 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) utilizado após aprovação do CEP da UFCSPA aprovado sob número 11567/10.

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O projeto de pesquisa intitulado **“Prevalência e caracterização *pos-mortem* de alterações neurodegenerativas no tronco encefálico e bulbo olfatório de cadáveres acima de 55 anos submetidos à verificação de óbito e suas possíveis correlações com manifestações clínicas”** tem por objetivo estudar as alterações neurodegenerativas (depósitos de proteínas) presentes no cérebro de pessoas acima de 55 anos, falecidas de morte natural, causadas por problemas não cerebrais. Além disso, gostaríamos de relacionar estas alterações com algumas manifestações clínicas que os pacientes apresentassem, sendo que para isso você responderá um questionário sobre algumas possíveis alterações de marcha e de comportamento apresentadas pelo seu familiar.

Para que este estudo possa acontecer é necessária a doação do cérebro do seu familiar. Para seu conhecimento, o cérebro é retirado pelo médico legista durante a necropsia onde este é examinado como rotina. Em função disso, não se soma nenhum desconforto ou risco para o falecido, familiares ou responsáveis legais da pessoa falecida, já que o procedimento a ser realizado é o habitual e está indicado por normas técnicas/acadêmicas legais. Não será realizado nenhum procedimento a mais para este estudo. A diferença, no caso de sua concordância, é que, ao invés de ser descartado após a análise, o cérebro será utilizado para pesquisa. O material será estudado e ficará guardado, para estudos futuros, no Banco de Cérebro vinculado ao no Laboratório de Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, R. Sarmiento Leite, 245, Porto Alegre – RS. Gostaríamos de enfatizar que com a sua colaboração, daqui a alguns anos poderemos estar ajudando milhares de pessoas com problemas de demência, pois a partir deste estudos, queremos entender o processo de envelhecimento do cérebro. Se o familiar ou responsável legal pela pessoa falecida tenha alguma dúvida sobre o que foi informado acima, poderá perguntar a qualquer um dos pesquisadores envolvidos neste estudo. Poderá também não querer participar deste estudo, pedindo para que o cérebro não seja utilizado por nós na pesquisa, sem que isso acarrete nenhum prejuízo na qualidade do procedimento. Também poderá abandonar esta pesquisa no momento em que bem entender, sem que isso acarrete necessidade de justificativas ou qualquer tipo de indenização.

Os autores deste estudo se comprometem a divulgar os resultados obtidos para o avanço do conhecimento científico de maneira a não expor dados pessoais completos que possam identificar as pessoas que contribuíram para esta pesquisa.

*Caso eu tenha novas perguntas sobre a doação ou este estudo, posso entrar em contato com a Prof<sup>a</sup> Arlete Hilbig (pesquisadora responsável), e/ou com Francine Hehn de Oliveira (pesquisadora aluna de mestrado) no endereço R. Sarmiento Leite, 245, Porto Alegre – RS, telefone 0 xx 51 33039000 ramal 8802. Para qualquer pergunta sobre os meus direitos como participante deste estudo ou se penso que fui prejudicado pela minha participação, posso chamar o coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Prof. José*

*Geraldo V. Taborda, ou seu substituto, na R. Sarmento Leite, 245, Porto Alegre – RS/ telefone 0 xx 51 3303 8804. Declaro que recebi cópia do presente Termo de Consentimento*

\_\_\_\_\_  
Assinatura de familiar ou do responsável legal

\_\_\_\_\_  
Nome do familiar e grau de parentesco

\_\_\_\_\_  
Assinatura de testemunha

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador

\_\_\_\_\_  
Nome do Pesquisador

Data: \_\_/\_\_/\_\_