

RICARDO EUSTÁQUIO SILVA

**Avaliação estrutural e quantitativa dos
efeitos do envelhecimento sobre o
gânglio trigeminal de ratos Wistar**

São Paulo

2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

RICARDO EUSTÁQUIO DA SILVA

**Avaliação estrutural e quantitativa dos
efeitos do envelhecimento sobre o
gânglio trigeminal de ratos Wistar**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Anatomia dos Animais Domésticos e
Silvestres da Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em
Ciências

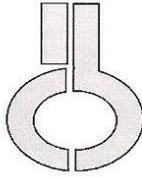
Departamento:
Cirurgia

Área de concentração:
Anatomia dos Animais Domésticos e
Silvestres

Orientador:
Prof. Dr. Edson Aparecido Liberti

São Paulo

2010



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - CEP. 05508-000 São Paulo, SP - Brasil
Telefone : (55) (011) 3091.7733 - telefax : (55) (011) 3091.7438
e-mail: cep@icb.usp.br

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo registrado sob nº **62** nas fls. **71** do livro **02** para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade do Prof(a) Dr(a) Edson Aparecido Liberti, Coordenador(a) da Linha de pesquisa **Avaliação Estrutural, Ultraestrutural e Quantitativa dos efeitos do envelhecimento sobre o gânglio trigeminal de ratos wistar** do qual participou(aram) o(s) alunos **Ricardo Eustáquio da Silva**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL) e foi aprovado pela *COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL* (CEEA) em **15.05.09**, com validade de 3 anos.

São Paulo, 18 de maio de 2009.

Prof. Dr. WOTHAN TAVARES DE LIMA
Coordenador
CEEA - ICB/USP

Profa. Dra. PATRÍCIA CASTELUCCI
Secretária
CEEA - ICB/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: EUSTÁQUIO-SILVA, Ricardo.

Título: Avaliação estrutural e quantitativa dos efeitos do envelhecimento sobre o gânglio trigeminal de ratos Wistar

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Aqueles a quem mais amo na vida, meus queridos pais, José e Irene, exemplos de amor incondicional aos seus filhos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus irmãos Roberto, Ronaldo, Sônia, Suely, Sandra, Solange e Shirlei. Dedico a vocês não este trabalho, mas meu amor incondicional que com nossos pais aprendemos. Vocês são meus alicerces nas horas difíceis; mesmo longe, ansioso em retornar ao lar, nunca me senti só, pois o amor de vocês me nutria e me impulsionava no labor.

Ao mestre Gilton Coutinho de Barros, que nos seus últimos anos de vida me mostrou que como professor devemos ser bondosos sem ser piedosos, firmes sem ser tiranos.

Ao mestre Daniel de Siqueira, fonte inesgotável de paciência, exemplo de dedicação aos seus alunos. Mesmo depois de décadas de ensino ainda vejo em seus olhos e em suas palavras uma intensidade tamanha, como se a cada novo semestre fosse sua primeira turma.

Ao mestre Rogério Albuquerque Azeredo, meu grande incentivador cuja força e retidão me são invejáveis. Com você aprendi a dar sempre o melhor de mim. A confiança em mim depositada foi o bálsamo dos meus momentos de fraqueza.

Ao mestre Edson Aparecido Liberti, uma vida inteira dedicada a sua família de alunos. A cada dia de convivência fico maravilhado com tamanha sabedoria e humildade. Quando a vaidade do saber me fala alto, espelho-me em seus atos, para que minha humildade esteja sempre à frente de quaisquer outras qualidades que eu possa ter.

O homem que hoje sou, devo tudo aos meus pais, exemplos maiores que tive na vida, e a vocês, meus mestres, alicerces de responsabilidade, com quem

aprendi muito mais que nomenclatura e morfologia. De vocês, trago um pouco, oxalá muito de suas qualidades, esperando nunca desapontá-los e, se assim o fizer, como filho pródigo estarei sempre pronto a ouvi-los.

A Silvia de Campos Boldrini, pessoa doce e carinhosa, e mulher de extrema fortaleza. Sua devoção aos seus entes queridos, ao trabalho e à anatomia é um exemplo a ser seguido. Obrigado por me ensinar que somos diferentes e que, mesmo tendo limitações, somos todos importantes para o sucesso de um grupo.

À Professora Dra. Maria Angélica Miglino, pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Rainer Haetinger e ao Professor Dr. Luis Ronaldo Picosse por todos os ensinamentos transmitidos.

A Fabiano, Patrícia e Cláudio, meus fieis companheiros, a quem posso chamar sem medo de família.

Aos amigos Washington, Rowdley, Willian, Leo, Carlos, Lourdes, Flavinha, Simone, Paula, Margareth, Gugu, Sandrinho, Francesco, Liliane, Mônica, Karina, Hugo, Giulia, Franck, Fábio, Odvaldo e Cláudia; o retorno ao lar será breve e nossa convivência retomada.

A Maria Rita Zacché, não só pela revisão do texto, mas pelo acolhimento e pela compreensão que somos diferentes.

A Rosana Duarte Prisco, que me apresentou a um mundo novo de números e fórmulas e, com muita disposição, ajudou-me no término deste trabalho.

A Marta Righetti pela imensa boa vontade e serenidade em minha iniciação em um laboratório de histologia.

Aos amigos de convivência quase que diária Thiago, Bruna e Ricardo. Vocês me acolheram em São Paulo como se fôssemos amigos de infância. Acalentaram-me de tal maneira, que minhas dores pelas saudades de casa por vocês foram atenuadas.

A Regina e ao Paulo Henrique companheiros nos finais de semana, não nas baladas, mas no trabalho incansável no laboratório. Vocês são exemplos de que, com esforço e perseverança, não há obstáculo intransponível.

Aos amigos Josemberg Baptista, Ricardo Fontes, Eduardo Seyfert e Flávio Tampelini, cuja convivência foi curta, porém intensa. O conhecimento adquirido por vocês com trabalho e experimentações árduos, ensinaram-me de modo simples e objetivo.

Aos colegas Sabrina, Marcelo, Eduardo, Lynda, Valquíria, Ana Paula, Lucilene, Diana, Mariana, Márcio, Giovanna, Cibele, Alan, Carol, Fabiana e Nathália, o meu muito obrigado pelo ótimo ambiente de trabalho que temos no LAFACC.

Aos funcionários do Departamento de Anatomia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, em especial a Maycon Barbosa e Jaqueline Martins Santana, pela atenção e boa vontade em resolver minhas dificuldades.

A Anderson, Elena, Fernanda, Rosângela e Solange, funcionários do COMUT da FMVZ. Sempre atenciosos e prestativos, auxiliaram-me de prontidão e com extrema boa vontade.

A Elza Faquim, bibliotecária da FMVZ, que na correria dos últimos dias esteve sempre pronta a ajudar-me.

A todas as funcionárias responsáveis pela limpeza das dependências do ICB. Chegar cedo ao laboratório e receber de vocês sempre um bom dia acompanhado de um largo sorriso foi meu combustível diário.

A DEUS, por colocar em minha vida pessoas extraordinárias como meus pais, meus irmãos e irmãs, além dos professores e amigos, que ao longo do meu caminhar sempre estiveram ao meu lado. Peço a TI que abençoe cada uma delas, para que possam ter seus anseios concretizados, como este meu sonho que concretizo agora. MUITO OBRIGADO.

A todos aqueles que contribuíram para este trabalho cujos nomes aqui não se encontram, minhas desculpas e meus cordiais agradecimentos.

“O homem que diz dou
Não dá.
Porque quem dá mesmo
Não diz. (...)
O homem que diz sou
Não é
Porque quem é mesmo é
Não sou.”

Vinícius de Moraes e Baden Powell

A Rosana Duarte Prisco, que me apresentou a um mundo novo de números e fórmulas e, com muita disposição, ajudou-me no término deste trabalho.

A Marta Righetti pela imensa boa vontade e serenidade em minha iniciação em um laboratório de histologia.

Aos amigos de convivência quase que diária Thiago, Bruna e Ricardo. Vocês me acolheram em São Paulo como se fôssemos amigos de infância. Acalentaram-me de tal maneira, que minhas dores pelas saudades de casa por vocês foram atenuadas.

A Regina e ao Paulo Henrique companheiros nos finais de semana, não nas baladas, mas no trabalho incansável no laboratório. Vocês são exemplos de que, com esforço e perseverança, não há obstáculo intransponível.

Aos amigos Josemberg Baptista, Ricardo Fontes, Eduardo Seyfert e Flávio Tampelini, cuja convivência foi curta, porém intensa. O conhecimento adquirido por vocês com trabalho e experimentações árduos, ensinaram-me de modo simples e objetivo.

Aos colegas Sabrina, Marcelo, Eduardo, Lynda, Valquíria, Ana Paula, Lucilene, Diana, Mariana, Márcio, Luciano, Giovanna, Cibele, Alan, Carol, Fabiana e Nathália, o meu muito obrigado pelo ótimo ambiente de trabalho que temos no LAFACC.

Aos funcionários do Departamento de Anatomia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, em especial a Maycon Barbosa e Jaqueline Martins Santana, pela atenção e boa vontade em resolver minhas dificuldades.

RESUMO

EUSTÁQUIO-SILVA, R. **Avaliação estrutural e quantitativa dos efeitos do envelhecimento sobre o gânglio trigeminal de ratos Wistar.** [Structural and quantitative evaluation of aging process on trigeminal ganglion of Wistar rats] 2010. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

O envelhecimento é uma falha progressiva nos processos fisiológicos celulares, produzindo alterações morfológicas nas células e nos tecidos. No sistema nervoso, produz uma redução no número de neurônios, nas fibras nervosas, principalmente nas arborizações dendríticas e nas espinhas sinápticas, e nas células da glia que, de acordo com sua localização e tipo celular, podem diminuir, permanecer constantes ou mesmo aumentar numericamente. Na presente pesquisa, avaliou-se os efeitos do envelhecimento sobre o gânglio trigeminal (GT) de ratos Wistar em animais jovens (2 meses de vida), adultos (12 meses de vida) e idosos (24 meses de vida). Os GT foram submetidos às técnicas histológicas da hematoxilina e eosina e Picro-sírius, onde avaliou-se, respectivamente, a densidade das células satélites glias (CGS) e o componente colágeno ganglionar. Através da técnica histoquímica da NADH-d, avaliou-se a área do perfil do GT, a área do perfil dos corpos celulares dos neurônios ganglionares e a densidade neuronal. Uma avaliação qualitativa foi também realizada relativamente à imunorreatividade dos neurônios ganglionares à substância P (SP) e ao peptídeo intestinal vasoativo (VIP). A densidade das CGS foi maior nos animais jovens do que nos animais adultos e idosos. Verificou-se, qualitativamente, que à medida que o animal envelhece há uma diminuição das fibras colágenas do tipo III, passando a predominar, nos animais idosos, as fibras do tipo I. A área do perfil celular dos corpos neuronais foi maior nos animais adultos sendo que em todos os grupos predominaram neurônios de tamanho médio, com a área do perfil celular entre 490 e 1100 μm^2 . A densidade neuronal apresentou-se maior nos animais jovens, e sem variações estatísticas entre os animais adultos e idosos. Em todos os grupos estudados, os neurônios pequenos foram os que apresentaram maior imunorreatividade à SP e ao VIP.

Palavras-chave: Gânglio trigeminal. Envelhecimento. Células satélites gliais.
Fibras colágenas. Imunohistoquímica.

ABSTRACT

EUSTÁQUIO-SILVA, R. **Structural and quantitative evaluation of aging process on trigeminal ganglion of Wistar rats.** [Avaliação estrutural e quantitativa dos efeitos do envelhecimento sobre o gânglio trigeminal de ratos Wistar]. 2010. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Aging is a progressive failure in cellular physiological processes. It determines morphological changes in cells of different tissues. In the nervous system, a reduction in neuron number and in neuron fibers, mainly in dendritic tree and synaptic, are described. With aging the glial cells may increase or decrease in number or also remain constant. In the present work the effects of aging were evaluated on the trigeminal ganglion (TG) comparing young (2 months age), adult (12 months age) and old rats (24 months age). Histological sections of TG were stained with hematoxylin-eosin technique to determine the density of satellite glial cells and Picro-sirius under polarized light to evaluate the Types I and III of collagen fibers. The NADH-diaphorase technique allowed determining the perycarion area. The immunoreactivity of ganglionar neurons to Substance P (SP) and vasoactive intestinal peptide (VIP) were also qualitatively evaluated. The glial cells density was higher in young and adult animals than in old animals. The type I collagen fibers predominates in ganglia of old animals whereas in the young animals is characteristic the presence of the type III collagen fibers. Although the perycarion area was higher in adult animals the medium-sized neurons predominated in all groups. Their areas ranged from 490 to 1100 μm^2 . It was also observed that the neuron density was higher in young animals. In the adult and old animals the neuron density was similar. In all groups the immunoreactivity both to SP and VIP was detected mainly in neurons of small perycarion.

Keywords: Trigeminal ganglion. Aging. Satellite glial cells. Collagen fibers. Substance P and vasoactive intestinal peptide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Primeiras ilustrações do V par craniano e do GT.....	30
Figura 2 -	Ilustrações acerca dos primórdios da anatomia dos componentes do V par craniano.....	32
Figura 3 -	Sequência de dissecação do GT de animal do grupo A em vista dorsal.....	45
Figura 4 -	Sequência de dissecação do GT de animal do grupo A em vista dorsal.....	46
Figura 5 -	A , metodologia de escolha para mensuração da área dos corpos neuronais (NADH-d). B , sistema teste utilizado para avaliar a densidade neuronal (NADH-d).....	52
Figura 6 -	Esquema de um corte transversal do GT de rato Wistar.....	53
Figura 7 -	Fotomicrografias das áreas selecionadas no GT de acordo como descrito no item 3.3.3.....	54
Figura 8 -	Fotomicrografia do GT de animal do grupo I (HE).....	55
Figura 9 -	Vista da base interna do crânio de rato Wistar adulto, evidenciando parte da fossa caudal e da fossa média.....	59
Figura 10 -	Vista da base interna do crânio de rato Wistar adulto, a partir da fossa caudal.....	60
Figura 11 -	Esquema do GT de rato Wistar em vista dorsal.....	61
Figura 12 -	Vista lateral do GT esquerdo de rato Wistar adulto.....	62
Figura 13 -	Cortes transversais do GT esquerdo de rato Wistar corados pelo método histoquímico da NADH-d.....	64
Figura 14 -	Fotomicrografia do GT sob luz polarizada (Picro-sírius).....	66

Figura 15 - Imunorreatividade dos CN à SP.....	68
Figura 16 - Imunorreatividade dos CN ao VIP.....	69
Figura 17 - Representação gráfica da área média do GT.....	70
Figura 18 - Coloração histoquímica pela técnica do NADH-d em animal do grupo J	71
Figura 19 - Histogramas de distribuição referentes à área do perfil dos corpos neuronais do GT reativos a NADH-d.....	72
Figura 20 - Representação gráfica da distribuição dos pericários em neurônios pequenos, médios e grandes para os grupos J, A e I	73
Figura 21 - Representação gráfica da PCN avaliados nos grupos J, A e I	74
Figura 22 - Representação gráfica da média do número de CSG por mm ²	75
Figura 23 - GT de rato Wistar do grupo A (HE).....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Principais resultados experimentais.....	77
Tabela 2	Percentagem de corpos neuronais de cada área do GT nos grupos J, A e I.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Grupo Adulto
ANOVA	Análise de Variância
CN	Corpo Neuronal
COMUT	Comutação Bibliográfica
CSG	Células Satélites Gliais
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
GT	Gânglio Trigeminal
GTD	Gânglio Trigeminal Direito
GTE	Gânglio Trigeminal Esquerdo
HE	Hematoxilina e Eosina
I	Grupo Idoso
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICB	Instituto de Ciências Biomédicas
J	Grupo Jovem
NADH-d	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Diaforase

NBT	Nitro Blue tetrazolium Chloride Monohydrate
PACAP	Peptídeo Ativador da Adenilato-Ciclase Pituitária
PBS	Solução Tampão Fosfato
PCN	Porcentagem de Corpos Neurais
SNA	Divisão Autônoma do Sistema Nervoso
SNC	Parte Central do Sistema Nervoso
SNP	Parte Periférica do Sistema Nervoso
SP	Substância P
USP	Universidade de São Paulo
VIP	Peptídeo Intestinal Vasoativo
VIP ₁	Receptor 1 do Peptídeo Intestinal Vasoativo
β-NADH	β-Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
<	Menor
>	Maior
β	Beta
=	Igual
+	Mais
-	Menos
°C	Graus Celsius
μm	Micrômetro
μm^2	Micrômetro quadrado
mg	Miligrama
ml	Mililitro
mm	Milímetro
mm^2	Milímetro quadrado

kg	Quilograma
M	Molar
pH	Potencial Hidrogeniônico
cm	Centímetro
cm ²	Centímetro quadrado
gr	Gramma
V	Quinto

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	23
1.1	OBJETIVOS.....	26
2	REVISÃO DA LITERATURA	27
2.1	BREVE HISTÓRICO DOS COMPONENTES DO NERVO TRIGÊMEO.....	28
2.2	ANATOMIA DO GÂNGLIO TRIGEMINAL NO HOMEM.....	33
2.3	ANATOMIA DO GÂNGLIO TRIGEMINAL NOS MAMÍFEROS EM GERAL.....	34
2.4	ESTRUTURA DOS GÂNGLIOS CÉREBRO-ESPINAIS.....	35
2.5	EFEITOS DO ENVELHECIMENTO NAS ESTRUTURAS DO SISTEMA NERVOSO.....	37
3	MATERIAIS E MÉTODOS	42
3.1	EUTANÁSIA E DISSECÇÃO BILATERAL DO GÂNGLIO TRIGEMINAL.....	43
3.2	MICROSCOPIA DE LUZ.....	47
3.2.1	Seleção das Lâminas Para a Coloração Pelos Métodos da Hematoxilina e Eosina e da Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Diaforase	47
3.2.2	Técnica da NADH-d	48
3.2.3	Técnica Histológica do Pícro-Sírius	49
3.2.4	Técnica Imunohistoquímica da Substância P e do Peptídeo Intestinal Vasoativo	49
3.3	ANÁLISE QUANTITATIVA.....	50
3.3.1	Área do Perfil do Gânglio Trigeminal	50
3.3.2	Área do Perfil dos Corpos Neurônais	51
3.3.3	Densidade dos Corpos Celulares dos Neurônios Ganglionares	53
3.3.4	Densidade das Células Satélites Gliais	55
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	56
4	RESULTADOS	57

4.1	ASPECTOS ANATÔMICOS.....	58
4.2	ANÁLISE QUALITATIVA.....	65
4.2.1	Tecido Conjuntivo Ganglionar.....	65
4.2.2	Substância P e Peptídeo Intestinal Vasoativo.....	67
4.3	ANÁLISE QUANTITATIVA.....	70
4.3.1	Área do Perfil do Gânglio Trigeminal.....	70
4.3.2	Área do Perfil dos Corpos Neuronaís.....	71
4.3.3	Densidade dos Corpos Celulares dos Neurônios Ganglionares.....	74
4.3.4	Densidade das Células das Satélites Gliais.....	75
5	DISCUSSÃO.....	78
5.1	ÁREA DO PERFIL DO GÂNGLIO TRIGEMINAL.....	79
5.2	ÁREA DO PERFIL DOS CORPOS NEURONAIIS.....	81
5.3	DENSIDADE DE CORPOS CELULARES DOS NEURÔNIOS GANGLIONARES.....	83
5.4	DENSIDADE DAS CÉLULAS SATÉLITES GLIAS.....	85
5.5	SUBSTÂNCIA P.....	88
5.6	PEPTÍDEO INTESTINAL VASOATIVO.....	89
6	CONCLUSÕES.....	91
	REFERÊNCIAS.....	94
	ANEXOS.....	105

1 INTRODUÇÃO

A expectativa de vida do brasileiro, entre 1998 a 2008, passou de 69,66 para 72,86 anos, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2009). Outro indicador, que demonstra o processo de envelhecimento da população brasileira, é o aumento do índice de envelhecimento (obtido pela divisão do número de idosos pelo número de crianças), indicando para o ano de 2050, uma média de 175 idosos para cada 100 crianças. O aumento da população idosa, em especial nos países em desenvolvimento, não está atrelado, para a maioria dos indivíduos, à manutenção de sua saúde física e psicológica, o que remete a novos desafios àqueles que atuam nas diferentes profissões da área da saúde.

Em acordo com as teorias do envelhecimento biológico, com o aumento da idade há uma deterioração normal e progressiva das capacidades vitais. Contudo, os limites entre a senescência – o processo de envelhecimento - e a senilidade – definida como uma debilidade física e intelectual - são extremamente imprecisos, iniciando-se muitas vezes pelos mesmos caminhos. Mesmo sabendo que a diminuição significativa de uma determinada população celular pode ter consequências funcionais importantes, podendo em caso de células vitais levar o indivíduo à morte, ainda hoje a ciência está longe de obter respostas satisfatórias capazes de indicar o caminho correto entre a intervenção e o acompanhamento desses processos.

De todos os sistemas biológicos, os efeitos do envelhecimento, tanto na parte central quanto na parte periférica do sistema nervoso, são os que trazem maiores prejuízos funcionais, refletindo-se por todo o organismo. Limitações motoras, sensoriais e cognitivas restringem e até mesmo incapacitam o idoso em suas relações com a família e a sociedade.

A maioria dos estudos sobre o envelhecimento do sistema nervoso remete aos processos patológicos que acometem o cérebro, como a demência e a doença de Alzheimer, devido às maiores repercussões que elas causam (SALLOWAY,

2009). Pesquisas também têm sido desenvolvidas na divisão autônoma do sistema nervoso, mormente a parte parassimpática, relacionando a perda neuronal às alterações motoras ao longo do trato gastrintestinal (DE SOUZA et al., 1993). Quanto aos nervos, tem sido descrito que, à medida que se envelhece, há um retardo na condução dos impulsos nervosos, resultando em diminuição de sensações, reflexos lentos e, conseqüentemente, inabilidade em realizar determinados movimentos (HECKMANN; LANG, 2006; FARAGHER; SHEERIN; OSTLER, 2009; WOOLEY, 2009). Existe, ainda, a necessidade de se elucidar as repercussões do processo de envelhecimento em estruturas complexas como o sistema trigeminal, importante na vida de relação, uma vez que possui projeções motoras e sensoriais em todas as regiões da cabeça.

Dessa forma, considerando-se a função do gânglio trigeminal na transdução e transmissão dos estímulos de dor, temperatura, pressão e tato das estruturas profundas e superficiais da cabeça, e que alterações morfológicas e quantitativas das células nervosas decorrentes do processo de envelhecimento podem acarretar uma série de alterações funcionais, o presente estudo avalia, morfológica e quantitativamente os efeitos desse processo nos componentes do gânglio trigeminal de ratos Wistar.

1.1 OBJETIVOS

Com o uso de técnicas de dissecação e microscopia de luz pretende-se avaliar, no gânglio trigeminal de ratos Wistar jovens, adultos e idosos:

- 1- A morfologia e área do perfil dos gânglios trigeminais.
- 2- A arquitetura estrutural ganglionar representada pelo seu componente colágeno.
- 3- A imunorreatividade dos neurônios ganglionares à substância P e ao polipeptídeo intestinal vasoativo.
- 4- A área do perfil dos corpos neuronais.
- 5- A densidade dos corpos celulares dos neurônios ganglionares.
- 6- A densidade das células satélites gliais presentes no gânglio trigeminal.

REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

Este capítulo tem por objetivo fazer um resgate histórico da descrição do nervo trigêmeo e do gânglio trigeminal, além de descrever a anatomia do gânglio no homem e em alguns mamíferos, finalizando com um relato sobre os efeitos do envelhecimento no sistema nervoso.

2.1 BREVE HISTÓRICO DOS COMPONENTES DO NERVO TRIGÊMEO

Atribui-se a Claudio Galeno, médico grego que viveu provavelmente entre os anos 129 a 200 (APUZZO, 2000), a primeira descrição do nervo trigêmeo (STEINBERG, 2002). Ao identificar 10 dos 12 pares de nervos cranianos, Galeno erroneamente acreditava que o V par era formado por outros dois pares distintos, denominados por ele de terceiro e quarto pares (FLAMM, 1967; SHAW, 1992). De maneira acertada, Galeno notara que o nervo trigêmeo está envolto pelas camadas da dura-máter, porém não fez nenhuma observação acerca do gânglio trigeminal (GT). Andrea Vesalius (1510-1564), tanto em suas ilustrações (Figura 1) quanto em seu texto, não acrescentou nada de novo às descrições de Galeno, dividindo o V par da mesma maneira que seu antecessor (FLAMM, 1967).

Contemporâneo de Vesalius, Bartolomeo Eustacchio [1513?-1574] produziu uma série de desenhos (tábuas), que ficaram perdidos e somente foram publicados cerca de 150 anos após sua morte pelo médico italiano Giovanni Maria Lancisi (1654-1720) (ANDRETTA, 2009). A origem aparente do nervo trigêmeo com seus três ramos foi evidenciada claramente na tábuca XVIII, porém sem destaque para a presença do GT (Figura 1). Infelizmente,

Eustacchio faleceu antes de terminar o texto que acompanharia suas ilustrações (LORIAUX, 2007), todavia seus desenhos permaneceram entre os mais acurados até meados do século XVIII (KARLAN, 1980).

Descrições mais detalhadas acerca do V par e seus três ramos foram realizadas por Gabrielle Falloppio (1523-1562) e permaneceram atuais até meados do século XVII. Contudo, o nervo trigêmeo foi erroneamente considerado por Falloppio como o terceiro par craniano (FLAMM, 1967; SHAW, 1992).

No século XVII, Thomas Willis (1621-1675) descreveu o nervo trigêmeo e seus ramos de forma mais detalhada que seus antecessores. Sua maior contribuição foi nomear as estruturas trigeminais de maneira mais acertada; denominou, pela primeira vez, o nervo trigêmeo como o V par craniano (FLAMM, 1967).

Na bibliografia a que se teve acesso, as primeiras ilustrações (Figura 1) e descrições do GT encontram-se na obra *Neurographia Universalis* do anatomista francês Raymundi Vieussens (1641-1715), localizando-o em uma “fovéola” no osso temporal. Vieussens utilizou a denominação *gangliiformi semilunari* e estabeleceu suas relações anatômicas com a artéria carótida interna e o seio cavernoso (VIEUSSENS, 1775).

Atribui-se a Jacques-Bénigne Winslow (1669-1760) o pioneirismo na utilização do termo nervo trigêmeo para denominar o V par craniano (WINSLOW, 1754). Entretanto, foi Johann Friedrich Meckel (1781-1833), com a publicação do *Dissertatio inauguralis medica anatomico physiologica de quinto pare nervorum cerebri*, quem forneceu as mais precisas informações acerca desse nervo, nomeando pela primeira vez os seus três ramos: n. oftálmico, n. maxilar superior e n. maxilar inferior (FLAMM, 1967).

O anatomista vienense Raimund Balthasar Hirsch [1743-18--] atribuiu ao gânglio semilunar o epônimo gânglio de Gasser em homenagem a Lorenz Gasser (1723-1765), seu professor de anatomia na Universidade de Viena. Essa nomenclatura perdurou até o século XX (BUCK, 1920).

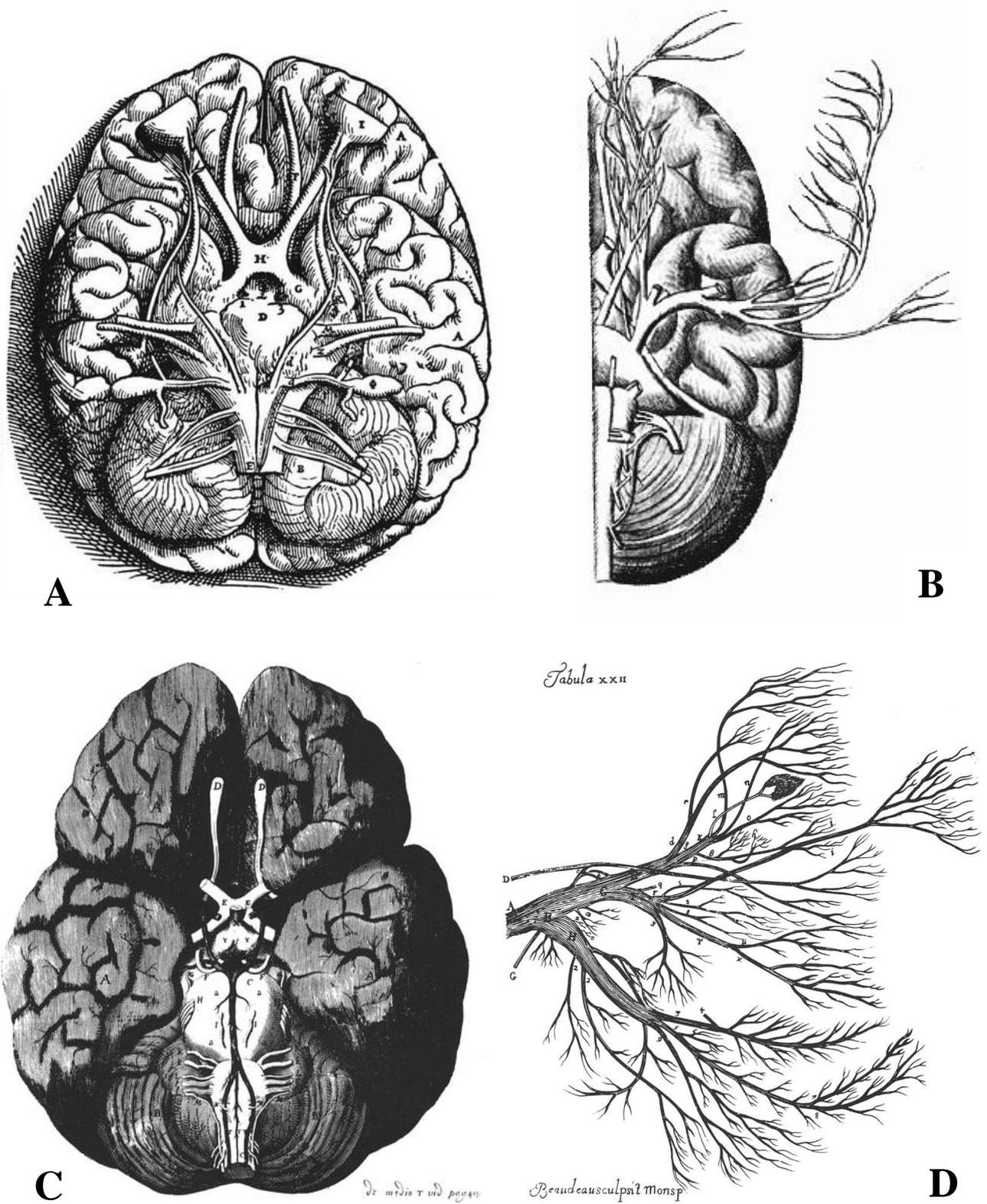


Figura 1 – Primeiras ilustrações do V par craniano e do GT. **A**, Vesalius (*De Humanis Corpori Fabrica*. Basil, 1553); **B**, Eustacchio (*Tabulae anatomicae*. Roma, 1714); **C**, Willis (*Cerebri anatome: cui accessit nervorum descriptio et usus*. Amsterdam, 1666); **D**, Vioussens (*Neurographia universalis*. Toulouse, 1775)

A descrição das duas raízes constituintes do V par craniano foi realizada na obra *Observationes anatomicae de quinto pare nervorum encephali* (Figura 2) de Heinrich August Wrisberg (1739-1808), de 1777. Nessa publicação, foram descritas pela primeira vez (FLAMM, 1967) as duas raízes do nervo trigêmeo, que o autor denominou de divisão súpero-anterior menor e divisão inferoposterior maior. Wrisberg denominou o GT de intumescência semilunar e descreveu o gânglio como sendo formado por uma rede de filamentos nervosos (WRISBERG, 1777).

Em 1779, o anatomista e fisiologista George Procháska (1749-1820) publicou em seu tratado, o *De Structura Nervorum*, uma das primeiras descrições mais detalhadas acerca do GT (Figura 2) e de seus três ramos (JANNETTA, 1967). Posteriormente, em 1784, Procháska relatou uma semelhança entre o nervo trigêmeo e os nervos espinais, questionando o porquê de a grossa raiz trigeminal, assim como a raiz posterior dos nervos espinais, possuírem uma íntima relação com um gânglio, enquanto a pequena raiz motora do n. trigêmeo, assim como a raiz anterior dos nervos espinais, não se relacionarem a nenhum gânglio (KRUTA, 1962). Procháska atrelava essa relação anatômica a diferentes sentidos de condução nervosa, teoria comprovada e publicada em 1811 por Sir Charles Bell (1774-1842) no *New Anatomy of the Brain* (CLIFFORD, 2006).

Em 1896, o anatomista e cirurgião alemão Fedor Krause (1857-1937) destacou-se como o idealizador de técnicas inovadoras de ressecção do GT (Figura 2) como tratamento para as nevralgias trigeminais (ROSEGAY, 1992). Utilizou o termo “plexo triangular” para denominar o GT e seus três ramos (JANNETTA, 1967).

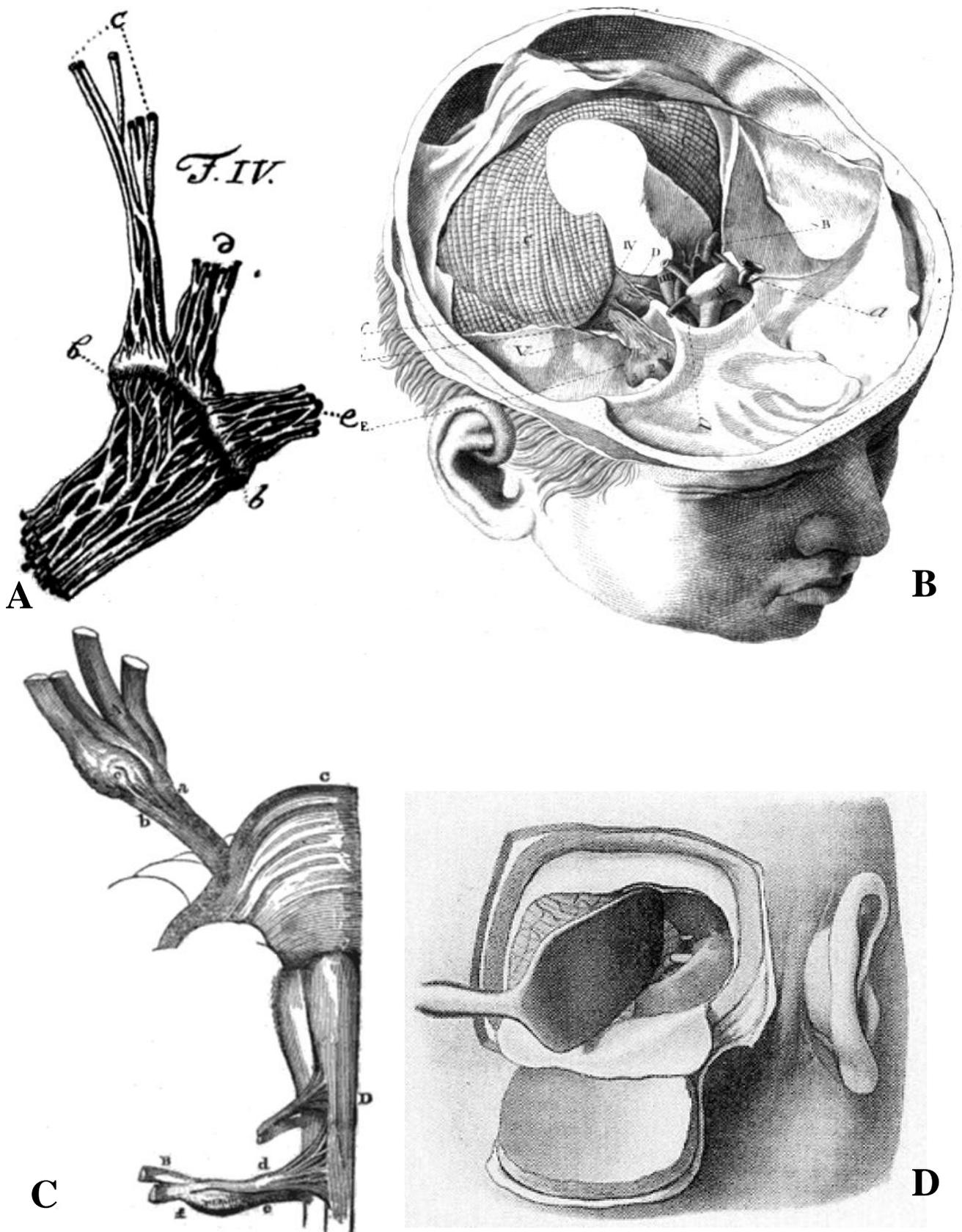


Figura 2 - Ilustrações acerca dos primórdios da anatomia dos componentes do V par craniano. **A**, Procháska (*De Structura Nervorum*. Viena, 1779); **B**, Wrisberg (*Observationes anatomicae de quinto pare nervorum encephali*. Gottingae, 1777); **C**, Bell (*The anatomy and physiology of the human body*. Londres, 1829); **D**, Krause (*Chirurgie du cerveau et de la moelle épinière*. Paris, 1912)

2.2 ANATOMIA DO GÂNGLIO TRIGEMINAL NO HOMEM

De acordo com os clássicos Testut (1930) e Williams (1995), o nervo trigêmeo tem sua origem aparente no encéfalo, na porção lateral da face anterior da ponte, medialmente ao pedúnculo cerebelar médio. Essa origem se faz por duas raízes: uma anteromedial, volumosa e funcionalmente sensorial e a outra delgada, de situação posterolateral e funcionalmente motora. Juntas, as duas raízes assumem direção anterior e ligeiramente lateral, cruzam a margem superior da parte petrosa do osso temporal, relacionando-se inferiormente com o seio petroso superior. Neste ponto, a raiz motora muda de direção e relaciona-se, agora, com a face inferior da raiz sensorial. Continuando em seu trajeto anterior, as duas raízes atravessam uma larga chanfradura, a incisura do nervo trigêmeo, que transforma-se em um forame ovalado pelo tentório do cerebelo, por onde o V par penetra na cavidade trigeminal. Esse espaço, situado entre as duas camadas da dura-máter, se prolonga e se dilata no sentido ântero-inferior, para acomodar o GT e seus três ramos. A parede inferior da cavidade trigeminal é delgada e relaciona-se com a face lateral do seio cavernoso; já a parede superior é espessa e reforçada por fibras provenientes do tentório do cerebelo.

Em sua porção anterior, a cavidade trigeminal apresenta três prolongamentos que acompanham os três ramos do GT até suas respectivas emergências cranianas, ou seja, a fissura orbital superior e os forames redondo e oval. Sua relação lateral, de anterior para posterior se faz com a parede lateral do seio cavernoso e a face anterior da parte petrosa do osso temporal, próximo ao seu ápice; inferiormente relaciona-se com uma fibrocartilagem, que oblitera o forame lacerado.

O GT não se adere ao assoalho da cavidade trigeminal, porém está intimamente conectado ao teto dessa cavidade através de seus ângulos de onde partem tratos fibrosos, que constituem uma série de ligamentos laterais.

O GT contido na cavidade trigeminal repousa sobre uma concavidade óssea denominada impressão trigeminal, situada em uma profundidade de 4,5 a 5,0 cm a partir da extremidade posterior do arco zigomático. Com aspecto de meia lua, sua convexidade direciona-se ântero-inferolateralmente, sendo visíveis na sua superfície os fascículos nervosos entrelaçados que o constituem.

De superior para inferior e no sentido lateromedial, a parede lateral do seio cavernoso separa o GT dos nervos oculomotor, troclear e abducente, bem como da artéria carótida interna. Ântero-inferiormente o GT estabelece relações com os nervos petrosos, maior, menor e profundo, sendo que a raiz motora do nervo trigêmeo está situada inferiormente ao gânglio.

2.3 ANATOMIA DO GÂNGLIO TRIGEMINAL NOS MAMÍFEROS EM GERAL

Animais vertebrados como os ciclóstomos e as serpentes caracterizam-se por apresentar um GT separado em duas partes: uma oftálmica e outra maxilomandibular (KEREM et al., 2005). Quanto aos mamíferos, o GT apresenta-se como único, assumindo a seguinte organização somatotópica no sentido lateromedial: divisão oftálmica anteromedial, divisão mandibular posterolateral e divisão maxilar interposta entre as precedentes (NEAL; RAND, 1936; MARFURT, 1981; KEREM et al., 2005).

Nos equinos, o GT de morfologia ovóide, sobrepõe-se à parte rostrolateral do forame lacerado, num espaço denominado occipito-esfenotemporal (BRUNNI; ZIMMERL, 1947). Nesse espaço, o GT encontra-se parcialmente encaixado na massa de tecido fibroso denso, que ocupa o forame, exceto onde há os vasos e nervos que o atravessam. De superfície irregularmente estriada como no homem, seu longo eixo, de aproximadamente 2,5 cm de comprimento, está direcionado rostromedialmente; de sua face rostral, convexa, partem os seus três ramos (GETTY, 1986).

Nos ruminantes, o GT, volumoso e de formato alongado, ocupa a parte caudal do sulco dos nervos oftálmico e maxilar do osso basisfenoidal e situa-se, em parte, sobre a entrada do forame oval. Está recoberto pela dura-máter e a ela aderido firmemente, sendo limitado medialmente pela parede lateral do seio cavernoso e pela rede admirável epidural rostral. De sua superfície rostral, origina-se um grande tronco, que é comum aos nervos oftálmico e maxilar, sendo que o nervo mandibular tem origem na sua face ventral.

Nos carnívoros, o GT, largo e achatado dorsoventralmente, situa-se em uma pequena depressão na face dorsal do osso basisfenoidal, lateralmente à sela túrcica (GETTY, 1986).

Nos ratos, o GT apresenta as divisões oftálmica e maxilar fusionadas enquanto que, lateral a elas, a divisão mandibular é claramente distinguida (WAITE, 2004).

2.4 ESTRUTURA DOS GÂNGLIOS CÉREBRO-ESPINAIS

Gânglios nervosos são encontrados associados aos nervos autônomos (gânglios autônomos ou vegetativos), à raiz dorsal dos nervos espinais (gânglios espinais) e às raízes sensoriais dos nervos cranianos trigêmeo, facial, vestibulococlear, glossofaríngeo e vago (gânglios cerebrais). No interior dos gânglios, são encontrados os corpos (pericários) das células nervosas com seus respectivos prolongamentos e, em alguns casos, como no GT, fascículos de fibras nervosas mielínicas e amielínicas provenientes de pericários localizados em outras regiões da parte central do sistema nervoso (SNC). Os tipos neuronais encontrados nesses gânglios são, multipolar (autônomos) e pseudo-unipolar (cérebro-espinais), exceto nos gânglios vestibular e coclear, onde os neurônios são bipolares (TESTUT, 1930; WILLIAMS, 1995; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Em relação aos gânglios cérebro-espinais, os autores clássicos os descrevem como sendo revestidos por uma cápsula de tecido conjuntivo denso, semelhante e contínuo com o perineuro e o epineuro que reveste os nervos; já o endoneuro permeia o gânglio apoiando suas células nervosas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1974; WILLIAMS, 1995).

Os neurônios pseudo-unipolares aparecem na neurogênese sob a forma de neurônios bipolares, com um axônio e um dendrito destacando-se de extremidades opostas do pericário. Durante o desenvolvimento, os dois prolongamentos se aproximam e se fundem em um pequeno percurso, próximo ao pericário (MATSUDA et al., 1998; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). O processo dendro-axônico formado é curto, sendo que, próximo ao corpo neuronal, divide-se em um prolongamento periférico e outro central. O prolongamento periférico carrega estímulos captados por receptores sensoriais, transmitindo-os diretamente para o prolongamento central. Funcionalmente, o prolongamento periférico é um dendrito, porém, com propriedades estruturais de um axônio (HAM, 1991; WILLIAMS, 1995; MACHADO, 2000; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

No estroma ganglionar, encontra-se uma grande quantidade de células satélites, mastócitos e uma densa rede vascular, cuja permeabilidade varia entre as espécies (WILLIAMS, 1995).

As células de sustentação podem expressar dois fenótipos diferentes, dependendo da parte do neurônio com que se relacionam (MACHADO, 2000). Assim, ao envolverem os axônios, são denominadas de células de Schwann ou células do neurilema (HAM, 1991; MACHADO, 2000); quando envolvem os pericários, recebem a denominação de anficitos (REBOLLO, 1973; MACHADO, 2000), células satélites gliais (WILLIAMS, 1995; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; OHARA et al., 2009), gliócitos ganglionares (WILLIAMS, 1995) ou células capsulares (REBOLLO, 1973; HAM, 1991).

As células satélites gliais (CSG) são responsáveis por formar uma camada celular que envolve cada pericário. O conjunto CSG + pericário, por sua vez, é envolto por uma delgada camada de tecido conjuntivo, o endoneuro

(REBOLLO, 1973; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1974; WILLIAMS, 1995; VELZEN, 2009).

Cada corpo neuronal possui seu próprio envelope (ou bainha), que consiste de inúmeras CSG, constituindo uma unidade morfológica e, provavelmente funcional distinta. Tais unidades são separadas por regiões contendo tecido conectivo, podendo formar, em alguns casos, pequenos grupos de duas ou três células encapsulados por um tecido conjuntivo único. Essa disposição é mais frequentemente encontrada em animais jovens (PANNESE et al., 1996; HANANI, 2005).

A distância entre as superfícies das CSG e de um corpo neuronal é extremamente reduzida, sendo da ordem de 20 nanômetros. Os neurônios emitem numerosos processos delgados, normalmente ajustados às invaginações das CSG, aumentando a área da superfície neuronal em cerca de 30 a 40%, o que permite uma troca metabólica mais eficaz entre esses dois tipos celulares (PANNESE, 1981, 2002).

Funcionalmente, as CSG são análogas aos astrócitos do SNC, uma vez que ambos os tipos celulares estão estreitamente relacionados ao pericário, carreando neurotransmissores e regulando a concentração de íons no espaço extracelular. Contudo, após uma avaliação ultra-estrutural, Pannese (1981) e Mamoru, Masayuki e Shigeji (2009) concluíram que as CSG constituem um tipo distinto de glia não inteiramente similar aos astrócitos.

2.5 EFEITOS DO ENVELHECIMENTO NAS ESTRUTURAS DO SISTEMA NERVOSO

Define-se o envelhecimento como uma falha progressiva nos processos de defesa e de reparo do organismo, produzindo uma diminuição na capacidade fisiológica celular, com prejuízo da homeostase, até a falência total dos órgãos

(FARAGHER; SHEERIN; OSTLER, 2009). Segundo Strehler e Mildvan (1960), o envelhecimento é um processo universal, pois atinge todos os membros de uma população; progressivo, por ser contínuo e não determinante de morte repentina; intrínseco, pois o distingue da morte causada por fatores exteriores; degenerativo, dando a ideia de que o envelhecimento está associado às possibilidades crescentes de morbidade e mortalidade.

Os efeitos estruturais do envelhecimento têm sido descritos nas diferentes partes do organismo e, em especial, no sistema nervoso. Assim, no SNC, o envelhecimento do cérebro é caracterizado por uma diminuição de seu peso e volume, particularmente mais evidente após a 5^a década de vida. Essa atrofia está presumivelmente associada com alterações da substância cinzenta e da substância branca, correlacionada a uma diminuição no número de neurônios e degeneração das fibras mielínicas (CONDE, 2006).

O envelhecimento é um processo que ocorre de maneira diferenciada nas distintas áreas do cérebro, sendo dependente do estilo de vida de cada indivíduo; ele provoca alterações na densidade de volume do tecido cerebral, na morfologia dos neurônios e na dinâmica de diversos neurotransmissores (MORA; SEGOVIA; DEL ARCO, 2007).

Em 1955, Harold Brody relatou uma perda normal de cerca de 50% dos neurônios corticais em indivíduos idosos, hipótese que perdurou até a década de 90 quando Pakkenberg e Gundersen (1997), utilizando o *dissector*, analisaram 94 cérebros humanos e observaram 9,5% de perda neuronal cortical (ZHANG et al., 2009).

Em estudos com ressonância magnética, há um consenso de que o envelhecimento está associado a uma redução no volume cerebral, incluindo o córtex, assim como há uma expansão do sistema ventricular (KRUGGEL, 2006; FJELL et al., 2009) e do espaço subaracnoideo (ESIRI, 2007). Entretanto, há evidências de que sua redução não é uniforme e uma significativa heterogeneidade dos efeitos da idade é observada em diferentes regiões corticais (SALAT et al., 2004).

No córtex cerebral de humanos foi demonstrada uma diminuição em sua espessura em diferentes áreas, atingindo o seu grau máximo no córtex dos giros frontal superior e inferior, bem como na parte superior do lobo temporal. As áreas corticais menos afetadas foram o giro temporal inferior e a região anterior do giro do cíngulo (FJELL et al., 2009). Para Grieve et al. (2005) e Kalpouzos et al. (2009) há uma maior deterioração estrutural do córtex do lobo frontal do homem, sendo que áreas como o hipocampo e o giro do cíngulo são menos afetadas. Desse modo, esses autores acreditam que as primeiras regiões filogenéticas e ontogenéticas a aparecerem são as mais resistentes aos efeitos da idade.

Wang et al. (2009), ao compararem ratas Wistar jovens (2 meses) e idosas (30 meses), observaram uma redução de cerca de 20% na espessura das camadas corticais sensitiva e motora dos animais idosos. Ao determinarem a densidade neuronal das camadas II e VI, não verificaram diferenças significativas entre os grupos.

Avaliando o córtex cerebral de ratos Long-Evans, jovens, de meia idade e idosos, Zhang et al. (2009) não encontraram diferenças entre os três grupos no que se refere ao volume total das fibras mielínicas. Nos animais idosos, verificaram um decréscimo acentuado no volume cortical e no comprimento das fibras mielínicas, comparados aos outros grupos. Concluíram que essas diferenças são sugestivas de perda das fibras mielínicas de pequeno diâmetro com o envelhecimento.

Esiri (2007) observou uma diminuição sutil no tamanho do corpo neuronal com o envelhecimento, particularmente no córtex cerebral, refletindo uma diminuição das arborizações dendríticas, embora relate, um aumento em alguns dendritos para compensar a perda de outros.

Em relação às espinhas sinápticas, Bhatt, Zhang e Gan (2009) observaram um grande desenvolvimento na vida pós-natal, permanecendo relativamente constantes na idade adulta, até uma perda relacionada ao envelhecimento. Entretanto, esses resultados, tomados de tecidos fixados pós-morte, impedem

a determinação do seu comportamento dinâmico, uma vez que as espinhas estão em contínuo processo de remodelação, sugerindo que essa diminuição relaciona-se a um aumento na eliminação das espinhas existentes ou a uma diminuição na adição de novas espinhas, podendo ainda ser uma combinação desses dois processos.

Ultra-estruturalmente, Nosal (1979) observou alterações intracelulares significativas nos neurônios do córtex cerebelar de ratos idosos, particularmente nos nucléolos e nos ribossomos livres. Alterações semelhantes foram também descritas em neurônios do córtex cerebral de humanos idosos, que apresentaram uma diminuição no tamanho de seus núcleos e na textura dos nucléolos (SPOERRI; GLEES; SPOERRI, 1981). Tais alterações foram ainda encontradas por Buschmann e Lavelle (1981) nas células piramidais da camada V do córtex cerebral de hamsters idosos. Com o envelhecimento da célula nervosa, há um acúmulo de material biológico em seu citoplasma, representado principalmente pela lipofucsina, pelas mitocôndrias defeituosas e por agregados citoplasmáticos de proteína, aumentando assim, o esforço oxidativo celular que realça o dano às mitocôndrias e aos lisossomos, levando a apoptose celular (TERMAN; GUSTAFSSON; BRUNK, 2007).

Relativamente à substância branca, há uma diminuição progressiva do seu volume a partir da 5ª década de vida, progredindo mais rapidamente após os 60 anos de idade (HSU et al., 2010) com perdas de 27 a 37% em sua massa, sugerindo que o processo de envelhecimento altera, em maior escala, a substância branca que a substância cinzenta (PIGUET et al., 2009). A região mais afetada é o lobo frontal, o que contribui para os declínios da memória, das funções executivas e na velocidade de processamento de informações (GUNNING-DIXON et al., 2009).

Peters, Verderosa e Sethares (2008) observaram no córtex visual primário de macacos *Rhesus*, um aumento de cerca de 50% do número de oligodentrócitos, não tendo sido encontrada nenhuma alteração, quanto ao número, nos astrócitos e na micróglia.

Na divisão autônoma do sistema nervoso (SNA) De Souza et al. (1993); Meciano Filho, Carvalho e De Souza (1995) e Gomes, De Souza e Liberti

(1997) observaram, respectivamente, no plexo mioentérico do intestino delgado, do esôfago e do intestino grosso, em humanos, uma perda neuronal de cerca de 38%. Além da diminuição do número de neurônios, os autores verificaram alterações referentes aos componentes colágeno e elástico da cápsula ganglionar. Tais dados apontam, segundo Phillips, Pairitz e Powley (2006), para um mecanismo de mal funcionamento do intestino, à medida que o processo do envelhecimento progride. Akamatsu, De Souza e Liberti (1999), estudando o plexo subepicárdico de ratos idosos, verificaram uma diminuição drástica do número de neurônios, da ordem de 75%. Em estudos realizados com o gânglio cervical superior de humanos jovens, adultos e idosos, comprovou-se nestes últimos, a ocorrência de alterações morfológicas. Assim, as fibras mielínicas decresceram em número, sendo que o pericário do grupo idoso apresentou um aumento em sua área e uma conseqüente elevação de lipofucsina. Essas mudanças provavelmente alteram a capacidade de funcionamento, plasticidade e regeneração dos neurônios localizados no gânglio cervical superior (LIUTKIENE et al., 2007).

Na parte periférica do sistema nervoso (SNP), Martinelli et al. (2006), em estudos realizados em gânglios espinais de coelhos jovens, adultos e idosos, verificaram que o número de CSG não variou de maneira significativa nos animais jovens e adultos, decrescendo, porém, de maneira significativa nos animais idosos.

Avaliando as CSG dos gânglios espinais de coelhos idosos, sob microscopia eletrônica de transmissão, Ledda et al. (2003) notaram uma diminuição drástica no volume ocupado pelo complexo de Golgi, sugestivo de uma diminuição das funções metabólicas dessas células, em virtude do decréscimo da atividade celular neuronal. Sob esse aspecto, Seress, Szoke e Czeh (2002), ao analisarem as organelas citoplasmáticas dos neurônios e das CSG do GT de ratos jovens e adultos, já haviam descrito alterações mitocondriais apenas nas células do tipo B, não havendo alterações nas outras estruturas citoplasmáticas. Concluíram que tais alterações, com o aumento da idade, podem contribuir para um aumento de distúrbios sensoriais nas fases mais tardias da vida.

MATERIAIS E MÉTODOS

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 15 ratos machos da linhagem Wistar (*Ratus norvegicus*), pertencentes ao biotério do Departamento de Anatomia do ICB/USP. De acordo com a idade, os animais foram divididos nos grupos: Jovem (**J**; n=5), constituído por animais com dois meses de vida; Adulto (**A**; n=5), formado por animais com doze meses de vida; Idoso (**I**; n=5), constituído por animais com 24 meses de vida.

Os animais dos grupos **J**, **A** e **I** foram mantidos em gaiolas apropriadas de polipropileno e receberam ração¹ e água sem restrições. As caixas foram mantidas em salas com temperatura entre 23 °C e 25 °C e ciclo claro/escuro de 12 horas, ambos artificialmente controlados.

3.1 EUTANÁSIA E DISSECÇÃO BILATERAL DO GÂNGLIO TRIGEMINAL

Após pesagem (para valores ver Tabela 1), os animais dos três grupos foram eutanasiados com solução de Hypnol² a 3% (Pentobarbital sódico - 30mg/kg de massa corporal) injetado intraperitonealmente. Em seguida, realizou-se uma incisão sagital, próximo à linha mediana, na região da calvária, iniciada na pele e atravessando as camadas estratigráficas da região até a completa exposição de seus ossos constituintes. A osteotomia da calota craniana foi realizada com o auxílio de um alveolótomo respeitando-se uma linha transversal, paralela e superior ao meato acústico externo, expondo-se assim o cérebro que foi

¹ NUVILAB – Nuvital Nutrientes S/A

² Fontovener – Divisão Veterinária de Cristália - Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda.

afastado com uma espátula metálica nº1³ e desconectado, dos dois primeiros pares de nervos cranianos, através de uma incisão coronal realizada com um bisturi. Seccionando-se transversalmente a ponte, superior à origem aparente do nervo trigêmeo no tronco encefálico, removeu-se a parte do encéfalo superior a ela, o que permitiu o acesso à fossa média na base do crânio, onde se situa o GT, visível por transparência da dura-máter que o recobre. Os passos desse procedimento estão ilustrados na figura 3.

Com o auxílio do alveolótomo, removeu-se a crista e o ápice da parte petrosa do osso temporal, de ambos os lados, com a finalidade de promover um acesso direto ao nervo trigêmeo. Após desconectar, com o auxílio de um bisturi, o V par craniano da face ventral da ponte (com a consequente retirada dessa estrutura junto com o restante do tronco encefálico), foram realizados dois cortes sagitais com cerca de 15 mm de comprimento e 5 mm de profundidade: o primeiro margeou a face medial do GT e dos nervos maxilar e oftálmico; o segundo a face lateral dessas mesmas estruturas. No trajeto da incisão lateral, seccionou-se o nervo mandibular, que se destaca do gânglio e corre, obliquamente, em direção rostrolateral. Seccionando-se transversalmente os nervos oftálmico e maxilar, limitou-se o conjunto de estruturas relacionadas ao GT, que foi retirado num bloco com seus envoltórios conjuntivos e osso subjacente, através de um último corte transversal na base do crânio, paralelo ao plano orbitomeático (Figuras 3 e 4).

Os blocos relativos aos gânglios trigeminais do lado direito (GTD) e esquerdo (GTE) foram colocados em uma placa de Petri, contendo solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%⁴ e submetidos à microdissecção sob lupa estereoscópica⁵, utilizando-se de pinças e tesouras oftalmológicas⁶, com o intuito de retirar os envoltórios conjuntivos e o osso adjacente (Figura 4).

³ SSWhite – Duflex instrumental.

⁴ Laboratório Tayuyna – São Paulo, Brasil.

⁵ Carl Zeiss Microimaging - Stemi SV6. Alemanha.

⁶ Petrovich Instrumental Cirúrgico, Brasil.

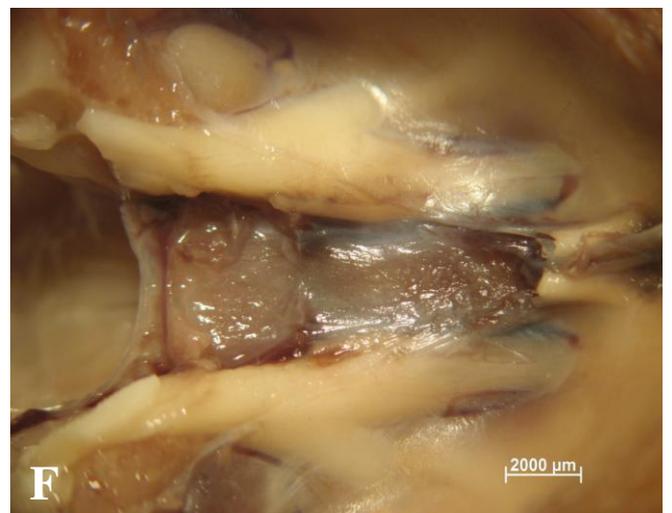
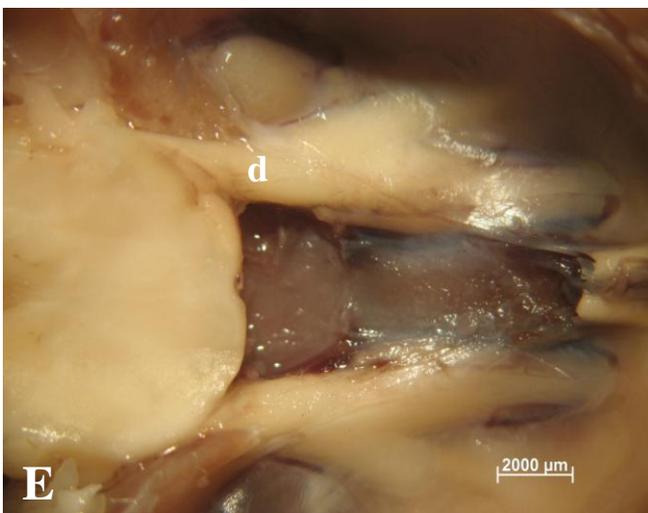
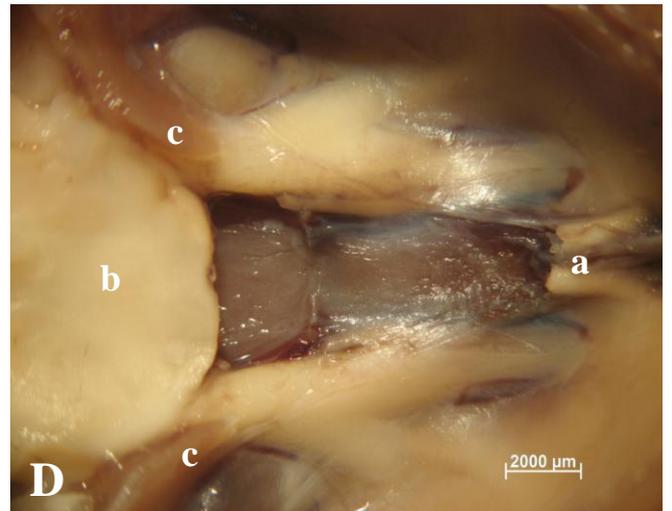


Figura 3 - Sequência de dissecação do GT de animal do grupo A em vista dorsal. **A**, mesa cirúrgica; **B**, exposição da calota craniana (1,5x); **C**, após osteotomia, vista da face dorsal do encéfalo (1,5x); **D**, após secção transversal no n. óptico (a) e na ponte (b), e posterior retirada do cérebro, visualiza-se o ápice da parte petrosa do temporal (c) recobrindo o n. trigêmeo; **E**, após osteotomia deste acidente ósseo, vê-se a origem aparente do V par (d); **F**, secção transversal do V par próximo a sua origem aparente na ponte e retirada do restante do encéfalo

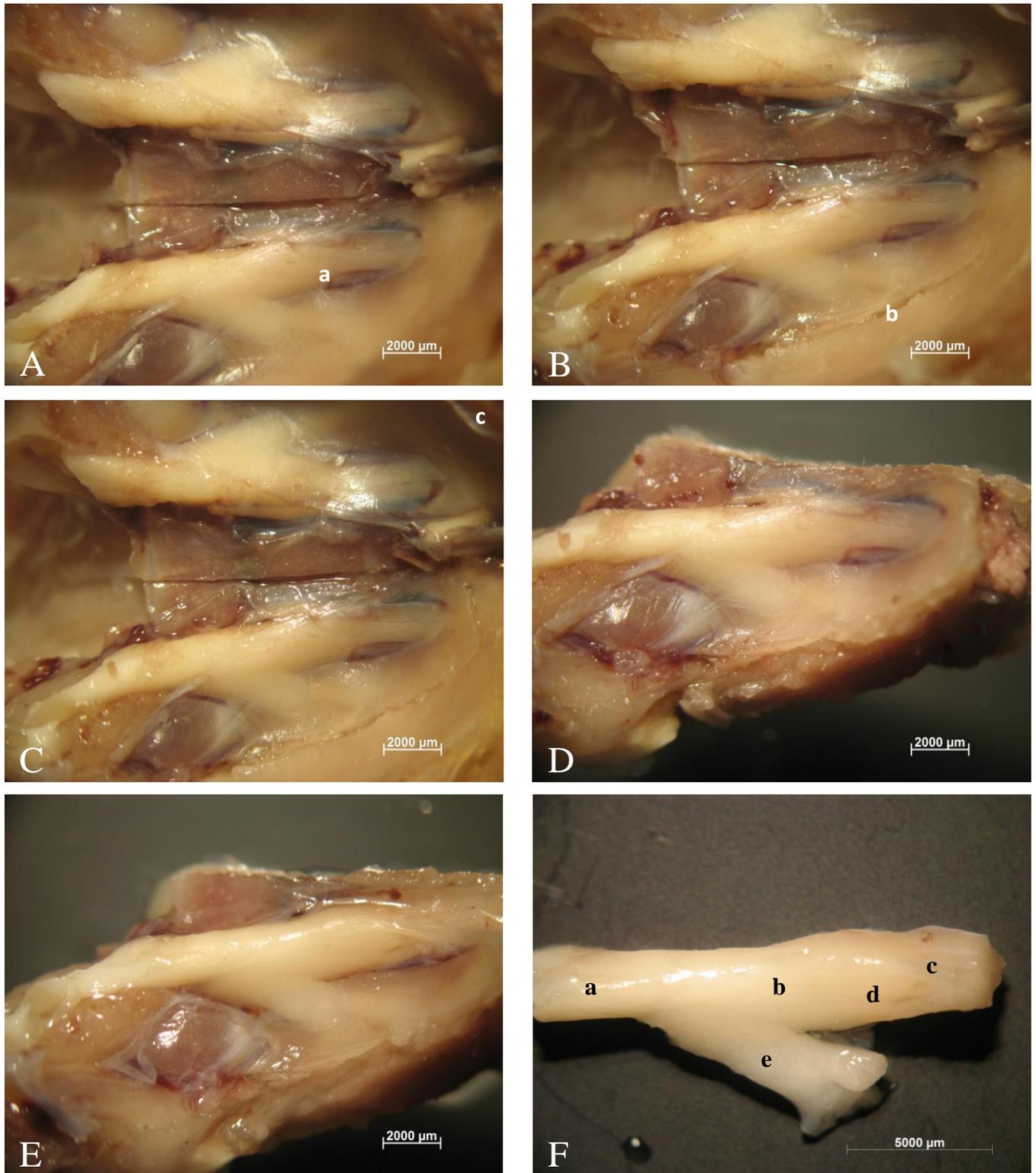


Figura 4 - Sequência de dissecção do GT de animal do grupo A em vista dorsal. **A**, incisão sagital (a) paralela à face medial do GT; **B**, incisão sagital (b) paralela à face lateral do GT; **C**, secção transversal (c) do n. oftálmico e n. maxilar; **D**, após corte transversal na base do crânio, visualiza-se todo o bloco ósseo contendo o GT e seus envoltórios; **E**, observa-se o GT após a retirada dos envoltórios conjuntivos; **F**, aspecto final do complexo trigeminal onde visualiza-se o n. trigêmeo (a), o GT (b) e os nervos, oftálmico (c), maxilar (d) e mandibular (e), todos seccionados

3.2 MICROSCOPIA DE LUZ

Os espécimes (GTD e GTE), foram retirados do soro fisiológico, secos em papel de filtro absorvente⁷ e fixados em uma base de cortiça utilizando-se meio de inclusão apropriado para criosecção⁸. A fixação foi realizada de tal modo que o longo eixo do GT ficou paralelo ao plano da base, a fim de ser submetido a cortes tangenciais. Os espécimes assim preparados foram mantidos durante 20 minutos em câmara de um criostato⁹ a uma temperatura de -25 °C, com a finalidade de permitir a solidificação do meio de inclusão.

3.2.1 Seleção das Lâminas Para a Coloração Pelos Métodos da Hematoxilina e Eosina e da Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Diaforase

Para cada espécime foram obtidos cortes semisseriados de 8 µm de espessura, do GTD, distribuídos em 8 lâminas histológicas respeitando-se o seguinte padrão: nas lâminas 1 e 2 foram depositados, respectivamente, o primeiro e o segundo cortes, o terceiro e o quarto cortes e assim sucessivamente até o preenchimento das mesmas, que acomodaram, em média, 20 cortes cada. O mesmo procedimento foi realizado para as lâminas 3 e 4, 5 e 6 e 7 e 8. As lâminas de numeração par foram utilizadas para a técnica de coloração rotineira da hematoxilina e eosina (HE) com o objetivo de evidenciar e contabilizar as células da glia (BEHMER; TOLOSA; FREITAS NETO, 1976), enquanto as lâminas de numeração ímpar foram utilizadas para a técnica histoquímica da nicotinamida adenina dinucleotídeo diaforase (NADH-

⁷ J. Prolab, Indústria e Comércio de Produtos para Laboratório Ltda.

⁸ Killik, EasyPath (EP-51-20081).

⁹ Leica Microsystems, Germany (CM 1850).

d), que evidencia a utilização de metabólitos do ciclo de Krebs da cadeia respiratória nas mitocôndrias (GABELLA, 1969).

A metodologia de se empregar apenas o GTD levou em consideração a inexistência de assimetria entre os lados, de acordo com Lagares e Avendaño (2000).

Para seleção dos cortes, utilizou-se apenas aqueles onde houvesse uma continuidade de corpos neuronais em toda a extensão do GT como demonstra a figura 13 nos itens **a**, **b** e **c**, descartando os cortes onde a continuidade dos pericários não fosse observada (Figura 13, **d**) ou mesmo aqueles cortes que já não mais apresentassem o anexo mandibular ganglionar (Figura 13, **e**, **f**, **g** e **h**).

De acordo com essa metodologia, selecionou-se em média 8 cortes para cada animal. Havendo mais de 8 cortes passíveis de utilização, optou-se por descartar os excedentes, selecionando os 4 cortes mais ventrais e os 4 cortes mais dorsais, eliminando o restante, que em todos os animais de cada grupo não excedeu mais que 3 cortes. Cada um desses 8 cortes foram utilizados nas técnicas descritas a seguir.

3.2.2 Técnica Histoquímica da NADH-d

Depositou-se em quatro lâminas de cada animal, selecionadas como descrito no item anterior, solução de Krebs¹⁰ (pH 7.3, 0,1M) suficiente para encobrir cada corte. Após 20 minutos, as lâminas foram escorridas e recobertas durante 5 minutos, novamente com uma solução de Krebs, agora contendo 0,3 ml de Triton X-100¹¹. Após três lavagens, durante 10 minutos, em solução de Krebs, depositou-se sobre os cortes um meio de incubação preparado da seguinte

¹⁰ Para fórmula ver anexo A.

¹¹ Roche, Philadelphia, USA (11 332 481 001).

forma: PBS¹² (75 ml), água destilada (25 ml), β -NADH¹³ (0,05 gr) e NBT¹⁴ (0,0125 gr). A reação foi monitorada com o auxílio de uma lupa estereoscópica e, após um tempo médio de noventa minutos, as lâminas foram lavadas, durante um período de 10 minutos, por três vezes com solução de Krebs. As lâminas foram montadas com lamínula, tendo como agente de fixação o Entellan¹⁵.

3.2.3 Técnica Histológica do Pícro-Sírius

Para esta técnica, foram utilizados os GTE de três animais de cada grupo (**J, A e I**) escolhidos de maneira aleatória. As lâminas e cortes foram preparadas e selecionadas de acordo com a metodologia descrita no item 3.2.1, sendo utilizadas as lâminas de numeração par, que posteriormente foram submetidas às rotineiras técnicas histológicas para diferenciação, sob luz polarizada, das fibras colágenas dos tipos I e III (MONTES; JUNQUEIRA, 1991).

3.2.4 Técnica Imunohistoquímica da Substância P e do Peptídeo Intestinal Vasoativo

Estas técnicas foram aplicadas em um GTE de cada grupo, escolhido de maneira aleatória, entre os animais de cada grupo. As lâminas foram

¹² Para fórmula ver anexo B.

¹³ Sigma-Aldrich, St. Louis, USA (N6005).

¹⁴ Sigma-Aldrich, St. Louis, USA (N15405).

¹⁵ Merck - Darmstadt, Alemanha (107960).

preparadas de acordo com a metodologia descrita no item 3.2.1, sendo utilizada a lâmina 3 para a imunorreatividade à substância P (SP), e a lâmina 4 para a imunorreatividade ao peptídeo intestinal vasoativo (VIP). Durante um período de 10 minutos, as lâminas foram lavadas por três vezes com uma solução de PBS (pH 7.3) e em seguida incubadas, em câmara úmida, em soro de cabra¹⁶ a 10%, por um período de duas horas. A incubação com os anticorpos primários anti VIP¹⁶ ou anti SP¹⁶, na proporção de 1:200, procedeu-se por um período de 24 horas a 4 °C. Após nova lavagem em PBS (três vezes consecutivas durante 10 minutos), as lâminas foram incubadas com anticorpo secundário¹⁶ durante 1 hora em câmara escura. As lâminas foram montadas com uma lamínula, tendo como agente de adesão o glicerol tamponado¹⁶, e mantidas a 4 °C e ao abrigo da luz, até o momento de sua análise.

3.3 ANÁLISE QUANTITATIVA

Colhe e prepara os dados numéricos referentes à área do perfil do GT, à área do perfil dos corpos celulares dos neurônios ganglionares e à densidade neuronal e das CSG obtidos para os diferentes grupos – **J, A, I.**

3.3.1 Área do Perfil do Gânglio Trigeminal

Do total médio de 80 cortes por animal (4 lâminas) preparados pela técnica histoquímica da NADH-d, determinou-se a área do GT em 8 cortes

¹⁶ Bachem – Península Laboratories, USA.

selecionados como descrito no item 3.2.1. Tal procedimento foi realizado sob lupa estereoscópica com uma câmera acoplada¹⁷, objetivando a captura das imagens, que após serem transmitidas para um computador munido de um programa específico¹⁸, permitiu avaliar a área de cada corte em mm².

3.3.2 Área do Perfil dos Corpos Neurônais

Foi determinada nos cortes corados pelo método histoquímico da NADH-d, cuja seleção (lâminas, cortes e campos) encontra-se descrita no item 3.2.1 . Sobre cada imagem, na tela do computador, foi adaptado um sistema teste constituído de 10 retas de 6 cm de comprimento, distribuídas em quatro fileiras equidistantes 4 cm entre si, sendo três retas na primeira e terceira fileiras, e duas na segunda e quarta fileiras. Cada reta foi aleatoriamente numerada de 1 a 10 e adotou-se como critério de seleção um número de 3 neurônios por imagem, que tangenciavam ou eram cortados por essas retas, sendo que apenas os corpos neuronais que apresentavam o núcleo definido eram assinalados. No caso de existirem mais neurônios nessas condições, optou-se por mensurar, a princípio, aqueles que tocavam a reta número 1, seguido dos neurônios que tocavam as retas subsequentes (1, 6, 5, 8, 4, 7, 9, 3, 10 e 2) até contabilizar o número estipulado de 3 neurônios para cada campo. Caso no próximo campo existissem mais de três corpos neuronais tocando as retas, repetia-se o mesmo procedimento iniciando-se agora pela reta de número 2, e assim sucessivamente para todos os outros campos, conforme ilustra a figura 5. Para cada animal foi mensurado a área de 120 neurônios, em μm^2 , totalizando 600 pericários medidos por grupo, com o auxílio do mesmo programa especificado no item anterior.

¹⁷Carl Zeiss Microimaging, Axioshop 40, Germany.

¹⁸Carl Zeiss Microimaging, Axiovision, Rel. 4.6, Germany.

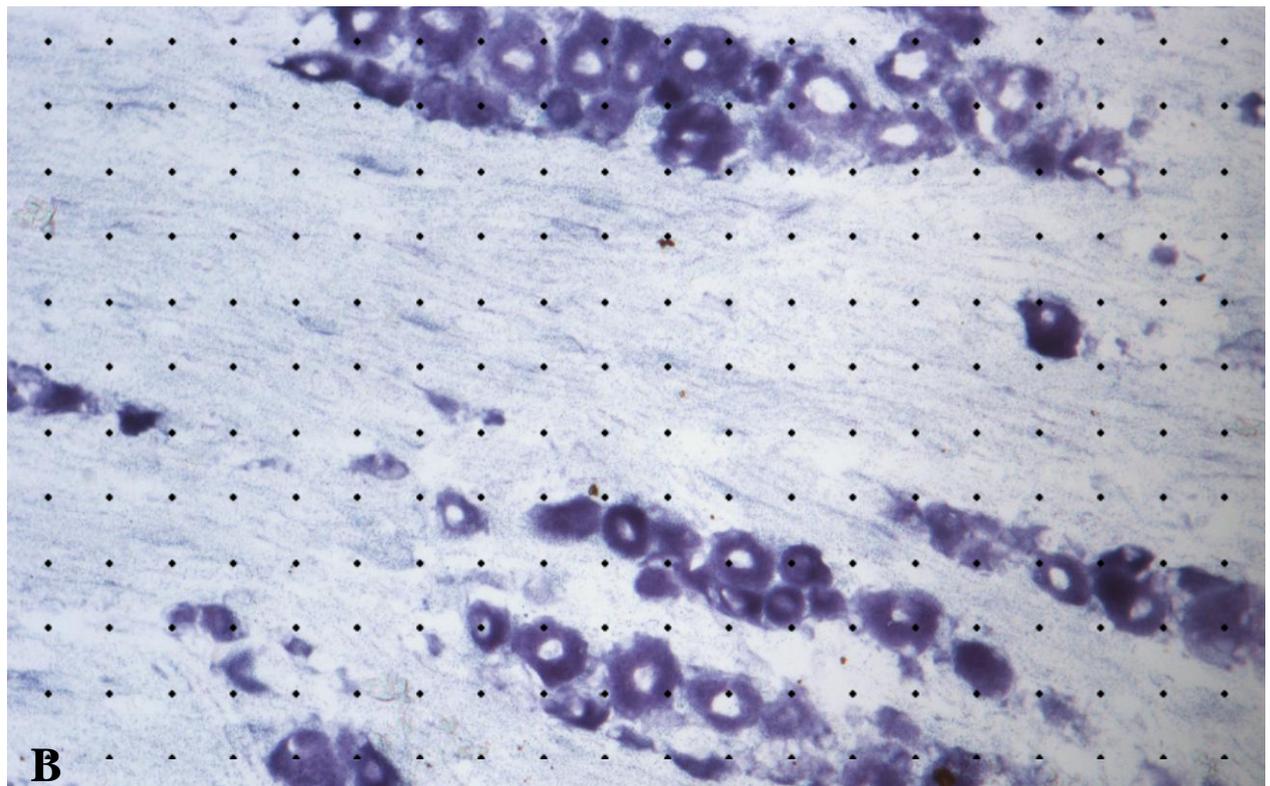
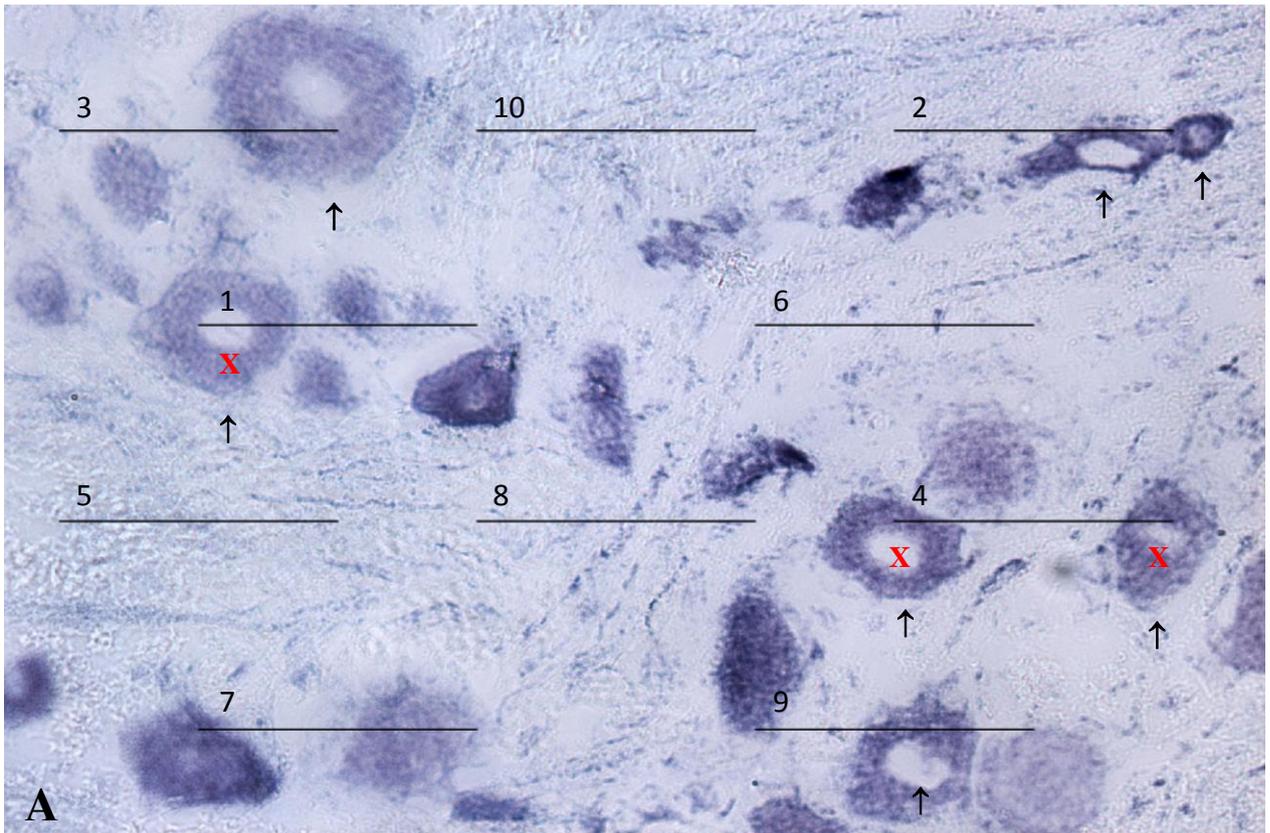


Figura 5 - **A**, metodologia de escolha para mensuração da área dos corpos neuronais (NADH-d). De acordo com a metodologia descrita no item 3.3.2, os neurônios com núcleos definidos (↑) tocam as retas, sendo assim passíveis de mensuração, porém apenas três foram mensurados (X) a partir da reta de número 1; **B**, sistema teste utilizado para avaliar a densidade neuronal (NADH-d)

3.3.3 Densidade dos Corpos Celulares dos Neurônios Ganglionares

Selecionadas as lâminas e os cortes como descrito no item 3.2.1, avaliou-se a densidade neuronal utilizando-se uma câmera acoplada a um microscópio. Para cada corte, as imagens de cinco campos diferentes foram escolhidas de acordo com a figura 7. Dessa forma, foram consideradas na avaliação da densidade neuronal as seguintes áreas do GT: cortical lateral (CL), medular (ME), cortical medial (CM), mandibular posterior (MP) e mandibular anterior (MA), como demonstra a figura 6.

Utilizando-se um programa, para cada imagem na tela do computador, adaptou-se um sistema teste retangular de 20 cm x 15 cm constituído de 300 pontos separados entre si por 1 cm (Figura 5). A área do sistema teste (300 cm²) correspondeu a 9083,764 μm².

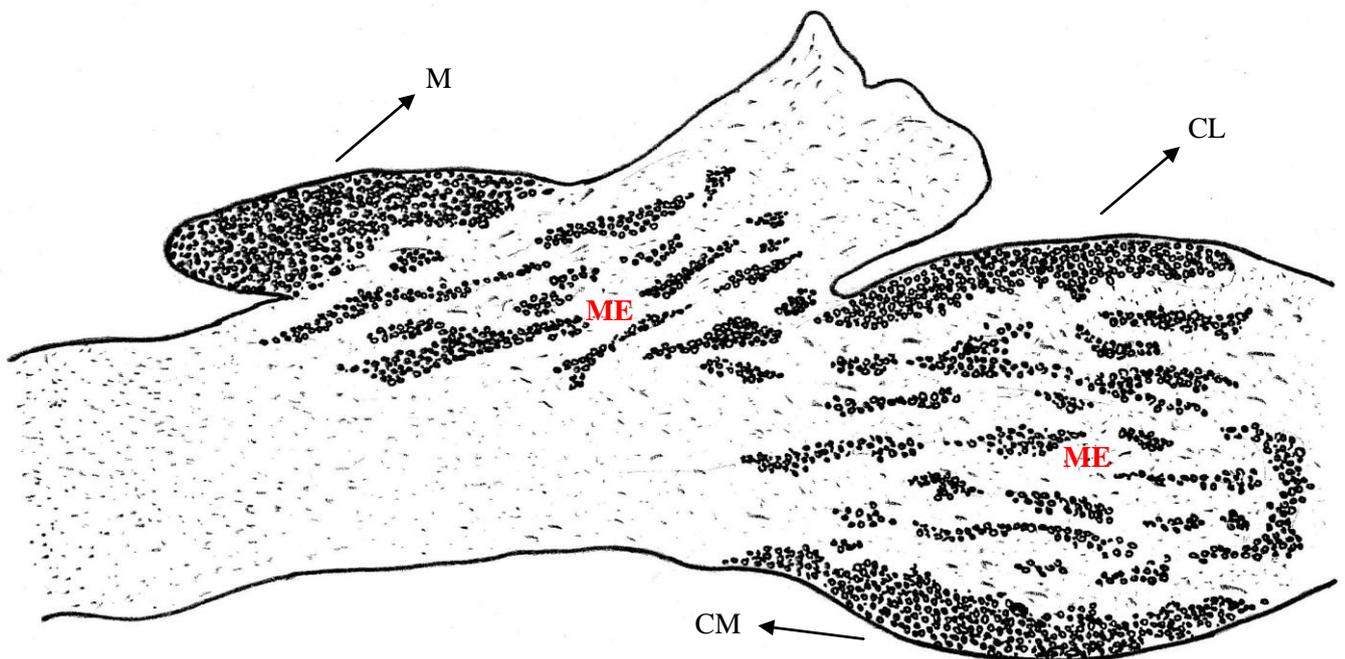


Figura 6 - Esquema de um corte transversal do GT de rato Wistar – Observa-se a distribuição dos pericários em duas regiões corticais, lateral (CL) e medial (CM); anexo mandibular (M); o restante dos pericários estão distribuídos no interior do gânglio na região medular (ME)

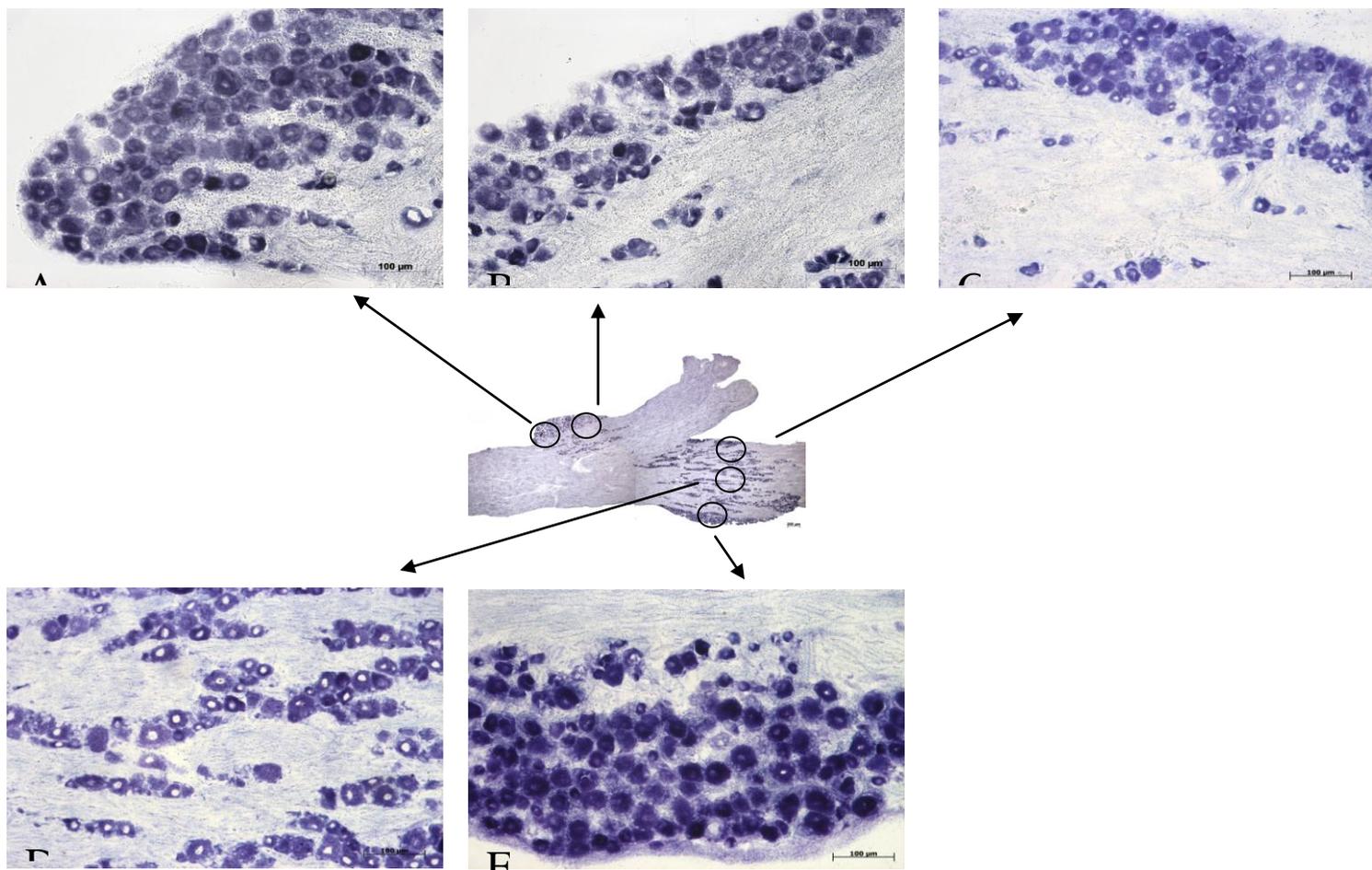


Figura 7 - Fotomicrografias das áreas selecionadas no GT de acordo como descrito no item 3.3.3 – **A**, mandibular posterior; **B** mandibular anterior; **C**, cortical lateral; **D**, medular; **E**, cortical medial.

3.3.4 Densidade das Células Satélites Gliais

Foram utilizadas as lâminas coradas pelo método da HE. A seleção das lâminas e dos cortes obedeceu à metodologia descrita no item 3.2.1, já a seleção dos campos, seguiu a metodologia descrita no item 3.3.3 . Em cada imagem delimitou-se uma área retangular de $15000 \mu\text{m}^2$, onde foram contabilizadas todas as CSG nela encontradas, exceto aquelas que tangenciavam as margens esquerda e inferior do paralelogramo (Figura 8).

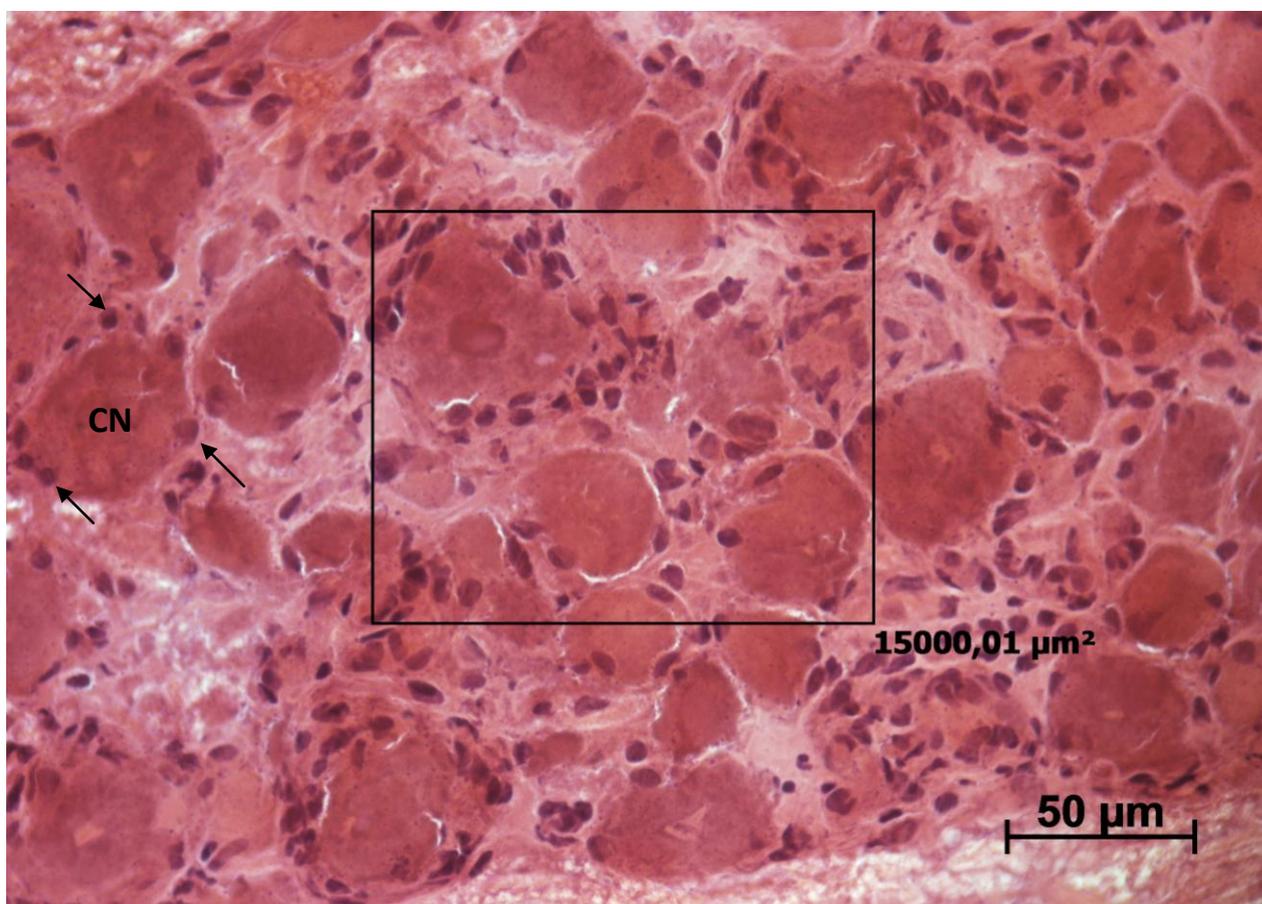


Figura 8 - Fotomicrografia do GT de animal do grupo I (HE) – o traçado da figura geométrica representa a área aleatoriamente selecionada para contagem das CSG (←) posicionadas ao redor dos corpos neuronais (CN)

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estão representados por média e desvio padrão. A análise da significância dos resultados morfométricos foi testada utilizando o ANOVA com o intuito de detectar possíveis diferenças entre os grupos etários, constatando significância ou não dessas diferenças (ZAR, 1984). Em caso de detecção de efeitos significativos ($p < 0,05$), utilizou-se o teste de comparações pelo método de Tukey. A homogeneidade de variância foi verificada e, quando necessário, empregaram-se transformações nos dados, tendo os resultados expressos como média \pm desvio padrão. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

RESULTADOS

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos dos três grupos etários encontram-se descritos e ordenados nos seguintes tópicos: aspectos anatômicos, análise qualitativa e análise quantitativa.

4.1 ASPECTOS ANATÔMICOS

Durante a dissecação do GT, observou-se que, nos animais do grupo **J**, os envoltórios fibrosos do gânglio apresentavam-se mais delgados em relação aos animais dos grupos **A** e **I**. Quanto à morfologia, os gânglios de todos os grupos apresentaram-se semelhantes, como descrito a seguir.

Assim, a partir da sua emergência na face rostral da ponte, o nervo trigêmeo percorre a fossa craniana caudal, relacionando-se lateralmente com a face medial da parte petrosa do osso temporal, em direção à fossa craniana média. O ápice da parte petrosa do osso temporal dirige-se rostromedialmente, curvando-se ventralmente, para formar, com a parte rostral da face medial da parte petrosa do temporal, um sulco de margens bem definidas: o sulco do nervo trigêmeo, que se aloja em sua transição para a fossa craniana média. Nesse ponto, o nervo trigêmeo encontra-se na transição do osso occipital com o osso basiesfenoidal, de onde continua rostralmente sobre a face cerebral desse osso, até alcançar uma fossa rasa, a impressão trigeminal, onde se localiza a parte mandibular do GT (Figura 9 e 10).

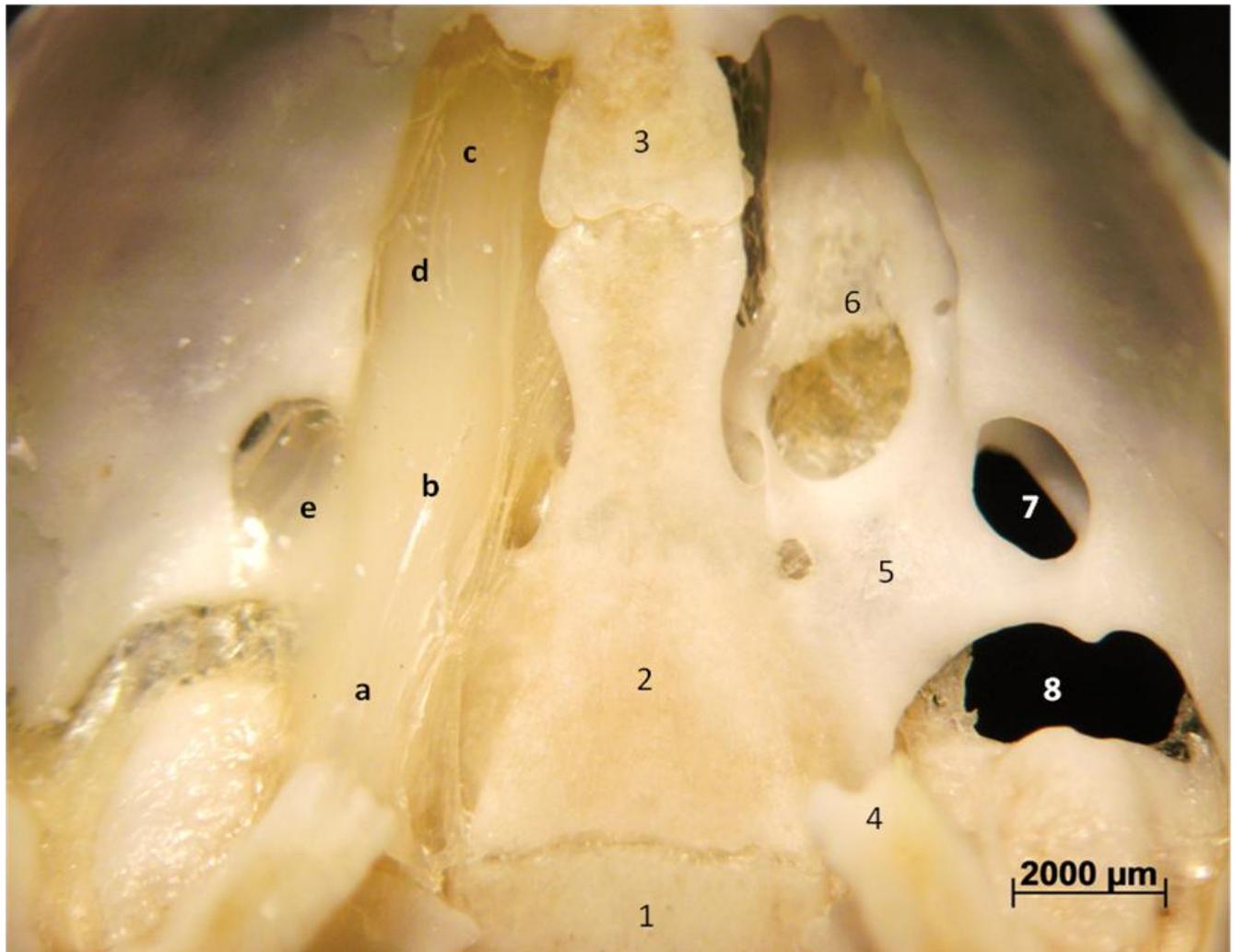


Figura 9 – Vista da base interna do crânio de rato Wistar adulto, evidenciando parte da fossa caudal e da fossa média – **1**, osso occipital; **2**, osso basiesfenoidal; **3**, osso pré-esfenoidal; **4**; ápice da parte petrosa do osso temporal; **5**, impressão trigeminal; **6**, sulco dos nervos oftálmico e maxilar; **7**, forame oval; **8**, forame lácero; **a**, nervo trigêmeo; **b**, GT; **c**, nervo oftálmico; **d**, nervo maxilar; **e**, nervo mandibular

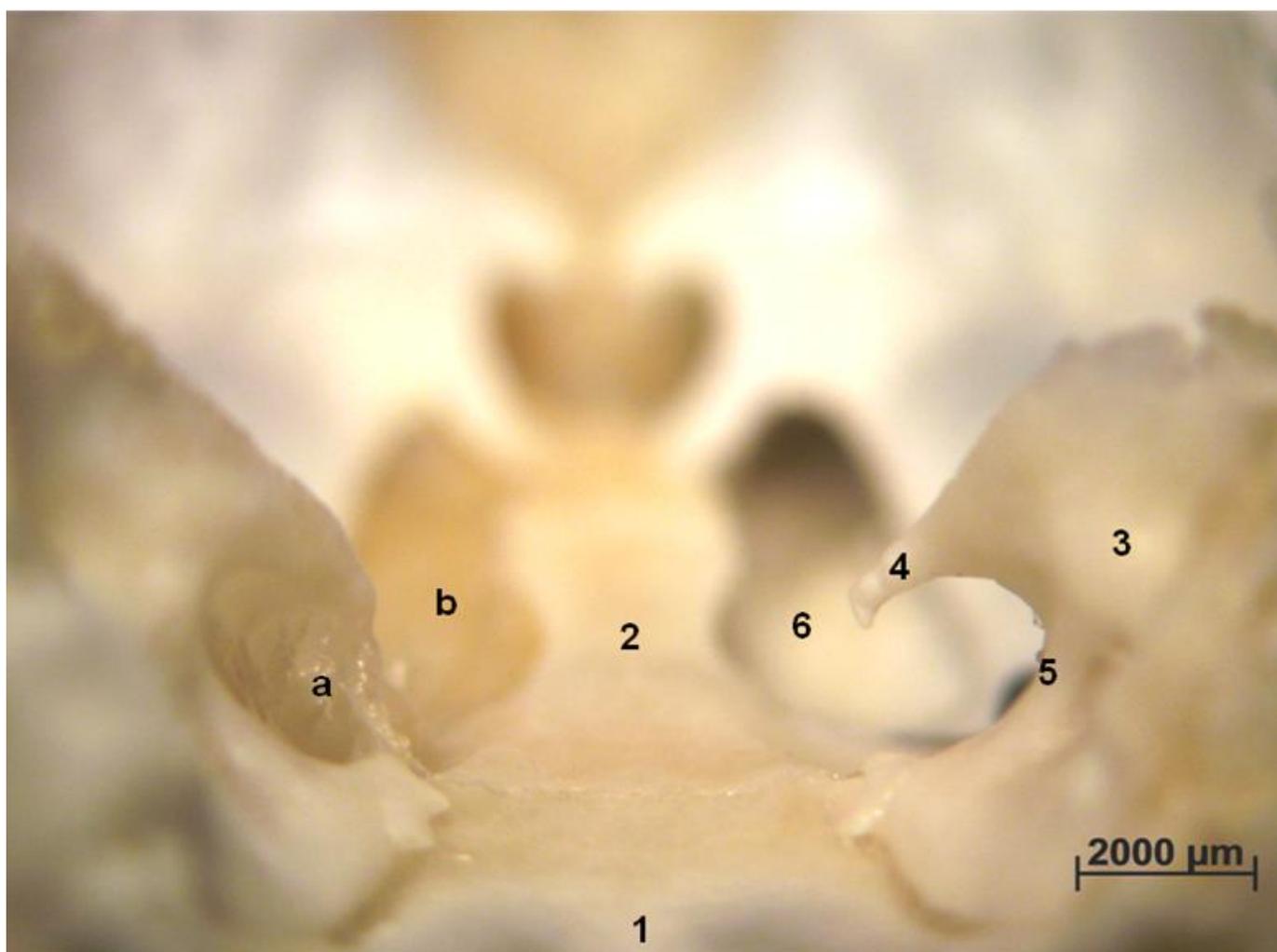


Figura 10 – Vista da base interna do crânio de rato Wistar adulto, a partir da fossa caudal. **1**, osso occipital; **2**, osso basiesfenoidal; **3**, face medial da parte petrosa do temporal; **4**, ápice da parte petrosa do temporal; **5**, margem do sulco trigeminal; **6**, sulco dos nervos oftálmico e maxilar; **a**, nervo trigêmeo; **b**, GT

O gânglio, de aspecto alongado no sentido rostrocaudal, continua rostralmente ocupando a parte caudal do sulco do nervo oftálmico e maxilar, de onde emergem os respectivos nervos. O nervo mandibular emerge obliquamente da face lateral do GT e dirige-se, rostroventralmente, para alcançar o forame oval (Figura 9). Macroscopicamente, observou-se que o GT possui um aspecto alongado, com seu longo eixo dirigindo-se rostrocaudalmente. Lateralmente, anexo à emergência do nervo mandibular, notou-se um apêndice ganglionar parcialmente separado do V par por um sulco profundo, também revestido pelos envoltórios fibrosos ganglionares. Os nervos oftálmico e maxilar emergem da face rostral do GT, este ventralmente e aquele, dorsalmente (Figura 11). Em norma medial ou mesmo lateral, verifica-se que o GT apresenta-se convexo em sua face ventral (Figura 12).

Em corte horizontal, sob microscopia de luz, verificou-se que os corpos neuronais ganglionares encontram-se distribuídos de maneira heterogênea nas regiões cortical lateral, cortical medial, medular e no apêndice anexo ao nervo mandibular (Figura 13).

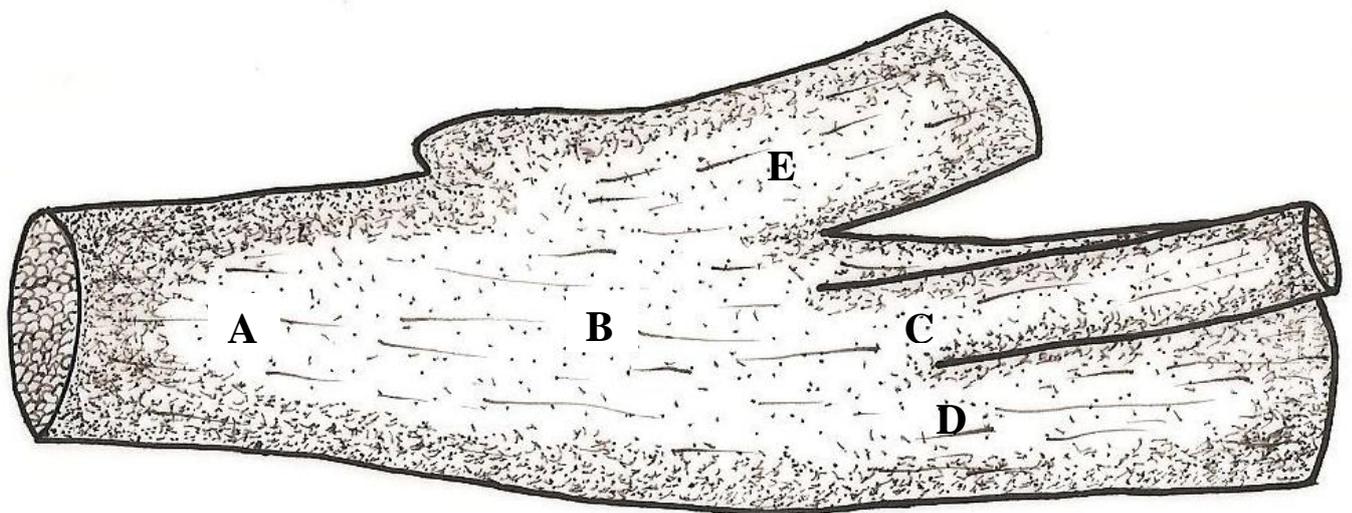


Figura 11 - Esquema do GT de rato Wistar em vista dorsal . **A**, nervo trigêmeo; **B**, GT; **C**, nervo oftálmico; **D**, nervo maxilar; **E**, nervo mandibular

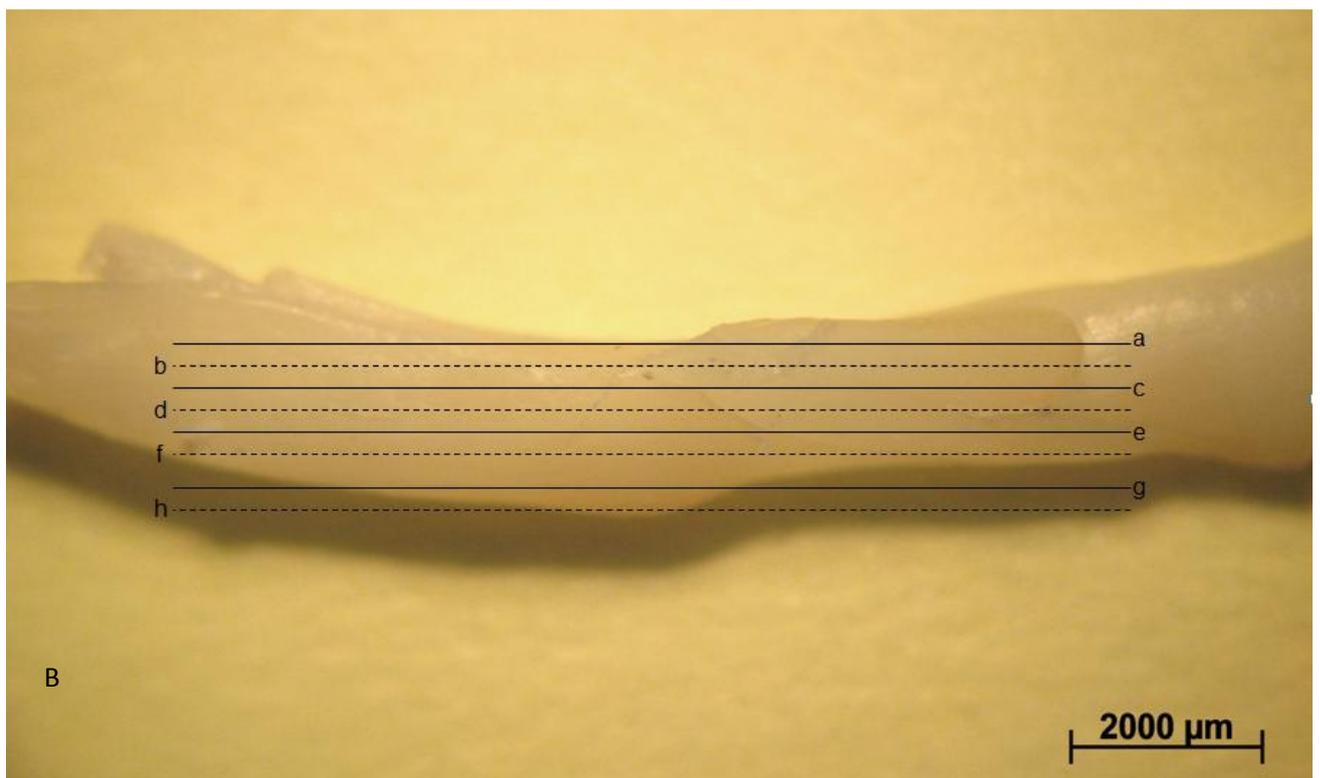
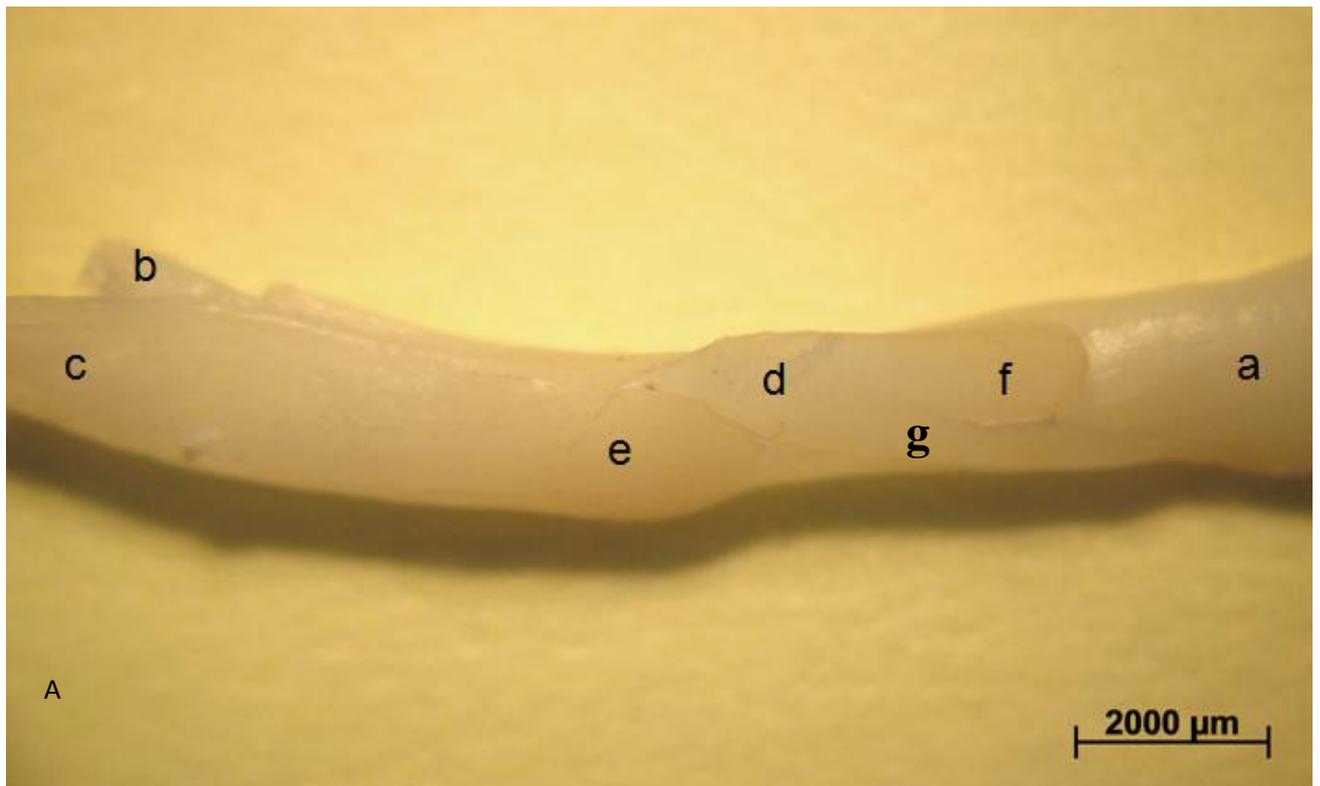


Figura 12 – Vista lateral do GT esquerdo de rato Wistar adulto. **A**, identificação das estruturas anatômicas relacionadas ao GT; **a**, nervo trigêmeo; **b**, nervo oftálmico; **c**, nervo maxilar; **d**, nervo mandibular; **e**, GT; **f**, apêndice mandibular do GT; **g**, raiz motora do nervo trigêmeo; **B**, representação das secções demonstradas da figura 13

A figura 13 ilustra uma sequência de cortes transversais a partir da face dorsal do GT, onde se nota uma continuidade na distribuição dos corpos neuronais nas porções mais dorsais do GT (a, b). No 1/3 médio, observa-se um grande contingente de fibras nervosas separando os pericários ganglionares em dois grupos, um em continuidade com o nervo maxilar e o outro contínuo ao nervo mandibular (d). A parte ventral do GT apresenta apenas os pericários anexos ao nervo maxilar (e, f) e, à medida que se caminha ventralmente, observa-se um aumento na densidade dos corpos neuronais (g, h).

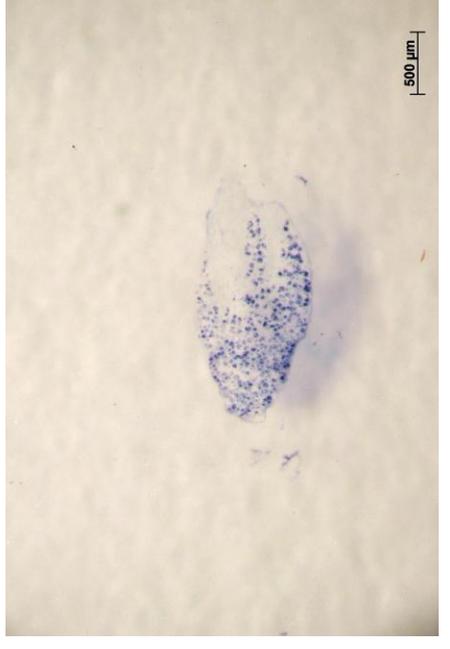
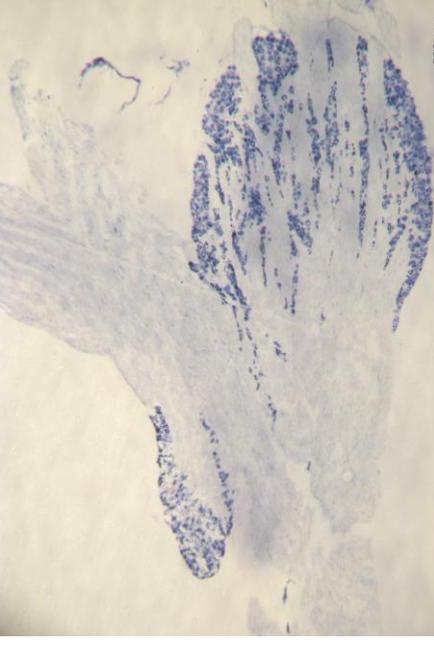
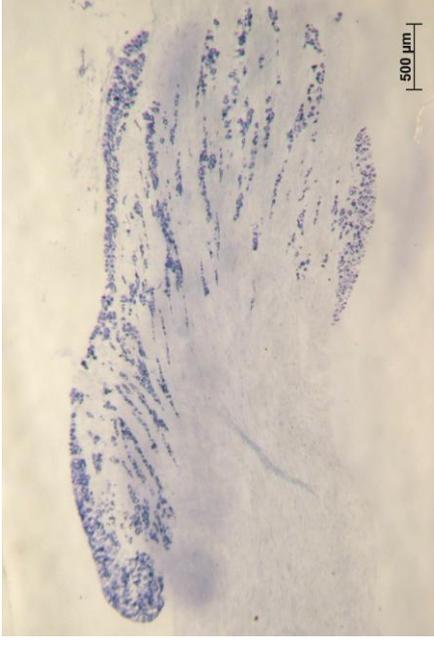
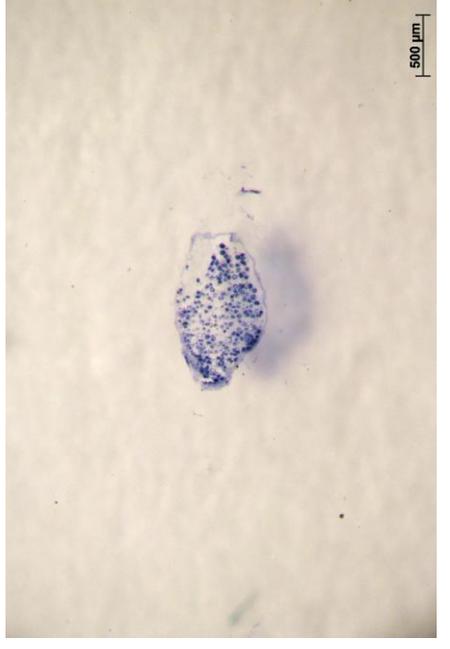
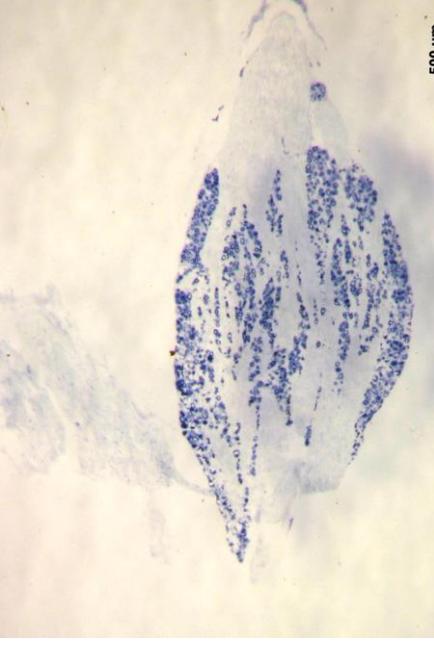
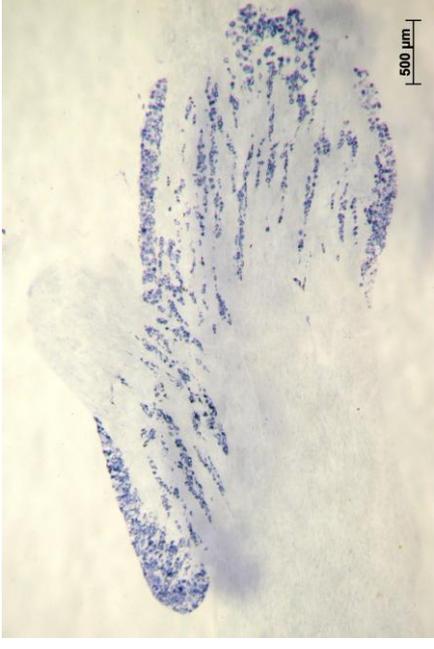
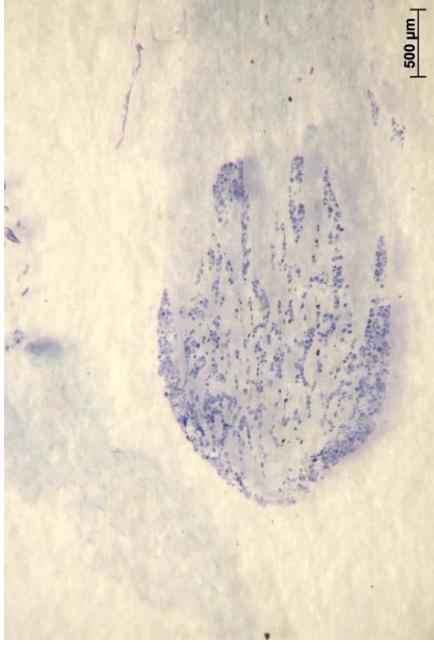
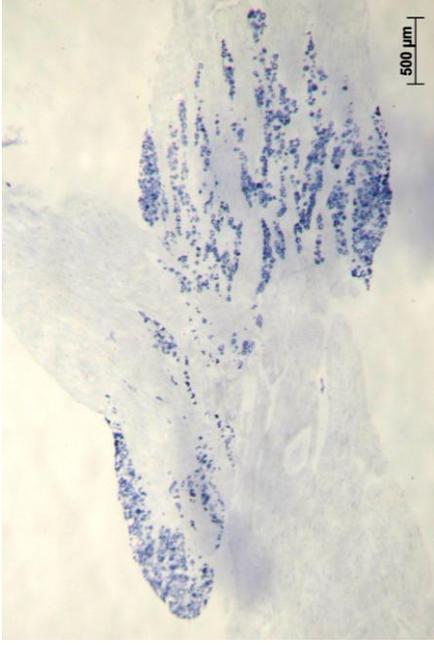


Figura 13 - Cortes transversais do GT esquerdo de rato Wistar corados pelo método histoquímico da nadh-d - Na fileira superior nota-se a continuidade na distribuição dos corpos neuronais (corados em azul). À medida que caminhamos para a parte ventral do GT ele passa a apresentar dois aglomerados distintos separados pelas fibras motoras do n. mandibular (d). Em sua parte ventral, restringi-se a um aglomerado de pericários anexo ao nervo maxilar (e, f, g, h).

4.2 ANÁLISE QUALITATIVA

Neste item, serão relatados os resultados referentes ao tecido conjuntivo ganglionar e à reatividade dos neurônios do GT à SP e ao VIP.

4.2.1 Tecido Conjuntivo Ganglionar

Nos cortes corados pelo Picro-sírius, observou-se, em todos os grupos (**J**, **A**, **I**), sob luz polarizada, a presença de fibras colágenas do tipo I, evidenciadas nas cores amarelo, laranja e vermelho e do tipo III, destacando-se na cor verde. Contudo, a densidade não foi a mesma, uma vez que nos animais do grupo **J** predominaram as fibras colágenas do tipo III; um relativo equilíbrio entre as fibras colágenas dos tipos I e III no grupo **A**; e um nítido predomínio das fibras do tipo I nos animais do grupo **I** (Figura 14).

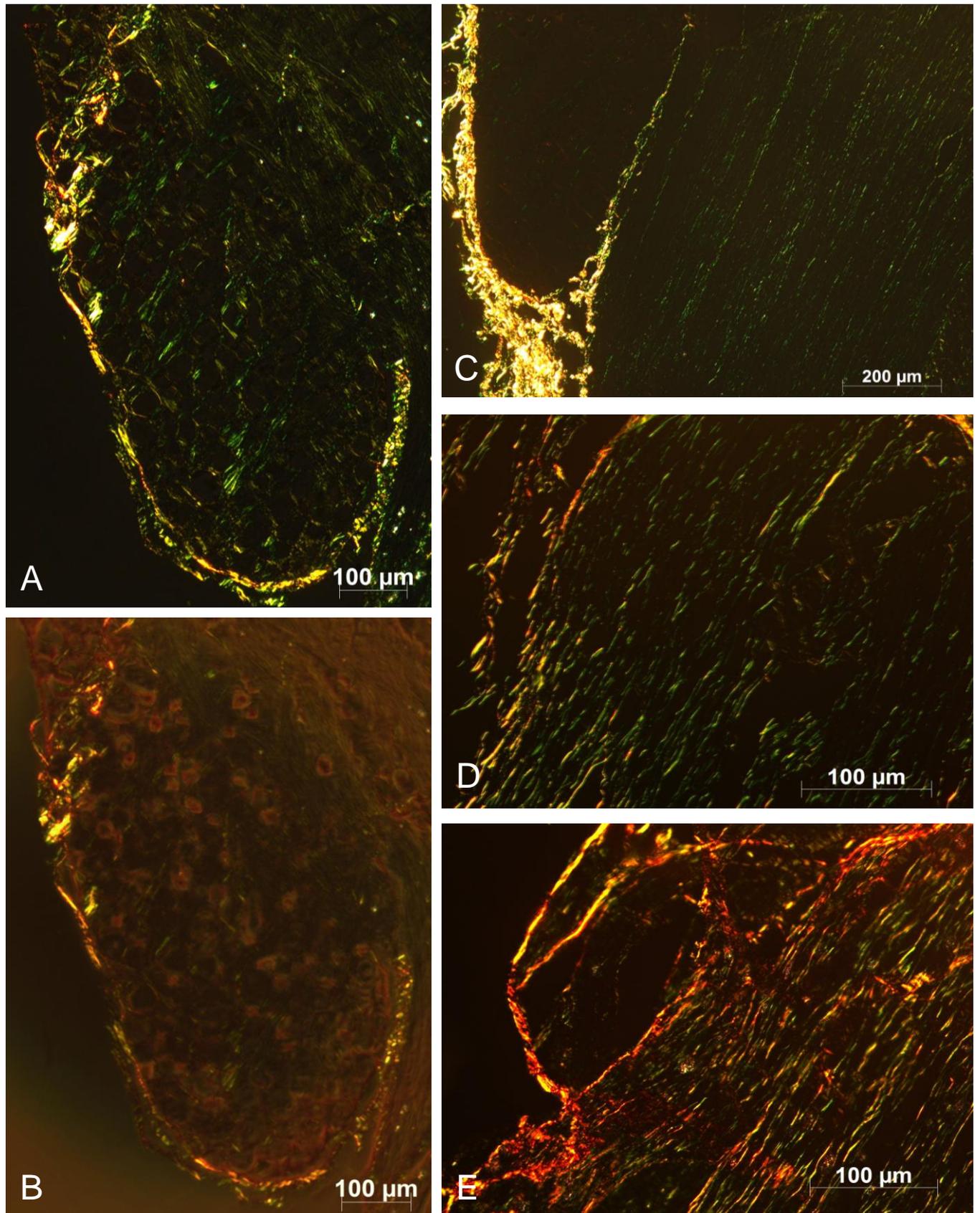


Figura 14 - Fotomicrografia do GT sob luz polarizada (Picro-sírius). **A** - Malha de fibras conjuntivas e em **B**, os pericários envolvidos por ela (grupo J); **C**, Grupo J com predomínio quase total de fibras colágenas tipo III; **D**, Grupo A onde, embora predominem as fibras tipo III, observa-se um aumento na quantidade das fibras colágenas do tipo I; **E**, Grupo I com predomínio total das fibras colágenas do tipo I

4.2.2 Substância P e Peptídeo Intestinal Vasoativo

A avaliação da imunorreatividade dos corpos neuronais do GT à SP e ao VIP obedeceu aos seguintes parâmetros: neurônios de grande, médio e pequeno tamanho; intensamente reativos, fracamente reativos e não reativos. Em linhas gerais, analisando-se qualitativa e conjuntamente as reações (SP e VIP), observaram-se poucos neurônios intensamente reativos, no grupo **J**, sendo os mesmos de pequeno tamanho; os neurônios médios e grandes não exibiram reatividade. No grupo **A**, vários neurônios de pequeno tamanho apresentaram intensa reatividade; alguns médios, fraca reatividade, sendo os neurônios de grande tamanho não reativos à SP e ao VIP. Quanto ao grupo **I**, alguns neurônios pequenos e médios apresentaram-se fracamente reativos, sendo que a maior parte dos pericários apresentou-se não reativos à SP e ao VIP (Figura 15 e 16).

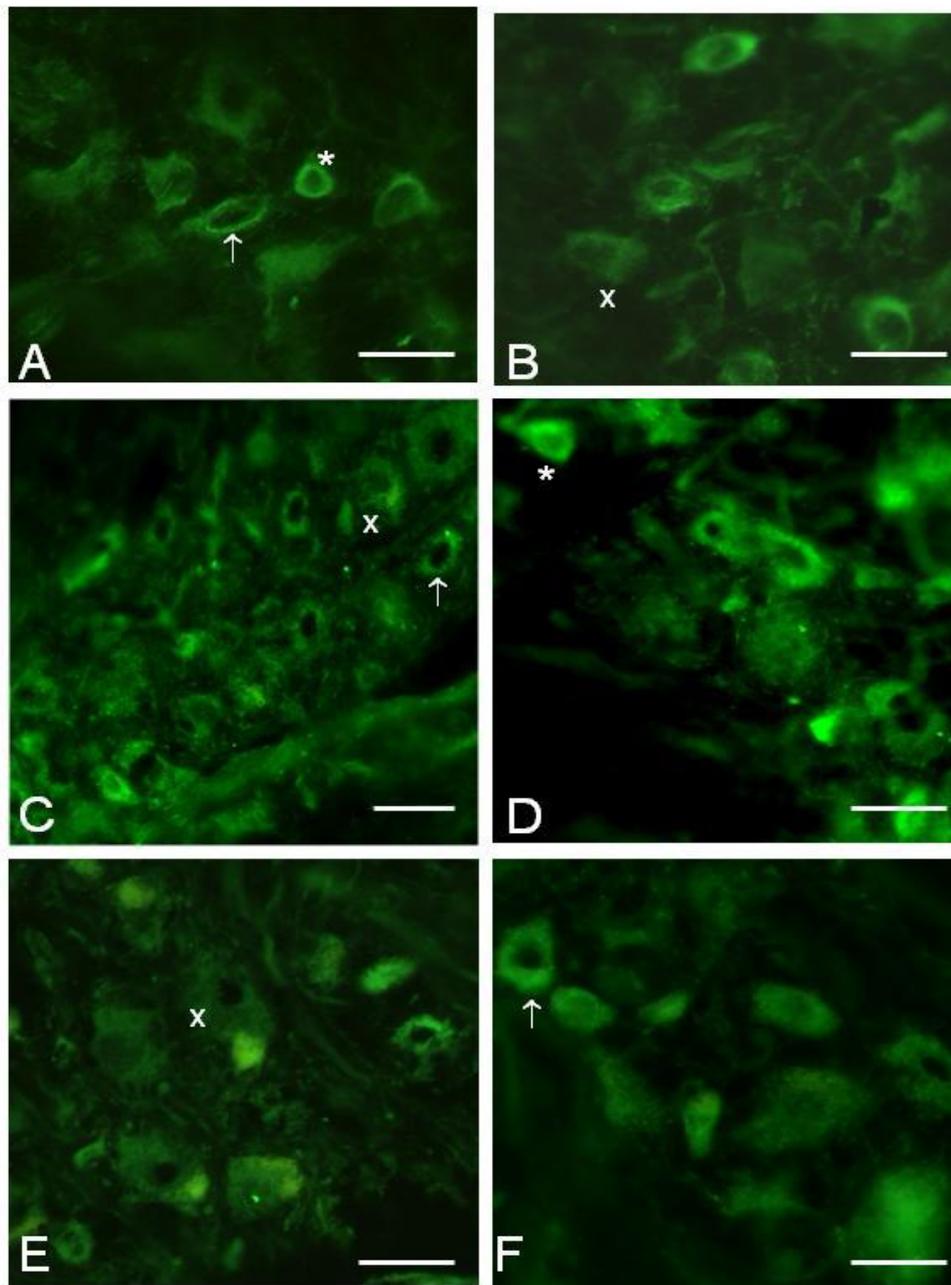


Figura 15 - Imunorreatividade dos CN à SP. Neurônios intensamente reativos (*), fracamente reativos (↑) e não reativos (X). **A e B** grupo J; **C e D** grupo A; **E e F** grupo I (barra de calibração de $25\mu\text{m}^2$)

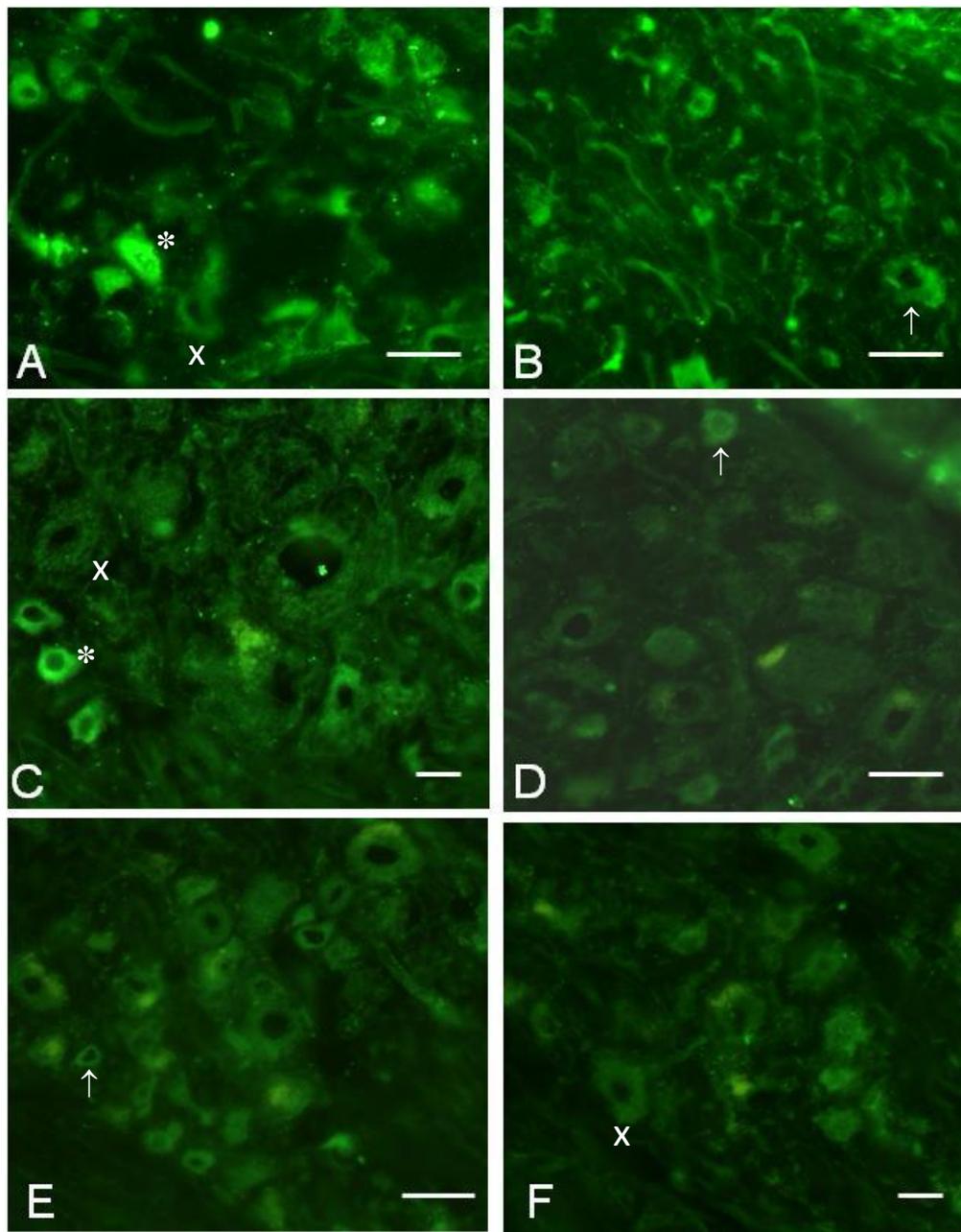


Figura 16 - Imunorreatividade dos CN ao VIP. Neurônios intensamente reativos (*), fracamente reativos (↑) e não reativos (X). **A e B** grupo J; **C e D** grupo A; **E e F** grupo I (barras de calibração de 15 e 25 μm^2)

4.3 ANÁLISE QUANTITATIVA

Neste item, serão relatados os resultados referentes à área do perfil do GT, à área do perfil dos corpos neuronais, à densidade neuronal e das CSG.

4.3.1 Área do Perfil do Gânglio Trigeminal

A área seccional variou de 5,00 mm² a 5,44 mm² no grupo **J**; de 6,11 mm² a 6,47 mm² no grupo **A**; de 6,58 mm² a 6,77 mm² no grupo **I**. A área média dos perfis ganglionares foi de 5,20 mm² (\pm 0,16 mm²) para o grupo **J**, de 6,35 mm² (\pm 0,14mm²) para o grupo **A** e de 6,70 mm² (\pm 0,08 μ m²) para o grupo **I** (Figura17 e Tabela 1).

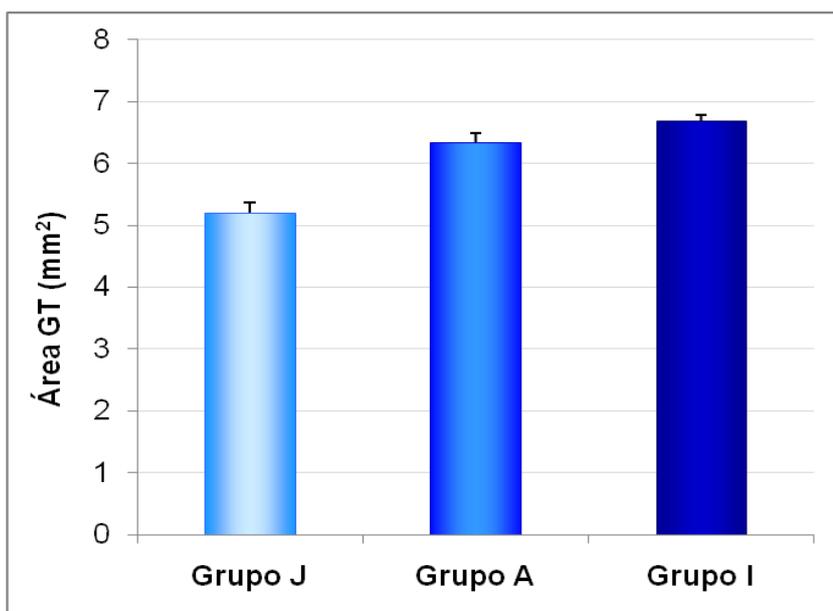


Figura 17 - Representação gráfica da área média do GT

A análise de variância (ANOVA) apontou uma diferença estatística entre os grupos e utilizando-se o teste de comparações pelo método de Tukey, constataram-se estatisticamente diferenças entre todos os grupos ($p < 0,05$), aumentando a área do perfil do GT à medida que o animal envelhece.

4.3.2 Área do Perfil dos Corpos Neurais

A área seccional variou de $111,33 \mu\text{m}^2$ a $1952,28 \mu\text{m}^2$ no grupo **J**; de $174,85 \mu\text{m}^2$ a $2525,53 \mu\text{m}^2$ no grupo **A**; de $178,19 \mu\text{m}^2$ a $1987,98 \mu\text{m}^2$ no grupo **I**. A área média dos perfis celulares foi de $811,44 \mu\text{m}^2$ ($\pm 39,31 \mu\text{m}^2$) para o grupo **J**; de $902,69 \mu\text{m}^2$ ($\pm 52,04 \mu\text{m}^2$) para o grupo **A**; de $800,58 \mu\text{m}^2$ ($\pm 5,59 \mu\text{m}^2$) para o grupo **I** (Figura 19, Tabela 1).

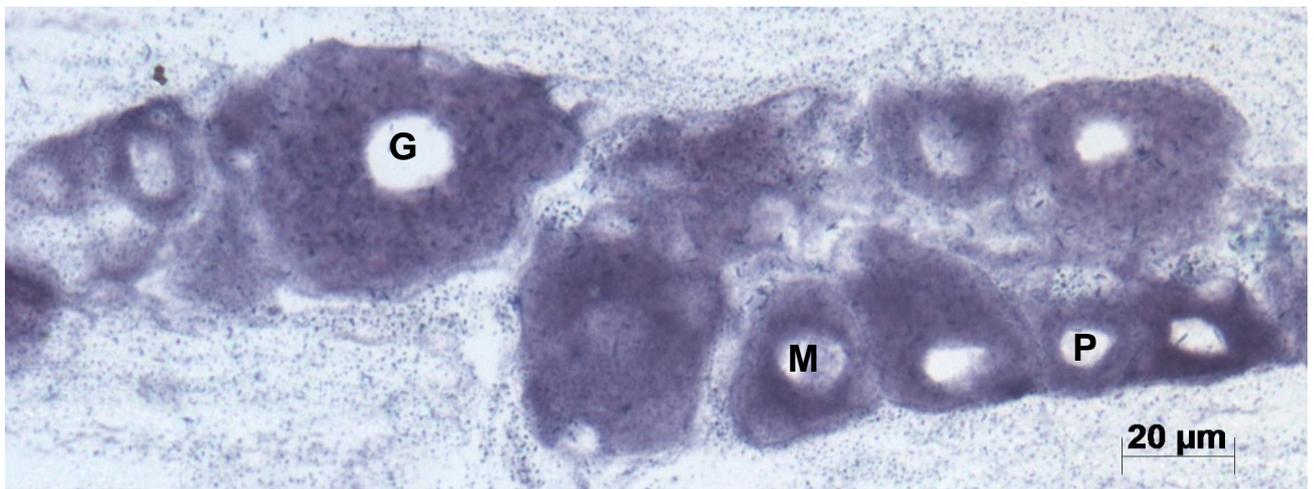


Figura 18 - Coloração histoquímica pela técnica do NADH-d em animal do grupo **J**. A imagem demonstra pericários de tamanho grande (G), médio (M) e pequeno (P)

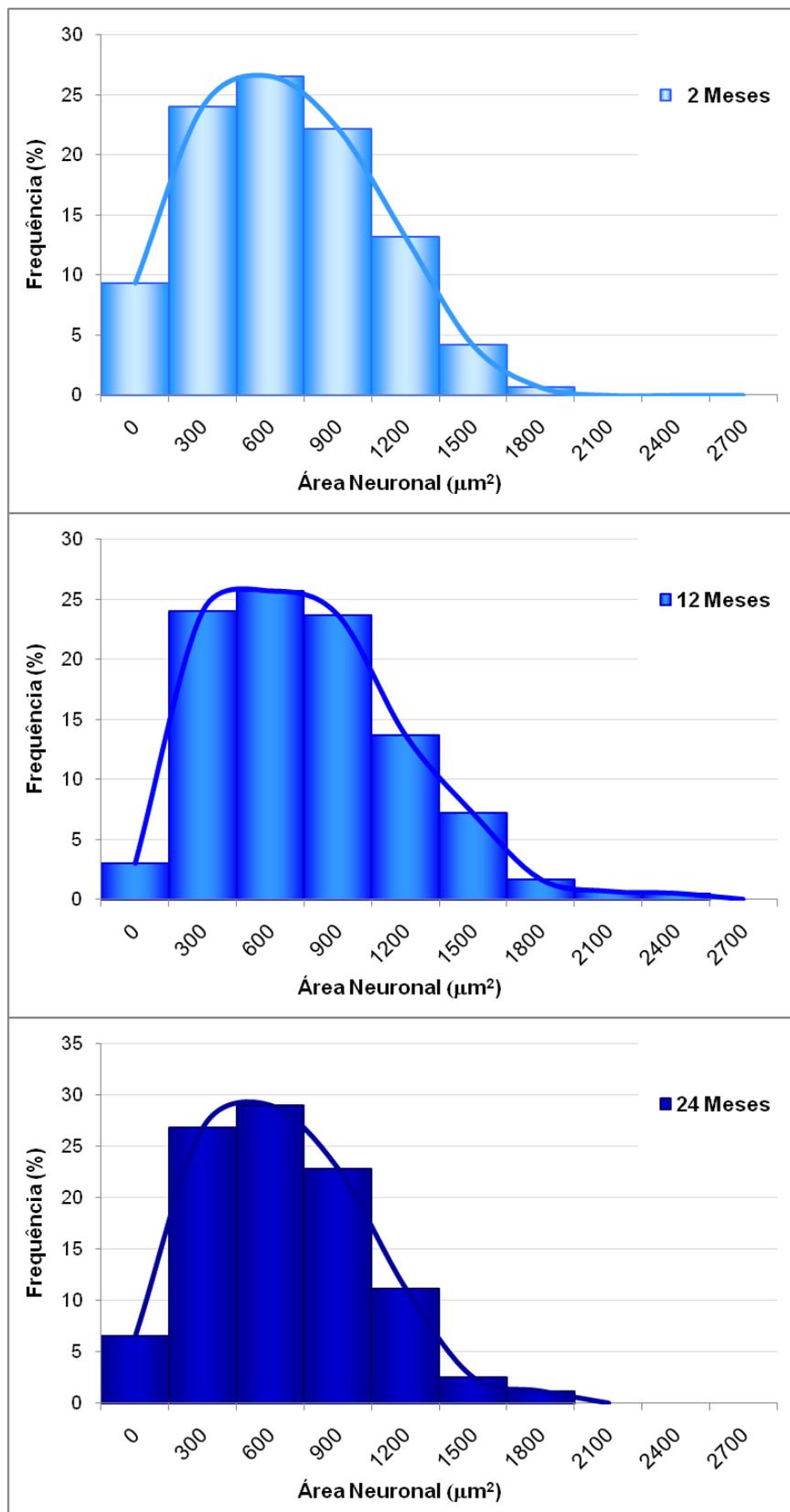


Figura 19 - Histogramas de distribuição referentes à área do perfil dos corpos neuronais do GT reativos a NADH-d

A análise da figura 20 permitiu verificar que a maior concentração neuronal encontra-se no intervalo de $490\mu\text{m}^2$ a $1100\mu\text{m}^2$ para todos os grupos, representando 50,66% dos neurônios do grupo **J**; 49% dos neurônios do grupo **A** e 54,17% dos neurônios do grupo **I**. Abaixo de $490\mu\text{m}^2$, foram encontrados 25,83% dos neurônios do grupo **J**, 20,5% do grupo **A** e 25% do grupo **I**. Áreas neuronais superiores a $1100\mu\text{m}^2$ representaram 23,5% no grupo **J**, 30,5% no grupo **A** e 20,83% no grupo **I** (Figura 20). A classificação em neurônios pequenos (75 a $490\mu\text{m}^2$), médios (490 a $1100\mu\text{m}^2$), e grandes (1100 a $2800\mu\text{m}^2$), seguiu a descrição de Wotherspoon e Priestley (2000).

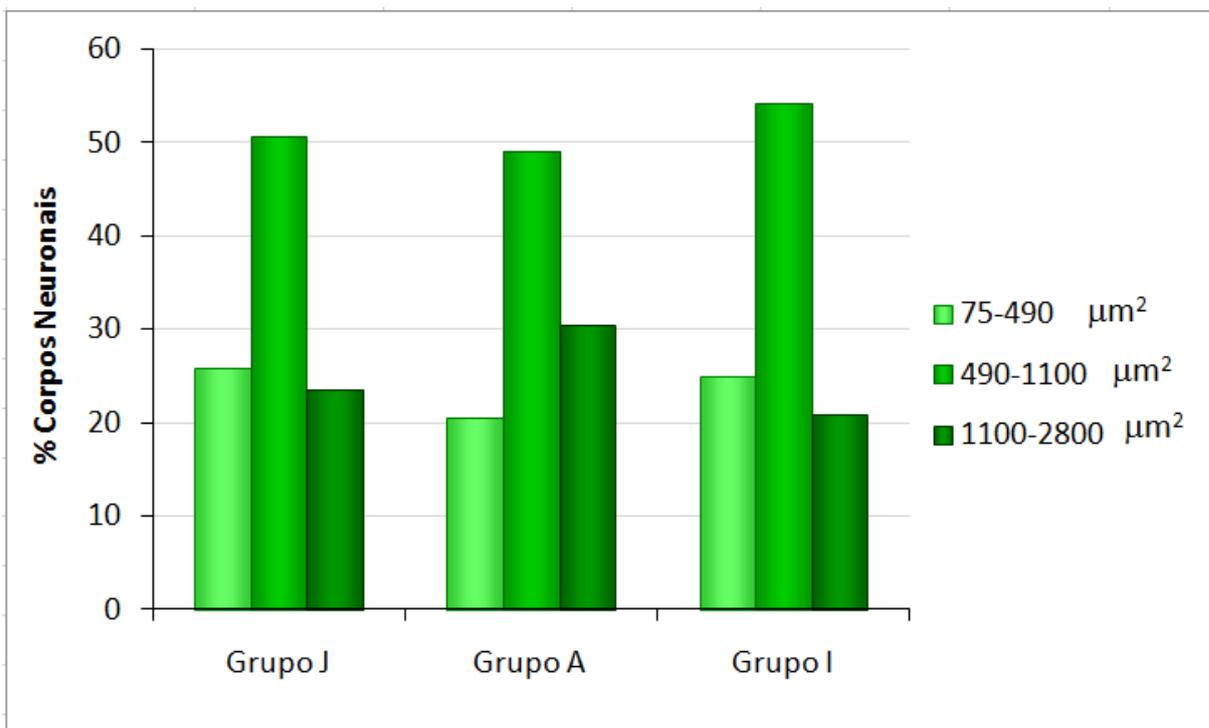


Figura 20 - Representação gráfica da distribuição dos pericários em neurônios pequenos, médios e grandes para os grupos **J**, **A** e **I**. Pequenos, de 75 a $490\mu\text{m}^2$; médios, de 490 a $1100\mu\text{m}^2$; grandes, de 1100 a $2800\mu\text{m}^2$

A análise de variância (ANOVA) apontou uma diferença estatística entre os grupos. Utilizando-se o teste de comparações pelo método de Tukey, constatou-se, estatisticamente, diferença entre os grupos **J** e **A** ($p < 0,05$), e **A** e **I** ($p < 0,05$), porém sem diferença significativa entre os grupos **J** e **I** ($p > 0,05$).

4.3.3 Densidade dos Corpos Celulares dos Neurônios Ganglionares

Na figura 21 e na tabela 1, estão expressos os dados referentes à densidade dos corpos celulares neuronais. Os resultados não demonstraram diferenças entre as áreas cortical lateral (CL), cortical medial (CM) e mandibular anterior (MA), ($p > 0,05$), sendo que a área mandibular posterior (MP) apresentou uma maior percentagem de corpos neuronais (PCN) ($p < 0,05$), enquanto a medular (ME) apresentou uma menor PCN ($p < 0,05$), resultados obtidos para ambos os grupos. Sob o ponto de vista estatístico, observou-se diferença entre os grupos, demonstrando uma maior PCN no grupo **J** ($p < 0,05$) do que nos grupos **A** e **I**, que estatisticamente não diferiram entre si.

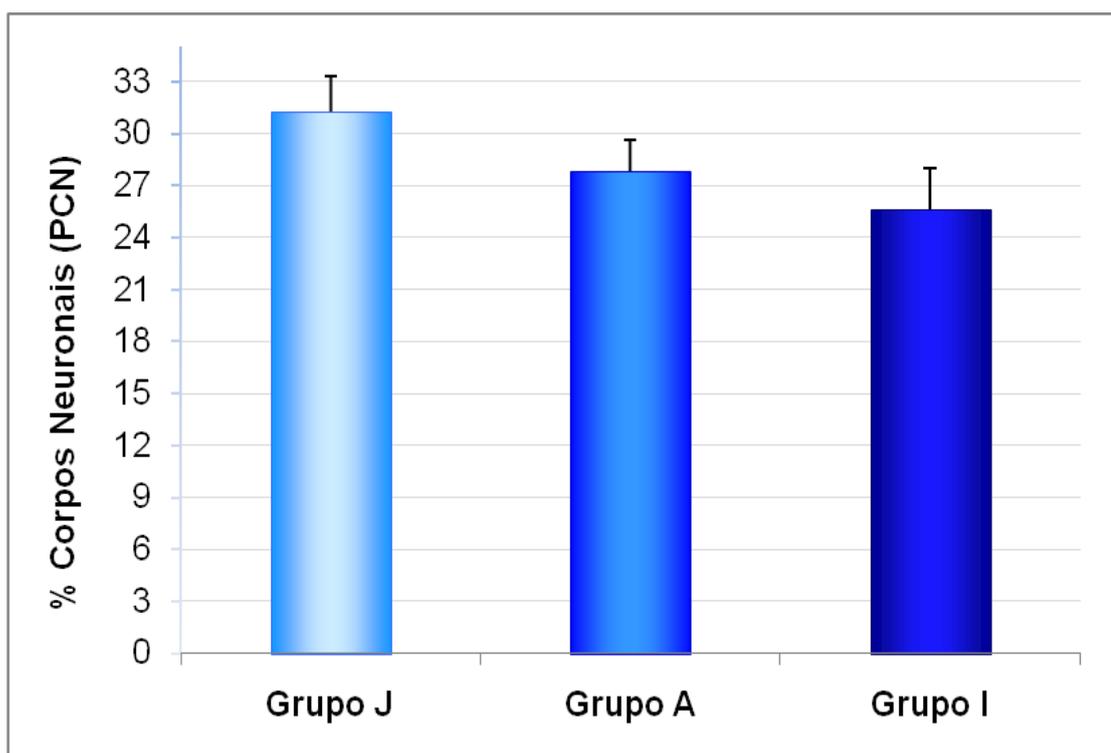


Figura 21 - Representação gráfica da PCN avaliados nos grupos **J**, **A** e **I**

4.3.4 Densidade das Células Satélites Glia

Os dados sobre a densidade das CSG estão expressos na figura 22 e tabela 1. A análise de variância (ANOVA) apontou uma diferença estatística entre os grupos e utilizando-se o teste de comparações pelo método de Tukey, constatou-se estatisticamente diferença entre os grupos **J** e **I** ($p < 0,05$) e **A** e **I** ($p < 0,05$), porém sem diferença significativa entre os grupos **J** e **A** ($p > 0,05$).

Quanto à distribuição, observou-se, em todos os grupos, a formação de envelopes (bainhas) gliais ao redor dos corpos neuronais, sendo que nos grupos **J** e **A**, verificou-se a formação de envelopes envolvendo mais de um corpo neuronal.

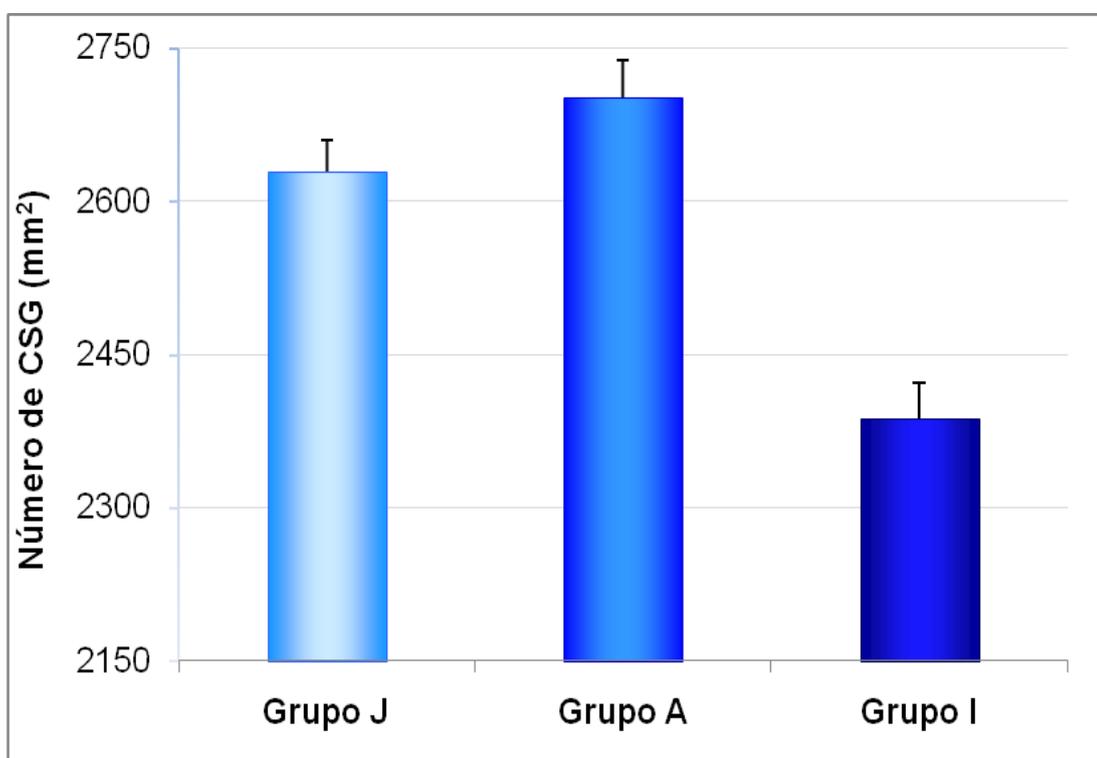


Figura 22 - Representação gráfica da média do número de

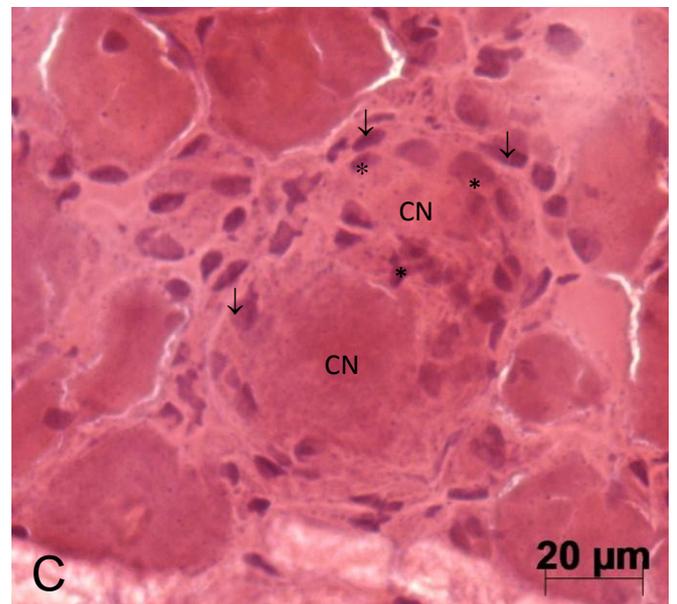
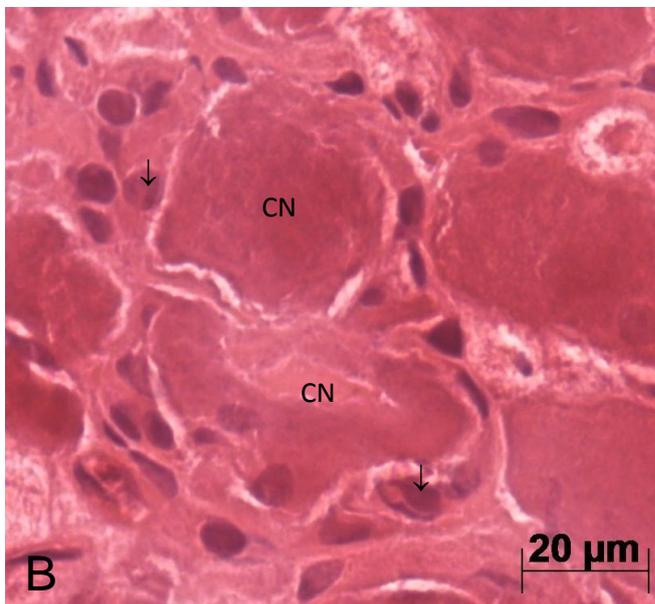
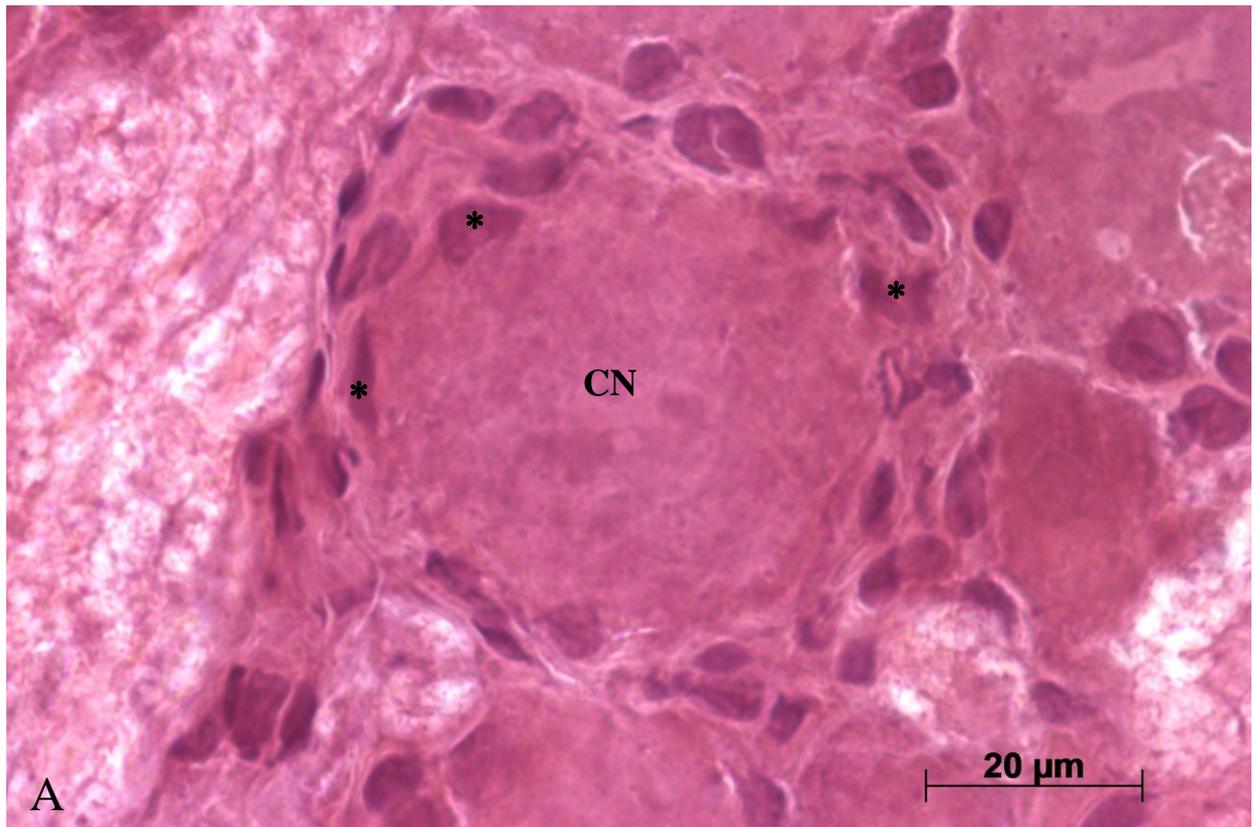


Figura 23 - GT de rato Wistar do grupo A (HE). Em A, corpo neuronal (CN) envolto pelas CSG (*); B, corpos neuronais (CN) envoltos pelas CSG formando um envelope (bainha) glial; C, observa-se ainda os pericários envoltos por um envelope externo (↓) e outro interno (*)

Tabela 1. Principais resultados experimentais

	Grupo J	Grupo A	Grupo I	Resultado
Peso (g)	243,69 ± 10,18	372,89 ± 12,70	458,86 ± 27,94	J < A < I
Área do Perfil dos CN (µm²)	811,44 ± 39,31	902,69 ± 52,04	800,58 ± 5,59	J = I < A
Número de CSG (por mm²)	2628,75 ± 31,23	2701,67 ± 36,24	2387,5 ± 34,95	J = A > I
Área do Perfil do GT (mm²)	5,19 ± 0,16	6,42 ± 0,14	6,73 ± 0,79	J < A < I
PCN (%)	31,26 ± 2,09	27,81 ± 1,83	25,65 ± 2,37	J > A = I

Tabela 2. Percentagem de corpos neuronais de cada área do GT nos grupos **J**, **A** e **I**

Percentagem Corpos Neuronais (PCN)	Grupo J	Grupo A	Grupo I
Área Cortical lateral	30,84 ± 3,53	26,50 ± 2,49	22,57 ± 2,02
Área Cortical medial	31,55 ± 2,04	24,75 ± 3,16	22,46 ± 2,54
Área Mandibular anterior	27,69 ± 2,97	23,24 ± 2,28	26,57 ± 3,31
Área Medular	14,86 ± 1,76	12,95 ± 1,56	10,95 ± 1,47
Área Mandibular posterior	51,34 ± 3,98	51,58 ± 6,30	45,71 ± 4,01

DISCUSSÃO

5.1 ÁREA DO PERFIL DO GÂNGLIO TRIGEMINAL

Sob o aspecto anatômico, o fator idade não determinou alterações quanto à morfologia do GT, ou seja, os gânglios dos animais dos grupos **J**, **A** e **I** apresentaram-se semelhantes quanto à forma. Todavia, quando a área dessas estruturas foi comparada entre os grupos, observou-se um aumento progressivo de acordo com a idade, porém, não de maneira equitativa. Assim, a diferença na área de GT entre os grupos J e A, foi mais acentuada do que a verificada entre os grupos A e I.

Esse comportamento reflete o crescimento normal do sistema nervoso em ratos que, segundo Kaufmann (2000), acontece mais rapidamente nos primeiros meses de vida pós-natal. Isso também é verificado relativamente ao peso do cérebro desses animais por Komárek et al.(2000), que relatam um aumento desse parâmetro em ratos até os 24 meses de vida, indicando um crescimento contínuo.

O fato de se ter verificado um discreto aumento da área do GT no grupo I, e não uma tendência de sua diminuição relativo à idade, como foi descrito por Kruggel (2006) e Fjell et al. (2009) no SNC, poderia refletir um aumento no número total dos neurônios ou das CSG do gânglio, ou mesmo uma tendência ao aumento da área do perfil das células nervosas. Porém, como esses aumentos não foram observados na presente pesquisa, a hipótese mais provável da elevação da área de GT no grupo I poderia ser atribuída a um maior espessamento da bainha de mielina das fibras nervosas, ou mesmo a um aumento do conteúdo colágeno presente no gânglio. Esse fato foi relatado por Sharma et al. (2009), que estudaram os efeitos do envelhecimento sobre o nervo oculomotor e pode ser aceito em relação ao nervo trigêmeo, mesmo sendo o III par craniano essencialmente motor.

Nagai et al.(1999) determinaram no nervo vestibulo-coclear de humanos que o número de axônios não varia com a idade, porém, observaram uma diminuição na área transversal das fibras mielínicas e amielínicas. Moriyama et al. (2007),

avaliando o número de fibras e a área transversal das fibras mielínicas em diferentes nervos durante o processo de envelhecimento, observaram, relacionado ao nervo trigêmeo, uma diminuição nesses dois parâmetros no nervo oftálmico, não havendo contudo diferenças no nervo alveolar inferior. Heasmann e Beynon (1987), em estudos relacionando a morfologia do nervo alveolar inferior à perda dentária e ao processo de envelhecimento, sugeriram que a atrofia do nervo ocorre somente em indivíduos idosos desdentados, permanecendo com as mesmas características morfológicas nos indivíduos jovens e idosos dentados.

Como relatado acima, para os nervos cranianos em geral, mesmo nos nervos sensoriais o envelhecimento provoca alterações distintas, provavelmente, devido aos processos bioquímicos relacionados com a função de cada nervo. Todavia, não se descarta a hipótese de que o aumento da área do perfil do GT, nos animais idosos, possa ser causado por um acréscimo na área transversal das fibras mielínicas que atravessam o GT. Fundamenta essa hipótese a pesquisa de Peters (2009), que relatou um aumento na área das fibras mielínicas em neurônios do SNC durante o processo de envelhecimento devido a fatores de origem degenerativa, sendo o mais comum, rachaduras nas bainhas mielínicas, causando um acúmulo de debris citoplasmáticos. Outro fator relacionado ainda a espessura da bainha de mielina, observado por Peters (2009), é que com o envelhecimento há formação de novas lamelas pelos oligodendrócitos, contribuindo ainda mais para um aumento em sua espessura, porém, não ocorrendo de maneira uniforme para todas elas.

Ainda sobre o aumento da área do perfil do GT nos animais do grupo **I**, outra hipótese estaria relacionada ao componente colágeno da estrutura do GT. De fato, como verificado na presente pesquisa, os indivíduos dos grupos **J** e **A** exibiram grande quantidade de fibras colágenas do tipo III distribuídas de forma relativamente esparsa, enquanto que nos gânglios dos animais do grupo **I**, foi evidente o predomínio de fibras colágenas do tipo I, densamente arranjadas. O trabalho de Sandell e Peters (2001), no nervo óptico de macacos *Rhesus* jovens e idosos, corroboram essas observações, uma vez que os autores notaram um aumento no trabeculado do tecido conectivo fibroso encontrado no interior do nervo, ocupando, conseqüentemente, uma maior área de secção

transversal nos animais mais velhos. O aumento de fibras colágenas do tipo I nas estruturas ganglionares do sistema nervoso, parece mesmo estar relacionado ao processo de envelhecimento, como relatado por De Souza et al. (1993) e Gomes, De Souza e Liberti (1997), que verificaram essa característica nos gânglios do plexo mioentérico, respectivamente, do intestino delgado e do intestino grosso de humanos.

5.2 ÁREA DO PERFIL DOS CORPOS NEURONAIS

Sua variabilidade foi grande nas amostras da presente pesquisa, uma vez que foram encontrados neurônios com $111,33 \mu\text{m}^2$ (grupo **J**) até neurônios com $2525,53 \mu\text{m}^2$ (grupo **A**).

Segundo Pena et al. (2001), o tamanho do corpo neuronal parece ser determinado pela atividade de transcrição da célula. Resultados semelhantes foram encontrados por Schmidt e Schibler (1995) em células não neuronais como nos hepatócitos e timócitos. Uma correlação entre o tamanho do pericário e o metabolismo celular foi estudado por Sato, Burgess e Mcilwain (1994), em motoneurônios de rãs, indicando que os neurônios com uma maior área de perfil precisam de uma atividade de transcrição mais elevada para manter seu tamanho.

Por sua vez, a taxa de transcrição está diretamente relacionada com a magnitude das interações entre o neurônio e seus alvos, o que contribui para a regulação da atividade metabólica e, conseqüentemente, do tamanho do pericário (MAGISTRETTI, 1999). Fundamenta essa afirmação a pesquisa de Lu, Chen e Poon (2009), que submeteram ratos a uma exposição sonora prolongada e constataram um acréscimo de 1/3 na área do perfil dos neurônios corticais da área auditiva.

Os resultados da presente pesquisa demonstram que, relativamente ao grupo A ($902,69 \pm 52,04 \mu\text{m}^2$) a área do perfil dos neurônios dos grupos J ($811,44 \pm 39,31 \mu\text{m}^2$) e I ($800,58 \pm 5,59 \mu\text{m}^2$), diminuíram. Se, por um lado, os dados do grupo J indicam neurônios ainda em desenvolvimento por outro, o que se observou no grupo I é sugestivo de perda na arborização axonal e nas espinhas dendríticas. Essas análises corroboram com Esiri (2007), ao indicar que o tamanho do corpo neuronal reflete a extensão dos dendritos e da arborização axonal e, que, quanto mais extensa, maior será o pericário para suprir um aumento na síntese proteica e na produção de energia.

Fundamentando ainda essa hipótese, Bhatt, Zhang e Gan (2009), observaram um grande desenvolvimento das espinhas sinápticas na vida pós-natal, permanecendo relativamente constantes na idade adulta até uma perda relacionada ao envelhecimento.

Wotherspoon e Priestley (2000), em acordo aos estudos de Rambourg et al. (1983) realizados no gânglio sensorial do nervo espinal, classificaram os neurônios do GT de ratos Wistar, de acordo com sua área, em células do tipo C, (pequenas, com uma área de perfil de 75 a $490 \mu\text{m}^2$); células do tipo B (médias, com área de perfil entre 490 a $1100 \mu\text{m}^2$) e células do tipo A (grandes, com uma área de perfil entre 1100 a $2800 \mu\text{m}^2$). Associaram as células do tipo A e B às fibras mielínicas, carreando impulsos elétricos provenientes principalmente de mecanorreceptores e a maioria das células do tipo C às fibras amielínicas, conduzindo impulsos elétricos provenientes principalmente de nociceptores (HUNT; MANTYH; PRIESTLEY, 1992; WOTHERSPOON; PRIESTLEY, 2000; PENA et al., 2001).

Johansson, Hildebrand e Povlsen (1992) constataram que 70% das fibras do nervo alveolar inferior de ratos adultos são fibras mielínicas. Dubbelmam, De Bakker e Bout (1995) quantificaram as fibras mielínicas e amielínicas dos nervos oftálmico e mandibular em galinhas adultas, demonstrando que 71,5% dos axônios são mielinizados.

Vivo et al. (2006) quantificaram as fibras mielínicas e amielínicas dos nervos oculomotor, troclear e abducente em cães adultos e, observaram, 85,9% de

fibras mielínicas para o nervo oculomotor, 83,99% para o nervo troclear e 91,67% de fibras mielínicas para o nervo abducente.

Como demonstrado por Johansson, Hildebrand e Povlsen (1992) e Dubbelmam, De Bakker e Bout (1995), nos nervos sensoriais, cerca de 70% das fibras são mielínicas, enquanto nos nervos motores pesquisados por Vivo et al. (2006), elas representam mais de 80%. Associando-se à classificação descrita por Hunt, Manty e Priestley (1992), Wotherspoon e Priestley (2000) e Pena et al (2001), de que as células do tipo A e B são mielínicas, os resultados da presente pesquisa indicam 74,17% de fibras mielínicas para o grupo **J**, 79,5% para o grupo **A** e 75% para o grupo **I**. Atravessando o GT, encontra-se um pequeno contingente de fibras motoras e uma grande quantidade de fibras sensoriais, o que remete a valores intermediários entre os achados pelos autores citados.

Como já descrito, há relatos de ocorrência de uma diminuição das fibras mielínicas em alguns dos nervos cranianos com o avanço da idade (SANDELL; PETERS, 2001; MORIYAMA et al., 2007; SHARMA et al., 2009) e no SNC (MARNER et al., 2003; PETERS, 2009), o que foi observado no presente estudo, com a menor quantidade de células dos tipos A e B no grupo **I**, comparativamente ao grupo **A**.

5.3 DENSIDADE DE CORPOS CELULARES DOS NEURÔNIOS GANGLIONARES

Os resultados aqui descritos para esse fator demonstraram a existência de uma organização heterogênea no que concerne à distribuição dos corpos neuronais no interior do GT. Junqueira e Carneiro (1974) descreveram, nos gânglios sensoriais, duas regiões: uma “zona cortical”, localizada na periferia do gânglio e com maior densidade neuronal, e uma “zona medular” ou central, onde predominam as fibras nervosas, com alguns poucos pericários isolados em pequenos grupos. Essa disposição neuronal foi observada no GT de todos

os grupos da presente pesquisa, onde a maior densidade neuronal foi detectada nas áreas CL e CM, além do anexo mandibular do GT. Das cinco áreas estudadas, a que apresentou uma menor PCN foi a região medular, confirmando a clássica descrição de Junqueira e Carneiro (1974), de que a região medular é o local preferencial de passagem das fibras neuronais.

Klein et al. (1986), estudando o GT de ratos neonatos e adultos, observaram uma organização somatotópica dos neurônios ganglionares nos dois grupos. Na presente pesquisa além de se confirmar que a disposição dos corpos neuronais no GT efetivamente não difere nos animais dos grupos **J** e **A**, o mesmo pode ser considerado válido para os animais do grupo **I**, no qual a disposição neuronal permaneceu a mesma observada nos animais adultos e jovens.

Todavia, considerando-se o grupo **J** como referência, com o desenvolvimento (grupo **A**) e o envelhecimento (grupo **I**), a densidade neuronal diminuiu progressivamente em todas as regiões ganglionares estudadas; porém, estatisticamente, animais adultos e idosos não diferiram entre si (Figura 21).

Até a década de 90, a ideia mais difundida era que, com o envelhecimento, uma grande quantidade de neurônios era perdida no córtex cerebral, resultado encontrado por Brody (1955), e que foi estendido para as demais áreas do SN. Essa hipótese, não mais aceita, perdeu espaço para trabalhos recentes que apontam para uma menor perda neuronal, mesmo em diferentes regiões do SN (HSU; PENG, 1978; PAKKENBERG; GUNDERSEN, 1997; BERNARD et al., 2009).

Todavia, o processo do envelhecimento pode ainda não acarretar diferenças na densidade neuronal, como relatam Wang et al. (2009), que estudaram as camadas corticais de ratos jovens e idosos. Nessa pesquisa os autores demonstraram que apesar da densidade neuronal permanecer constante com a idade, o que se detectou foi a redução significativa do comprimento total dos dendritos e a densidade das espinhas dendríticas

Como exposto, a PCN varia de maneira diferenciada de acordo com a região do SN, podendo essa diferença estar relacionada à função neuronal da área

estudada (SALAT et al., 2004), à sua origem filogenética (GRIEVE et al., 2005; KALPOUZOS et al., 2009), ao modelo de estudo (HOF; MORRISON, 2004), à metodologia empregada (PAKKENBERG; GUNDERSEN, 1997) ou mesmo aos hábitos de vida de cada indivíduo (BARTZOKIS, et al., 2001).

Até o presente relato, considerando-se a gama de variações que podem influenciar na aceitação do fator idade como determinante da diminuição do número de neurônios, novas frentes de estudo se fazem necessárias, haja vista que alterações sensoriais próprias do processo de envelhecimento possam estar relacionadas não à perda neuronal, mas a uma diminuição na arborização dendrítica, associada a uma perda das espinhas sinápticas.

5.4 DENSIDADE DAS CÉLULAS SATÉLITES GLIAS

Gunjigake et. al, (2009) descreveram no GT dois tipos de células glias: as células de Schwann, responsáveis pela formação e manutenção da bainha de mielina dos axônios neuronais e as células satélites glias (CSG).

As CSG posicionam-se ao redor do corpo neuronal, carreando numerosas moléculas neuro-ativas, como o trifosfato de adenosina e a bradiquinina, além de receberem informações neuronais e de outras CSG. Possuem, desse modo, capacidade de responder às mudanças fisiológicas que ocorrem no GT, influenciando a atividade neuronal e alterando o microambiente ganglionar (PANNESE, 2002; HANANI, 2005).

Na presente pesquisa, verificou-se uma camada de CSG ao redor dos pericários dos neurônios do GT (Figura 23), como descrito por Martinelli et al. (2006) nos gânglios sensoriais espinais, onde cada corpo neuronal está envolvido por um conjunto de CSG . Segundo Pannese (1981), a bainha de CSG tem por função fornecer uma sustentação física ao pericário, além de atuar como uma barreira protetora para cada soma neuronal.

Pannese et al. (1996) descreveram a possibilidade de encontrar dois ou mais corpos neuronais, envolvidos por uma bainha comum CSG, sendo essa configuração mais frequente nos animais jovens do que nos idosos, podendo ainda, cada corpo neuronal incluído nesse conjunto, possuir uma segunda bainha, mais intimamente relacionada ao seu pericário.

A configuração descrita por Martinelli et al. (2006) foi a predominante nas lâminas de todos os grupos aqui estudados (Figura 23), porém, a relatada por Pannese et al. (1996) foi observada em poucas fotomicrografias, estando restritas aos animais do grupo **J** e **A** (Figura 23). Como foi detectada uma maior quantidade de CSG nos grupos **J** e **A**, sugere-se que a formação de bainhas maiores, que contenham dois ou mais corpos neuronais, possa estar associada a uma maior quantidade de CSG e, como há uma redução dessas células nos animais do grupo **I**, talvez seja esse o fato de não se verificar bainhas gliais grandes em indivíduos idosos.

Ledda, De Palo e Pannese (2004), identificaram nos gânglios espinais, estudando duas espécies de répteis e três espécies de mamíferos, que o número de CSG aumenta à medida que aumenta o volume dos corpos neuronais aos quais estão associados. Além disso, constataram também que quanto menor o volume do pericário neuronal, menor é a quantidade de CSG ao seu redor.

Hipótese provável para essa relação entre aumento na área/volume dos corpos neuronais acompanhado também no aumento do número de CSG é que quanto maior o corpo neuronal, maiores são as suas necessidades metabólicas (HANANI, 2005), haja vista que neurônios com uma maior área de perfil precisam de uma atividade de transcrição mais elevada para manter seu tamanho (SATO; BURGESS; MCILWAIN, 1994). Como as CSG suprem em parte as necessidades metabólicas dos corpos neuronais, quanto maior o pericário maior será o número de CSG.

Resultados como os de Ledda, De Palo e Pannese (2004) podem ser considerados verdadeiros para a presente pesquisa visto que a área do perfil dos corpos neuronais foi maior no grupo **A** relativamente aos demais grupos

(Figura 20 e Tabela 1), sendo ainda encontrada nesse grupo uma maior quantidade de CSG em comparação ao grupo I, este, com a menor quantidade de CSG entre os grupos estudados (Figura 22 e Tabela 1). Fundamenta ainda os resultados dessa pesquisa os achados de Martinelli et al. (2006), que estudando as CSG nos gânglios espinais sensoriais em coelhos jovens, adultos, velhos e extremamente velhos, notaram uma redução no número dessas células apenas nos animais extremamente velhos.

A redução nas CSG encontrada na presente pesquisa parece acompanhar o volume reduzido na área do perfil neuronal, remetendo a uma diminuição na atividade metabólica dos corpos neuronais com uma conseqüente diminuição da bainha glial, uma vez que as CSG têm por função dar suporte às atividades neuronais.

Resultados discrepantes têm sido descritos na literatura, porém. No SNP, Carney e Lyon (1990) não encontraram diferenças nas CSG do gânglio vestibular relativamente aos ratos jovens e idosos. Mansour et al. (2008), estudando os astrócitos na retina de ratos Wistar de 3, 9 e 12 meses, observaram uma diminuição no número dessas células no grupo de 12 meses.

Em relação ao SNC, há relatos de aumento no número de células gliais (CONDE; STREIT, 2006) em contrastes com outros autores que não observaram diferenças em seu número (STURROCK, 1989; PETERS; JOSEPHSON; VINCENT, 1991).

Como descrito por diferentes autores, as CSG podem aumentar, diminuir ou mesmo se manterem constantes de acordo com a região do SN onde se localizam, haja vista, que tanto no SNP quanto no SNC, cada região desempenha um papel peculiar, e durante o processo de envelhecimento, suas características morfológicas e neuroquímicas alteram de maneiras diferentes para cada região.

5.5 SUBSTÂNCIA P

A SP é um neurotransmissor responsável, entre outras coisas, pela modulação e sensação dos estímulos dolorosos, podendo ter diferentes funções de acordo com sua localização no SN (Wu et al., 2005).

A população de células imunorreativas à SP no GT é diferente para cada animal (SHIN et al., 2003), sendo de cerca de 10 a 20% nos ratos (TORNWALL, 1994), 24,63% em cabras (SHIM et al., 2003) e de 12,8 a 32,6% em humanos (PROŚBA-MACKIEWICZ; ZÓŁTOWSKA; DZIEWIATKOWSKI, 2000). No presente estudo, muito embora a imunorreatividade à SP tenha sido estudada sob o aspecto qualitativo, detectou-se que apenas um pequeno número de células do GT são reativas a este peptídeo. Contudo, Del Fiaco et al. (1990), estudando GT humanos, relataram que a percentagem de células imunorreativas à SP diminui com a idade, sendo cerca de 24% em recém nascidos e 17 % em adultos. Em acordo com esses autores, observou-se um decréscimo da imunorreatividade entre os grupos **A** e **I**, todavia nos animais do grupo **J**, qualitativamente, a imunorreatividade também foi menor se comparada ao grupo **A**. Muito embora na presente pesquisa não se tenha utilizado animais neonatos, pode-se inferir que essa diferença está relacionada ao fator idade dos espécimes de cada trabalho.

Quanto ao tamanho das células imunorreativas à SP, Lazarov (1994), relatou em gatos, apenas aquelas de pequeno tamanho, enquanto Del Fiaco et al. (1990) verificaram em humanos, células imunorreativas de pequeno e médio tamanho. Ainda, Prośba-Mackiewicz, Zółtowska e Dziewiatkowski (2000), observaram também em humanos e sem distinção, células de pequeno, médio e grande tamanho imunorreativas à SP. Os resultados qualitativos do presente trabalho sinalizam intensa imunorreatividade predominante para células de pequeno tamanho nos grupos **J** e **A**, muito embora as de médio tamanho também tenham se destacado no grupo **A**.

Em acordo com Shin et al. (2003), que sugerem que quanto maior o número de células imunorreativas à SP maior a sensibilidade do animal, pode-se sugerir que os animais do grupo **A** são aqueles que tendem a possuir uma maior sensibilidade facial.

Para Wotherspoon e Priestley (2000), as células nervosas do tipo C possuem uma pequena área de perfil, que varia de 75 a 490 μm^2 e estão associadas, em sua maioria, às fibras amielínicas, carreando impulsos elétricos provenientes principalmente de nociceptores (HUNT; MANTYH; PRIESTLEY, 1992; WOTHERSPOON; PRIESTLEY, 2000; PENA et al., 2001). Se a SP está diretamente relacionada à condução dos estímulos dolorosos e as células responsáveis por essa transmissão são os neurônios do tipo C, os resultados da presente pesquisa que detectou intensa imunorreatividade nos neurônios pequenos, estão de acordo com Del Fiaco et al. (1990) e Lazarov (1994).

5.6 PEPTÍDEO INTESTINAL VASOATIVO

O VIP é um polipeptídeo, que foi isolado pela primeira vez no duodeno de porcos (SAID; MUTT, 1970). Desde sua descoberta, porém, sua distribuição foi relatada em várias partes do organismo sendo encontrado em várias regiões do SNC, em especial, no neocórtex, no hipocampo e no hipotálamo (BENAGIANO et al, 2009). Também detectado no SNP, como por exemplo, no plexo mioentérico (MONGARDI-FANTAGUZZI et al., 2009), no plexo cardíaco (KUNCOVÁ; SLAVÍKOVÁ; REISCHIG, 2003) e no GT (KUMMER; HEYM, 1986; DEL FIACCO; QUARTU, 1994).

Como já descrito para a SP, muito embora a avaliação para o VIP no presente estudo tenha sido qualitativa, de fato detectou-se um número reduzido de células imunorreativas a esse neurotransmissor, que foi descrito também em pequena quantidade de neurônios (5%) por Lazarov (2002) no GT.

Comparativamente, notou-se no presente estudo uma maior imunorreatividade nos neurônios dos animais do grupo **A**, seguidos dos grupos **J** e **I**, sendo os neurônios de menor tamanho (grupo **J** e **A**) e médio tamanho (grupo **A**) os intensamente imunorreativos.

O peptídeo ativador da adenilato-ciclase pituitária (PACAP) é uma substância similar ao VIP e está estreitamente relacionado a ele (LAZAROV, 2002). Moller et al. (1997) e Tajti et al. (1999), observaram que o PACAP está presente apenas nas células pequenas e médias do GT, não sendo observado nas células de grande tamanho.

Posto que o PACAP e o VIP são peptídeos da mesma família, e utilizam receptores semelhantes como o VIP₁ (SREEDHARAN et al., 1993), os dados desta pesquisa apontam na mesma direção que os relatados por Moller et al. (1997) e Tajti et al. (1999), de que apenas aqueles neurônios de menor área são imunorreativos ao VIP. Fundamentando essa afirmação, Kummer e Heym (1986) também identificaram reatividade apenas nos neurônios de pequeno tamanho, em estudo realizado com o GT de cobaias.

Finalizando, Lazarov (1994) descreve que as células do GT imunorreativas ao VIP e à SP são muito semelhantes, no que diz respeito a sua forma, à distribuição e tamanho, resultados semelhantes encontrados nesta pesquisa.

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Pela análise acerca dos dados frente à metodologia proposta, é permitido concluir, a respeito das alterações determinadas pelos processos de desenvolvimento e envelhecimento no gânglio trigeminal de ratos Wistar, que:

- 1- A morfologia do GT não se alterou com a idade.
- 2- A área do perfil do GT aumentou com o processo de envelhecimento.
- 3- Houve um predomínio, nos gânglios de animais idosos, das fibras colágenas do tipo I relativamente às do tipo III; estas, predominantes nos animais jovens.
- 4- A imunorreatividade à SP e ao VIP destacou-se nos neurônios com menor perfil celular, não ocorrendo diferenças qualitativas entre os grupos.
- 5- A área do perfil dos corpos celulares dos neurônios do GT apresentou-se maior nos animais adultos (grupo **A**) do que nos demais grupos (**J** e **I**), que não apresentaram diferenças estatísticas entre si.
- 6- Em todos os grupos predominaram neurônios de tamanho médio, com área do perfil celular entre 490 e 1100 μm^2 .
- 7- A densidade dos corpos neuronais foi maior nos animais jovens.
- 8- A densidade entre os animais adultos e idosos não diferiu estatisticamente, muito embora tenha sido detectada uma tendência a diminuição nos animais idosos.

9- A densidade das células satélites glias foi maior nos animais jovens e adultos, diminuindo nos animais idosos.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- AKAMATSU, F. E.; DE-SOUZA, R. R.; LIBERTI, E. A. Fall in the number of intracardiac neurons in aging rats. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 109, n. 3, p. 153-161, 1999.
- ANDRETTA, E. Bartolomeo Eustachi, the compass and the cartography of the human body. **Quaderni Storici**, v. 44, n. 1. p. 93, 2009.
- APUZZO, M. L. J. The Legacy of Galen of Pergamon. **Neurosurgery**, v. 47, n. 3, p. 545, 2000.
- BARTZOKIS, G.; BECKSON, M.; LU, P. H.; NUECHTERLEIN, K. H.; EDWARDS, N.; MINTZ, J. Age-related changes in frontal and temporal lobe volumes in men: a magnetic resonance imaging study. **Archives of General Psychiatry**, v. 58, n. 5, p. 461-465, 2001.
- BEHMER, A. O.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Edart, 1976.
- BELL, C. **The anatomy and physiology of the human body**. 3. ed. New York: Collins and Co., 1817, v. 2, p. 367.
- BENAGIANO, V.; FLACE, P.; LORUSSO, L.; RIZZI, A.; BOSCO, L.; CAGIANO, R.; AMBROSI, G. Vasoactive intestinal polypeptide immunoreactivity in the human cerebellum: qualitative and quantitative analyses. **Journal of Anatomy**, v. 251, n. 3, p. 256-266, 2009.
- BERNARD, C. E.; GIBBONS, S. J.; GOMEZ-PINILLA, P. J.; LURKEN, M. S.; SCHMALZ, P. F.; ROEDER, J. L.; LINDEN, D.; CIMA, R. R.; DOZOIS, E. J.; LARSON, D. W.; CAMILLERI, M.; ZINSMEISTER, A. R.; POZO, M. J.; HICKS, G. A.; FARRUGIA, G. Effect of age on the enteric nervous system of the human colon. **Neurogastroenterology and Motility**, v. 21, n. 7, p. 746-e46, 2009.
- BHATT, D. H.; ZHANG, S.; GAN, W. B. Dendritic spine dynamics. **Annual Review of Physiology**, v. 71, p. 261-282, 2009.
- BRODY, H. Organization of the cerebral cortex. A study of aging in the human cerebral. **Journal of Comparative Neurology**, v. 102, n. 2, p. 511-556, 1955.
- BRUNI, A. C.; ZIMMERL, U. **Anatomia degli animali domestici**. 2. ed. Milano: Francesco Vallardi, 1947. p. 571.
- BUCK, A. H. **The dawn of modern medicine**. Londres: Yale University Press, 1920. p. 65.
- BUSCHMANN, M. B.; LAVELLE, A. Morphological changes of the pyramidal cell nucleolus and nucleus in hamster frontal cortex during development and

aging. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 15, n. 4, p. 385-397, 1981.

CARNEY, M. E.; LYON, M. J. Schwann-cells associated with vestibular ganglion-cells in the aging rat. **American Journal of Otolaryngology**, v. 11, n. 4, p. 228-235, 1990.

CLIFFORD ROSE, F. (Ed.). The neurobiology of the paint. **International Review of Neurobiology**, London, v. 74, p. 281-288, 2006.

CONDE, J. R.; STREIT, W. J. Microglia in the aging brain. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 65, n. 3, p. 199-203, 2006.

DE SOUZA, R. R.; MORATELLI, H. B. ; BORGES, N. ; LIBERTI, E. A. Age induced nerve cell loss in the myenteric plexus of the small intestine in man. **Gerontology**, v. 39, n. 4, p. 183-188, 1993.

DEL FIACCO, M.; QUARTU, M. Somatostatin, galanin and peptide histidine isoleucine in the newborn and adult human trigeminal ganglion and spinal nucleus – immunohistochemistry, neuronal morphometry and colocalization with substance-P. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 7, n. 3, p. 171-184, 1994.

DEL FIACCO, M.; QUARTU, M.; FLORIS, A.; DIAZ, G. Substance P –like immunoreactivity in the human trigeminal ganglion. **Neuroscience Letters**, v. 110, n. 1-2, p. 16-21, 1990.

DUBBELDAM, J. L.; DE BAKKER, M. A. G.; BOUT, R. G. The composition of trigeminal nerve branches in normal adult chickens and after debeaking at different ages. **Journal of Anatomy**, v. 186, n. 3, p. 619-627, 1995.

ESIRI, M. M. Ageing and the brain. **Journal of Pathology**, v. 211, n. 2, p. 181-187, 2007.

EUSTACCHIO, B.; LANCISI, G. M. (Ed.). **Tabulae anatomicae**. Roma: Ex typographia Pauli Junchi, 1714.

FARAGHER, R. G. A.; SHEERIN, A. N.; OSTLER, E. L. Can we intervene in human ageing? **Expert Reviews**, v. 11, n. 27, p. 1-13, 2009.

FELDMAN, M. L.; PETERS, A. Ballooning of myelin sheaths in normally aged macaques. **Journal of Neurocytology**, v. 27, n. 8, p. 605–614, 1998.

FJELL, A. M.; WESTLYE, L. T.; AMLIEN I.; ESPESETH, T.; REINVANG, I.; RAZ, N.; AGARTZ, I.; SALAT, D. H.; GREVE, D. N.; FISCHL, B.; DALE, A. M.; WALHOVD, K. B. High consistency of regional cortical thinning in aging across multiple samples. **Cerebral Cortex**, v. 19, n. 9, p. 2001-2012, 2009.

FLAMM, E. S. Historical observations on the cranial nerves. **Journal of Neurosurgery**, v. 27, n. 4, p. 285-297, 1967.

- GABELLA, G. Detection of nerve cells by a histochemical technique. **Experientia**, v. 25, n. 2, p. 218-219, 1969.
- GETTY, R. **Sisson/Grossman Anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. 2 v.
- GOMES, O. A.; DE SOUZA, R. R.; LIBERTI, E. A. A preliminary investigation of the effects of aging on the nerve cell number in the myenteric ganglia of the human colon. **Gerontology**, v. 43, n. 4, p. 210-217, 1997.
- GRIEVE, M. S.; CLARK, C. R.; WILLIAMS, L. M.; PEDUTO, A. J.; GORDON, E. Preservation of limbic and paralimbic structures in Aging. **Human Brain Mapping**, v. 25, p. 391-401, 2005.
- GUNJIGAKE, K. K.; GOTO, T. NAKAO, K.; KOBAYASHI, S.; YAMAGUCHI, K. Activation of satellite glial cells in rat trigeminal ganglion after upper molar extraction. **Acta Histochemica et Cytochemica**, v. 42, n. 5, p. 143-149, 2009.
- GUNNING-DIXON, F. M.; BRICKMAN, A. M.; CHENG, J. C.; ALEXOPOULOS, G. S. Aging of cerebral white matter: a review of MRI findings. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 24, n. 2, p. 109-117, 2009.
- HAM, A. W.; CORMACK, D. H. (Ed). **Ham histologia**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.
- HANANI, M. Satellite glial cells in sensory ganglia: from form to function. **Brain Research Reviews**, v. 48, p. 457-476, 2005.
- HEASMAN, P. A.; BEYNON, A. D. G. Myelinated axon counts of human inferior alveolar nerves. **Journal of Anatomy**, v. 151, p. 51-56, 1987.
- HECKMANN, J. G.; LANG, C. J. Neurological causes of taste disorders. **Advances in otorhinolaryngology**, v. 63, p. 255-264, 2006.
- HOF, P. R.; MORRISON, J. H. The aging brain: morphomolecular senescence of cortical circuits. **Trends in Neurosciences**, v. 27, n. 10, p. 607-613, 2004.
- HSU, J. L.; VAN HECKE, W.; BAI, C. H.; LEE, C. H.; TSAI, Y. F.; CHIU, H. C.; JAW, F. S.; HSU, C. Y.; LEU, J. G.; CHEN, W. H.; LEEMANS, A. Microstructural white matter changes in normal aging: a diffusion tensor imaging study with higher-order polynomial regression models. **Neuroimage**, v. 49, n. 1, p. 32-43, 2010.
- HSU, H. K.; PENG, M. T. Hypothalamic neuron number of old female rats. **Gerontology**, v. 24, n. 6, p. 434-440, 1978.
- HUNT, S. P.; MANTYH, P. W.; PRIESTLEY, J. V. The organization of biochemically characterized sensory neurons. In: SCOTT, S. A. **Sensory neurons: diversity, development and plasticity**, New York: Oxford University Press, 1992. p. 60-76.

JANNETTA, P. J. Gross (Mesoscopic) description of the human trigeminal nerve and ganglion. **Journal of Neurosurgery**, v. 26, n. 1, p. 109-111, 1967.

JOHANSSON, C. S.; HILDEBRAND, C. POVLSEN, B. Anatomy and development chronology of the rat inferior alveolar nerve. **Anatomical Record**, v. 234, n. 1, p. 144-152, 1992.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1974. p. 154-183.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 154-183.

KALPOUZOS, G.; CHÉTELAT, G.; BARON, J. C.; LANDEAU, B. ; MEVEL, K.; GODEAU, C.; BARRÉ, L.; CONSTANS, J. M.; VIADER, F.; EUSTACHE, F.; DESGRANGES, B. Voxel-based mapping of brain gray matter volume and glucose metabolism profiles in normal aging. **Neurobiology of Aging**, v. 30, n. 1, p. 112-124, 2009.

KARLAN, M. S. An anatomic plate from Bartolomeo Eustachi. **Journal of the History of Medicine and Allied Sciences**, v. 35, n. 3, p. 316-318, 1980.

KAUFMANN, W. Developmental neurotoxicity. In: KRINKE, G. J. **The laboratory rat**. London: Academic Press, 2000. p. 237-250.

KEREM, G.; YOSHIMOTO, M.; YAMAMOTO, N.; YANG, C. Y.; XUE, H. G. Somatotopic organization of the trigeminal ganglion cells in a cichid fish, *Oreochromis (Tilapia) niloticus*. **Brain Behavior and Evolution**, v. 65, n. 2, p. 102-126, 2005.

KLEIN, B. G.; MAC DONALD, G. J.; SZCZEPANIK, A. M.; RHOADES, R. W. Topographic organization of peripheral trigeminal ganglionic projections in newborn rats. **Brain Research**, v. 392, n. 1-2, p. 257-262, 1986.

KOMÁREK, V.; GEMBARDT, C.; KRINKE, A.; MAHROUS, T. A.; SCHAETTI, P. Synopsis of the organ anatomy. In: KRINKE, G. J. **The laboratory rat**. London: Academic Press, 2000. p. 283-319.

KRAUSE, F.; BOURGUET, J. (Ed.). **Chirurgie du cerveau et de la moelle épinière**. Paris : Société d'éditions scientifiques et médicales, 1912.

KRUGGEL, F. MRI-based volumetry of head compartments: normative values of healthy adults. **Neuroimage**, v. 30, n. 1, p. 1-11, 2006.

KRUTA, V. The physiologist Prochaska, George (1749-1820) and the reflex theory. **Epilepsia**, v. 3, n. 4, p. 446-456, 1962.

KUMMER, W.; HEYM, C. Correlation of neuronal size and peptide immunoreactivity in the guinea-pig trigeminal ganglion. **Cell and Tissue Research**, v. 245, n. 3, p. 657-665, 1986

KUNCOVÁ, J.; SLAVÍKOVÁ J.; REISCHIG, J. Distribution of vasoactive intestinal polypeptide in the rat heart: effect of guanethidine and capsaicin. **Annals of Anatomy**, v. 185, n. 2, p. 153-161, 2003.

LAGARES, A.; AVENDAÑO, C. Lateral asymmetries in the trigeminal ganglion of the male rat. **Brain Research**, v. 865, n. 2, p. 202-210, 2000.

LAZAROV, N. E. Comparative analysis of the chemical neuroanatomy of the mammalian ganglion and mesencephalic trigeminal nucleus. **Progress in Neurobiology**, v. 66, n. 1, p. 19-59, 2002.

LAZAROV, N. E. Primary trigeminal afferent neuron of the cat: II. Neuropeptide and serotonin-like immunoreactivity. **Journal Für Hirnforschung**, v. 35, n. 3, p.373-389, 1994.

LEDDA, M.; BARNI, L.; ALTIERI, L.; PANNESE, E. The Golgi apparatus of satellite cells associated with spinal ganglion neurons: changes with age in the rabbit. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v, 35, n. 3, p.267-70, 2003.

LEDDA, M.; DE PALO, S.; PANNESE, E. Ratios between number of neuroglial cells and number and volume of nerve cells in the spinal ganglia of two species of reptiles and three species of mammals. **Tissue e Cell**, v. 36, n. 1, p. 55-62, 2004.

LIUTKIENE, G.; STROPUS, R.; PILMANE, M.; DABUZINSKIENE, A. Age-related structural and neurochemical changes of the human superior cervical ganglion. **Annals of Anatomy**, v. 189, p. 499-509, 2007.

LORIAUX, D. L. Bartolomeo Eustachi (Eustachius) (1520-1574). **Endocrinologist**, v. 17, n. 4, p. 195, 2007.

LU, H. P.; CHEN, S. T.; POON, P. W. F. Enlargement of neuronal size in rat auditory cortex after prolonged sound exposure. **Neuroscience Letters**, v. 463, n.2, p. 145-149, 2009.

MACHADO, A. B. M. **Neuroanatomia funcional**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

MAGISTRETTI, P. J. Brain energy metabolism. In: SQUIRE, L. R. **Fundamental neuroscience**. San Diego: Academic Press, 1999. p. 389–416.

MAMORU, T.; MASAYUKI, T.; SHIGEJI, M. Contribution of activation of satellite glia in sensory ganglia to pathological pain. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 33, p. 784-792, 2009.

MANSOUR, H.; CHAMBERLAIN, C. G.; WEIBLE, M. W.; HUGHES, S.; CHU, Y.; CHAN-LING, T. **Agging Cell**, v. 7, n. 4, p. 526-540, 2008.

MARFURT, C. F. The somatotopic organization of the cat trigeminal ganglion as determined by the horse-radish peroxidase technique. **Anatomical Record**, v. 201, n. 1, p. 105-118, 1981.

MARNER, L.; NYENGAARD, J. R.; TANG, Y.; PAKKENBERG, B. Marked loss of myelinated nerve fibers in the human brain with age. **Journal of Comparative Neurology**, v. 462, n. 2, p. 144-152, 2003.

MARTINELLI, C.; SARTORI, P.; DE PALO, S.; LEDDA, M.; PANNESE, E. The perineuronal glial tissue of spinal ganglia. Quantitative changes in the rabbit from youth to extremely advanced age. **Anatomy and Embryology**, v. 211, n. 5, p. 455-463, 2006.

MATSUDA, S.; KOBAYAASHI, N.; MOMINOKI, K.; WAKISAKA, H.; MORI, M.; MURAKAMI, S. Morphological transformation of sensory ganglion neurons and satellite cells. **Kaibogaku Zasshi**, v. 73, n. 6, p. 603-613, 1998.

MECIANO FILHO, J.; CARVALHO, V. C.; DE SOUZA, R. R. Nerve cell loss in the myenteric plexus of the human esophagus in relation to age: a preliminary investigation. **Gerontology**, v. 41, n. 1, p. 18-21, 1995.

MOLLER, K.; REIMER, M.; EKBLAD, E.; KANJE, M.; SUNDLER, F. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP): an important neuropeptide in the peripheral nervous system. In: MOTTA, P. M. **Recent advances in microscopy of cells tissues and organs**. Roma: Antonio Delfino, 1997. p. 199-204.

MONGARDI FANTAGUZZI, C.; THACKER, M.; CHIOCCHETTI, R.; FURNESS, J. B. Identification of neuron types in the submucosal ganglia of the mouse ileum. **Cell and Tissue Research**, v. 336, n. 2, p. 179-189, 2009.

MONTES, G. S.; JUNQUEIRA, L. C. U. The use of the picrosirius-polarization method for the study of the biopathology of collagen. **Memoria Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, n. 3, p. 1-11, 1991.

MORA, F.; SEGOVIA, G.; DEL ARCO, A. Aging, plasticity and environmental enrichment: Structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. **Brain Research Reviews**, v. 55, p. 78-88, 2007.

MORIYAMA, H.; AMANO, K.; ITOH, M.; SHIMADA, K.; OTSUKA, N. Morphometric aspects of peripheral nerves in adults and the elderly. **Journal of the Peripheral Nervous System**, v. 12, n. 3, p. 205-209, 2007.

NAGAI, Y.; GOTO, N.; GOTO, J.; KANEKO, Y.; SUZAKI, H. Morphometric nerve fiber analysis and aging process of the human vestibular nerve. **Okajimas Folia Anatomica Japonica**, v. 76, n. 2-3, p. 95-100, 1999.

NEAL, H. V.; RAND, H. W. **Comparative anatomy**. Toronto: The Blakiston Co., 1936. p. 527-528.

NOSAL, G. Neuronal involution during ageing. Ultrastructural study in the rat cerebellum. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 10, n. 5, p. 295-314, 1979.

OHARA, P. T.; VIT, J. P.; BHARGAVA, A.; ROMERO, M.; SUNDBERG, C.; CHARLES, A. C.; JASMIN, L. Gliopathic pain: when satellite glial cells go bad. **The Neuroscientist**, v. 15, n. 5, p. 450-463, 2009.

PAKKENBERG, B.; GUNDERSEN, H. J. G. Neocortical neuron in humans: effect of sex and age. **Journal of Comparative Neurology**, v. 384, n. 2, p. 312-320, 1997.

PANNESE, E. The satellites cells of the sensory ganglia. **Advances in Anatomy, Embryology, and Cell Biology**, v. 165, p. 1-111, 1981.

PANNESE, E. Perikaryal surface specializations of neurons in sensory ganglia. **International Review of Cytology**, v. 220, p.1-34, 2002.

PANNESE, E.; PROCACCI, P.; LEDDA, M.; CONTE, V. Age-related of the reduction of the satellite cell sheath around spinal ganglion neurons in the rabbit. **Journal of Neurocytology**, v. 25, n. 7, p. 137-146, 1996.

PENA, E.; BERCIANO, M. T.; FERNANDEZ, R.; OJEDA, J. L.; LAFARGA, M. Neuronal body size correlates with the number of nucleoli and cajal bodies, and with the organization of the splicing machinery in rat trigeminal ganglion neurons. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 430, n. 2, p. 250-263, 2001.

PETERS, A. The effects of normal aging on myelinated nerve fibers in monkey central nervous system. **Frontiers in Neuroanatomy**, v. 3, n. 11, p. 1-10, 2009.

PETERS, A.; JOSEPHSON, K.; VINCENT, S. L. Effects of aging on the neuroglial cells and pericytes within area 17 of the rhesus monkey cerebral cortex. **The Anatomical Record**, v. 229, n. 3, p. 384-398, 1991.

PETERS, A.; VERDEROSA, A.; SETHARES, C. The neuroglial population in the primary visual cortex of the aging Rhesus monkey. **Glia**, v. 56, p.1151–1161, 2008.

PHILLIPS, R. J.; PAIRITZ, J. C.; POWLEY, T. L. Age-related neuronal loss in the submucosal plexus of the colon of Fischer 344 rats. **Neurobiology of Aging**, v. 28, p. 1124–1137, 2006.

PIGUET, O.; DOUBLE, K. L.; KRIL, J. J.; HARASTY, J.; MACDONALD, V.; McRITCHIE, D. A.; HALLIDAY, G. M. White matter loss in healthy ageing: A postmortem analysis. **Neurobiology of Aging**, v. 30, n. 8, p. 1288-1295, 2009.

PROCHASKA, G. **De structura nervorum**. Viena: R. Graeffer, 1779.

PROŚBA-MACKIEWICZ, M.; ZÓŁTOWSKA, A.; DZIEWIATKOWSKI, J. Substance-P of neural cells in human trigeminal ganglion. **Folia Morphologica**, v. 59, n. 4, p. 327-331, 2000.

RAMBOURG, A.; CLERMONT, Y.; BEAUDET, A. Ultrastructural features of six types of neurons in rat dorsal root ganglia. **Journal of Neurocytology**, v. 12, n. 1, p. 47-66, 1983.

REBOLLO, M. A. **Histologia**. 3. ed. Buenos Aires: InterMédica, 1973.

ROSEGAY, H. The Krause operations. **Journal of Neurosurgery**, v. 76, n. 6, p. 1032-1036, 1992.

SAID, S. I.; MUTT, V. Polypeptide with broad biological activity – isolation from small intestine. **Science**, v. 169, n. 3951, p. 1217-1218, 1970.

SALAT, D. H.; BUCKNER, R. L.; SNYDER, A. Z.; GREVE, D. N.; DESIKAN, R. S.; BUSA, E.; MORRIS, J. C.; DALE, A. M.; FISCHL, B. Thinning of the cerebral cortex in aging. **Cerebral Cortex**, v. 14, n. 7, p. 721-730, 2004.

SALLOWAY, S. Current and future treatments for Alzheimer's disease. **CNS Spectrums**, v. 14, n. 8, p. 4-7, 2009.

SANDELL, J. H.; PETERS, A. Effects of age on nerve fibers in the *rhesus* monkey optic nerve. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 429, n. 4, p. 541-553, 2001.

SATO, S.; BURGESS, S. B.; MCILWAIN, D. L. Transcription and motoneuron size. **Journal of Neurochemistry**, v. 63, n. 5, p. 1609-1615, 1994.

SCHMIDT, E. E.; SCHIBLER, U. Cell-size regulation, a mechanism that controls cellular RNA accumulation - consequences on regulation of the ubiquitous transcription factors Oct1 and NF-Y, and the liver-enriched transcription factor DBP. **Journal of Cell Biology**, v. 128, n. 4, p. 467-483, 1995.

SERESS, L.; SZOKE, E.; CZECH, G. Age-related mitochondrial damage in the B-type cells of the rat trigeminal ganglia. **Acta Biologica Hungarica**, v. 53, n. 1-2, p. 167-175, 2002.

SHARMA, S.; RAY, B.; BHARDWAJ, D.; DWIVEDI, A. K.; ROY, T. S. Age changes in the human oculomotor nerve – a stereological study. **Annals of Anatomy**, v. 191, n. 3, p. 260-266, 2009.

SHAW, J. P. A history of the enumeration of the cranial nerves by european and british anatomists from the time of Galen to 1895, with comments on nomenclature. **Clinical Anatomy**, v. 5, n. 6, p. 466-484, 1992.

SHIN, N. S.; LEE, I. S.; YOON, Y. S.; LEE, H. S. Immunohistochemical localization of substance P, calcitonin gene-related peptide, galanin and calcium-binding proteins in trigeminal ganglia of goat (*Capra hircus*). **Anatomia Histologia Embryologia - Journal of Veterinary Medicine Series C**, v. 32, n. 5, p. 310-315, 2003.

SPOERRI, P. E.; GLEES, P.; SPOERRI, O. Neuronal regression during ageing: an ultrastructural study of the human cortex. **Journal für Hirnforschung**, v. 22, n. 4, p. 441-446, 1981.

SREEDHARAN, S. P.; PATEL, D. R.; HUANG, J. X. Cloning and functional expression of a human neuroendocrine vasoactive-intestinal-peptide receptor. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 193, n. 2, p. 546-553, 1993.

STEINBERG, D. A. Scientific neurology and the history of the clinical examination of selected motor cranial nerves. **Seminars in Neurology**, v. 22, n. 4, p. 349-355, 2002.

STREHLER, B. L.; MILDVAN, A. S. General theory of mortality and aging. **Science**, v. 132, p. 14-21, 1960.

STURROCK, R. R. Stability of neuron and glial number in the nerve nucleus of the aging mouse-brain. **Journal of Anatomy**, v. 166, p. 97-101, 1989.

TAJTI, J.; UDDMAN, R.; MÖLLER, S.; SUNDLER, F.; EDVINSSON, L. Messenger molecules and receptor mRNA in the human trigeminal Ganglion. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 76, n. 2-3, p. 176-183, 1999.

TERMAN, A.; GUSTAFSSOM, B.; BRUNK, U. T. Autophagy, organelles and ageing. **Journal of Pathology**, v. 211, n. 2, p. 134-143, 2007.

TESTUT, L.; LATERJET, A. (Ed.). **Traité d'anatomie humaine**. 8. ed. Paris: Masson, 1930. p. 83-124.

TORNWALL, J.; UUSITALO, H.; KONTTINEN, Y. T. The distribution and origin of nerve-fibers immunoreactive for substance-p and neurokinin-a in the anterior buccal gland of the rat. **Cell and Tissue Research**, v. 277, n. 2, p. 309-313, 1994.

VELZEN, M.; LAMAN, J. D.; KLEINJAN, A.; POOT, A.; OSTERHAUS, A. D.; VERJANS, G. M. Neuron-interacting satellite glial cells in human trigeminal ganglia have an APC phenotype. **Journal of Immunology**, v. 183, n. 4, p. 2456-2461, 2009.

VESALIUS, A. **De humani corporis fabrica**. Basil: [s.n.], 1553.

VIEUSSENS, R.; ROBERT, J. J. (Ed.). **Neurographia universalis**. Toulouse: [s.n.], p. 169. 1775.

VIVO, J.; MORALES, J. L.; DÍZ, A.; GALISTEO, A. M.; MONTERDE, J. G.; AGUERA, E.; MIRÓ, F. Structural and ultrastructural study of the intracranial portion of the oculomotor, trochlear and abducent nerves in dog. **Anatomia, Histologia, embryologia – Journal of Veterinary Medicine Series C**. v. 35, n. 3, p. 184-189, 2006.

WAITE, P. M. E. Trigeminal sensory system. In: PAXINOS, G. **The rat nervous system**. 3. ed. Austrália: Elsevier Academic Press, 2004. p. 815-834.

WANG, T. J.; CHEN, J. R.; WANG, Y. J.; TSENG, G. F. The cytoarchitecture and soma-dendritic arbors of the pyramidal neurons of aged rat sensorimotor cortex: An intracellular dye injection study. **Neuroscience**, v. 158, n. 2, p. 776-785, 2009.

WILLIAMS, P. L.; WARWICK, R.; DYSON, M.; BANNISTER, L. H. **Gray anatomia**. 37. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. p. 809-1043.

WILLIS, T. **Cerebri anatome**: cui accessit nervorum descriptio et usus. Amsterdam: [s.n.], 1666. p. 20.

WINSLOW, J. B. **Exposition anatomique de la structure du corps humain**. Amsterdam : [s.n.], p. 33, 1754.

WOOLEY, C. M. ; XING, S. ; BURGESS, R. W.; COX, G. A.; SEBURN, K. L. Age, experience and genetic background influence treadmill walking in mice. **Physiology e Behavior**, v. 96, n. 2, p. 350-361, 2009.

WOTHERSPOON, G.; PRIESTLEY, J. V. Expression of the 5-HT1B receptor by subtypes of rat trigeminal ganglion cells. **Neuroscience**, v. 95, n. 2, p. 465-471, 2000.

WRISBERG, H. A. **Observationes anatomicae de quinto pare nervorum encephali**. Gottingae, p. 28, 1777.

WU, L. J.; XU, H.; KO, S. W.; YOSHIMURA, M.; ZHUO, M. Feed-forward inhibition: a novel cellular mechanism for the analgesic effect of substance P. **Molecular Pain**, v. 1, n. 34, p.1-4, 2005.

ZAR, J. H. **Bioestatistical analysis**. 2. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1984.

ZHANG, W.; YANG, S.; LI, C.; CHEN, L.; TANG, Y. Stereological investigation of age-related changes of myelinated fibers in the rat cortex. **Journal of Neuroscience Research**, v. 87, p. 2872-2880, 2009.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)