

CC BY-NC-SA 4.0

biologia, medicina e engenharia.

CC BY-NC-SA 4.0

<https://atin.icb.usp.br/>  
com figuras

Texto completo *online*



## Microscopia Confocal

### Isaias Cavalcante de Oliveira

A microscopia confocal é uma técnica avançada que melhora significativamente a nitidez e a profundidade de campo das imagens microscópicas, controlando rigorosamente a luz incidente sobre a amostra e a captada. Isso é alcançado eliminando a luz de fundo fora do plano focal, o que, em microscópios convencionais, pode causar distorções. A técnica permite a coleta de seções ópticas seriais de amostras, facilitando a construção de imagens tridimensionais detalhadas, úteis em campos como

### Histórico

Marvin Minsky, na década de 1950, deu início à microscopia confocal ao tentar visualizar neurônios do cérebro tridimensionalmente. Ele propôs um microscópio que iluminasse e medisse a luz de cada ponto da amostra isoladamente, reduzindo o excesso de luz de outros planos, um conceito fundamental para a confocalidade. Esse avanço permitiu superar limitações dos microscópios tradicionais, onde a luz de planos fora de foco podia diminuir a resolução da imagem.

### Técnica

O microscópio confocal utiliza um sistema de iluminação pontual, onde um laser ilumina a amostra ponto a ponto, e um *pinhole* (furo diminuto, "buraco de alfinete") no plano conjugado ao ponto de foco elimina a luz fora de foco. Isso resulta em imagens com alta resolução lateral e axial. Espelhos móveis promovem a varredura do feixe de laser pela amostra, permitindo a construção de imagens tridimensionais pela aquisição de "fatias" em diferentes profundidades. Os detectores convertem a luz captada em sinais elétricos, que são processados para formar a imagem final.

### O desenvolvimento da

microscopia confocal foi impulsionado por avanços em outras áreas, como a microeletrônica e a óptica, além de ser complementado pela imunofluorescência, onde corantes fluorescentes ligam-se a anticorpos específicos, permitindo a visualização de estruturas específicas dentro das células. Desde 1987, os microscópios confocais tornaram-se populares, especialmente para analisar amostras marcadas com sondas fluorescentes.

Existem diferentes tipos de microscópios confocais, incluindo o confocal de varredura a laser (LSCM), que fornece imagens de alta resolução de amostras fixas ou vivas, e o confocal de disco giratório, que usa um disco de Nipkow para escanear múltiplos pontos

### da amostra simultaneamente,

oferecendo maior velocidade. Microscópios confocais híbridos e de matriz programável combinam características dessas variantes para otimizar a aquisição de imagens.

Embora a microscopia confocal ofereça muitas vantagens, como a capacidade de visualizar estruturas celulares em três dimensões com clareza excepcional, ela tem limitações, como a profundidade máxima de imagem de cerca de 150 µm e o custo elevado dos equipamentos. Apesar dessas limitações, a técnica continua sendo uma ferramenta valiosa para a pesquisa científica e aplicações médicas, fornecendo profunda compreensão sobre a estrutura e função celular.

CC BY-NC-SA 4.0