Paulo Roberto Botacia

ESTEIDO MORFOMÉTRICO DO MIRVO NERADRETIÁRIO DO MACACO-PREGO (Ceditambella), AO MÍVEL DA MICROSCOPIA ÓPTICA

> Vese aproventado à Flaculdade de Odercologia de Placecesta de Universidade Estaduale de Campulas, para a obtenção do Gran de Dondon as Odercias, ésta de Embriga e Patologia Bust Dectal

Paacicaba - SP 1997

Paulo Roberto Botacin

ESTUDO MORFOMÉTRICO DO NERVO INFRAORBITÁRIO DO MACACO-PREGO (Cebus apella), AO NÍVEL DA MICROSCOPIA ÓPTICA

Este ocemplar foi devidamente conigido conforme resolução CCPG 036/83.

Pinacicaba, 07/03/97.

Mathey Vitty.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do Gran de Doutor em Ciências, área de Biologia e Patologia Buco-Dental.

Orientador: Prof. Dr. Mathias Vitti

Piracicaba - SP 1997



UNIDAGE BC
N. CHAMADA MP
136572
V Ex.
TOMBO BC/30175
PROC. 281 197
C D X
PREÇO R.B. 1.00
N. CAD

CM-00099234-6

Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP

B658e

Botacin, Paulo Roberto.

Estudo morfométrico do nervo infraorbitário do macaco-prego (Cebus apella), ao nível da microscopia óptica. / Paulo Roberto Botacin. - Piracicaba: [s.n.], 1997.

102f.: il.

Orientador: Mathias Vitti.

Tese (Doutoramento) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Nervo trigêmeo. 2. Cebus apella. 3. Nervos periféricos.

4. Microscopia. I. Vitti, Mathias. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

19.CDD - 591.48

-619.98

-611.0188

- 502.82

Índices para o Catálogo Sistemático

 Nervo trigêmeo 	591.48
2. Cebus apella	619,98
3. Nervos periféricos	611.018 8
4 Microsconia	502.82



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de **Doutorado**, em sessão pública realizada em 28/02/96, considerou o candidato aprovado.

1. Mathias Vitti Mothing V. H.
2. José Américo de Oliveira Humai
3.Lizeti Toledo de Oliveira Ramalho
4.Marisa Semprini Maummin —
5.Pedro Duarte Novaes

À DORA,

esposa, que muito me incentivou em várias etapas deste trabalho.

Aos meus filhos,

RAFAEL, ALEXANDRE e VICTOR,

pelas muitas horas de atenção

que deixei de lhes dedicar.

Agradecemos a todos aqueles que colaboraram, direta ou indiretamente, na realização deste trabalho e em particular:

Sra. Eliene Aparecida Narvaes Romani

Sr. Professor Assistente Eloi Dezan

Sr. José Ari Gualberto Junqueira

Sta. Lourdes Prando

Sra. Sandra Aparecida dos Santos Pinheiro

Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP

Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP

Departamento de Dentística Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araçatuba -UNESP

Universidade Estadual de Campinas

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Agradecimentos especiais

Ao DR. MATHIAS VITTI, Professor 7itular Aposentado da Disciplina de Anatomia do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, exercendo a função de Professor Associado da Disciplina de Anatomia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, pela orientação, apoio, amizade e ensinamentos científicos que sempre procurou me transmitir.

Ao DR. JOSÉ AMÉRICO DE OLIVEIRA, Professor Titular da Disciplina de Anatomia do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, pelo auxílio no desenvolvimento dos trabalhos práticos de pesquisa desta tese, pelo apoio, amizade e senso crítico que tem empregado para orientar nosso desenvolvimento científico.

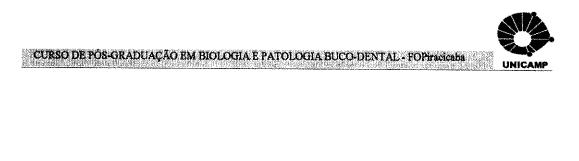
Aos DOCENTES, PESSOAL TÉCNICO-ADMINISTRATIVO E PÓS-GRADUANDOS do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, que sempre nos estimularam e ajudaram.

Ao NÚCLEO DE PROCRIAÇÃO DE MACACOSPREGO (Cebus apella) da Faculdade de Odontologia de
Araçatuba - UNESP, que forneceu-nos todos os animais utilizados
ueste trabalho de tese.

"A Anatomia é a base de todas as ciências médicas, teóricas e práticas." Claude Bernard

Sumário

	p.
LISTA DE PALAVRAS E ABREVIATURAS	02
RESUMO	04
INTRODUÇÃO	06
REVISÃO DA LITERATURA	12
METODOLOGIA	45
RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
ILUSTRAÇÕES	69
CONCLUSÃO	86
SUMMARY	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁGICAS	91



LISTA DE PALAVRAS E ABREVIATURAS



Lista de Palavras e Abreviaturas

 $\alpha = alfa$

 $\delta = delta$

apud = em (Latim)

et al. = e outros (abreviatura de "et alli")

HE = hematoxilina e eosina

HRP = peroxidase do rábano selvagem (horseradish peroxidase)

ME = microscopia eletrônica

n. = nervo

NTFM = número total de fibras mielínicas

SDH = disodium salt hexahidrate

TM = tamanho máximo

G = grande

M = média

P = pequena



RESUMO



Resumo

Uma análise quantitativa do nervo infra-orbital foi realizada em 5 macacos-prego (<u>Cebus apella</u>) machos e adultos. Cada animal foi perfundido com solução de formol a 10% tamponada. O nervo contido no sulco infra-orbital foi dissecado e seccionado em duas partes, com aproximadamente 0,5cm de comprimento cada: a porção anterior (junto à margem infra-orbital) e a porção posterior (auterior à fissura orbital inferior). As amostras foram inicialmente fixadas em solução de formalina, pH 7,0, por 24 horas e pós-fixadas por sete dias em tetróxido de ósmio aquoso a 1%. Os segmentos de nervos foram então incluídos em parafina, cortados com 5µm de espessura e montados em lâmina de vidro. A porção anterior do nervo continha 5,5±1,58 fascículos que variaram de 2,12 a 80,79 µm² de área, em corte transversal. A porção posterior era composta de 2,6±1,26 fascículos que variaram de 1,63 a 72,0 µm² de área, em corte transversal. A contagem do número total de axônios apontou para uma média de 13.699,55 axônios mielínicos para a porção anterior, enquanto que na porção posterior a média foi de 15.277,65 axônios mielínicos. Com relação ao diâmetro. as medidas demonstraram que 60% das fibras pertenciam ao grupo $A\alpha$, e as demais incluíam-se no grupo $A\delta$.

> Palavras-Chave: Nervo infra-orbital <u>Cebus apella</u> Número e tamanho dos axônios



IN	TR	OD	UÇA	ĬO
----	----	----	-----	----



Introdução

As influências de fatores oriundos do avanço que a técnica tem imposto aos métodos de pesquisa, com aplicações da microscopia, bioquímica e da micro-anatomia celular têm impelido os cientistas nos últimos quarenta anos a aprimorar as análises qualitativa e quantitativa das características celulares de todos os tecidos.

Em consequência, tem-se ampliado o conhecimento da intimidade da morfologia e fisiologia do sistema nervoso. Dois grandes benefícios resultam deste aprendizado: o ensino do sistema nervoso, que deixa de ser baseado em clássicos esquemas morfológicos, fisiológicos e terapêuticos, passando a ser mais profundo, realístico e dinâmico; favorecendo a clínica neurológica.

Para a Ódontologia tornou-se imperioso o conhecimento dos prolongamentos periféricos das células sensitivas do gânglio trigeminal, que constituem distalmente os seus três ramos: n. oftálmico, n. maxilar e n. mandibular (DÍAZ & MORERE", 1989; HOLLAND et al. 1996; JUNGELL & LINDQVIST²⁵, 1987; LEO et al. 1995; MONTAGNESE



et al.³⁸, 1984; MURAKAMI et al. ³⁹, 1994; ROSENBERG & SAILER⁴⁸, 1994).

O nervo infra-orbital do macaco-prego (<u>Cebus apella</u>), um ramo do n. maxilar, é muito semelhante ao da espécie humana, considerando sua trajetória e proporção relativa (BOTACIN^{C6}, 1992). Portanto, os ramos labiais superiores, nasais e os palpebrais inferiores convergem para o alto da fossa canina e penetram pelo forame infra-orbital, formando o n. infra-orbital. Este percorre o curto canal infra-orbital, no soalho da órbita, ocupando em seguida um sulco de mesmo nome, até atingir a fissura orbital inferior (BOTACIN^{C6}, 1992).

A revisão da literatura tem mostrado algumas características morfológicas deste primata (BOTACIN⁰⁶, 1992; IYOMASSA et αl.²², 1983 e OLIVEIRA et αl.⁴², 1988), e fornecido bases sólidas para pesquisas experimentais de valor científico e aplicações clínicas. Além do mais, ainda são escassas as pesquisas que descrevem e quantifiquem o conteúdo fibrilar dos nervos cranianos, tendo como base mesmo outros animais como modelos experimentais (BIEDENBACH⁰⁴, 1975; BIEDENBACH & BROWN⁰⁵, 1977; DE LANGE¹⁰, 1969;



HOLLAND et al.¹⁹, 1996; HONMA²⁰, 1959; LAM et al.²⁸, 1982; MOHIUDDIN³⁷, 1951; MURPHY & THOMSON⁴⁰, 1966; RAKIC & RILEY⁴⁵, 1983; SAKURADA⁴⁹, 1973; SHIMOZAWA & NAKAMURA⁵⁰, 1993; THOMAS⁵¹, 1946; WAITE & CRAGG⁵², 1979 e WAITE & CRAGG⁵³, 1982).

Encontrou-se na literatura dois estudos realizados em ratos adultos (WAITE & CRAGG⁵², 1979 e WAITE & CRAGG⁵³, 1982), sob condições normais, nos quais foi examinado e quantificado o n. infra-orbital. Nestas quantificações utilizou-se a microscopia de luz e os neurônios amielínicos não foram contados ou medidos. JACQUIN & RHOADES²³ (1983) e JACQUIN et al.²⁴ (1984) contribuíram com estudos sobre a regeneração, projeção central e quantificação, em nível da microscopia eletrônica, dos nervos infra-orbitais de ratos. Os nervos infra-orbitais destes mesmos animais, porém recém-nascidos, foram morfometrados por RENEHAN & RHOADES⁴⁶ (1984).

Com relação aos nervos cranianos, é também bastante restrito o número de trabalhos morfométricos em humanos encontrados na literatura (HEASMAN & BEYNON¹⁴, 1983; HEASMAN & BEYNON¹⁵, 1986; HEASMAN &



BEYNON¹⁶, 1987a; HEASMAN & BEYNON¹⁷, 1987b; MURPHY & GRUNDY⁴¹, 1969 e ROOD⁴⁷, 1978). Pôde-se encontrar estudos apenas dos nervos lingual, milo-hióideo e alveolar inferior.

A determinação histológica do diâmetro das fibras bem como a proporção do tamanho das fibras existentes, são medidas cada vez mais averiguadas, pois indicam a especialização funcional do axônio dos nervos periféricos (BOYD & DAVEY⁰⁷, 1968 apud HEASMAN & BEYNON 1986; HURSH²¹, 1939; LAMBERT & DYCK²⁹ (1975) apud HEASMAN & BEYNON (1986) e PEELE⁴⁴, 1977).

MURPHY & THOMSON⁴⁰ (1966) mostraram que o número de fascículos do n. alveolar inferior de ovelhas depende do nível no qual as secções foram feitas; e podem ainda variar de animal para animal, mesmo quando os cortes são feitos aproximadamente no mesmo nível.

Levando-se em consideração a importância do conhecimento da morfologia da estrutura do n. infra-orbital de animais que possuem os modelos experimentais que ocupam uma escala filogenética mais evoluída, para o estudo da ontogênese do



sistema nervoso e também da necessidade de se averiguar os efeitos das alterações periféricas sobre este desenvolvimento, por si só justificam estudos dessa natureza.

Assim, com o objetivo de também contribuir para o conhecimento morfológico do macaco-prego, realizou-se este estudo com a finalidade de estimar o número de fascículos, a área, o perímetro e os diâmetros máximo e mínimo deste nervo, bem como das suas fibras mielínicas em nível da microscopia de luz.



REVISÃO DA LITERATURA



Revisão da Literatura

A velocidade de condução nas fibras nervosas retiradas dos membros de gatos, foi correlacionada com o diâmetro das fibras maiores destes nervos em 1939 por HURSH. Para avaliar as velocidades de condução do impulso, cada nervo foi posicionado, individualmente, sobre eletrodos de prata, no interior de uma câmara a 37,5°C. Após serem realizadas as medidas referentes à velocidade, o nervo foi imediatamente fixado com ácido ósmico a 1% ou solução de formalina, incluído em parafina e seus cortes analisados sob a microscopia de luz com o auxílio de um micrômetro ocular. As velocidades limites apuradas foram 8 e 117 m/s. Considerando estes valores e o diâmetro das fibras HURSH. (1939) estabeleceu uma relação entre tais medidas, de tal forma que a velocidade em m/s pôde ser obtida pela multiplicação do diâmetro, em micrômetros, pelo número seis.

Em 1946, THOMAS⁵¹ analisou os nervos alveolar inferior e mentoniano de gatos e quantificou o número de fibras responsáveis pela inervação dos grupos específicos de dentes, bem como de seus tecidos vizinhos. Para isto utilizou 26 amostras de nervos alveolares inferiores retiradas de 13 gatos e 12 nervos mentonianos



removidos de outros seis gatos, que após o sacrifício tiveram as amostras retiradas e fixadas em formol a 5%, pós-fixadas em ácido ósmico a 1% e corados pelo método de Ranson (baseado na impregnação pelo nitrato de prata). O número médio de fascículos do n. alveolar inferior observados na região canina foi de 17,6 diminuindo para 15,7 na região premolar e para 10,9 na região retromolar. Enquanto que para o n. mentoniano obteve o número médio de 16,6 fascículos. O corte transversal permitiu avaliar na região do dente canino uma área total de 0,19 mm 2 , com 21.696 fibras por mm 2 ; na porção retromolar obteve 0,31 mm² de área total, com 17.647 fibras por mm². O nervo mentoniano ocupava 0,14 mm², com 18.836 fibras por mm². O autor afirma que do número total de fibras do nervo, 12% estão relacionados à área molar, 13,4% com a área premolar e 26,7% com as regiões de canino e incisivo e as demais 47,9% ao n. mentoniano.Relação esta que apontou o n. mentoniano como um componente de muita importância no que se refere ao número total das fibras do n. alveolar inferior.

MOHIUDDIN³⁷, em 1951, contou 5.051 axônios compondo o n. alveolar inferior de gatos e detectou também alterações degenerativas nas suas fibras nervosas, com o auxílio da microscopia óptica. Tais alterações foram conseqüentes da extração parcial ou total



de dentes, bem como pelas mudanças provocadas nos tecidos periodontais dos animais. Observou também que, em períodos experimentais maiores, muitos axônios foram substituídos por fibras de tecido conjuntivo.

HONMA²⁰, (1959), desenvolveu um amplo estudo sobre as características anatômicas e histológicas do n. alveolar inferior de cães. Para isto, utilizou um grupo de animais para descrever, com o auxílio de uma lupa, as características deste nervo quanto ao seu trajeto no interior do canal da mandíbula e ao número de troncos e ramos, bem como dos ramos interalveolares, pulpares e peridentais. Outro grupo de animais teve seus nervos alveolares inferiores removidos e fixados com solução de ósmio e preparado pela técnica da dissociação de fibras. As fibras foram então classificadas pelo método de Jukuyama em quatro tipos: pequenas, médias, grandes e tamanho máximo. Os resultados e conclusões foram baseados nesta classificação para cada uma das diferentes porções do nervo (no canal da mandíbula, inter-radicular, peridental e pulpar).

MURPHY & THOMSON⁴⁰ (1966) consideraram que o n. alveolar inferior em humano está exposto a muitas agressões traumáticas e farmacológicas, se comparado aos demais ramos nervosos do corpo. Entretanto, poucos eram os estudos envolvendo a contagem e o



tamanho de suas fibras. Por este motivo propuseram um estudo numérico do conteúdo deste nervo. Assim quatro partes do nervo foram retiradas do interior do canal mandibular de uma ovelha jovem (três meses de idade), fixadas em solução de formol a 10%, posteriormente coradas com tetróxido de ósmio e então incluídos em parafina. Os cortes transversais foram montados em lâmina de vidro e fotografados em microscópio de luz, nos aumentos 10% e 32%. Os negativos foram projetados e as medidas realizadas sobre papel milimetrado, com aumento final de 1.000%. Encontraram na porção mais proximal do nervo uma contagem de 13.153 fibras mielínicas, com diâmetro médio de 4,22 µm. Na porção mais distal o diâmetro médio foi de 3,72 µm e número médio de fibras mielínicas igual a 16.641. Tais resultados foram justificados baseados na diferença funcional adaptativa que os animais ruminantes apresentam, em especial por dedicarem grande parte das horas do dia com o cortar, mastigar e movimentos mandibulares, além de apresentarem dentes com crescimento contínuo.

KIZIOR et al.²⁷, em 1968, desenvolveram um estudo histológico e funcional relativo à inervação do ligamento periodontal de dez gatos. Os animais foram submetidos a experimentos fisiológicos para se determinar as respostas do n. alveolar inferior aos diferentes tipos de



forças aplicadas sobre o dente do animal. Em seguida os animais foram sacrificados para a remoção de porções da mandibula e do n. alveolar inferior, que foram analisadas sob a microscopia de luz. Cortes de 5 µm de espessara cada foram impregnados usando-se solução de nitrato de prata e corados com HE. O número de fibras mielínicas encontrado foi de 14.546 e o diâmetro variou de 2-16 µm. Observaram também dois padrões de inervação do periodonto: a) fibras pequenas acabando em terminações livres e, b) fibras maiores apresentando terminações especializadas de formato oval (receptores encapsulados). Associando tais achados aos resultados do exame fisiológico, puderam concluir que as terminações livres estavam associadas às forças mais intensas aplicadas sobre os dentes e que os receptores especializados, que se concentravam mais próximos ao ápice dental, se relacionavam à forças mais brandas.

DE LANGE et al.¹⁰, em 1969, combinaram análises histológica e eletrofisiológica para investigarem o diâmetro e a velocidade de condução das fibras nos ramos terminais do n. alveolar inferior de cães. Três animais foram anestesiados e os potenciais de ação dos ramos mentoniano, canino e incisivo puderam ser registrados. Cada ramo nervoso foi então removido e fixado em tetróxido de ósmio a



1% (tamponado em pH 7,4) por 3 dias, incluído em parafina e cortado com 8 µm de espessura. Para a realização das medidas das fibras nervosas utilizaram um microscópio de projeção. A velocidade de condução em todos os três ramos variou de 9 a 200 m/seg. O diâmetro das 6.520 fibras mielínicas medidas variou de 1 a 16µm. O n. mentoniano teve uma distribuição bimodal com pico entre 4-5µm e 9-10µm, o ramo canino teve uma distribuição unimodal com pico entre 5-6µm, e o ramo incisivo também apresentou uma distribuição unimodal com pico entre 7-8µm. O calibre das fibras dos ramos mentoniano e canino demonstraram as diferenças existentes entre fibras que suprem o lábio inferior e aquelas que suprem os dentes. O ramo incisivo mostrou características mais próximas às do ramo canino, entretanto com algumas fibras de maior diâmetro, confirmando o fato de conter algumas fibras relacionadas ao lábio.

MURPHY & GRUNDY⁴¹, num artigo de 1969, relacionaram as estruturas anatômicas que poderiam ser lesadas durante uma anestesia do n. alveolar inferior, pela técnica convencional, e a comparam com as técnicas de Jorgensen & Hayden e Macintosh & Ostlere. Além disto apresentaram características microscópicas do feixe neurovascular na região a ser anestesiada.



SAKURADA⁴⁹, em 1973, estudou os ramos do n. mandibular de 20 coelhos adultos, observando as características macroscópicas e as fibras mielínicas e , com o auxilio da técnica da dissociação, constatou que o n. alveolar inferior era composto por 13.046 fibras mielínicas (em média), classificadas por seus tamanhos em: fibras TM - 38,1%; fibras G - 26,3%; fibras M - 24,4% e fibras P - 11,2%. Além deste nervo relatou as características do n. massetérico (2.489 fibras mielínicas, classificadas em: TM - 69,9%, G - 16,7%, M - 8,6% e P - 4,8%). Descreveu também algumas características referentes à distribuição, contagem e classificação das fibras foram relatadas para os nervos: bucal, pterigóideo medial, auriculotemporal, lingual, corda do timpano, milo-hióideo, mentoniano e incisivo de coelhos.

BIEDENBACH et al. 4, (1975), removeram partes dos nervos lingual e etmoidal de gatos adultos, as quais foram fixadas em solução gelada de glutaraldeído a 3%, em tampão fosfato pH 7,3. Após a fixação foram lavadas e incluídas em resina. Cortes transversais de 0,7-1µm de espessura foram realizados com um ultramicrótomo e corados com uma solução de azul de toluidina a 1% em borato de sódio a 1% e as fibras foram então analisadas sob a



microscopia de luz. O número total de axônios, sua área em corte transversal e diâmetro foram levantadas empregando um digitalizador gráfico. Para ambos os nervos a medida do diâmetro apresentou uma distribuição unimodal com pico entre 2 e 5µm. A área total do n. lingual, em média foi de 173.698µm² (tal medida não foi calculada para o n. etmoidal). O número total de axônios mielínicos no n. lingual variou de 3.800 a 4.600 e no n. etmoidal de 1.200 a 1.500 axônios. Observou-se também para ambos os nervos que os axônios pequenos (com cerca de 9µm de diâmetro) ocorriam mais freqüentemente em áreas periféricas e os maiores (com aproximadamente 20µm de diâmetro) nas áreas mais centrais. Muitos axônios mielínicos não eram perfeitamente circulares, exibindo vários graus de distorção de forma.

Posteriormente, BIEDENBACH & BROWN⁰⁵ em 1977, utilizando a mesma metodologia do trabalho anterior, analisaram aspectos relacionados ao diâmetro dos axônios mielínicos do n. alveolar inferior de um gato, retirado ao nível do forame mandibular. A contagem das fibras por amostragem sugeriu um número total de 5.600 axônios mielínicos presentes. Como já observado anteriormente nos nervos lingual e etmoidal (BIEDENBACH et al.⁰⁴, 1975), os axônios do nervo em análise também apresentaram, em corte, diferentes



graus de distorção quanto ao aspecto circular da fibra. Os diâmetros apresentaram um aspecto claramente bimodal com um pico entre 2 e $6\mu m$ e outro entre 10 e $14\mu m$ (em aproximadamente metade do número de fibras dentro de cada um destes limites), e poucas fibras alcançaram $22\mu m$. Diferente da mesma característica para os nervos lingual e etmoidal e semelhante à raiz do n. trigêmeo, demonstra assim que ramos terminais podem variar dependendo da sua especialização funcional. Concluíram que aproximadamente metade das fibras (tipo $A\delta$) com calibre entre 1 e $7\mu m$) inervavam a polpa dental e a outra metade (tipo $A\delta$) com calibre acima de $7\mu m$) inervavam outras estruturas ao redor do dente e também são responsáveis pela inervação de receptores táteis do ligamento periodontal.



e fibras tipo C são amielínicas entre 0,3 e 1,5 μ m de diâmetro e velocidade de 2 m/s. As fibras do tipo B foram citadas como especiais e intermediárias entre os tipos A e C.

ROOD⁴⁷ (1978) realizou um estudo a partir do n. alveolar inferior, removido da região pterigomandibular de um cadáver de quarenta anos de idade, sexo masculino, com ausência dos dentes 45 e 48, para determinar suas características morfométricas. O nervo foi fixado em solução de formol a 10% por 48 horas e transferido para uma solução de tetróxido de ósmio por 24 horas. Algumas porções com cerca de 1,5cm de comprimento foram mantidas em glicerina a 50% por 72 horas e então tiveram suas fibras individualizadas por dissociação. Os outros segmentos foram incluídos em parafina e cortados transversalmente. As medidas foram feitas a partir de uma amostragem de fibras, resultando em um número de 15.513 fibras presentes, com diâmetro variando de 2 a 15 µm e a distância internodal de 0,5 a 1,8 mm.

Em 1979, ARVIDSON⁰² analisou cortes seriados de 182 papilas fungiformes de humanos, para determinar a localização e o número de botões gustativos, com o auxílio de um microscópio de luz. As amostras foram retiradas de 22 indivíduos com idades que variavam de



dois dias a 90 anos. O número médio de botões gustativos variou entre zero e nove, independente do sexo ou idade. Dados anatômicos encontrados, bem como a análise fisiológica dos botões gustativos relacionados com as papilas fungiformes foram discutidos.

WAITE & CRAGG⁵², no ano de 1979, constataram através da ME que a destruição dos folículos das vibrissas de camundongos no dia do nascimento, pode causar a degeneração das fibras nervosas que as suprem. Uma degeneração acentuada foi verificada em animais com idade entre 2 e 20 dias, através da contagem do número total de fibras mielínicas do n. maxilar de ambos os lados e comparado ao encontrado em animais não operados. A degeneração tornou-se aparente dois dias após a cirurgia e, aos 20 dias o nervo do lado lesionado continha apenas 38% do número normal de fibras. Tal degeneração também foi observada ao nível do gânglio trigeminal.

BELFORD & KILLACKEY⁰³ examinaram, em 1980, alterações no padrão da distribuição das fibras nervosas referentes às vibrissas de ratos, ao nível mesencefálico, talâmico e cortical, cujos folículos foram lesados em diferentes idades. Através deste estudo concluíram: a) um número de representações centrais sempre semelhante;



b) o padrão manteve-se similar dentro de cada uma das três representações no núcleo trigeminal; c) o padrão ficou semelhante tanto para o complexo ventrobasal bem como na camada IV do córtex somatossensorial; d) os efeitos da lesão, de uma fileira de folículos de vibrissas, em diferentes idades, foi gradual. Observou-se grandes aberrações no padrão de distribuição logo nos primeiros tempos, de modo que o último período no qual se detectou estas grandes alterações no padrão de distribuição foi no grupo com três dias de idade. A partir destes dados os autores sugeriram que o período mais próximo ao nascimento é o mais sensível a alterações amplas no sistema trigeminal central.

KILLACKEY & BELFORD²⁶, em 1980, observaram através da literatura, que certos aspectos da organização nervosa periférica sugeriam ser particularmente importantes para a formação dos padrões nervosos centrais. Resolveram então investigar estas possíveis relações, analisando o efeito da remoção de um arco de vibrissas de ratos. Onze ratos tiveram os arcos, com duas ou três vibrissas, removidos no dia do nascimento e os folículos cauterizados. No período entre cinco e nove dias após, os animais foram sacrificados e perfundidos. A área do córtex relativa à representação das vibrissas foi



cortada e processada com o SDH. Como principal resultado obtido destacaram que o efeito da remoção de um arco de vibrissas é mais significativa que a retirada de uma fileira de vibrissas. Pôde-se demonstrar então que alterações precoces diferentes, aplicadas sobre as vibrissas apresentaram efeitos diferentes ao nível central.

LANGFORD & COGGESHALL³⁰ (1980) concluiram que a mistura de solução de ósmio a 1% tamponado com ferricianeto de potássio a 1,5%, é bastante satisfatória para a pós-fixação e melhora a fixação inicial dos tecidos nervosos. Como resultado obteve-se uma melhor preservação das membranas celulares, bem como do citoplasma e organelas citoplasmáticas. Os autores não deixaram de enfatizar que a qualidade da perfusão inicial foi determinante no resultado final.

Em 1981, FORBES & WELT¹³, realizaram um estudo com auxílio da radioautografia, para melhor conhecerem a neurogênese do gânglio trigeminal de ratos albinos. Para isto injetaram a ³H-7imidina em fêmeas no 11°, 12°, 13°, 14° ou 15° dia de gestação. Os animais foram sacrificados após 60 dias do nascimento e cortes do gânglio trigêmeo foram analisados. Os neurônios intensamente marcados representavam células que tiveram sua última divisão mitótica coincidente com as injeções no período entre os dias 11° e 13° da



gestação, com um pico no 12º dia. Concluíram que a maioria dos neurônios do gânglio foi formada neste período de três dias, após a metade da gestação. No gânglio também foram analisados o número, tamanho, tipo, citoarquitetura e organização das fibras nervosas.

HOLLAND¹⁸, (1982), com a finalidade de mostrar as alterações causadas pelo aumento da molaridade do tampão, sobre o contorno e o tamanho das fibras mielínicas dos nervos, perfundiu 19 ratos via intracardíaca com solução de glutaraldeido a 2% em tampão cacodilato entre 0-0,4 M. Cortes ultra-finos do n. alveolar inferior foram fotografados ao microscópio eletrônico. O perímetro, o menor diâmetro e a espessura da bainha de mielina dos nervos foram medidos com o auxílio de um analisador de imagem semi-automático (Leitz ASM). Os resultados revelaram que o aumento da molaridade causou aumento no contorno do nervo, mas com uma alteração da forma circular, devido à diminuição do menor diâmetro da fibra. Esta medida manteve uma correlação inversa ao aumento da molaridade. Não se pôde observar alterações no axoplasma devido ao pequeno aumento utilizado.

Analisando a pesquisa de LAM et al.28, (1982), observa-se que realizaram um estudo comparativo entre o número de axônios do n. óptico de ratos recém-nascidos e adultos. Ratos albinos de



diferentes idades foram sacrificados, perfundidos, tiveram seus nervos ópticos removidos e preparados para a microscopia eletrônica. As contagens das fibras nervosas foram realizadas sobre ampliações fotográficas. No dia do nascimento foram contadas 242.000 ± 29.000 fibras, no sexto dia, o número havia diminuído e se aproximou dos valores referentes aos animais adultos (99.000 \pm 3.700). Isto representou uma perda de 60% dos axônios e tal baixa foi associada à redução no número de projeções centrais das células do gânglio da retina e de axônios destinados a sítios terminais impróprios na retina oposta.

De acordo com WAITE & CRAGG⁵³, numa publicação de 1982, tanto o esmagamento como a secção do n. infra-orbital, em ratos recém-nascidos, são sucedidos pela regeneração de 30-50% das fibras, levando à reinervação das vibrissas. A contagem das fibras mielínicas dos folículos das vibrissas mostrou que 45%, em média, das fibras cortadas se restruturaram. Constataram também que nos animais cujos nervos sofreram esmagamento no dia do nascimento, o potencial evocado foi detectado 2-3 dias após. Já aos sujeitos à secção do nervo, tal potencial manifestou-se somente após o sétimo dia. Os autores estudaram também as alterações manifestadas ao nível dos núcleos do



trigêmeo e do córtex cerebral. Outros animais recém-nascidos serviram como controle nas diferentes etapas do experimento.

Em 1983, ERZURUMLU & KILLACKEY'E estudaram o desenvolvimento da organização dos sistema trigeminal. Revelaram detalhes do desenvolvimento do n. trigêmeo, sua organização interna e relação com estruturas centrais e periféricas. Para estas análises, ratas foram sacrificadas nos dias 10-21 de prenhez, seus embriões foram dissecados e imersos em fixador de Bouin. A análise do n. maxilar e de seu ramo infra-orbital foi realizada com o uso da HRP. Para tanto, uma ninhada de filhotes recém-nascidos receberam uma injeção da enzima nos folículos das vibrissas. Após um período de até dois dias os animais foram sacrificados, as peças removidas, cortadas em criostato e preparadas de acordo com a técnica de Mesulam. A observação dos cortes revelou que o padrão de organização interna do n. infra-orbital tornava-se mais evidente, a cada dia de vida embrionária, porém cada vez mais complexa, até que após o décimo oitavo dia, o padrão que se apresentava circular, tomava uma forma triangular devido à constrição das paredes do forame infra-orbital. Nos dias seguintes observaram-se apenas alterações no tamanho dos fascículos maiores.



HEASMAN & BEYNON¹⁴ (1983) observaram que, na literatura pesquisada por eles, e relacionada com a estimativa do número total de fibras mielínicas do n. alveolar inferior, os autores haviam se baseado em apenas um exemplar de nervo humano. Não existindo, portanto, informações relacionadas com a variação do número de fibras entre indivíduos diferentes. Propuseram-se, a partir disto, a desenvolver um estudo quantitativo para comparar a contagem das fibras deste nervo entre 36 indivíduos, com idade variando de 12 a 97 anos e peso entre 35 e 80 Kg. As amostras foram retiradas de cadáveres, sempre acima da lingula da mandibula e fixados em solução de formol a 10% tamponada (durante 24 horas). A pós-fixação foi feita com uma solução de ósmio a 1% (durante 6 dias) e finalmente as amostras foram incluídas em parafina. Cortes com 5 µm de espessura foram montados em lâminas de vidro e examinados com um microscópio de luz acoplado a um analisador de imagens MOP-Videoplan da Kontron. Utilizando um método simplificado de cálculo com o emprego de um retículo, concluíram que o número total de fibras teve como média 19.524 axônios (variando de 1.307 a 28.078). Não houve diferença significante entre o número obtido para homens e mulheres. Também não ocorreu uma correlação entre a idade e o número total de fibras. A correlação entre número de



fibras e o peso dos indivíduos foi significante. Tais resultados levaram os autores a concluir que houve uma variação considerável no número total de fibras, não relacionada ao sexo e à idade, mas possivelmente com o peso do indivíduo.

Com a finalidade de analisar a distribuição anatômica do n. mandibular e seus ramos no macaco-prego (<u>Cebus apella</u>), IYOMASSA et al.²² (1983) dissecaram sete cabeças (14 lados), sob lupa e microscópio cirúrgico e fizeram então uma descrição detalhada do nervo.

JACQUIN & RHOADES²³, num artigo de 1983, aplicaram a HRP no coto proximal do n. infra-orbital (ainda dentro das órbitas) de 13 ratos adultos, para demonstrar a sua representação ganglionar e mesencefálica. Outros 12 animais recém-nascidos tiveram o n. infra-orbital seccionado e os folículos das vibrissas cauterizados. Quando atingiram a idade adulta, foram injetados com HRP e sacrificados. Após o sacrificio dos animais e revelação da enzima acumulada nos cortes do gânglio trigeminal e mesencefálico, puderam observar que nos animais normais: a) não foi possível observar os grumos característicos da deposição da HRP ao nível do gânglio trigeminal; e b) ao nível do mesencéfalo um grande número de agregados



da HRP foram claramente observados nos subnúcleos interpolares, subnúcelo caudal (núcleo sensorial) e no primeiro segmento da medula cervical. Nos outros animais (aqueles cujos nervos foram seccionados e os folículos foram cauterizados e ocorreu a "regeneração" nervosa) a HRP transportado depositou-se quase que exclusivamente em uma faixa do corno dorsal da medula cervical. Assim puderam concluir que, para ratos recém-nascidos, a secção do n. infra-orbital e a cauterização dos folículos causaram uma redução aparentemente maciça e permanente da inervação do infra-orbital.

Em 1983, RAKIC & RILEY⁴⁵, analisaram, através da microscopia eletrônica, axônios da retina de macacos rhesus (<u>Macaca mulatta</u>) com 47 dias de vida embrionária. Revelaram então que existiam 2,85 milhões de axônios (número este superior a duas vezes o valor encontrado em animais adultos pelos mesmos autores em estudo anterior). Puderam concluir que um número de axônios superior a um milhão é eliminado até o nascimento, simultaneamente com a ocorrência de um rearranjo dos ramos terminais do n. óptico, através da eliminação seletiva de conexões pouco eficientes.

DAVIES & LUMSDEN⁰⁹, em sua publicação de 1984, definiram precisamente o período do desenvolvimento embrionário no qual



o fator de crescimento dos nervos encontrava-se mais efetivo. Para isto gânglios trigeminais de camundongos e suas projeções periféricas foram estudados em intervalos de tempo reduzidos, com o auxílio de microscopia de luz e eletrônica, bem como de cultura de células. Os resultados revelaram que o n. oftálmico representa 13,3% das fibras do n. trigêmeo, enquanto o maxilar 60,4% e o mandibular 26,4%. O nervo maxilar atingiu um pico de 27.884 fibras no 13° dia (E 13), tendo iniciado com 1.203 fibras no 10° dia (E 10) e no dia do nascimento apresentou 12.506 fibras, número este portanto superior ao encontrado no animal adulto.

JACQUIN et al.²⁴ (1984) estudaram a organização normal do n. infra-orbital de quatro ratos, adultos utilizando para isto as técnicas convencionais de microscopia eletrônica. Apenas a porção caudal do nervo foi analisada (ao nível do forame alveolar superior anterior). Todos os fascículos e as fibras mielínicas e amielínicas foram contadas com o auxílio de fotomicrografias ampliadas em 3.600%. Foram medidas a área e o maior diâmetro de cada fascículo, bem como das fibras mielínicas e amielínicas, com o auxílio do MOP-III da Zeiss. Observaram que o nervo era composto de 18 a 25 fascículos, com áreas que variaram de 575 a 87.923µm² em corte transversal. A contagem



total dos axônios foi de 19.740 ± 2.054 fibras mielínicas e de 13.319 ± 1.159 fibras amielínicas. O diâmetro médio das fibras mielínicas foi $4.42\pm1.76\mu$ m e das amielínicas $0.60\pm0.16\mu$ m, e que não houve uma tendência de segregação por tamanho ou tipo nos diferentes fascículos. O maior fascículo continha 2.840 axônios mielínicos e 1.384 amielínicos, enquanto o menor fascículo possuía 13 fibras mielínicas e 39 amielínicas.

MAYHEW & SHARMA³⁴ (1984a), utilizaram formas simplificadas, através de amostragem, para estimar o tamanho das fibras de nervos compostos por fascículos de vários tamanhos. As medidas foram avaliadas para comparar sua confiabilidade, precisão, tempo gasto e eficiência em relação aos valores absolutos obtidos anteriormente através de medição de todas as fibras. Os resultados obtidos permitiram aos autores concluir que, no futuro, deveria dar-se maior ênfase às medidas por amostragem, que permitiriam a análise de um maior número de animais, ao invés da análise extremamente precisa de apenas uma amostra.

Em 1984b, MAYHEW & SHARMA³⁵, demonstraram em nervos tibiais unifasciculados retirados de ratos diabéticos, que pode-se calcular o número e o diâmetro de fibras mielínicas com o uso



de amostragens. Em média, um corte do nervo contendo 2.960 fibras, demorava mais de cinco horas para ser contado. Com a utilização de amostras, o tempo médio foi reduzido ficando entre 17 e 69 minutos, sem, no entanto, alterar a confiabilidade e precisão das medidas. As amostras mais confiáveis foram baseadas em quadrantes ou setores.

MISTRETTA & BAUM³⁶ (1984) estudaram os botões gustativos nas papilas fungiformes e valadas de ratos jovens e adultos velhos. Com esta finalidade 12 animais de cada grupo etário (seis machos e seis fêmeas) foram sacrificados, suas línguas removidas e fixadas em formol a 10% tamponado. Após alguns dias foram incluídas, cortadas e coradas com H.E. para análise ao microscópio óptico. Nenhuma diferença foi encontrada quanto ao número ou tamanho dos botões, tanto na região anterior como posterior da língua de ambos os grupos etários e sexuais. Concluíram afirmando que as alterações do sistema de gustação, nas diferentes idades, não têm base anatômica como havia sido sugerido anteriormente.

MONTAGNESE et al.³⁸, (1984), em seu artigo se propuseram uma comparação entre os efeitos da técnica anestésica de Gow-Gates e da técnica convencional para a anestesia do n. mandibular. Os autores teceram, durante a discussão do trabalho,



considerações referentes à constituição dos ramos nervosos envolvidos e suas possíveis implicações com a eficiência e tempo da anestesia.

RENEHAN & RHOADES 46, em 1984, pesquisaram o m. infra-orbital de três ratos recém-nascidos, com a utilização do microscópio eletrônico. Para isto, os animais foram perfundidos por via cardíaca e os cotos nervosos removidos foram pós-fixados, desidratados e incluídos em resina. Os cortes foram ampliados ao microscópio eletrônico, fotografados, e posteriormente medidos com o auxílio de um microcomputador. A contagem total das fibras nervosas mostrou, em valores médios, 42.051 axônios amielínicos e 168 axônios mielínicos. As fibras amielínicas apresentaram diâmetro médio igual a 0,46µm e as mielínicas 1,71µm. Verificaram que o nervo do rato recém-nascido contém cerca de 10.000 fibras a mais que o adulto e sugeriram que o modelo de distribuição destas fibras ao nível do mesencéfalo torna-se aparente, em uma idade onde ainda existem numerosas fibras imaturas e excedentes.

BRADLEY et al.⁰⁸ (1985) estimulados pelos poucos estudos sobre as diferenças nos botões gustativos relacionadas à idade e por existirem observações contraditórias, contaram e examinaram tais estruturas bem como as papilas da língua de macacos rhesus. Para isto



as línguas de quinze macacos, com idades entre 4 e 31 anos e reunidos em cinco grupos, foram estudadas com o auxílio de um microscópio de luz. O número das papilas fungiformes, circunvaladas e folhadas era reduzido em animais que sofreram algum trauma no ápice da língua. Não foram encontradas diferenças numéricas dos botões gustativos que estivessem relacionadas com a idade, os tipos de papilas, nem mesmo o diâmetro dos botões gustativos sofreu alteração. De posse dos dados individuais de cada um dos tipos de papilas, puderam concluir que a morfologia das estruturas relativas ao paladar, é muito pouco afetada com a idade. Entretanto, isto não impede que os botões gustativos apresentem alterações ultra-estruturais, bioquímicas ou ao nível de sistema nervoso que possam causar alterações no mecanismo do paladar.

HEASMAN & BEYNON¹⁵, (1986), observaram que os estudos anteriores sobre morfometria do n. lingual foram todos realizados em animais experimentais. Por isto, propuseram-se a investigar 20 nervos linguais humanos, removidos logo após a morte dos indivíduos. Secções de aproximadamente um centímetro de comprimento foram removidas do nervo após dissecção, sempre 12 horas após o óbito. As amostras foram então fixadas por 24 horas em solução de formol a 10%, \$P\$ 7,0. Para a pós-fixação e coloração foram imersas em solução de



ósmio a 1% durante seis dias. Foram, então, incluídas em parafina e cortes com 5μ m de espessura foram montados e desidratados. Com um microscópio de projeção e um analisador digital da Videoplan (Kontron) foram levantados o número total e diâmetros das fibras mielínicas. O número total dessas fibras alcançou uma média de $16.868~(\pm 5.493)$ fibras, distribuídas em uma curva de aspecto bimodal com picos entre $2-4\mu$ m e $7-10\mu$ m. Evidenciaram assim a presença de fibras menores correspondentes às fibras de aferência somáticas ($A\delta$), bem como fibras eferentes viscerais e aferentes viscerais especiais (componentes do n. corda do tímpano).

Posteriormente, HEASMAN & BEYNON⁶, em 1987a, observaram a literatura existente e detectaram que os estudos quantitativos, sobre o n. alveolar inferior humano, tinham sido realizados apenas com uma amostra deste nervo. A partir desta constatação propuseram um estudo para que fosse apurado o número total de fibras mielínicas (TMFC) de um grupo de nervos alveolares inferiores humanos e para averiguar se havia alguma tendência ou correlação desta contagem com a idade, peso e número de dentes mandibulares dos indivíduos. Para isso, 36 amostras de nervos, com um centímetro cada foi removida 48 horas após a morte. Cada coto nervoso foi então fixado,



corado, incluído e cortado como no trabalho descrito anteriormente. Para a contagem as lâminas foram projetada, com um aumento final de 500X, com o auxílio de um projetor de lâminas. Acabaram por concluir que a contagem total das fibras mielínicas do n. alveolar inferior do Homem variou de 8.645 a 212.200 fibras e que estes números não estavam relacionados com o sexo ou idade dos indivíduos. Porém houve uma correlação entre o peso e a contagem total, tanto para indivíduos dentados (r = 0.616), bem como para os desdentados (r = 0.676). Também concluíram que há uma diminuição significante no número de fibras do nervo de indivíduos dentados (TMFC = 18.154 fibras) em relação aos desdentado (TMFC = 14.591 fibras).

HEASMAN & BEYNON¹⁷ analisaram, em 1987b, 30 amostras do n. milo-hióideo de cadáveres humanos com o auxílio da microscopia óptica. O número total médio de axônios mielínicos encontrado foi de 1.251 fibras, que se distribuíram em uma curva de aspecto bimodal com relação ao diâmetro. Nenhuma relação foi encontrada entre a contagem das fibras e a idade. Entretanto, quando comparado indivíduos dentados com desdentados, houve uma significante redução no número de fibras. Esta perda de fibras não foi restrita às de



menor calibre e possibilitou aos autores considerarem a existência de uma possível relação do n. milo-hióideo com os dentes inferiores.

Analisando JUNGELL & LINDQVIST²⁵ (1987), temse que de um total de 68 indivíduos com fratura do osso zigomático, 56
sofriam de distúrbios de sensibilidade relacionada com o n. infraorbital. Os diferentes métodos utilizados para a redução indireta da
fratura não produziram resultados significantes quanto à melhora da
sensibilidade na área abrangida pelo nervo.

MAYHEW³³ (1988) realizou biópsias em seis nervos tibiais de ratos e determinou o número absoluto de fibras mielínicas, através da contagem de todas as fibras dos segmentos. A seguir utilizou dois tipos de contagem, não tendenciosos, baseados em esquemas de amostragens: a escolha casual de campos de um reticulo e pelo método do fracionamento. De tal forma foram obtidas duas amostras contendo, cada uma delas, 6% (aproximadamente) do número total de fibras, ou seja ±150 fibras. Concluíram os autores que pequenas diferenças encontrados na contagem do número total de fibras são muito pouco significantes quando comparadas com os benefícios da utilização de amostras. As amostragens tornam mais práticas as contagens, em



especial quando forem estudados nervos com grande número de fibras e/ou no exame de muitos nervos.

O nervo facial e seus ramos foram dissecados em 12 macacos-prego (<u>Cebus apella</u>), adultos e de ambos os sexos, por OLIVEIRA et al.⁴² (1988), com a finalidade de descrever o seu trajeto extracraniano e sua distribuição geral. Puderam observar que o n. facial emitiu quatro ramos (digástrico, estilohioídeo e dois auriculares posteriores) antes de penetrar na glândula parótida do animal. Dentro da glândula emitiu cinco ramos, que formaram vários plexos junto à musculatura mímica, não sendo observado o ramo marginal da mandíbula.

DÍAZ & MORERE", (1989), estudaram a existência, freqüência e sítios de origem dos nervos alveolares superiores médios em 100 indivíduos, através da transiluminação das maxilas.

BOTACIN⁰⁶ (1992) desenvolveu um estudo anatômico sob lupa do n. infra-orbital de 20 macacos-prego (<u>Cebus apella</u>), para analisar a sua distribuição e as suas relações. Cada animal foi previamente anestesiado e então perfundido, via a. aorta, com solução de formol a 10%. Dissecou ambas as órbitas dos animais para que fossem observados o trajeto, origem e as estruturas com as quais este se



relacionava. Zuanto ao trajeto, não foram notadas grandes diferenças daquele seguido pelo nervo correspondente no Homem. Em nenhum dos nervos analisados encontrou-se ramos correspondentes aos nervos alveolares superiores médios. Na descrição das estruturas que se relacionavam com os ramos nervosos analisados o autor destacou a existência de sulcos infra-orbitais que percorriam toda a extensão do soalho da órbita e, um canal curto restrito à espessura da margem orbital inferior.

SHIMOZAWA & NAKAMURA⁵⁰, (1993), realizaram um estudo para a obtenção de informações detalhadas sobre o número e dimensões das fibras mielínicas e amielínicas dos ramos nervosos no músculo milo-hióideo de camundongos. Foram removidas e preparadas para a ME cinco amostras do nervo de cada animal. Fotomicrografias foram obtidas com aumentos de 8.200 a 11.200%. Com o auxílio de um sistema analisador de imagens tipo MGC-1000 foram contados o número de fibras nervosas mielínicas e amielínicas, bem como medidos os respectivos diâmetros maior e menor, área e perímetro. Quanto às medidas, encontraram que os ramos nervosos continham em média 93,6 fibras mielínicas (54,7%), 76,2 fibras amielínicas (44,6%) e 1,7 fibras indeterminadas (0,7%). Do total de fibras mielínicas 60,3%



apresentaram o maior diâmetro variando entre 3,5 e 6,0 μ m e 67,8% com menor diâmetro entre 2,5 e 5,0 μ m. Dos axônios das fibras amielínicas 81,7% tinham seu maior diâmetro entre 1,5 e 4,5 μ m e o menor diâmetro entre 1,0 e 3,5 μ m para 83,1% do número total.

ALBERTS et al. (1994) descreveram fatores de crescimento reguladores da proliferação celular de animais multicelulares, como os mamíferos. Fatores estes que regulam a transcrição do gen, a ordem e a ativação do sistema de controle do ciclo celular. Destacaram também o pequeno conhecimento existente a respeito de todas as atividades que a divisão celular necessita durante o desenvolvimento embrionário, mesmo com o emprego das atuais técnicas de microscopia, cultura celular, imunohistoquímica e genética molecular.

MANDARIN-DE-LACERDA³² (1994) publicou um manual voltado para aqueles que utilizam análises de quantificação morfológica, envolvendo a morfometria, alometria e estereologia. Em especial, no capítulo dedicado à morfometria, descreveu: a) como podem ser efetuadas as medidas macroscópicas, sua importância e aplicação; b) como se determina o peso e volume de um órgão de diferentes formas; c) a mensuração linear de objetos microscópicos (em nível da microscopia de luz), onde destacou a necessidade da utilização do micrômetro ocular



ou do micrômetro objeto; d) métodos planimétricos para a determinação de áreas microscópicas; e) quantificação e avaliação dos graus de retração e de compressão dos tecidos fixados; f) realização de medidas angulares e sua análise; g) parâmetros macroscópicos e funcionais para a analise de músculos esqueléticos (área de secção transversa, a força e o trabalho); h) o cálculo da resultante de duas forças aplicadas a um mesmo objeto; e i) as formas de análise e apresentação de resultados.

Em 1994, MURAKAMI et al.³⁹, investigaram macroscopicamente o n. alveolar superior posterior de humanos, usando impregnação pela prata. Dispensaram especial atenção para sua topografia e relações com a membrana do seio maxilar.

Segundo ROSENBERG & SAILER⁴⁸, (1994), baseados em observações de 21 indivíduos que, após uma fratura do tipo Le Fort I, relataram alterações de sensibilidade na mucosa vestibular e do lábio superior. Demonstraram que, após três meses, o n. infra-orbital havia restabelecido suas funções.

Em 1995, LEO et al.⁵¹, relataram um caso raro de bifurcação do n. infra-orbital no Homem, na sua porção sub-orbital, e constataram a presença de dois canais e dois forames infra-orbitais.



Tais forames se apresentavam separados por uma distância de 2 cm no plano axial e por 1 cm no plano sagital.

De acordo com afirmações de HOLLAND et al.¹⁹, em 1996, o n. lingual muitas vezes é seccionado durante determinadas cirurgias orais (incluindo a extração do terceiro molar inferior). Isto motivou os autores a investigarem morfometricamente dois métodos para o reparo de nervos quando seccionados. O primeiro baseado na sutura do epineuro dos cotos proximal e distal e outro através da colocação das extremidades seccionadas dentro de um tubo de silicone. Ambos os métodos foram realizados nos nervos corda do tímpano e lingual de gatos.



METODOLOGIA



Metodologia

Secções do n. infra-orbital de aproximadamente 0,5 a 0,7cm de comprimento, foram analisados de ambos os lados de cinco macacos-prego machos e adultos. Os animais foram fornecidos pelo Núcleo de Procriação de Macacos-prego (<u>Cebus apella</u>), da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, após passarem por um período de quarentena. A Figura 1 apresenta as características físicas de um macaco-prego, semelhante aos utilizados nesta pesquisa.

Para a remoção dos cotos nervosos foi utilizada a metodologia preconizada por PALAY & CHAN-PALAY (1981), porém foram substituídas as cânulas de perfusão por outras mais calibrosas e a solução salina foi heparinizada. Desta forma, após a indução anestésica inicial de cada macaco com éter etílico, injetou-se thionembutal sódico intraperitonialmente, na concentração de 30mg/Kg de peso corporal. Em seguida fêz-se a tricotomia das regiões anterior do pescoço e inquinal. Incisões foram feitas com a finalidade de dissecar e expor as veias jugulares internas e externas e as artérias e veias femurais.



Cânulas de polietileno foram introduzidas nas artérias femurais, enlaçadas e amarradas com fios de algodão, através das quais foi perfundido aproximadamente um litro de solução salina a 0,9%, heparinizada a 0,3%. Volume semelhante de formol a 10% tamponado, foi perfundido na seqüência. As soluções ficaram contidas em um balão volumétrico suspenso a uma altura de um metro e meio em relação à mesa operatória. Cabe ressaltar que tão logo havia se iniciado a perfusão, fez-se a secção completa das veias femurais e veias jugulares internas e externas, para permitir o extravasamento constante dos líquidos excedentes.

Após a perfusão, cada n. infra-orbital foi removido do interior do conteúdo da órbita, através de dissecção, com o auxílio de uma lupa. Assim a pele da região infra-orbital foi incisada, acompanhando o seu contorno e rebatida juntamente com os tecidos cutâneo e subcutâneo. Para expor os vasos e nervos infra-orbitais, o conteúdo do interior da órbita foi separado do seu soalho, o suficiente para se visualizar os vasos e os nervos infra-orbitais. Realizou-se a divulsão dessas estruturas para individualizar o nervo que foi a seguir seccionado numa extensão aproximada de 2.5cm. Esta secção se fez imediatamente após alcançar a porção mais distal do leito do



oulco infra-orbital e antes de penetrar o curto canal infra-orbital, junto à margem infra-orbital.

O coto nervoso assim obtido, de cada lado do animal, foi dissecado sob lupa e reduzido em dois fragmentos (ao redor de 0,5 a 0,7cm de comprimento). Cada um destes passando a representar uma porção mais anterior e outra mais posterior do mesmo nervo (Figura 2).

As porções do nervo assim obtidas foram imersas em formol 10%, tamponado, durante 24 horas. Essas amostras foram lavadas a seguir, por quatro vezes em tampão fosfato pH 7.2, e imersas em solução de tetróxido de ósmio a 1% em tampão fosfato, por um período de uma semana, sob refrigeração (HEASMAN & BEYNON¹5, 1986).

Após este período foram novamente lavadas em tampão fosfato e submetidas à desidratação em ordem crescente de álcoois e incluídas em parafina, como proposto por HEASMAN & BEYNON¹5 (1986). Para a inclusão em parafina tomou-se o cuidado de posicionar a porção mais rostral do coto nervoso anterior, voltada para a superfície do bloco a ser cortada no micrótomo, e com



relação ao coto posterior voltou-se sua face distal para a face de corte do bloco.

Através de micrótomo foram obtidos cortes seriados de 5µm de espessura e após a expansão em banho-maria (45°C), seguiu-se a montagem em lâminas identificadas e cobertas previamente com uma pequena camada de albumina. Após a secagem os cortes foram diafanizados em xilol e cobertos com lamínula de vidro. Foram analisados com o auxílio de um microscópio de luz (Figuras 3 e 4).

A compressão do corte foi calculada comparando-se o diâmetro, da peça incluída, na superfície do bloco de parafina, e na lâmina histológica, após o banho-maria. Deste modo o fator de compressão(Fc) foi calculado:

$$\mathcal{F}e = \underline{\mathcal{D}e}$$
 $\mathcal{D}\ell$

sendo: De = Diâmetro comprimido da peça (na lâmina histológica).

Db = Diâmetro da peça (no bloco de parafina).



<u>5</u>0

Ambas as medidas foram realizadas, na direção perpendicular à navalha do micrótomo, com o auxílio de um paquímetro. Obteve-se como resultado: 7c=1%; daí não ser necessário efetuar cálculos para corrigir as medidas obtidas, conforme propôs MANDARIN-DE-LACERDA³² (1994).

As mensurações e contagens foram obtidas a partir de imagens capturadas com auxilio microcâmera de vídeo, adaptada ao microscópio óptico de luz transmitida (ampliação 100X)*. Procurou-se avaliar de fascículos, a área, perimetro número diâmetros máximos e mínimos dos fascículos nervosos, bem como a contagem do número de axônios mielínicos por fasciculo. com a utilização do SigmaScan & Image Measurement Software, da Jandel Scientific Software **.

Para obter a calibração neste programa para microcomputador, utilizou-se um micrômetro objeto, como sugere MANDARIN-DE-LACERDA³² (1994). A imagem deste micrômetro foi também capturada através da microcâmera com uma ampliação final igual a dos cortes histológicos.

^{*}Equipamentos pertencentes à disciplina de Endodontia do Departamento de Dentística Restauradora da Jaculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP.

^{**}Software instalado em um microcomputador do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP.



Durante a contagem do número total de fibras mielínicas foram consideradas, como elementos pertencentes a amostra, apenas aqueles axônios que estavam integros ou eram limitados ou seccionados pelas bordas inferior e/ou esquerda na imagem da tela do monitor. Desta forma aqueles cuja circunferência não estava completa ou eram tangenciados pelas bordas superior e/ou direita do monitor de vídeo, não foram considerados.

O cálculo do NTFM foi baseado em amostragens (MAYHEW³³, 1988; MAYHEW & SHARMA³⁴, 1984a e MAYHEW & SHARMA³⁵, 1984b) e fórmula matemática proposta por HEASMAN & BEYNON¹⁶ (1987a):

FÓRMULA: NTFM = <u>ÁREA DO NERVO</u> X N.º DE FIBRAS CONTIDAS

AREA DA AMOSTRAGEM NA ÁREA DA AMOSTRAGEM



RESULTADOS E DISCUSSÃO



Resultados e Discussão

As fibras mielínicas estavam totalmente dispersas no interior dos segmentos do n. infra-orbital, com uma pequena tendência dos axônios mielínicos maiores ocuparem a porção central do corte. Entretanto, nos fascículos menores eles se distribuíram de forma homogênea. Tal característica é semelhante às descritas em ratos (RENEHAN & RHOADES⁴⁶, 1984) onde é mantida uma distribuição igual de fibras mielínicas por todo o fascículo. Isto significa que não há uma tendência das fibras maiores ou menores. ou de um ou outro tipo, estarem separadas em fascículos diferentes (JACQUIN et al.²⁴,1984).

ERZURUMLU & KILLACKEY¹² (1983) sugeriram que o padrão de organização dos fascículos, do n. infra-orbital de ratos ao longo do desenvolvimento embrionário, sofre uma modificação substancial de forma, posição e volume. Estudos em animais com três dias de vida (RENEHAN & RHOADES⁴⁶, 1984) e em adultos (JACQUIN et al. ²⁴,1984) confirmam que a organização do n. infra-orbital, ao nível do forame alveolar superior anterior, é



composto de 8 a 15 fascículos ou de 18 a 25 fascículos, respectivamente.

No macaco-prego verificou-se (7abela 1), que há um número menor de fascículos em ambos os cotos analisados $(4,05\pm2,04\ fascículos)$. Indicam porém, que há uma fusão dos fascículos, à medida que se aproximam da fossa pterigopalatina, uma vez que, em média, na porção anterior do nervo encontrou-se $5,5\pm1,58$ fascículos e na porção posterior $2,6\pm1,26$.

O número de fascículos está diretamente relacionado com a porção da qual obteve-se os cortes, além do que é possível ocorrer uma redução no seu número em conseqüência da idade (MURPHY & THOMSON⁴⁰, 1966). Nestes casos as fibras são substituídas por tecido conjuntivo. Variações consideráveis referentes à alteração no número de fascículos foram descritas em experimentos com animais desdentados ou com número de dentes reduzidos ou ainda alterações nas estruturas de suporte, em especial para o n. alveolar inferior de gatos (MOHIUDDIN³⁷, 1951 e BIEDENBACH & BROWN⁰⁵, 1977), cães (HONMA²⁰, 1959) e ovelhas (MURPHY & THOMSON⁴⁰, 1966).



Nos macacos deste experimento também encontrou-se uma confirmação das diferenças entre os fascículos em conseqüência dos distintos níveis do corte, uma vez que era comum observar-se em cortes subsequentes uma fusão gradativa dos fascículos, na porção mais próxima da raiz do nervo.

A medida da área dos fascículos da porção anterior (7abela 2) do n. infra-orbital do macaco-prego teve como média 0,46mm²±0,96 variando de 0,35mm² a 0,66mm², em corte transversal. Seu perímetro médio foi de 2,32mm±0,47, com valores mínimo e máximo de 1,72 e 3,21mm, respectivamente (7abela 3).

Na região posterior do nervo (7abela 2) a área dos fascículos oscilou entre 0,33mm² e 0,60mm², com média de 0,42mm² $\pm 0,85$. Nesta porção o perímetro médio encontrado foi de 2,05mm $\pm 0,51$, tendo como valor mínimo 1,36mm e máximo 3,17mm (7abela 3).

Apenas JACQUIN et al.²⁴ (1984) descreveram medidas relativas às áreas dos fascículos do n. infra-orbital de ratos adultos, em publicação que os próprios autores afirmam ser a primeira descrição completa deste. Seus resultados indicam fascículos



com variação da área, em corte transversal, de 87,92 a 575 µm². As medidas foram realizadas repetidas vezes sobre eletromicrografias com o auxílio do MOP-III da Zeiss, para confronto entre elas, e não notou-se diferenças significantes. Tais mensurações foram apenas ao nível do forame alveolar superior anterior.

Comparando as medidas encontradas no macaco-prego (Cebus apella) com as relatadas para ratos (JACQUIN et al.²⁴, 1984), observou-se que havia grandes diferenças nos valores, indicando que as diferentes espécies animais guardam uma proporcionalidade entre volume corpóreo e tamanho das fibras nervosas, característica esta já confirmada para nervos do Homem (HEASMAN & BEYNON¹⁵, 1986).

Duas amostras de cada corte histológico de ambos os segmentos do nervo foram quantificados, resultando um total de 40 amostras, nas quais 6.615 neurônios foram analisados.

Utilizando-se a metodologia preconizada por HEASMAN & BEYNON¹⁶ (1987a) para o cálculo do número total de fibras mielínicos, nos cortes das amostras da região anterior, estimou-se uma média de 13.699,55 axônios mielínicos, com desvio padrão de 3.787,01. Na porção posterior estimou-se um total de



15.277,64 fibras mielínicas, em média, com desvio padrão de 3.767,57 (7abela 4).

Esta quantificação se comparada a valores no n. alveolar inferior de outros mamíferos, como gatos (5.600 axônios quantificados por BIEDENBACH & BROWN⁰⁵, 1977 ou 5.051 axônios sugeridos por MOHIUDDIN⁵⁷, 1951) em cães (10.554 axônios segundo HONMA²⁰, 1959) e ovelhas (13.153 axônios relatados por MURPHY & THOMSON⁴⁰, 1966), sugere que há uma relação entre a espécie e o número total de fibras. A principal contribuição para esta variação quantitativa poderia ser a diferença no número de dentes a serem inervados nestes animais (gatos-14; cães-22; ovelhas-20 e macacos-prego-18).

A dependência que há entre número de dentes e quantidade de axônios relacionado a ele, já havia sido comprovada.

A diferença dos valores médios, da contagem total de fibras mielínicas, entre nervos de indivíduos dentados e desdentados é significante (P<0,001)(HEASMAN & BEYNON¹6, 1987a; MURPHY & GRUNDY⁴¹, 1969 e ROOD⁴², 1978). Indica que houve uma redução de axônios do ramo nervoso principal, após perdas dentárias.



Por outro lado, WAITE & CRAGG⁵³ (1982) encontraram um número total significantemente maior de fibras no n. infra-orbital em ratos (17.861 fibras), quantificação esta semelhante à observada por JACQUIN et al.²⁴ (1984), com número médio de 19.740(±2.054). Acrescenta-se que estes últimos autores realizaram seus estudos em quatro animais, enquanto que os primeiros em apenas um.

Em comparação com o valor médio (13.699,55) observado na porção anterior do n. infra-orbital do presente experimento e levando-se em consideração a diferença constitucional entre o rato e o macaco-prego, esses dados parecem ser conflitantes.

Entretanto, nos ratos o n. infra-orbital transporta as aferências de sensibilidade geral das regiões palpebral inferior, asa do nariz, lábio superior, gengiva vestibular dos dentes superiores anteriores, mucosa do seio maxilar, dentes e seus tecidos de suporte na maxila além de informações vitais provenientes das vibrissas. No macaco esta última função foi reduzida, o que poderia justificar o menor número de axônios encontrado.

O número total de fibras mielínicas no n. infra-orbital é ainda maior no rato recém-nascido, podendo conter cerca de 10.000



fibras a mais que no adulto (JACQUIN et al.²⁴, 1984). Dado este concordante com os obtidos para outros ramos nervosos periférico (KILLACKEY & BELFORD²⁶, 1980 e RAKIC & RILEY⁴⁵, 1983), bem como para alguns ramos centrais (LAM et al.²⁸, 1982 e WAITE & CRAGG ⁵³, 1982) de mamíferos.

A maior parte dos neurônios no sistema nervoso central de vertebrados é produzida em excesso. Até 50% ou mais deles então degeneram tão logo alcançam seus tecidos alvos, mesmo que pareçam perfeitamente normais e saudáveis. Cerca de metade de todos os motoneurônios que enviam axônios para um músculo esquelético, por exemplo, degeneram dentro de poucos dias após alcançarem as células musculares alvos. Esta morte em larga escala dos neurônios é acreditado refletir o resultado de uma competição. Cada tipo de célula alvo libera uma quantidade limitada de um fator neurotrófico específico que os neurônios que inervam este alvo requerem para sobreviver: os neurônios aparentemente competem para captar o fator e aqueles que não conseguem o suficiente, morrem por morte celular programada (ALBERTS et al.º1, 1994).

Um maior número de axônios foi observado no n. maxilar de camundongos, na fase final do desenvolvimento embrionário



(DAVIES & LUMSDEN⁰⁹, 1984) e também no n. óptico de ratos durante o período pós-natal (LAM et al.²⁸, 1982). Estes dados reforçam as descrições de BELFORD & KILLACKEY²⁶ (1980) que sugerem que a representação cerebral da distribuição destas fibras torna-se aparente em uma idade em que ainda existem muitas fibras extras do n. infra-orbital. Neste período estas fibras têm aspectos morfológicos imaturos (tais como o tamanho e o grau de mielinização).

A apresentação de resultados concordantes que comparam o n. infra-orbital de recém-nascidos (RENEHAN & RHOADES⁴⁶, 1984) e adultos (JACQUIN et al.²⁴, 1984), juntamente com dados sobre o n. maxilar de camundongos (DAVIES & LUMSDEN⁰⁹, 1984), reafirmam-se as descrições de FORBES & WELT¹³ (1981) onde a maioria dos neurônios, que compõe o gânglio do n. trigêmeo, faz eua divisão entre o 13° e 15° dias embrionários, quando sua neurogênese é incompleta. Concluindo dessa forma que a reinervação ocorrida após o período neonatal, não é resultado do crescimento das fibras que não foram seccionadas, mas sim da regeneração das fibras lesadas.



A comparação entre o peso corporal dos macacos-prego utilizados nesta pesquisa, e os respectivos números totais de fibras mielínicas sugerem existir uma relação entre estes valores (7abela 5). Nota-se que para os animais com maior peso corporal existem um maior número de fibras (Gráfico 1). ROOD⁴⁷ (1978), não conseguiu correlacionar tais valores, provavelmente por ter ocorrido atrofia dos axônios mielínicos, após a extração de dentes inferiores do indivíduo analisado

Humanos dentados ou desdentados apresentaram uma relação entre peso e o NTFM, segundo HEASMAN & BEYNON¹⁶ (1987a), que pôde ser justificada pelo fato do peso do indivíduo ter correspondência com o tamanho da mandibula, maxila e estruturas de suporte, independente da presença ou não de dentes. A partir desta característica HEASMAN & BEYNON¹⁶ (1987a) puderam sugerir que os indivíduos mais pesados necessitavam de uma inervação proporcionalmente maior.

A variação no número total de fibras miclinizadas, nas diferentes porções do nervo estudado, se fez notar também no cálculo da área (7abela 6) e do perímetro (7abela 7) das fibras isoladas. Na região anterior foram medidos axônios com áreas de 2,12 a



80,79 μ m² (média de 24,86 μ m² \pm 18,52), com perímetro oscilando de 5,11 a 36,6 μ m (média de 18,68 μ m \pm 7,56). A porção posterior apresentou as áreas dos axônios entre 1,63 e 72,0 μ m² (média de 21,15 μ m² \pm 16,65), o perímetro se manteve entre 4,54 e 34,95 μ m (média de 17,1 μ m \pm 6,79).

As medidas acima sugerem a existência de um grupo de fibras de maior calibre, que compõe o tronco do n. infra-orbital desde anterior até posterior. Algumas fibras desta última porção eram maiores, uma vez que os valores de área e perímetro eram superiores até mesmo quando se analisou os valores mínimos.

Os valores médios de área e perímetro dos axônios obtidos em todas as regiões, entretanto parecem contradizer esta observação, uma vez que para a região posterior obteve-se uma média abaixo da encontrada para o coto anterior. Contudo se observados os Gráficos 2 e 3 pode-se concluir que tal redução é consequência do aumento no número de fibras com calibre reduzido, no fragmento da região posterior. Estas fibras provavelmente são oriundas do soalho da órbita e paredes do seio maxilar, que ao serem compiladas juntamente



com as já pertencentes ao tronco principal, provocaram uma redução no valor da média final.

Analisados os feixes de fibras das regiões anterior e posterior do n. infra-orbital do macaco-prego (Gráficos 2 e 3), pode-se observar uma aparência unimodal de distribuição dos diferentes valores de diâmetros das fibras, em relação à sua frequência de aparecimento. A fração posterior do nervo tem seu pico entre 2,0 e 3,9 µm, enquanto a anterior mantêm-se entre 4,0 e 5,9 µm (Gráficos 2 e 3).

Ratos recém-nascidos apresentam diâmetro médio de $1,7\mu m \pm 0,17$ para fibras mielínicas (RENEHAN & RHOADES 46, 1984), enquanto os adultos chegaram a apresentar um pico de $16,9\mu m$ com média de $4,42\mu m \pm 1,76$ (JACQUIN et al. 24, 1984). A mesma observação feita em nervos linguais de 20 humanos apresenta o diâmetro variando de 0,5 a $14\mu m$, com picos entre 2 a $4\mu m$ e 7 a $10\mu m$ (HEASMAN & BEYNON 5, 1986). Valores bastante próximos a estes foram relatados para o n. lingual de coelhos (SAKURADA 49, 1973) e gatos (BIEDENBACH 44, 1975).



Pode-se então admitir que, apesar das diferenças entre as espécies animais e considerando as variações próprias de cada ramo nervoso estudado, há uma semelhança na proporção entre o número de fibras e seus calibres.

No macaco-prego (<u>Cebus apella</u>) a percentagem de fibras com diâmetro maior na região anterior é elevada, se comparada com a fração posterior, isto devido a uma menor quantidade de fibras, em especial as de pequeno calibre. Concentrando desta forma um número menor de fibras na porção anterior e muitas delas com calibre maior. Para a parte posterior do n. infra-orbital convergem muitas fibras de tamanho menor, oriundas de estruturas e tecidos próximos ao canal infra-orbital. Desta forma o aumento numérico fez diluir os resultados de proporcionalidade desta porção. Uma vez que o pico de maior percentagem muda de aproximadamente 6 µm de diâmetro na porção anterior (Gráfico 2) para 2 µm na posterior (Gráfico 3).

A análise dos valores do diâmetro mínimo das fibras mielínicas do n. infra-orbital do macaco-prego (Gráficos 4 e 5), indica que há uma distribuição unimodal para ambas as partes do nervo observadas. Os picos máximos se repetem entre 2 e 4,0 fm e as



demais percentagens se correspondem. Com isto têm-se gráficos bastante semelhantes. Pode-se concluir que, independente do aumento do número de fibras na região posterior do nervo, ficou mantida uma proporção em relação ao diâmetro mínimo, visto que observou-se um aumento no calibre das fibras, de anterior para posterior, o que ficou compensado pelo também aumento no número de fibras de menor diâmetro.

A determinação histológica do diâmetro dos axônios está relacionada com a especialização funcional do nervo periférico (BOYD & DAVEY⁰⁷, 1968 apud HEASMAN & BEYNON¹⁵ 1986; HURSH²¹, 1939 e PEELE⁴⁴, 1977). Com a determinação dos diâmetros pode-se indicar a capacidade funcional da estrutura nervosa (HEASMAN & BEYNON¹⁵, 1986). BOYD & DAVEY⁰⁷ (1968) apud HEASMAN & BEYNON¹⁵ (1986); LAMBERT & DYCK²⁹ (1975) apud HEASMAN & BEYNON¹⁵ (1986); classificação: a) fibras tipo AO. (são mielinizadas, com diâmetro acima dos 6μ m); b) fibras tipo AO. (são mielinizadas e com diâmetro abaixo de 6μ m); e c) fibras tipo OO. (fibras amielínicas



abaixo dos Zµm de diâmetro). As primeiras são mediadoras de sensações de tato e pressão, bem como propriocepção e vibrações. Enquanto os tipos seguintes transportam impulsos referentes à dor, calor e frio.

Os valores obtidos com a mensuração do diâmetro máximo das fibras do n. infra-orbital do macaco-prego sugere que, em média, 60% das fibras mielínicas possuem diâmetro superior a 6μ m, e por isso podem ser consideradas, segundo a classificação acima, como do tipo A α e as demais 40% como tipo A δ . Isto não confirma a presença de aferentes proprioceptivos no n. infra-orbital do macaco-prego, mas sugere que ao nível das porções estudadas existe uma população de axônios os quais poderiam ser capazes de conduzir estímulos proprioceptivos.

Uma percentagem, com valores semelhantes, foi descrita por BIEDENBACH & BROWN⁰⁵ (1977) para o n. alveolar inferior de gatos, indicando assim que podem existir características funcionais semelhantes entre este nervo e o infra-orbital. Tal consideração pode ter fundamento, se considerarmos que ambos inervam polpas dentais, estruturas peridentais e o próprio ligamento periodontal.



Multiplicado por seis os valores dos diâmetros médios das fibras, do n. infra-orbital da macaco-prego, como sugere HURSH²¹ (1939), encontrou-se: para a porção anterior uma velocidade média de condução de impulsos de 41m/s (variando de 10m/s a 86m/s) e para a porção posterior uma velocidade média de 35m/s (variando de 9 a 79m/s).

Mesmo baseado-se em um método simplificado para a determinação da velocidade de condução do impulso nervoso, pôde-se observar que o n. infra-orbital não atingiu o valor esperado de acordo com a classificação de PEELE⁴⁴ (1977), onde as fibras Αα teriam velocidade de 100m/s. Por outro lado, os valores obtidos para o macaco-prego, entre 9 e 86 m/s, estão contidos no intervalo de 9 a 200m/s descrito para o n. alveolar inferior de cães (DE LANGE¹⁰, 1969). Reforça-se assim que há algumas semelhanças funcionais entre os ramos nervosos, desde que guardadas as devidas diferenças entre os animais.

É esperado que, com o evoluir da idade, possa haver uma diminuição do número total de axônios mielínicos do n. infra-orbital do macaco-prego, devido a um decréscimo de receptores sensoriais, ou então por alterações não relacionadas com a idade.



7ais afirmações já foram demonstradas em outro macaco (BRADLEY et al.⁰⁸, 1985), em ratos (MISTRETTA & BAUM³⁶, 1984) e humanos (ARVIDSON⁰², 1979).

Pretende-se continuar os estudos do n. infra-orbital do macaco-prego (<u>Cebus apella</u>), analisando as suas características morfológicas, através do uso da microscopia eletrônica.





ILUSTRAÇÕES





Figura 1 - Macaco-prego (<u>Cebus apella</u>) em liberdade - macho adulto.





Figura 2 - Vista superior de uma cabeça de macaco-prego cortada transversalmente ao nível da margem lateral das órbitas. As estruturas nervosas foram pintadas de amarelo. A-Nervo maxilar; b-As pontas de setas indicam a porção anterior do nervo infra-orbital; C-As pontas de setas indicam a porção posterior do nervo infra-orbital e; d-Restos da lâmina de tecido fibroso que obliterava a fissura orbital inferior. Aumento aproximado de 3%.



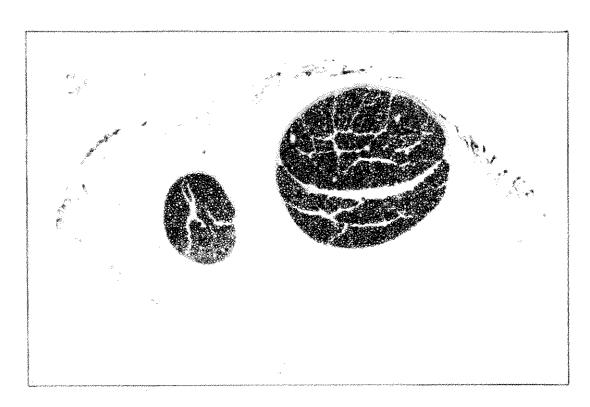


Figura 3 - Fotografia em pequeno aumento, ao microscópio de luz.

da porção anterior do nervo infra-orbital do macaco
prego. Corte transversal com 5 µm de espessura.

Coloração: tetróxido de ósmio a 1%. Aumento: 90%.



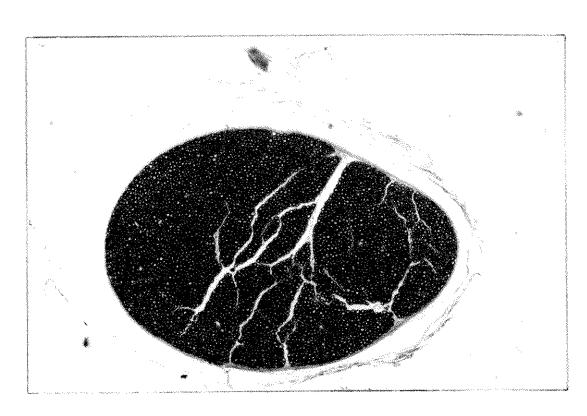


Figura 4 - Fotografia em pequeno aumento, ao microscópio óptico, da porção posterior do nervo infra-orbital do macaco-prego. Corte transversal com 5 µm de espessura. Coloração: tetróxido de ósmio a 1%. Aumento: 90%.



Média e desvio padrão da média do número de fascículos dos nervos infra-orbitais do macaco-prego (n=5) nas regiões anterior e posterior. As letras D e E representam, respectivamente, os lados direito e esquerdo dos animais

	NÚMERO	DE	FASCÍCULOS
	ANTERIORES		POSTERIORES
n=1 - D	6		3
n=1 - E	5		5
n=2 - D	5		1
n=2 - E	5		$\hat{\overline{2}}$
n=3 - D	6		3
n=3 - E	6		2
n=4 - D	9		3
n=4 - E	6		4
n=5 - D	4		2
n=5 - E	3		1
MÉDIA e DESVIO PADRÃO	5,5 ± 1,58		2,6 ± 1,26



Média e desvio padrão da média da área total dos fascículos dos nervos infra-orbitais do macaco-prego (n=5) nas regiões anterior e posterior. As letras D e E representam, respectivamente, os lados direito e esquerdo dos animais

	ÁREA TOTAL DOS	FASCÍCULOS (mm²)
	ANTERIORES	POSTERIORES
n=1 - D n=1 - E	0,49 0,44	0,47 0,38
n=2 - D	0,58	0,52
n=2 - E n=3 - D	0,50 0,66	0,46 0,60
n=3 - E	0,47	0,41
n=4 - D n=4 - E	0,36 0,38	0,33 0,35
n=5 - D	0,44	0,41
n=5 - E	0,35	0,33
MÉDIA e DESVIO PADRÃO	0,46 ± 0,96	$0,42 \pm 0,85$



Média e desvio padrão da média do perímetro total dos fascículos dos nervos infra-orbitais do macaco-prego (n=5) nas regiões anterior e posterior. As letras D e E representam, respectivamente, os lados direito e esquerdo dos animais

PERÍMETRO TOTAL DOS FASCÍCULOS (mm)

	ANTERIORES	POSTERIORES
	0.40	2.22
n=1 - D	2,43	2,23
n=1 - E	2,21	1,87
n=2 - D	2,80	2,33
n=2 - E	2,42	2,04
n=3 - D	1,72	1,63
n=3 - E	3,21	3,17
n=4 - D	2,65	2,35
n=4 - E	2,01	1,98
n=5 - D	1,93	1,54
n=5 - E	1,80	1,36
MÉDIA e DESVIO PADRÃO	2,32 ± 0,47	2,05 ± 0,51



Média e desvio padrão da média do número total de fibras mielínicas dos nervos infra-orbitais do macaco-prego (n=5) nas regiões anterior e posterior. As letras D e E representam, respectivamente, os lados direito e esquerdo dos animais

	NÚMERO TOTAI	L DE FIBRAS
	ANTERIORES	POSTERIORES
n=1 - D	12.972,50	14.993,66
n=1 - E	13.489,29	15.422,19
n=2 - D	17.407,98	17.724,37
n=2 - E	16.560,46	18.286,20
n=3 - D	18.943,63	20.688,01
n=3 - E	17.899,78	19.645,27
n=4 - D	9.379,81	9.867,29
n=4 - E	8.495,97	10.492,37
n=5 - D	10.558,67	12.608,28
n=5 - E	11.287,43	13.048,84
National Control of the Control of t		
MÉDIA e DESVIO	13.699,55	15.277,64
PADRÃO	± 3.787,01	± 3.767,57



Média e desvio padrão da média do peso dos animais e do número total de fibras mielínicas dos nervos infra-orbitais do macaco-prego (n=5) nas regiões anterior e posterior. As letras D e E representam, respectivamente, os lados direito e esquerdo dos animais

			
		NÚMERO TOTA	AL DE FIBRAS
	PESO DOS ANIMAIS (g)	ANTERIORES	POSTERIORES
n=1 - D n=1 - E	2794	12.972,50 13.489,29	14.993,66 15.422,19
n=2 - D	2818	17.407,98	17.724,37
n=2 - E n=3 - D	2943	16.560,46 18.943,63	18.286,20 20.688,01
n=3 - E n=4 - D	2584	17.899,78 9.379,81	19.645,27 9.867,29
n=4 - E	_ • • •	8.495,97	10.492,37
n=5 - D n=5 - E	2259	10.558,67 11.287,43	12.608,28 13.048,84
MÉDIA e	2679	13.699,55	15.277,64
DESVIO PADRÃO	± 268	± 3.787,01	± 3.767,57



Área dos axônios mielínicos das regiões anterior e posterior dos nervos infra-orbitais do macaco-prego (n=5). Valores expressos em forma de média, desvio padrão da média, valores mínimo e máximo da amostra

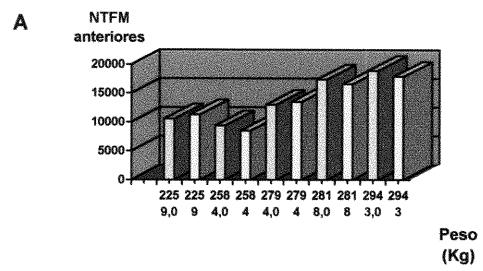
	ÁREA	DOS	AXÔNIOS
	ANTERIORES		POSTERIORES
MÉDIA	24,86 μm²		$21,15~\mu m^2$
DESVIO PADRÃO	18,52		16,65
VALOR MÍNIMO	$2{,}12~\mu m^2$		$1,63~\mu\mathrm{m}^2$
VALOR MÁXIMO	$80,79 \mu m^2$		$72,0~\mu\text{m}^2$



Perímetro dos axônios mielínicos das regiões anterior e posterior dos nervos infra-orbitais do macaco-prego (n=5). Valores expressos em forma de média, desvio padrão da média, valores mínimo e máximo da amostra

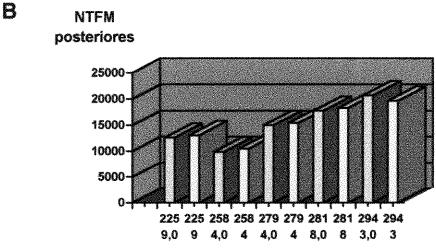
	PERÍMETRO	DOS AXÔNIOS
	ANTERIORES	POSTERIORES
MÉDIA	18,68 μm	17,10 μm
DESVIO PADRÃO	7,56	6,79
VALOR MÍNIMO	5,11 μm	4,54 μm
VALOR MÁXIMO	36,6 µm	34,95 μm





☐ Lado Direito

☐ Lado Esquerdo



Peso (Kg)

Gráfico 1 - Histogramas das distribuições dos números totais estimados de fibras mielínicas do nervo infra-orbital em relação ao peso dos macacos-prego (<u>Cebus apella</u>). A-Porção anterior do nervo. B-Porção posterior do nervo.



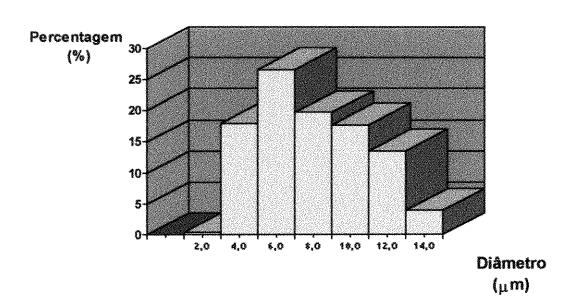


Gráfico 2 - Histograma da distribuição dos diâmetros máximos das fibras mielínicas da porção anterior do nervo infra-orbital do macaco-prego (<u>Cebus apella</u>) (n=5).

O valor mínimo foi 1,67 µm e o máximo 14,39 µm (Média = 6,86 µm± 2,88).



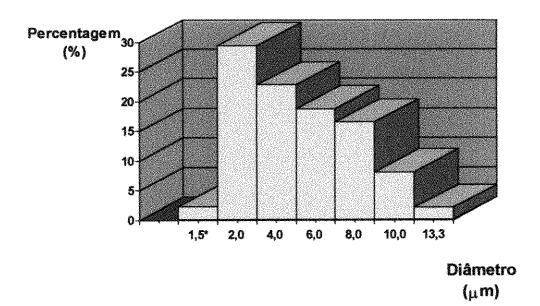


Gráfico 3 - Histograma da distribuição dos diâmetros máximos das fibras mielínicas da porção posterior do nervo infra-orbital do macaco-prego (<u>Cebus apella</u>). *O valor mínimo foi 1,52 µm e o máximo 13,31 µm (Média = 5,98 µm±1,88).



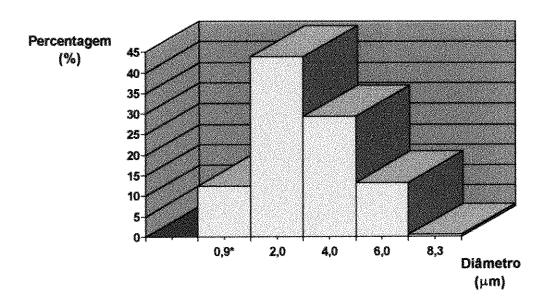


Gráfico 4- Histograma da distribuição dos diâmetros mínimos das fibras mielínicas da porção anterior do nervo infra-orbital do macaco-prego (<u>Cebus apella</u>). *0 valor mínimo foi 0.9 µm e o máximo 8.36 µm (Média = 3,9 µm±1,08).



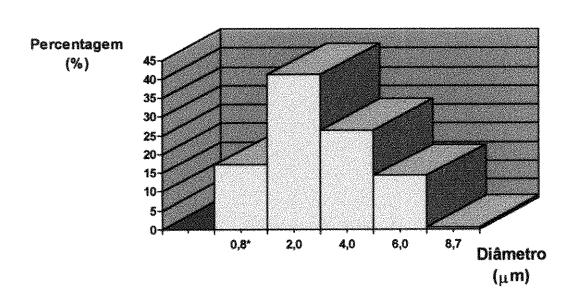


Gráfico 5- Histograma da distribuição dos diâmetros mínimos das fibras mielínicas da porção posterior do nervo infra-orbital do macaco-prego (<u>Cebus apella</u>). *O valor mínimo foi 0,81 µm e o máximo 8,7 µm (Média=3,76 µm±2,35).





CONCLUSÃO

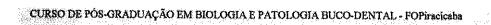


Conclusão

- A área, perímetro e número total dos fascículos da porção anterior do n. infra-orbital do macaco-prego apresentaram valores maiores que as mesmas medidas da porção posterior.
- O nervo infra-orbital do macaco-prego quando comparado com o de algumas outras espécies animais, e com os nervos alveolar inferior e lingual do Homem, guarda uma relação entre a espécie e o NTFM.
- O número total de fibras mielínicas do n. infra-orbital do macaco-prego esta relacionado com o peso do animal.
- Fibras de maior calibre, que compõem o conjunto do n. infra-orbital, são encontradas nas porções anterior e posterior deste.



- As fibras mielínicas estão dispersas por todo o nervo infra-orbital do macaco-prego, sem estarem separadas por tipo ou tamanho.
- O número total de fibras estimado na porção posterior é maior.
- Do número total de fibras mielínicas que compõem o n. infra-orbital, 60% podem ser classificadas como do tipo $A \propto e$ as demais como $A \delta$.





SUMMARY



Summary

A quantitative analysis of the infraorbital nerve was studied in 5 adult male tufted capuchin monkeys (Cebus apella). Each animal was perfused with 10% formalin buffered. The nerve in the infraorbital sulcus was dissected and sectioned at aproximately 0.5cm in length in two levels: the anterior portion of the nerve (just caudal to the infraorbital foramen) and the posterior portion (just anterior to the inferior orbital fissure). The specimens were fixed initially for 24 hours in 10% formalin solutions, pH 7.0, and postfixed and stained for seven days with 1% osmiun tetroxide solution. After being embedded in paraffin wax, 5 µm thick sections were cut and mounted. The anterior portion of the nerve had 5.5 ± 1.58 fascicles ranging from 2,12 to 80,79 µm² in cross-sectional area. The posterior portion had 2,6 \pm 1,26 fascicles ranging from 1,63 to 72,0 μ m z in cross-sectional area. The complete axon counts of the auterior portion demonstrated an average of 13,699.55 myelinated in the posterior the average was 15,277.65 whereas myelinated axous. The diameter spectrum measured showed that 60% of fibres occupying the $A\alpha$ -range, the remainder extended over the $A\delta$ -range.

Key-words: Infraorbital nerve

<u>Cebus</u> <u>apella</u>

Neuron number and size



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Referências Bibliográficas*

- Ol.ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J., et al. Molecular biology of the cell. 3a. edition: New York, USA, Garland Publishing, Inc., 1994. 1294p.
- OZ.ARVIDSON, K. Location and variation in number of taste buds in human fungiform papillae. Scand. J. dent. Res., v. 87, p. 435-442, 1979.
- O3.BELFORD, G.R. & KILLACKEY, H.P. The sensitive period in the development of the trigeminal system of the neonatal rat. J. comp. Neurol., v. 193, p. 335-350, 1980.
- O4.BIEDENBACH, M.A, BEUERMAN, R.W., BROWN,

 A.C. Graphic-digitizer analysis of axon spectra in
 ethmoidal and lingual branches of trigeminal nerve.

 Cell Tissue Res., v. 157, p. 341-352, 1975.
- os.BIEDENBACH, M.A. & BROWN, A.C. Graphic-digitizer analysis of the myelinated axon spectrum in the inferior alveolar nerve of cat. J. deut. Res., v. 56, p. 1291-1293, 1977.



- 06.BOTACIN, P.R. Estudo das relações e distribuição do nervo infra-orbital do macaco-prego (Cebus apella). Tese de Mestrado. Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP), 1992.
- 07.BOYD, I.A. & DAVEY, M.R. Composition of peripheral nerves. Livingstone, p. 8, Edinburgh, 1968, apud HEASMAN, P. A. & BEYNON, A.D.G. (1986).
- O8.BRADLEY, R.M., STEDMAN, H.M., MISTRETTA, C.M.

 Age does not affects numbers of taste buds and papillae in adult rhesus monkeys. Anat. Rec., v. 212, p. 246-249, 1985.
- on of target encounter and neuronal death to nerve growth factor responsiveness in the developing mouse trigeminal ganglion. J. comp. Neurol., v. 223, p. 124-137, 1984.
- 10.DE LANGE, A., HANNAM, A.G., MATTHEWS, B. The diameters and conduction velocities of fibres in the terminal branches of the inferior dental nerve. Arch. oral Biol., v. 14, p. 513-519, 1969.



- 11.DÍAZ, C.M.C. & MORERE, P.G.E. Nervios alveolares superiores y médios. Estudio de su frecuencia y punto de origem em 100 casos. An. Fac. Odont., v. 25, p. 05-20, 1989.
- 12.ERZURUMLU, R.S. & KILLACKEY, H.P. Development of order in the rat trigeminal system. J. comp. Neurol., v. 213, p. 365-380, 1983.
- 13. FORBES, D.J. & WELT, C. Neurogenesis in the trigeminal ganglion of the albino rat: a quantitative autoradiographic study. J. comp. Neurol., v. 199, p. 133-147, 1981.
- 14.HEASMAN, P. A. & BEYNON, A.D.G. Quantitative analysis of inferior alveolar nerve fibre counts in man. J. deut. Res., v. 62, p. 418. Abs. 29, 1983.
- 15._____. Quantitative diameter analysis of lingual nerve axons in man. J. deut. Res., v. 65, p. 1016-1019, 1986.
- 16._____ . Myelinated axon counts of human inferior alveolar nerves. J. Anat., v. 151, p. 51-56, 1987a.



- 17._____. Quantitative and spectrum analysis of human mylohyoid nerves. J. Anat., v. 151, p. 45-49, 1987b.
- 18.HOLLAND, G.R. The effect of buffer molarity on the size, shape and sheath thickness of peripheral myelinated nerve fibres. J. Aust., v. 135, p. 183-190, 1982.
- 19.HOLLAND, G.R., ANDRADE, D., SMITH, K.G., et al.

 A quantitative morphological comparison of cat lingual nerve repair using epineurial sutures or entubulation. J. deat. Res., v. 75, n. 3, p. 942-948, 1996.
- 20.HONMA, F. Anatomical and histological studies on the inferior alveolar nerve of dog. Tukushima J. med. Sci., v. 6, p. 131-169, 1959.
- 21.HURSH, J.B. Conduction velocity and diameter of nerve fibres. Am. J. Physiol., v. 127, p. 131-139, 1939.



- 22.IYOMASSA, M.M., MATTIAS, I.A.de, MANZATO,

 M.V., et al. Dados anatômicos sobre o nervo

 mandibular no macaco-prego, Cebus apella. Rev.

 Fac. Odont. Presidente Prudente, v. 3, p. 9-25, 1983.
- 23. JACQUIN, M.F. & RHOADES, R.W. Central projections of the normal and regenerate infraorbital nerve in adult rats subjected to neonatal infraorbital lesions: a transganglionic horseradish peroxidase study. Brain Res., v. 269, p. 137-144, 1983.
- 24.JACQUIN, M.F., HESS, A., YANG, G., et al.

 Organization of infraorbital nerve in rat: a quantitative electron microscopic study. Brain Res., v. 290, p. 131-135, 1984.
- 25.JUNGELL, P. & LINDQVIST, C. Paraesthesia of the infraorbital nerve following fracture of the zygomatic complex. Int. J. Oral Maxillofac. Surg., v. 16, p. 363-367, 1987.



- 26.KILLACKEY, H.P. & BELFORD, G.R. Central correlates of peripheral pattern alterations in the trigeminal system of the rat. Brain Res., v. 183, p. 205-210, 1980.
- 27.KIZIOR, J.E., CUOZZO, J.W., BOWMAN, D.C.

 Functional and histological assessment of the innervation of the periodontal ligament of the cat. J. dent. Res., v. 47, p. 59-64, 1968.
- 28.LAM, K., JERVIE SEFTON, A., BENNETT, M.R. Loss of axons from the optic nerve of the rat during early postnatal development. Develop. Brain Res., v. 03, p. 487-491, 1982.
- 29.LAMBERT, E.H. & DYCK, P.J. Compound action potentials of sural nerve in vitro in peripheral nerve. In:

 Peripheral Neuropathy, vol.1, W.B. Saunders Co., p.

 428-429. Philadelphia, 1975, apud HEASMAN, P. A.
 & BEYNON, A.D.G. (1986).
- 30.LANGFORD, L.A. & COGGESHALL, R. E. The use of potassium ferricyanide in neural fixation. Anat. Rec., v. 197, p. 297-303, 1980.



- 31.LEO, J.T., CASSELL, M.D., BERGMAN, R.A. Variation in human infraorbital nerve, canal and foramen.

 Ann. Anat., v. 177, p. 93-95, 1995.
- 32.MANDARIN-DE-LACERDA, C.A. Manual de quantificação morfológica: morfometria, alometria, estereologia, 2a. edição. CEBIO. Rio de Janeiro, 1994.
- 33.MAYHEW, T.M. An efficient sampling scheme for estimating fibre number from nerve cross sections: the fractionator. J. Anat., v. 157, p. 127-134, 1988.
- 34.MAYHEW, T.M. & SHARMA, A.K. Sampling schemes for estimating nerve fibre size, I. Methods for nerve trunks of mixed fascicularity. J. Anat., v. 139, p. 45-58, 1984a.
- 35._____. Sampling schemes for estimating nerve fibre size, II. Methods for unifascicular nerve trunks.

 9. Anat., v. 139, p. 59-66, 1984b.
- 36.MISTRETTA, C.M. & BAUM, B.J. Quantitative study of taste buds in fungiform and circumvallate papillae of young and aged rats. J. Anat., v. 138, p. 323-332, 1984.



- 37.MOHIUDDIN, A. Post-natal development of inferior dental nerve of cat. J. Anat., v. 85, p. 24-35, 1951.
- 38.MONTAGNESE, T.A., READER, A., MELFI, R. A comparative study of Gow-Gates technique and a standard technique for mandibular anesthesia. J. end., v. 10, n. 4, p. 158-163, 1984.
- 39.MURAKAMI, G., OHTSUKA, K., SATO, I., et al. The superior alveolar nerves: Their topographical relationship and distribution to the maxillary sinus in human adults. Okajimas Folia anat. jpn., v. 70, n. 6, p. 319-328, 1994.
- 40.MURPHY, T. R. & THOMSON, J. M. D. The number and size of myelinated fibres in the inferior alveolar nerve of a young sheep. Arch. oral Biol., v. 11, p. 307-314, 1966.
- 41.MURPHY, T.R. & GRUNDY, E. M. Inferior alveolar neurovascular bundle at de mandibular foramen.

 Dental pract. & dental Record, v. 29, p. 41-48, 1969.



- 42.OLIVEIRA, J.A. de, NICCOLI FILHO, W.D.; FAIG

 LEITE, H., et al. Aspectos anatômicos do nervo
 facial do macaco-prego (Cebus apella). Rev. bras.

 Biol., v. 48, p. 785-788, 1988.
- 43.PALAY & CHAN-PALAY. The cerebelar cortex. New York,

 USA. Academic Press, 1981. 427p.
- 44.PEELE, T.L. The neuroanatomic basis for clinical neurology.

 3a. edição. New York, USA. McGraw-Hill, Inc., 1977.

 609p.
- 45.RAKIC, P & RILEY, K.P. Overproduction and elimination of retinal axons in the fetal rhesus monkey. Science, v. 219, p. 1441-1444, 1983.
- 46.RENEHAN, W.E. & RHOADES, R.W. A quantitative electron microscopic analysis of the infraorbital nerve in the newborn rat. Brain Res., v. 322, p. 369-373, 1984.
- 47.ROOD, J. P. The diameters and internodal lengths of the myelinated fibres in human inferior alveolar nerve. J. Dent., v. 6, p. 311-315, 1978.



- 48.ROSENBERG, A. & SAILER, H.F. A prospective study on changes in the sensibility of the oral mucosa and the mucosa of the upper lip after Le Fort I osteotomy.

 9. Cranio-Maxillofac. Surg., v. 22, p. 286-293, 1994.
- 49.SAKURADA, Y. On the myelinated nerve fibres of the mandibular nerve in rabbits. Odoutology (7okyo), v. 60, p. 613-635, 1973.
- 50.SHIMOZAWA, A. & NAKAMURA, H. Electron microscopic nerve fiber caliber analysis in the nerve branches to the mylohyoideus in mouse. Okajimas Folia anat. jpn., v. 70, n. 4, p. 171-180, 1993.
- 51.THOMAS, B.O.A. Analysis of inferior alveolar and mental nerves in cat. J. comp. Neurol., v. 84, p. 419-436, 1946.



52.WAITE, P.M. & CRAGG, B.G. The effect of destroying the whisker follicles in mice on the sensory nerve, the thalamocortical radiation and cortical barrel development. Proc. 104. Soc. 3., v. 204, p. 41-55, 1979.

resulting from cutting or crushing the afferent nerve supply to the whiskers. Proc. voy. Soc. E., v. 210, p. 191-211, 1982.