UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

MARIA CRISTINA LOPES SCHIAVONI

**Estudo longitudinal do padrão de vascularização do endoneuro do nervo
vago de ratas da linhagem wistar-kyoto, em diferentes idades**

Ribeirão Preto – SP

2005

MARIA CRISTINA LOPES SCHIAVONI

**Estudo longitudinal do padrão de vascularização do endoneuro do nervo
vago de ratas da linhagem Wistar-Kyoto, em diferentes idades**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.
Programa de pós-graduação em Neurologia - Área de
Neurociências.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Valéria Paula Sassoli Fazan

Ribeirão Preto – São Paulo

2005

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Schiavoni, Maria Cristina Lopes

Estudo longitudinal do padrão de vascularização do endoneuro do nervo vago de ratas da linhagem Wistar-Kyoto, em diferentes idades. Ribeirão Preto, 2005.
103p.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo – Área de Concentração: Neurociências

Orientadora: Prof^a. Dra. Valéria Paula Sassoli Fazan

1.Nervo vago. 2. Área fascicular 3. Capilar endoneural
4. Morfometria 5. Ratos.

Maria Cristina Lopes Schiavoni

Estudo longitudinal do padrão de vascularização do endoneuro do nervo vago de ratas da linhagem Wistar-Kyoto, em diferentes idades.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de mestre.

Área de concentração: Neurociência

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	19
1 – Nervo Vago	20
2 – Vascularização dos nervos	25
3 – Morfometria dos nervos normais	27
4 – Rato Wistar-Kyoto (WKY)	29
OBJETIVOS	14
1 – Objetivos Gerais	33
2 – Objetivos Específicos	33
MATERIAL E MÉTODOS	
1 – Animais	34
2 – Procedimentos Cirúrgicos	35
3 – Procedimento Histológico	37
4 – Análise Morfológica e Morfométrica	41
5 - Análise Estatística	43
RESULTADOS	46
1 – Dados Ponderais	47
2 – Análise Morfológica	48
3 – Morfometria	55
DISCUSSÃO	79
1 – Dados Ponderais	80
2 – Morfologia	81
3 – Morfometria	83
CONCLUSÕES	89

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
ANEXOS	103
Composição da ração	104
Resumo da Dissertação apresentado na REUNIÃO DE INTEGRAÇÃO DA MORFOLOGIA PAN-AMERICANA.....	105
Cortes semifinos seriados seqüenciais.....	106

**"... Há homens que lutam um dia
e são bons,
Há outros que lutam um ano
e são melhores,
Há os que lutam muitos anos
e são muito bons
Porém, há aqueles que lutam toda a vida. Estes são os
imprescindíveis..."**

Bertold Brecht

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS:

Dedico esta dissertação:

Ao meu pai **Custódio** (*in memorian*), a minha vovó **Mariana** (*in memorian*), aos meus tios **Nem** e **J. Barreto** (*in memorian*), que sempre acreditaram e vibraram por mim.

Ao meu marido, **Pedro**

Agradeço por estar sempre presente nas horas incertas, com muito amor, cumplicidade e incentivo. Obrigada pela compreensão das ausências constantes no convívio familiar.

A minha filha, **Larissa**, minha divina preciosidade, pelas ausências e pelos chamegos quando mais precisei.

Ao meu sogro **Zualdo** e minha sogra **Ignês** pela ajuda, paciência, dedicação e incentivo.

Aos meus irmãos **João**, **Toninho**, **Rita** e minha tia **Tânia** por sempre acreditarem em mim.

À Professora Doutora Valéria Paula Sassoli Fazan

Agradeço a credibilidade que depositou em mim, a sua disponibilidade, compreensão e incentivos constantes que sempre me mantiveram com alegria e espiritualidade para enfrentar os obstáculos nesta trajetória. A sua alegria e dedicação contagiam a todos que com você trabalham. Continue sempre assim, obrigada.

AGRADECIMENTOS

❖ Ao Prof. Dr. **Amilton Antunes Barreira**, pela oportunidade de poder fazer a pós-graduação, pelo incentivo, pelo aprendizado e paciência na realização desta dissertação.

❖ A **Aracy Edwirges Dias e Antonio Renato Meirelles e Silva**, amigos do Laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental, pela paciência, apoio e de um ombro amigo por todas as horas nesta minha trajetória.

❖ Ao **João Carlos Ribas, Silvia Escarso, Sandra Marques, Angela Carvalho e Adriana Nascimento**, pelas palavras de apoio e carinho.

❖ Aos colegas de Pós-Graduação, **Carlos Augusto Vasconcelos e Patrícia de Sá**, pela ajuda, incentivo e sonhos nesta trajetória.

❖ A **Elisabete Sartori**, secretária da Pós-graduação do Depto. Neurologia, pela paciência e disponibilidade no seu atendimento.

❖ Aos Professores da Banca de Dissertação.

❖ A todos aqueles que não foram citados nominalmente, mas que contribuíram nesta minha trajetória.

❖ Agradeço a **DEUS** pelas oportunidades, persistência, garra, dedicação, profissionalismo e vontade de vencer.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Celsius
DDSA	Doderyl Succinic Anhydride
DMP-30	[2-4-6-tri(dimethylaminoethyl)phenol]
EPM	Erro Padrão da Média
g.....	grama
kg	kilogramas
K ₄ Fe(CN) ₆ ·3H ₂ O	Ferrocianeto de Potássio
ml	Mililitros
M.....	Molaridade
n.....	Número de animais analisados
NMA.....	Nadic Methyl Anhydride
OsO ₄	Tetróxido de Ósmio
PBS	Solução Salina Tamponada
pH	Potencial Hidrogeniônico da Solução
®	Marca registrada
r ²	Coeficiente de correlação ao quadrado
SHR.....	Ratos espontaneamente hipertensos
µm	Micrômetro
µm ²	Micrômetro quadrado
%	Porcentagem
WKY.....	Wistar-Kyoto

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Valores médios da área fascicular e da área total dos capilares no grupo I	
.....	66
Tabela 2: Valores médios da área fascicular e da área total dos capilares no grupo II	
.....	67
Tabela 3: Valores médios da área fascicular e da área total dos capilares no grupo III	
.....	68
Tabela 4: Diâmetro médio dos capilares endoneurais dos grupos I, II e III	
.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da origem, ramificação e trajeto do nervo vago em humanos.....	22
Figura 2: Representação esquemática da origem, ramificação e trajeto do nervo vago no rato.....	23
Figura 3: Perfusão intracardíaca para lavagem do leito vascular e fixação do animal.....	36
Figura 4: Exemplo dos blocos do segmento proximal, médio e distal de um animal do grupo III.....	40
Figura 5: Peso corporal dos ratos dos diversos grupos experimentais.....	47
Figura 6: Secções transversais semifinas do segmento proximal, médio e distal do nervo vago cervical de um rato com 30 dias de vida.....	50
Figura 7: Secções transversais semifinas do segmento proximal, médio e distal do nervo vago cervical de um rato com 180 dias de vida.....	51
Figura 8: Secções transversais semifinas do segmento proximal, médio e distal do nervo vago cervical de um rato com 360 dias de vida	52
Figura 9: Secções transversais semifinas do segmento proximal, médio e distal do nervo vago cervical dos diferentes grupos estudados.....	53
Figura 10: Secções transversais semifinas do segmento proximal, médio e distal do nervo vago cervical dos diferentes grupos estudados e seus vasos.....	54
Figura 11: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo I de um rato com 30 dias de idade.....	57
Figura 12: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo II de um rato com 30 dias de idade.....	58
Figura 13: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo III de um rato com 30 dias de idade.....	59
Figura 14: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo I de um rato com 180 dias de idade.....	60
Figura 15: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo II de um rato com 180 dias de idade.....	61

Figura 16: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo III de um rato com 180 de idade.....	62
Figura 17: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo I de um rato com 360 dias de idade.....	63
Figura 18: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo II de um rato com 360 dias de idade.....	64
Figura 19: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo III de um rato com 360 dias de idade.....	65
Figura 20: Área fascicular média dos diversos segmentos estudados nos diferentes grupos experimentais.....	69
Figura 21: Área média dos capilares endoneurais dos diversos segmentos estudados nos diferentes grupos experimentais.....	70
Figura 22: Porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares nos diferentes segmentos estudados dos nervos do grupo I.....	71
Figura 23: Porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares nos diferentes segmentos estudados dos nervos do grupo II.....	72
Figura 24: Porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares nos diferentes segmentos estudados dos nervos do grupo III.....	73
Figura 25: Porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares nos diferentes segmentos dos nervos dos grupos I, II, III.....	73
Figura 26: Histogramas de distribuição dos diâmetros dos vasos capilares endoneurais dos nervos vagos de ratos com 30 dias de vida.....	76
Figura 27: Histogramas de distribuição dos diâmetros dos vasos capilares endoneurais dos nervos vagos de ratos com 180 dias de vida.....	77
Figura 28: Histogramas de distribuição dos diâmetros dos vasos capilares endoneurais dos nervos vagos de ratos com 360 dias de vida.....	78

RESUMO

Schiavoni, M.C.L. **Estudo longitudinal do padrão de vascularização do endoneuro do nervo vago de ratas da linhagem Wistar-Kyoto, em diferentes idades.** 2005. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2005.

Nosso objetivo, com o presente estudo foi o de realizar uma descrição do padrão longitudinal de vascularização do endoneuro e de avaliar a existência de uma possível correlação entre a área fascicular e a área endoneural ocupada pelos vasos capilares no nervo vago de ratas da linhagem Wistar-Kyoto, em três diferentes fases da vida: 30, 180 e 360 dias de idade. Para tanto, três animais de cada grupo foram mortos e tiveram seus nervos vagos direitos preparados com técnicas histológicas de rotina para inclusão em resina epóxi. Secções transversais semifinas ($0,4\ \mu\text{m}$) seriadas, obtidas a cada $100\ \mu\text{m}$ de extensão longitudinal do nervo, até o esgotamento completo dos blocos, foram analisadas em nível de microscopia de luz. A morfometria dos fascículos e dos vasos capilares endoneurais, foi realizada com o auxílio de um sistema analisador de imagens computacional. A área fascicular média e a área média ocupada pelos capilares foram calculadas para cada segmento estudado (proximal, médio e distal) e comparadas entre segmentos (estudo longitudinal) e entre os grupos. A correlação entre a área fascicular total e a área endoneural ocupada pelos capilares foi estudada através de uma análise de regressão linear e do cálculo dos coeficientes de correlação. A porcentagem da área fascicular total ocupada pelos capilares endoneurais também foi calculada para cada segmento estudado e comparada entre segmentos e entre os grupos. Nossos resultados mostram que a área fascicular média de todos os segmentos estudados foi significativamente maior nos animais com 180 e 360 dias, comparados aos com 30 dias, em todos os segmentos estudados, acompanhando o ganho ponderal dos animais. Interessantemente, nos animais jovens (30 dias), houve uma tendência ao aumento dos valores dessa área no sentido longitudinal dos nervos, o que não foi observado nos animais mais velhos (180 e 360 dias). A área média dos capilares endoneurais aumentou no sentido longitudinal em todos os grupos estudados. Na comparação entre os grupos, houve uma estabilização da área fascicular média nos animais mais velhos, enquanto que houve uma diminuição da área média dos capilares endoneurais com o avançar da idade. A

porcentagem da área fascicular total ocupada pelos capilares aumentou, no sentido longitudinal, nos animais jovens (30 dias) e tendeu à estabilidade nos animais mais velhos (180 e 360 dias), havendo nítida diminuição progressiva dessa porcentagem com o avançar da idade. O estudo dos diâmetros dos capilares endoneurais mostrou que esses diâmetros variam amplamente, sem nenhum padrão específico entre segmentos de um mesmo grupo os entre os diferentes grupos. Nossos resultados também mostraram a existência de uma correlação positiva fraca (coeficientes de correlação com valores muito baixos) entre a área fascicular total e a área endoneural ocupada pelos capilares. Esses dados sugerem que a entrada dos capilares no nervo não é acompanhada de um aumento proporcional na área do fascículo. Esse achado pode trazer implicações para aqueles estudos onde os autores realizam o cálculo da densidade das fibras, sem descontar a área do vaso endoneural. Isso porque não necessariamente o tamanho do fascículo acompanha a entrada de um vaso mais calibroso. Assim, na presença de vasos calibrosos e a não exclusão dessa área no cálculo da densidade das fibras, o resultado poderá ser subestimado, uma vez que a área do vaso estaria sendo computada como parte da área endoneural que contém fibras. Os dados de diminuição da porcentagem da área fascicular total ocupada pelos capilares com o avançar da idade podem sugerir que os nervos de animais mais velhos possam ser mais susceptíveis aos processos isquêmicos.

Palavras-chave: Nervo vago, área fascicular, capilar endoneural, morfometria, ratos.

ABSTRACT

Schiavoni, M.C.L. **Endoneural vessels vascular pattern on the vagus nerve of Wistar-Kyoto rats: A longitudinal study.** 2005. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2005.

Our objectives were to study the longitudinal pattern of the endoneural vascularisation and, to determine the existence of a correlation between the fascicular total area and the endoneural area occupied by the capillary vessels on the vagus nerve of Wistar-Kyoto female rats, in three different ages. Three animals aged 30, 180 or 360 days were killed and their right vagus nerves were prepared for epoxy resin embedding and light microscopy study, by conventional techniques. Serial semi-thin sections (0.4 μm), obtained every 100 μm of the vagus nerve longitudinal extension were measured with the aid of a computer software. The average fascicular area and the average area occupied by the endoneural capillary were obtained for each segment (proximal, medium and distal) and compared between segments (longitudinal study) and between ages. The correlation between the fascicular area and the area occupied by the endoneural capillary was accessed by linear regression analysis and correlation coefficient calculations. The percentage of the total fascicular area occupied by the capillaries was also calculated for each segment and compared between segments and between ages. Our results show that the average fascicular area, in all segments studied, was significantly larger in the older animals (180 and 360 days), compared to the younger (30 days). This was compatible with the weight gain of the animals. Interestingly, in the younger animals, there was a tendency of an increase in the average fascicular area from proximal to distal, and this was not observed in the older animals (180 and 360 days). The average area of the endoneural capillaries increased from proximal to distal in all groups studied. The analysis between groups showed a stabilization of the fascicular area in the older animals while the average capillary area got smaller with ageing. The percentage of the fascicular area occupied by the endoneural capillary vessels increased from proximal to distal in the younger animals (30 days) and got stable in the older (180 and 360 days). There was an obvious decrease in this percentage with ageing. The capillary vessels diameter study showed that this parameter varied considerably, without a established pattern between segments or groups. Our results also show the existence of a weak but positive correlation between the

fascicular area and the area occupied by the endoneural capillary. This data suggests that the entrance of blood vessels to the endoneural space is not followed by an increase on the fascicular area. Thus, this finding may have implications on the fiber density calculations since, in the presence of a large capillary vessel, this density can be underestimated if the capillary area is not discounted from the total fascicular area. The result of a smaller percentage of the fascicular area occupied by the capillary vessels with ageing suggests that older animals may be more susceptible to nerve ischemia.

Key Words: Vagus nerve, fascicular area, endoneural capillary, morphometric, rats.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Valores médios da área fascicular e da área total dos capilares no grupo I

Tabela 2: Valores médios da área fascicular e da área total dos capilares no grupo II

Tabela 3: Valores médios da área fascicular e da área total dos capilares no grupo III

Tabela 4: Diâmetro médio dos capilares endoneurais dos grupos I, II e III

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da origem, ramificação e trajeto do nervo vago em humanos

Figura 2: Representação esquemática da origem, ramificação e trajeto do nervo vago no rato

Figura 3: Perfusão intra-cardíaca para lavagem do leito vascular e fixação do animal

Figura 4: Exemplo dos blocos do segmento proximal, médio e distal de um animal do grupo III

Figura 5: Peso corporal dos ratos dos diversos grupos experimentais

Figura 6: Secções transversais semifinas do segmento proximal, médio e distal do nervo vago cervical de um rato com 30 dias de vida

Figura 7: Secções transversais semifinas do segmento proximal, médio e distal do nervo vago cervical de um rato com 180 dias de vida

Figura 8: Secções transversais semifinas do segmento proximal, médio e distal do nervo vago cervical de um rato com 360 dias de vida

Figura 9: Secções transversais semifinas do segmento proximal, médio e distal do nervo vago cervical dos diferentes grupos estudados

Figura 10: Secções transversais semifinas do segmento proximal, médio e distal do nervo vago cervical dos diferentes grupos estudados e seus vasos

Figura 11: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo I de um rato com 30 dias de idade

Figura 12: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo II de um rato com 30 dias de idade

Figura 13: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo III de um rato com 30 dias de idade

Figura 14: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo I de um rato com 180 dias de idade

Figura 15: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo II de um rato com 180 dias de idade

Figura 16: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo III de um rato com 180 de idade

Figura 17: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo I de um rato com 360 dias de idade

Figura 18: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo II de um rato com 360 dias de idade

Figura 19: Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo III de um rato com 360 dias de idade

Figura 20: Área fascicular média dos diversos segmentos estudados nos diferentes grupos experimentais

Figura 21: Área média dos capilares endoneurais dos diversos segmentos estudados nos diferentes grupos experimentais

Figura 22: Porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares nos diferentes segmentos estudados dos nervos do grupo I

Figura 23: Porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares nos diferentes segmentos estudados dos nervos do grupo II

Figura 24: Porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares nos diferentes segmentos estudados dos nervos do grupo III

Figura 25: Porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares nos diferentes segmentos dos nervos dos grupos I, II, III

Figura 26: Histogramas de distribuição dos diâmetros dos vasos capilares endoneurais dos nervos vagos de ratos com 30 dias de vida

Figura 27: Histogramas de distribuição dos diâmetros dos vasos capilares endoneurais dos nervos vagos de ratos com 180 dias de vida

Figura 28: Histogramas de distribuição dos diâmetros dos vasos capilares endoneurais dos nervos vagos de ratos com 360 dias de vida

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Celsius
DDSA	Doderyl Succinic Anhydride
DMP-30	[2-4-6-tri(dimethylaminoethyl)phenol]
EPM	Erro Padrão da Média
g	grama
kg	kilogramas
K ₄ Fe(CN) ₆ ·3H ₂ O	Ferrocianeto de Potássio
ml	Mililitros
n	Número de animais analisados
NMA	Nadic Methyl Anhydride
OsO ₄	Tetróxido de Ósmio
PBS	Solução Salina Tamponada
pH	Potencial Hidrogeniônico da Solução
®	Marca registrada
μm	Micrômetro
μm ²	Micrômetro quadrado
%	Porcentagem
SHR.....	Ratos espontaneamente hipertensos
WKY.....	Wistar-Kyoto
M.....	Molaridade
r ²	Coefficiente de correlação ao quadrado

INTRODUÇÃO

1- O NERVO VAGO

O nervo vago (X nervo craniano) compõe-se de fibras motoras e sensitivas e possui um trajeto e distribuição mais extensos do que qualquer um dos outros nervos cranianos, uma vez que ele passa através do pescoço e tórax, para o abdome (Figura 1). Está ligado ao bulbo por oito a dez radículas, abaixo da origem do nervo glossofaríngeo (IX nervo craniano), no sulco lateral posterior do bulbo. As fibras do nervo vago estão conectadas a quatro núcleos do bulbo:

- (1) O **núcleo dorsal do vago** é geralmente descrito como um núcleo misto representando a fusão das colunas eferentes visceral geral e aferente visceral geral. As fibras motoras que se originam dele distribuem-se aos músculos involuntários dos brônquios, coração, esôfago e estômago e ao intestino delgado e parte do intestino grosso. As fibras sensitivas que terminam no núcleo são pouco conhecidas (WARWICK & WILLIAMS, 1979).
- (2) Abaixo da origem das fibras que se unem ao nervo glossofaríngeo, os neurônios do **núcleo ambíguo** enviam fibras ao nervo vago, que se distribuem aos músculos constritores da faringe e intrínsecos da laringe (músculos estriados).
- (3) A parte inferior do **núcleo do trato solitário** recebe aquelas fibras do vago que se distribuem, através do nervo laríngeo interno aos botões gustatórios da epiglote e da valécula. A parte média desse núcleo recebe as fibras aferentes viscerais da língua, tonsila palatina, palato e faringe e, a parte superior, recebe as fibras gustatórias dos dois terços anteriores da língua e do palato mole.
- (4) O vago contém fibras nervosas aferentes somáticas, provenientes da pele da superfície craniana do pavilhão da orelha e da parede posterior e assoalho do meato acústico externo e parte adjacente da superfície externa da membrana do tímpano. Porém acredita-se que, ao

penetrarem no bulbo, essas fibras terminem no **núcleo do trato espinal do nervo trigêmio** (V nervo craniano) (WARWICK & WILLIAMS, 1979).

Ao emergir do crânio pelo forame jugular, o nervo vago apresenta uma dilatação bem pronunciada: o gânglio superior. Esse gânglio contém os neurônios somáticos relacionados com a sensibilidade somática geral, conduzida pelo ramo auricular do vago. Após sua saída do forame jugular, o nervo vago dilata-se num segundo intumescimento: o gânglio inferior ou nodoso. As células sensitivas do gânglio nodoso são parcialmente relacionadas com a sensibilidade visceral especial (gustação) e parcialmente com informação aferente visceral geral proveniente da laringe, faringe, coração, pulmões, esôfago, estômago, intestino delgado e parte do cólon. O nervo vago desce verticalmente no pescoço, dentro da bainha carótica, situando-se entre a veia jugular interna e a artéria carótida interna, até a borda superior da cartilagem tireóide. A seguir, situa-se entre a mesma veia e a artéria carótida comum, até alcançar a raiz do pescoço.

No lado direito, o vago continua descendo posteriormente à veia jugular interna e cruza a primeira parte da artéria sub-clávia, para penetrar no tórax. Do lado esquerdo, o vago penetra no tórax entre as artérias carótida comum esquerda e sub-clávia esquerda, por trás da veia braquiocefálica esquerda. Os ramos do nervo vago ao longo do seu trajeto cervical são o ramo faríngeo, ramos para o corpo carótico, o nervo laríngeo superior e o ramo laríngeo recorrente direito. Do lado esquerdo, esse último ramo se origina no interior do tórax. Os ramos cardíacos, em número de dois ou três, originam-se do nervo vago nos níveis cervicais superior e inferior (WARWICK & WILLIAMS, 1979).

O nervo vago tem sido descrito como o mais importante nervo parassimpático (HEIMER, 1995). Ele apresenta fibras pré-ganglionares parassimpáticas, que se originam do núcleo motor dorsal do nervo vago, no bulbo, e terminam nos gânglios das paredes viscerais do tórax e do abdome. Entretanto, apenas uma pequena porcentagem das fibras

vagais são eferentes (10 - 15 %) (HEIMER, 1995); sendo, a maioria, fibras aferentes provenientes de receptores viscerais.

Figura 1: Representação esquemática da origem, ramificação e trajeto do nervo vago em humanos. (Modificado de WARWICK & WILLIAMS, 1979)

No rato (Figura 2), o nervo vago emerge pelo forame lacerado posterior, apresenta o gânglio nodoso e se estende posteriormente, em frente a coluna vertebral, por todo o pescoço, tórax, até o abdome, onde termina no plexo simpático (GREENE, 1955).

Figura 2: Representação esquemática da origem, ramificação e trajeto do nervo vago no rato. (Modificado de GREENE, 1955)

O gânglio nodoso emite dois ramos. O mais anterior é o ramo faríngeo, o qual se une ao ramo faríngeo do nervo glossofaríngeo para formar o plexo faríngeo. Da face posterior do gânglio nodoso emerge o nervo laríngeo superior, para a laringe e o timo.

No pescoço, o nervo vago emite os ramos cardíacos e o nervo laríngeo recorrente. À direita, o ramo laríngeo recorrente faz uma volta ao redor da origem da artéria subclávia. Do lado esquerdo, esse ramo tem início no interior do tórax, fazendo uma curvatura em frente ao arco aórtico, no espaço entre o esôfago e a traquéia, para os quais ele emite ramos, e termina como nervo laríngeo inferior, para a musculatura intrínseca da laringe.

O nervo vago, por ser misto, apresentando fibras motoras esqueléticas e viscerais e sensitivas, é responsável pela mediação de reflexos vitais como reflexos respiratórios, digestórios, cardíacos e pressóricos. Por essas características, ele despertou o interesse de vários pesquisadores, anatomistas, fisiologistas e fisiopatologistas, que, desde o início do século passado, têm explorado ao máximo esse nervo e suas ramificações. Primeiramente, houve uma maior preocupação com sua descrição morfológica, realizada tanto em nível macroscópico quanto microscópico, para, mais tarde, aparecerem os estudos fisiológicos. No início do século passado, secções transversais do nervo vago cervical, coradas com ácido ósmico, foram estudadas em cães (CHASE, 1916; CHASE & RANSON, 1914). Naqueles estudos, os autores já observavam a presença de fibras mielínicas separadas entre si por material não corado, que julgavam ser composto de fibras amielínicas e tecido conjuntivo. Além disso, já se observava que as fibras mielínicas de grande calibre davam origem aos ramos para a faringe e laringe. Muitos estudos posteriores foram realizados, principalmente em gatos (HEINBECKER & O'LEARY, 1933; HOFFMAN & KUNTZ, 1927; MEI et al., 1980; RANSON & MIHÁLIK, 1932; RANSON et al., 1933), mas também em humanos (GUO et al., 1987; HOFFMAN & KUNTZ, 1927; KIMACHI et al., 1974; SACHIS et al., 1981; SACHIS et al., 1982; SCHNITZLEIN et al., 1958), ratos

(GABELLA & PEASE, 1973; LEGROS & GRIFFITH, 1969; PRECHTL & POWLEY, 1990) e outros animais (FRIEDE & SAMORAJSKI, 1967; HASAN et al., 1993; HEINBECKER & O'LEARY, 1933).

2- A VASCULARIZAÇÃO DOS NERVOS

O suprimento sanguíneo dos nervos se dá via uma rede anastomótica longitudinal de vasos do epineuro e perineuro, conectados a um plexo de microvasos do endoneuro. As arteríolas transperineurais perdem seu revestimento perineural assim que entram no endoneuro. Então, elas também perdem sua camada muscular lisa e se conectam com a rede capilar endoneural. As células endoteliais desses vasos são unidas por junções oclusivas (“tight junctions”), formando a barreira hemato-nervosa impedindo a entrada de moléculas grandes para o interior do compartimento endoneural (KING, 1999). Os nervos periféricos são abundantemente vascularizados em toda sua extensão por intermédio de uma sucessão de vasos que, por suas consecutivas divisões e anastomoses no interior do nervo, formam uma rede vascular intraneural ininterrupta (SUNDERLAND, 1945). Microvasos endoneurais e perineurais funcionam como diferentes barreiras na manutenção da homeostase do microambiente endoneural, uma condição necessária para o funcionamento normal dos nervos. Atualmente existe pouca informação sobre fluxo sanguíneo e tensão de oxigênio no interior do leito vascular do nervo normal e em estados patológicos (GIANNINI & DYCK, 1993). Alterações nas barreiras nervosas e anomalias dos microvasos podem levar a deterioração do microambiente endoneural e a distúrbios da função e estrutura das fibras nervosas. Uma pequena perturbação dos microvasos geralmente não é suficiente para causar alterações patológicas nas fibras nervosas porque

os fatores de proteção do nervo são grandes. Entretanto, quando um número suficiente de vasos é ocluído por doenças ou experimentalmente, padrões estereotipados degenerativos de fibras nervosas podem ser a resultante, provavelmente em decorrência de hipóxia (GIANNINI & DYCK, 1993).

Axônios dependem basicamente do distante corpo celular para sua manutenção (nutrição); os vasos intra-fasciculares nutrem primariamente o tecido conjuntivo e as células de Schwann. Esses vasos, juntamente com o perineuro que circunda os fascículos, também são responsáveis pela manutenção do meio humoral que suporta a rápida, complicada e repetida troca de íons, da qual depende a função do nervo (LUNDBORG, 1975; SJÖSTRAND et al., 1977).

A estrutura, e não o tamanho de um vaso, é o parâmetro mais confiável para a sua classificação. O lúmen de um vaso pode ser prontamente modificado por meios físicos ou químicos, e está sujeito a tantas variações durante a vida, que tamanho passa a ser um fator secundário. Além disso, já está bem definido pela literatura (SUNDERLAND, 1978) que o número de vasos nutrientes para um nervo em particular varia amplamente, não apenas de indivíduo para indivíduo como também entre os dois lados do corpo. Nervos maiores não necessariamente recebem mais vasos que nervos menores. Os nervos podem percorrer distâncias consideráveis sem receber um vaso nutriente e o calibre desses vasos varia em amplos intervalos. Desse modo, o número e o tamanho dos vasos, juntamente com a sua distribuição no interior dos nervos, estão sujeitos a uma grande variabilidade, não apenas em vários segmentos do mesmo nervo, como também no mesmo nervo em diferentes sujeitos. Estudos sobre a densidade dos capilares endoneurais foram realizados, mostrando que essa densidade varia de acordo com a idade, sendo tal variação atribuída à evolução do processo de mielinização (SUNDERLAND, 1945). Há, ainda, a idéia de que os capilares

são forçados a uma distância maior entre eles com a evolução da idade, conforme as fibras aumentam seu calibre (LANG, 1962).

Estudos anteriores, descrevendo o suprimento sangüíneo dos nervos, se concentraram na identificação de suas fontes de suprimento, nos testes de comportamento desses vasos sob várias condições e nos testes de permeabilidade a corantes e traçadores (ADAMS, 1942; SUNDERLAND, 1945; 1968; LUNDBORG, 1970; 1975). Observações "in vivo" sobre os vasos intraneurais foram realizadas por ROBERTS et al. (1950) em sapos, pequenos mamíferos e em coelhos, e por LUNDBORG (1970), em coelhos. Investigações sobre a permeabilidade nos nervos foram realizadas por WAKSMAN (1961) e OLSSON (1975). Os efeitos da isquemia em nervos periféricos foram estudados por WEDDELL & SINCLAIR (1947), RICHARDS (1951), HASSLER (1969), LUNDBORG (1970) e SJÖSTRAND et al. (1977). ISHIKAWA (1959) e MARCARIAN & SMITH (1968) realizaram algumas medidas em vasos de nervos de gatos. Por outro lado, informações quantitativas sobre o tamanho ou a distribuição de vasos intraneurais continuam escassas, tanto em nervos de humanos quanto de animais de laboratório. Nervos têm sido freqüentemente descritos como apresentando um grande número de vasos pequenos ou com vascularização relativamente pobre (BELL & WEDDELL, 1984b).

3- MORFOMETRIA DE NERVOS NORMAIS

Avaliações dos nervos do sistema nervoso periférico de animais normais se fazem necessárias para obtenção de informações que permitam inferir possíveis alterações. POVLSEN e colaboradores (1994) referiam que o conhecimento da normalidade é essencial para comparações com dados funcionais disponíveis. Essas informações são

também necessárias, como base morfológica para análises experimentais pós-lesão. Estudos de normalidade dos nervos dos ratos fornecem a base morfológica para estudos patológicos e funcionais. Na literatura, esses estudos são escassos, sendo maioria das informações disponibilizadas na forma de grupos controles das investigações neuropatológicas experimentais.

Os métodos quantitativos constituem ferramenta importante no estudo de neuropatias experimentais e avaliações das regenerações. Esses métodos complementam a avaliação clínica e avaliações histopatológicas dos nervos periféricos (DYCK et al., 1984a; CAMPADELLI et al., 1999). Além disso, esses métodos têm sido amplamente utilizados para descrição da anatomia dos nervos normais (FAZAN et al., 1997; FAZAN et al., 2002, JERONIMO et al., 2005). Abordagens morfométricas são de grande valia para estudos de anormalidades, bem como para as descrições de normalidade. Por meio de medidas de área fascicular, do número e densidade de fibras e histogramas de distribuição dos diâmetros das fibras, é possível reconhecer as alterações: a) do tamanho do nervo em razão de mal-formações, edemas e infiltrados inflamatórios; b) aumento (brotamentos axoniais) ou diminuição (degeneração) do número de fibras; c) alterações no formato do nervo ou das fibras mielínicas; d) aumento ou diminuição do número e/ou alteração na proporção das classes dos núcleos e fibras; e) anormalidades ultra-estruturais (DYCK et al.; 1984b).

Estudos morfométricos em nervos, que envolvem contagem de fibras e o cálculo de sua densidade têm sido realizados, tanto para as descrições dos parâmetros normais (SCHRÖDER et al., 1978; FERRIERE et al., 1985; SHIELD et al., 1986; BEHSE, 1990) quanto para os estudos das doenças dos nervos, em geral (BEHSE et al., 1974; BEHSE, 1990). O cálculo da densidade das fibras tem sido feito através da razão simples entre o número de fibras e a área do fascículo (TOHGI et al., 1977; SCHRÖDER et al., 1978; BEHSE, 1990). Em alguns estados fisiológicos, tais como a presença de corpúsculo de

Renault, a área desses é subtraída da área do fascículo para o cálculo da densidade das fibras (BEHSE, 1990). Entretanto, nesses estudos, tanto de normalidade quanto de estados fisiológicos, a vascularização dos nervos é pouco investigada, não sendo sequer mencionada na maioria das referências.

4- O RATO WISTAR-KYOTO (WKY)

Em 1963, OKAMOTO & AOKI introduziram um novo modelo experimental de hipertensão em ratos, que não requer nenhum tratamento fisiológico ou farmacológico, ou intervenção cirúrgica. Esse rato espontaneamente hipertenso (SHR) foi desenvolvido através de um meticuloso cruzamento genético (entre irmãos) que uniformemente resultou em 100% dos descendentes desenvolverem hipertensão arterial sistêmica (OKAMOTO & AOKI, 1963; OKAMOTO et al., 1966). Desde então, são muitos os relatos de que o SHR é um excelente modelo experimental de hipertensão, servindo como o modelo experimental da hipertensão essencial humana. O estudo de qualquer modelo de hipertensão espontânea deve prover informações úteis e relevantes a respeito da hipertensão essencial em humanos (TRIPPODO & FROHLICH, 1981). Modelos experimentais de hipertensão genética (espontânea) também foram relatadas em outras espécies que não o rato, mas estes não foram extensivamente estudados, por razões práticas e financeiras. As vantagens óbvias do modelo do rato são sua vida relativamente curta, tamanho pequeno e preço relativamente baixo.

O rato Wistar-Kyoto (WKY) é um rato albino, a partir do qual a linhagem SHR foi desenvolvida. Assim, o rato WKY é preconizado como animal controle nos experimentos que utilizam os SHR. Em colônias de ratos, nas quais essas linhagens são mantidas através

do cruzamento entre irmãos (como é o nosso caso), os SHR mostram um aumento da pressão arterial (comparado aos WKY de mesma idade e sexo) tão cedo quanto três semanas de vida. Posteriormente, embora a pressão arterial aumente em ambos SHR e WKY, com a idade, isso ocorre em uma velocidade mais rápida e atinge níveis muito mais altos nos SHR. Assim, a pressão arterial nos WKY alcança um máximo entre 6 e 10 semanas de vida, enquanto nos SHR ela continua aumentando até 20 a 28 semanas de idade (TRIPPODO & FROHLICH, 1981). Um dos achados mais consistentes nos SHR adultos, com hipertensão bem estabelecida é um aumento generalizado da resistência vascular periférica. Embora isso possa estar relacionado a uma alteração de todo o sistema vascular, desde o arco aórtico até o átrio direito, as artérias pequenas, arteríolas e os esfíncteres pré-capilares apresentam o maior aumento na resistência vascular periférica. Existem relatos de diminuição da densidade arteriolar nos músculos esqueléticos dos SHR (HUTCHINS & DARNELL, 1974; DUSSEAU & HUTCHINS, 1979). Entretanto, a extensão dessa diminuição e a existência dela em outros tecidos não é conhecida (HOLLOWAY & BOHR, 1973; HALLBACK et al., 1976). Alterações observadas do lado arterial da circulação nos SHR devem acontecer, também, do lado venoso. Hipertrofia venular foi descrita nos SHR (GREENBERG et al., 1978), mas, AALKJAER & MULVANY (1979) não observaram diferenças morfológicas e mecânicas entre as pequenas veias mesentéricas de SHR e WKY.

Hipertensão é um importante fator de risco para acidentes vasculares cerebrais e demência de origem vascular e causa alterações importantes da árvore cérebro-vascular, deixando o encéfalo mais susceptível aos infartos, microanuerismas e isquemia (TOMASSONI et al., 2004). Apesar do grande número de informações sobre a influência da hipertensão no cérebro, dados sobre a sensibilidade dos nervos periféricos à hipertensão são escassos, apenas com a demonstração de estreitamento luminal das artérias

interfasciculares nos SHR (SABBATINI et al., 1996). Além disso, redução do tamanho das fibras mielínicas e de sua bainha (FAZAN et al., 1999) e rarefação das fibras amielínicas (FAZAN et al., 2001) foram evidenciadas no nervo depressor aórtico de ratos SHR, comparado aos controles normotensos, WKY. Recentemente, um estudo da morfologia e da velocidade de condução do nervo isquiático de SHR evidenciou diminuição da porcentagem das fibras mielínicas grandes, com aumento das de pequeno calibre, redução da área da bainha de mielina e desvio dos histogramas de distribuição de tamanho dos axônios para a direita (TOMASSONI et al., 2004). Essas alterações foram revertidas com o tratamento da hipertensão. Os autores concluem que a hipertensão arterial pode representar um fator de risco para neuropatias e que as alterações decorrentes da hipertensão não estão limitadas ao tecido cerebral, podendo envolver, também, o sistema nervoso periférico. É importante ressaltar que o rato WKY foi utilizado como controle desses experimentos morfológicos, e que nenhum desses estudos relatou as características morfológicas dos vasos endoneurais desses ratos. Interessantemente, dados morfológicos sobre o sistema nervoso periférico de ratos WKY estão presentes na literatura somente na forma de grupo controle dos SHR e, além desses estudos serem escassos na literatura, os vasos endoneurais não foram investigados sistematicamente.

OBJETIVOS

Diante do exposto, os objetivos do presente estudo foram:

1- *Objetivos gerais:*

Realizar um estudo longitudinal, da vascularização no endoneuro, do nervo vago de ratas da linhagem Wistar-Kyoto, em diferentes idades.

2- *Objetivos específicos:*

- a) Descrever a morfologia normal, dos diferentes níveis cervicais do nervo vago de ratas da linhagem WKY, em diferentes idades;
- b) Estudar a existência de correlação entre a área fascicular e a área total ocupada pelos capilares endoneurais, no nervo vago de ratas da linhagem WKY, e verificar se essa correlação se altera nos diferentes níveis do nervo e/ou com a idade;
- c) Descrever os valores médios da área fascicular e da área dos capilares endoneurais dos diferentes níveis cervicais do nervo vago de ratas da linhagem WKY, e verificar o comportamento desses parâmetros com o envelhecimento;
- d) Estudar a porcentagem da área fascicular total ocupada pelos capilares, nos diferentes níveis cervicais do nervo vago de ratas da linhagem WKY, e verificar se essa porcentagem se altera com o envelhecimento;
- e) Realizar um estudo dos diâmetros médios dos capilares endoneurais e da distribuição desses diâmetros, nos diferentes níveis cervicais do nervo vago de ratas da linhagem WKY, e verificar o comportamento desses parâmetros.

MATERIAL E MÉTODOS

1- ANIMAIS

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar-Kyoto (WKY), fêmeas, provenientes do Biotério da Disciplina de Fisiologia da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas grandes (34 x 42 x 37cm), em ambiente com ventilação forçada, temperatura controlada entre 21 e 23°C, umidade relativa do ar entre 40 e 70% e ciclo claro/escuro de 12 horas. Tiveram livre acesso à água e ração padrão para pequenos roedores (Nuvital ®). A composição da ração encontra-se em anexo. Os animais foram divididos em grupos de acordo com a idade.

Grupo I: Ratas com 30 dias de idade (n = 3);

Grupo II: Ratas com 180 dias de idade (n = 3);

Grupo III: Ratas com 360 dias de idade (n = 3).

2- PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Imediatamente antes do experimento, os animais foram pesados e anestesiados com pentobarbital sódico (Nembutal, Abbott, SA), na dose de 40 mg/kg. Após posicionamento do animal na mesa cirúrgica, em decúbito dorsal, com as patas fixadas em abdução, foi realizada uma ampla abertura da cavidade abdominal para exposição do diafragma. Após a secção do mesmo, junto da sua origem esterno-costal, a cavidade torácica foi aberta lateralmente, através da secção das costelas, para exposição do coração. Após punção do ventrículo cardíaco esquerdo e a secção do átrio direito, os animais foram perfundidos sistemicamente, por gravidade, como mostra a Figura 3.

Figura 3: Perfusão intracardíaca para lavagem do leito vascular e fixação do animal. **A:** Posicionamento do animal. **B:** Abertura da cavidade abdominal. **C:** Secção do diafragma e exposição do coração. **D:** Abertura lateral da cavidade torácica. **E:** Punção do ventrículo esquerdo e perfusão com solução salina tamponada (PBS), seguida de glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M.

Inicialmente, o leito vascular foi lavado com solução salina tamponada (PBS 0,05M), para a remoção do sangue e, em seguida, foi injetada a solução fixadora, composta de glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato 0,1M, pH.7,4, por essa ter se mostrado a mais adequada para obtenção de cortes semifinos seriados. A escolha por essa solução fixadora foi determinada após testes com uma mistura de paraformaldeído a 2%, glutaraldeído a 1% (solução de Karnowsky modificada) em tampão cacodilato 0,1M, pH.7,4. Tanto a salina tamponada quanto a solução fixadora (glutaraldeído a 2,5%) foram perfundidas na proporção de 1ml de solução para cada 1g de peso corporal do animal.

3- PROCEDIMENTOS HISTOLÓGICOS:

Após o término da perfusão, foi realizada uma ampla cervicotomia mediana, com afastamento lateral da musculatura pré-traqueal para identificação das artérias carótidas comuns. A seguir, a bainha desses vasos foi cuidadosamente dissecada e os segmentos cervicais dos nervos vagos direito e esquerdo foram identificados, reparados e retirados na sua maior extensão, desde a origem do nervo laríngeo superior, até sua entrada no tórax. Após a retirada, os nervos dos animais dos grupos I, II e III foram fragmentados em segmentos proximais, médios e distais, que foram imersos na mesma solução fixadora utilizada para a perfusão, por pelo menos 24 horas. Os fragmentos foram lavados em solução tampão cacodilato de sódio 0,1M pH 7,4 e, em seguida, foram pós-fixados em tetróxido de ósmio (OsO_4) aquoso a 1%, em tampão cacodilato de sódio a 0,1M, pH.7,4 e ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) aquoso a 6%, na proporção 1:2:1, por duas horas, a 4° C.

Após a fixação com a solução de tetróxido de ósmio, os segmentos foram lavados por uma hora, em temperatura ambiente, com tampão cacodilato de sódio a 0,1M, pH.7,4, e desidratados, em concentrações crescentes de etanol, como segue:

Etanol 25%	5 minutos
Etanol 50%	5 minutos
Etanol 75%	5 minutos
Etanol 95%	5 minutos
Etanol 100%	5 minutos
Etanol 100%	5 minutos

Após a desidratação, os segmentos passaram pelo processo de infiltração. Para esse processo foi padronizada uma “infiltração lenta”, uma vez que os procedimentos de rotina se mostraram inadequados para uma infiltração regular e uniforme ao longo de toda a extensão do fragmento nervoso. A infiltração iniciou-se em uma solução de etanol absoluto e resina epóxi Poly/Bed 812® (Polysciences, Inc.), na proporção 2:1, por uma hora, em agitação orbital contínua. A resina foi preparada como segue:

Poly Bed 812® (Resina)	13 ml
NMA (plastificador)	9 ml
DDSA (endurecedor)	7 ml
DMP-30 (catalisador)	0,6 ml

A seguir, os fragmentos foram imersos em solução de etanol absoluto e resina, na proporção de 1:2 por mais duas horas, em agitação contínua e, posteriormente, permaneceram em resina pura por 12 a 24 horas, em temperatura ambiente.

Após este período, os fragmentos proximais, médios e distais foram colocados em moldes de silicone devidamente identificados e preenchidos com resina plena, os quais foram orientados, sob lupa estereomicroscópica, para futura obtenção de secções transversais. Após a orientação desses segmentos, os moldes foram mantidos em estufa seca a 60°C, por um período de 48 a 72 horas para polimerização da resina. Uma vez incluídos os fragmentos, os blocos foram removidos e trimados com lâminas descartáveis para a microtomia. A figura 4 mostra um exemplo dos blocos dos segmentos proximal, médio 1, 2, 3 e 4 e distal de um animal do grupo III, já trimados e preparados para o início das secções seriadas. Os segmentos proximais, médios e distais dos nervos estudados, tiveram secções transversais semifinas, de 0,4µm de espessura, obtidas com navalhas de vidro através de um ultramicrotomo MT 6000-XL (RMC Inc.). Essas secções foram transferidas para lâminas de vidro com uma gota de água destilada, secas em placa aquecedora a 60°C e coradas com azul de toluidina a 1% em ácido bórico saturado. Tais secções foram utilizadas para estudos de microscopia de luz.

No presente estudo, apenas os segmentos do lado direito foram analisados, pelo fato de o nervo vago cervical desse lado ser mais curto que o do lado esquerdo (no qual a origem do nervo laríngeo recorrente se dá no interior do tórax). Os nervos do lado esquerdo foram armazenados nos blocos de resina epóxi e serão utilizados quando houver necessidade de material reserva.

Para padronização da metodologia de secções seriadas do presente estudo, de uma lâmina de um “nervo reserva”, foram obtidas secções transversais semifinas seriadas, a cada 50 µm, coradas com parafenilenodiamina e observadas ao microscópio de luz. Nessa lâmina, obtivemos 700 cortes semifinos com espessura de 0,4 µm cada, totalizando 280 µm de extensão de nervo. Esses primeiros resultados mostraram, primeiro, que havia pouca diferença morfológica entre as secções obtidas a cada 50 µm de distância. Percebemos

também que, com espessura de 0,4 μm , a coloração com parafenilenodiamina não corou as secções de maneira satisfatória para obtenção de imagens histológicas adequadas para a realização da morfometria. Dessa forma, a metodologia foi ajustada e as lâminas seguintes foram obtidas a cada 250 cortes de 0,4 μm cada, totalizando uma distância de 100 μm entre os cortes estudados, ao longo de toda a extensão dos segmentos.

Figura 4: Exemplo dos blocos dos segmentos proximal, médio 1, 2, 3 e 4 e distal de um animal do grupo III, trimados e preparados para o início das secções seriadas. Notar que o segmento distal apresenta um aumento da espessura do nervo e esse aumento aparece em decorrência da emergência do ramo laríngeo recorrente. Essa ramificação foi evidente na observação dos cortes seriados e a saída completa desse ramo determinou a interrupção das secções seriadas.

Para o início dos cortes seriados, cada bloco foi aparado no próprio ultramicrotomo, sendo desprezados 20 cortes no início de cada bloco. A seguir, os 10 primeiros cortes foram obtidos e os próximos 250 desprezados. A cada série de 250 cortes, os 10 cortes finais foram colhidos e esticados em lâminas de vidro. Em cada lâmina, foram esticados

cerca de 4 a 6 grupos de 10 cortes, para posterior coloração com azul de toluidina a 1% e análise morfológica e morfométrica. Desses grupos de 10 cortes, apenas um corte de cada foi selecionado para o estudo, considerando aquele com menor número de artefatos e, portanto, mais apropriado para a realização da morfometria.

Os fragmentos de nervo do grupo I foram divididos em segmentos proximal, médio e distal, com cerca de 3 a 4 mm cada. Os fragmentos dos grupos II e III foram divididos em segmentos proximal, médio 1, 2, 3 e até 4 e distal. A fragmentação do segmento médio em mais que um segmento foi necessária, pois como os ratos desses grupos são mais velhos e maiores, os nervos vagos são mais longos. Dessa forma, para obtenção correta dos cortes seriados, foi fundamental que o bloco não tivesse um fragmento muito grande para que, uma vez iniciado o processo de corte, o mesmo pudesse terminar no mesmo dia, sem que fosse interrompido e continuado posteriormente. Durante a realização dos cortes seriados, foi importante que o bloco não fosse retirado do ultramicrotomo até o término dos cortes daquele bloco.

4- ANÁLISE MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA

Os nervos do grupo I, II e III (3 no total de cada grupo) tiveram as imagens das secções transversais semifinas dos segmentos proximais, médios e distais digitalizadas, em seqüência, através de uma câmara de vídeo (JVC, modelo TK 1270) de alta resolução acoplada ao fotomicroscópio Axiophot II (Carl Zeiss) e a um microcomputador. As imagens obtidas foram armazenadas no disco rígido, para posterior análise. A morfometria foi realizada com auxílio do software KS 400 (Kontron 2.0, Eching Bei, Munique, Alemanha). A área fascicular de cada secção transversal foi obtida, com aumento final

padrão para cada nervo como um todo. Essa área foi sempre obtida excluindo-se o perineuro, de forma que apenas a área endoneural real fosse estudada. O aumento padronizado para os nervos dos animais dos grupos I, II e III foi: objetiva 20X, lentes auxiliares (optovar) 1,6X e câmera 0,5X. Para que todos os vasos capilares endoneurais fossem identificados e morfometrados corretamente, após a digitalização da imagem dos fascículos, as lentes do fotomicroscópio foram alteradas para a obtenção de maior ganho na ampliação das imagens: objetiva 100X, lentes auxiliares (optovar) 1,6X e câmera 0,5X. Com essa nova ampliação, a área e o diâmetro mínimo interno de cada vaso capilar endoneural foram obtidos com auxílio do mesmo programa de computador, utilizado na obtenção da área fascicular. Após a obtenção desses valores, os dados foram distribuídos em planilhas para posterior análise estatística.

Para a análise da evolução longitudinal da área fascicular e do somatório da área total dos capilares endoneurais, os dados de cada nervo estudado foram distribuídos em um mesmo diagrama de pontos, para que pudessem ser identificados, visualmente, picos de valores de área, com aparecimento simultâneo. Esse diagrama de pontos foi construído com o auxílio do aplicativo Sigma Plot, versão 8.0.

O somatório das áreas dos vasos capilares de cada fascículo foi calculado para a obtenção do valor da porcentagem da área fascicular total ocupada pelos vasos capilares. Esses valores percentuais foram separados por segmentos em cada nervo estudado e, posteriormente, os dados de cada segmento foram agrupados, para realização da comparação entre os segmentos e entre os grupos.

Os valores médios da área fascicular e da área e do diâmetro mínimo dos capilares também foram calculados, para cada segmento específico (proximal, médio e distal) de cada nervo estudado e, posteriormente, agrupados para a realização da comparação entre os segmentos e entre os grupos.

Para o estudo da distribuição dos capilares endoneurais, uma secção transversal foi selecionada de cada segmento estudado e, dessas secções, foram obtidos os diâmetros de cada capilar presente no endoneuro. A seleção dessas secções foi realizada de acordo com o padrão morfológico de melhor preservação das estruturas de interesse e menor número de artefatos histológicos. Os valores obtidos, de cada segmento escolhido de cada nervo, foram agrupados para a realização da comparação entre os segmentos e entre os grupos. Esses valores foram distribuídos em histogramas de distribuição de classe, construídos em intervalos de 2 μ m, com o auxílio do aplicativo Sigma Plot, versão 8.0.

5- ANÁLISE ESTATÍSTICA

5.1- Dados ponderais

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para testar a normalidade da distribuição dos dados de peso corporal dos animais. Esses dados apresentaram uma distribuição normal e, assim, o peso corporal dos animais dos diferentes grupos experimentais foi comparado através de uma análise de variância (ONE WAY ANOVA), seguida de um pós-teste de Tukey.

5.2- Correlação entre a área fascicular total e a área fascicular ocupada pelos capilares endoneurais

A correlação entre a área fascicular total e a área fascicular ocupada pelos capilares endoneurais foi analisada através de uma análise de regressão linear e de cálculos do coeficiente de correlação entre os dois parâmetros. Assim, os valores de área fascicular total, obtidos a cada 100 µm de extensão do nervo, foram representados no eixo das abscissas, e os valores de área endoneural total ocupada pelos capilares (somatório da área de todos os capilares presentes nas secções transversais correspondentes) foram representadas no eixo das ordenadas em um diagrama de pontos, construído com o auxílio do aplicativo Sigma Plot, versão 8.0. A seguir, uma regressão linear foi calculada em cada um dos diagramas. Para o cálculo dos coeficientes de correlação entre a área fascicular total e a área endoneural total ocupada pelos capilares, o teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para testar a normalidade de distribuição dos dados. Para os dados que apresentaram uma distribuição normal, o coeficiente de correlação de Pearson (r) foi obtido. Para aqueles que não apresentaram distribuição normal, o coeficiente de correlação de Spearman (r_s) foi obtido.

5.3- Área fascicular média, área média e diâmetro mínimo médio dos capilares endoneurais e porcentagem da área fascicular total ocupada pelos capilares endoneurais

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para testar a normalidade da distribuição de todos os dados obtidos. Para a análise dos valores médios entre os segmentos em um mesmo grupo (análise intra-grupo) e entre os mesmos segmentos entre os diferentes grupos (análise inter-grupo), aqueles que apresentaram distribuição normal, foram comparados através de uma análise de variância (ONE WAY ANOVA) seguida de

um pós-teste de Tukey. Os valores que não apresentaram distribuição normal foram comparados pela análise de variância on Ranks, seguida de um pós-teste de Dunn.

5.4- Distribuição dos capilares endoneurais

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado.

Os histogramas de distribuição do tamanho dos capilares endoneurais foram comparados entre segmentos e entre grupos através de uma análise de variância (ONE WAY ANOVA), seguida de um pós-teste de Tukey para dados de distribuição normal. Para os dados com distribuição não normal, uma análise de variância on Ranks, seguida de um pós-teste de Dunn foi utilizada.

5.5- Nível de significância

Todos os testes estatísticos utilizados no presente estudo foram realizados com o auxílio do aplicativo Sigma Stat, versão 2.0. Diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

1- DADOS PONDERAIS

O peso corporal dos ratos do grupo I (30 dias, N = 7) variou de 65 g a 98 g, com média de 82 ± 5 g. O peso corporal dos ratos do grupo II (180 dias, N = 5) variou de 232 g a 264 g, com média de 245 ± 5 . O peso corporal dos ratos do grupo III (360 dias, N = 5) variou de 265 g a 287 g, com média de 276 ± 4 g. Os dados de evolução do peso corporal estão representados graficamente na Figura 5.

Figura 5: Peso corporal dos ratos dos diversos grupos experimentais. Valores expressos em média $\pm$ EPM. Nota-se uma tendência a estabilização do crescimento dos animais entre o 180º e o 360º dia de vida. Asterisco indica diferença significativa em relação ao grupo de 30 dias e # indica diferença significativa em relação ao grupo de 180 dias.

Comparando os valores obtidos, os animais com 30 dias de vida (grupo I), apresentaram peso corporal significativamente menor que os animais de 180 e 360 dias de

vida. Os animais com 180 dias de vida também apresentaram peso corporal significativamente menor quando comparado aos animais de 360 dias de vida. Apesar dessa diferença, nota-se uma tendência à estabilização do peso corporal dos animais após os 180 dias de vida.

2- ANÁLISE MORFOLÓGICA

O exame de secções transversais semifinas dos nervos vagos, coradas com azul de toluidina a 1%, em nível de microscopia de luz, mostrou que esse nervo é constituído por apenas um fascículo (classificado como mono-fasciculado), circundado por um perineuro bem definido (Figuras 6, 7 e 8). Esse nervo está constituído por centenas de fibras mielínicas e amielínicas, de diversos diâmetros, imersos no endoneuro, acompanhando seu longo eixo. Nota-se que as fibras mielínicas pequenas predominam em número sobre as grandes (Figuras 6, 7 e 8). As fibras mielínicas apresentam axônios envolvidos por uma bainha de mielina típica, que mantém sua espessura relativa conforme aumenta o calibre das fibras. Nesse nível de resolução, verifica-se, no endoneuro, a presença de elementos celulares usuais, como núcleos de células de Schwann, fibroblastos, células endoteliais de capilares e mastócitos (Figuras 9 e 10). Os núcleos dos fibroblastos aparecem em número bem menor que os das células de Schwann, sendo um núcleo fusiforme, de coloração mais clara e sem relação de proximidade com os axônios. Muitos mastócitos foram facilmente identificados, devido à presença de grânulos metacromáticos no seu citoplasma. Uma grande variação na coloração dos grânulos desses mastócitos pode ser observada. Algumas células apresentaram grânulos mais intensamente corados, outras com grânulos menos corados e, outras ainda com grânulos de várias tonalidades. Dessa

forma, mastócitos com grânulos em diversas fases de maturação foram encontrados em todos os nervos estudados, para todos os grupos experimentais (Figura 10).

Em todos os segmentos estudados, foi encontrada a presença de um grupo celular, formada por células granulares com núcleo claro e arredondado, entre as quais observa-se grande número de capilares (em número muito maior que do restante de todo o nervo). Esse grupo celular, que esteve quase sempre presente na periferia do nervo, muito próximo ao perineuro, porém, no interior do endoneuro, é conhecido como paragânglio (Figura 9D e 9E). Em alguns casos, esse grupo celular parecia apresentar um envoltório de tecido conjuntivo semelhante ao perineuro do nervo. Os paragânglios, ora grandes (Figura 9E), ora pequenos (Figura 9D), foram observado nos nervos dos animais das três idades estudadas, sem aparente preferência de aparecimento entre os diferentes níveis do nervo ou entre as diferentes idades.

Observou-se, também, em diversas secções transversais, a presença de pericários isolados, com forma arredondada ou discretamente ovalada, imersos no endoneuro dos nervos estudados. Embora nem todos os cortes estivessem ao nível do núcleo da célula, a presença da substância de Nissl no citoplasma permitiu identificar, com precisão, o tipo celular encontrado (Figura 9B e 9C).

Ainda a presença de vasos capilares, geralmente múltiplos, acompanhando o eixo longitudinal do nervo, por entre as fibras nervosas, foi observada em todos os segmentos nervosos estudados. Tais capilares são encarregados de realizar a vascularização do nervo (*vasa nervorum*) (Figura 10) e foram o objetivo do presente estudo.

Figura 6: Secções transversais semifinas dos segmentos proximal (A), médio (B) e distal (C), do nervo vago cervical de um rato com 30 dias de vida. Notar a presença de um fascículo único, com perineuro bem definido, ao longo de toda extensão do nervo. Notar, no endoneuro, a presença de fibras mielínicas, sendo que as de pequeno calibre estão em maior número que as de grande calibre. Notar, também, a presença de um grande número de vasos capilares endoneurais, em todos os segmentos. Coloração = azul de toluidina a 1%. Barra de escala = 50 μ m.

Figura 7: Secções transversais semifinas dos segmentos proximal (A), médio (B) e distal (C), do nervo vago cervical de um rato com 180 dias de vida. Notar a presença de um fascículo único, com perineuro bem definido, ao longo de toda extensão do nervo. Notar, no endoneuro, a presença de fibras mielínicas, sendo que as de pequeno calibre estão em maior número que as de grande calibre. Notar, também, a presença de um grande número de vasos capilares endoneurais, em todos os segmentos. Coloração = azul de toluidina a 1%. Barra de escala = 50 μ m.

Figura 8: Secções transversais semifinas dos segmentos proximal (A), médio (B) e distal (C), do nervo vago cervical de um rato com 360 dias de vida. Notar a presença de um fascículo único, com perineuro bem definido, ao longo de toda extensão do nervo. Notar, no endoneuro, a presença de fibras mielínicas, sendo que as de pequeno calibre estão em maior número que as de grande calibre. Notar, também, a presença de um grande número de vasos capilares endoneurais, em todos os segmentos. Coloração = azul de toluidina a 1%. Barra de escala = 50 μ m.

Figura 9: Secções transversais semifinas de diversos segmentos do nervo vago cervical dos diferentes grupos estudados. A: Notar a presença de fibras mielínicas de grande calibre (M) no endoneuro, em número menor que as de pequeno calibre. Alguns núcleos de células de Schwann são facilmente identificáveis no endoneuro (setas). Notar, ainda, o perineuro com várias camadas celulares achatadas, com núcleo celular fusiforme (*). B e C: Presença de células ganglionares (seta) isolado no endoneuro. D e E: Presença de paragânglio (P) no endoneuro. Notar, em E, vários capilares (v) no interior do paragânglio, bem como o envoltório desse paragânglio, semelhante ao perineuro. Coloração = azul de toluidina a 1%. Barra de escala = 10 µm.

Figura 10: Secções transversais semifinas de diversos segmentos do nervo vago cervical dos diferentes grupos estudados. A e B: Presença de mastócitos (seta branca) no endoneuro, com grânulos metacromáticos de diferentes tonalidades. C e D: Presença de vasos capilares endoneurais (v) de diversos tamanhos no endoneuro em animais de 180 e 360 dias de idade respectivamente. Coloração = azul de toluidina a 1%. Barra de escala = 10 μ m.

3- MORFOMETRIA

3.1- Correlação entre a área fascicular e a área total ocupada pelos capilares endoneurais

As figuras 11, 12 e 13, painel superior, mostram a evolução longitudinal dos valores da área fascicular e do somatório das áreas de todos os capilares presentes no endoneuro, dos nervos dos animais do grupo I. Cada ponto vermelho representa o valor de uma medida fascicular e/ou do somatório da área dos capilares. Observa-se que não houve coincidência dos picos de valores entre as áreas do fascículo e dos capilares. Mesmo assim, quando o valor do somatório da área dos capilares foi muito grande, houve uma tendência a aumento na área fascicular total naquela secção transversal. Nas mesmas figuras, painel inferior, observamos a distribuição dos dois parâmetros em diagramas de pontos, com a reta de regressão representada em vermelho. Para os três nervos estudados nesse grupo, observa-se uma correlação positiva fraca entre os dois parâmetros, sendo os valores dos coeficientes de correlação ao quadrado (r^2) muito pequenos (0,25, 0,039 e 0,26).

As figuras 14, 15 e 16, painel superior, mostram a evolução longitudinal dos valores da área fascicular e do somatório das áreas de todos os capilares presentes no endoneuro, dos nervos dos animais do grupo II. Cada ponto vermelho representa o valor de uma medida fascicular e/ou do somatório da área dos capilares. Observa-se, novamente, que não houve coincidência dos picos de valores entre as áreas do fascículo e dos capilares. Mesmo assim, quando o valor do somatório da área dos capilares foi muito grande, houve uma tendência de aumento na área fascicular total naquela secção transversal. Entretanto, tendência se mostra menos evidente nesse grupo que nos nervos do grupo I. Nas mesmas figuras, painel inferior, observamos a distribuição dos dois parâmetros em diagramas de

pontos, com a reta de regressão representada em vermelho. Para os três nervos estudados nesse grupo, observa-se, novamente, uma correlação positiva muito fraca entre os dois parâmetros, sendo os valores dos coeficientes de correlação ao quadrado (r^2) bastante pequenos (0,036, 0,11 e 0,023).

As figuras 17, 18 e 19, painel superior, mostram a evolução longitudinal dos valores da área fascicular e do somatório das áreas de todos os capilares presentes no endoneuro, dos nervos dos animais do grupo III. Cada ponto vermelho representa o valor de uma medida fascicular e/ou do somatório da área dos capilares. Observa-se, mais uma vez, que não houve coincidência dos picos de valores entre as áreas do fascículo e dos capilares. Mais ainda, nesse grupo, os diagramas apresentam-se mais irregulares na sua forma, em relação aos diagramas dos nervos dos grupos I e II. Ainda assim, em alguns casos, quando o valor do somatório da área dos capilares foi muito grande, houve uma tendência de aumento na área fascicular total naquela secção transversal. Nas mesmas figuras, painel inferior, observamos a distribuição dos dois parâmetros em diagramas de pontos, com a reta de regressão representada em vermelho. Para dois dos três nervos estudados nesse grupo, observa-se, novamente, uma correlação positiva fraca entre os dois parâmetros, sendo os valores dos coeficientes de correlação ao quadrado (r^2) pequenos (0,26 e 0,461). Um dos nervos desse grupo apresentou uma correlação negativa, ainda que fraca ($r^2 = 0,11$), entre os dois parâmetros. Interessantemente, esse nervo foi o que apresentou maior irregularidade no diagrama de pontos que representa a evolução longitudinal dos dois parâmetros estudados.

Figura 11: *Painel superior:* Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo I de um rato com 30 dias de idade. Notar que os picos dos dois parâmetros estudados não são coincidentes. *Painel inferior:* Diagrama de pontos da correlação entre a área fascicular total e a área total ocupada pelos capilares, do mesmo nervo representado no painel superior, com a reta de regressão representada em vermelho. r^2 = coeficiente de correlação de Spearman ao quadrado.

30 DIAS - NERVO II

30 DIAS - NERVO II

Figura 12: *Painel superior:* Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo II de um rato com 30 dias de idade. Notar que os picos dos dois parâmetros estudados não são coincidentes. *Painel inferior:* Diagrama de pontos da correlação entre a área fascicular total e a área total ocupada pelos capilares, do mesmo nervo representado no painel superior, com a reta de regressão representada em vermelho. r^2 = coeficiente de correlação de Spearman ao quadrado.

Figura 13: *Painel superior:* Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo III de um rato com 30 dias de idade. Notar que os picos dos dois parâmetros estudados não são coincidentes. *Painel inferior:* Diagrama de pontos da correlação entre a área fascicular total e a área total ocupada pelos capilares, do mesmo nervo representado no painel superior, com a reta de regressão representada em vermelho. r^2 = coeficiente de correlação de Spearman ao quadrado.

Figura 14: *Painel superior:* Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo I de um rato com 180 dias de idade. Notar que os picos dos dois parâmetros estudados não são coincidentes. *Painel inferior:* Diagrama de pontos da correlação entre a área fascicular total e a área total ocupada pelos capilares, do mesmo nervo representado no painel superior, com a reta de regressão representada em vermelho. r^2 = coeficiente de correlação de Spearman ao quadrado.

Figura 15: *Painel superior:* Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo II de um rato com 180 dias de idade. Notar que os picos dos dois parâmetros estudados não são coincidentes. *Painel inferior:* Diagrama de pontos da correlação entre a área fascicular total e a área total ocupada pelos capilares, do mesmo nervo representado no painel superior, com a reta de regressão representada em vermelho. r^2 = coeficiente de correlação de Pearson ao quadrado.

Figura 16: *Painel superior:* Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo III de um rato com 180 dias de idade. Notar que os picos dos dois parâmetros estudados não são coincidentes. *Painel inferior:* Diagrama de pontos da correlação entre a área fascicular total e a área total ocupada pelos capilares, do mesmo nervo representado no painel superior, com a reta de regressão representada em vermelho. r^2 = coeficiente de correlação de Spearman ao quadrado.

Figura 17: *Painel superior:* Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo I de um rato com 360 dias de idade. Notar que os picos dos dois parâmetros estudados não são coincidentes. *Painel inferior:* Diagrama de pontos da correlação entre a área fascicular total e a área total ocupada pelos capilares, do mesmo nervo representado no painel superior, com a reta de regressão representada em vermelho. r^2 = coeficiente de correlação de Spearman ao quadrado.

Figura 18: *Painel superior:* Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo II de um rato com 360 dias de idade. Notar que os picos dos dois parâmetros estudados não são coincidentes. *Painel inferior:* Diagrama de pontos da correlação entre a área fascicular total e a área total ocupada pelos capilares, do mesmo nervo representado no painel superior, com a reta de regressão representada em vermelho. r^2 = coeficiente de correlação de Spearman ao quadrado.

360 DIAS - NERVO III

360 DIAS - NERVO III

Figura 19: *Painel superior:* Evolução longitudinal da área fascicular total e da área total ocupada pelos capilares endoneurais no nervo III de um rato com 360 dias de idade. Notar que os picos dos dois parâmetros estudados não são coincidentes. *Painel inferior:* Diagrama de pontos da correlação entre a área fascicular total e a área total ocupada pelos capilares, do mesmo nervo representado no painel superior, com a reta de regressão representada em vermelho. r^2 = coeficiente de correlação de Spearman ao quadrado.

3.2- Valores médios da área fascicular e da área total dos capilares

Os valores médios das áreas fasciculares e dos somatórios das áreas dos capilares endoneurais para os nervos do grupo I, nos seus diferentes segmentos, bem como os valores médios entre os segmentos, estão representados na tabela 1.

Segmento	NERVO I		NERVO II		NERVO III		MÉDIAS	
	Fascículo	Vaso	Fascículo	Vaso	Fascículo	Vaso	Fascículo	Vaso
Proximal	42446	884	31045	806	29162	1110	34919	919
	±	±	±	±	±	±	±	±
	926	66	2662	235	4674	428	2027	151
Médio	47320	1782	31698	2667	42298	1614	41458	1638
	±	±	±	±	±	±	±	±
	3278	353	3328	135	1038	146	1302#	136#
Distal	46328	1359	31165	1530	43803	2950	43981	2047
	±	±	±	±	±	±	±	±
	1655	157	1738	423	1305	526	1412*	262*

Tabela 1: Área fascicular média (μm^2) e da área total dos capilares endoneurais (μm^2) dos segmentos proximal, médio e distal dos nervos vagos dos ratos do grupo I. Valores expressos em média $\pm$ EPM. * indica diferença entre segmentos proximal e distal. # indica diferença entre segmentos proximal e médio.

A análise estatística mostrou que, para os nervos dos animais do grupo I, a área fascicular média foi significativamente maior nos segmentos médios quando comparado aos segmentos proximais. Essa mesma diferença foi observada quando comparamos os segmentos proximais e distais. Não houve diferença quando comparamos os segmentos médios e os distais nesse grupo. Para a média da área total dos capilares endoneurais dos nervos dos animais do grupo I, a análise estatística mostrou que esse parâmetro também foi significativamente maior nos segmentos médios quando comparado aos segmentos proximais. Essa mesma diferença foi observada quando comparamos os segmentos

proximais e distais, e também não houve diferença quando comparamos os segmentos médios e os distais nesse grupo.

Os valores médios das áreas fasciculares e dos somatórios das áreas dos capilares endoneurais para os nervos do grupo II, nos seus diferentes segmentos, bem como os valores médios entre os segmentos, estão representados na tabela 2.

	NERVO I		NERVO II		NERVO III		MÉDIAS	
Segmento	Fascículo	Vaso	Fascículo	Vaso	Fascículo	Vaso	Fascículo	Vaso
<i>Proximal</i>	74877	1566	64305	621	82280	1475	72604	1137
	±	±	±	±	±	±	±	±
	5204	353	2603	65	3278	164	2347	130
<i>Médio</i>	58730	1860	70869	1658	76676	1341	69668	1581
	±	±	±	±	±	±	±	±
	647	198	967	62	1302	207	950	112#
<i>Distal</i>	70869	1894	79947	1270	77724	1447	75508	1581
	±	±	±	±	±	±	±	±
	1976	67	2320	47	1868	156	1315+	64*+

Tabela 2: Área fascicular média (μm^2) e média da área total dos capilares endoneurais dos segmentos proximal, médio e distal dos nervos vagos dos ratos do grupo II. Valores expressos em média $\pm$ EPM. * indica diferença entre segmentos proximal e distal. # indica diferença entre segmentos proximal e médio. + indica diferença entre segmentos médio e distal.

A análise estatística mostrou que, para os nervos dos animais do grupo II, a área fascicular média foi significativamente maior nos segmentos distais quando comparado aos segmentos médios. Não houve diferença quando comparamos os segmentos proximais e médios, bem como os segmentos proximais e os distais, nesse grupo. Para a média da área total dos capilares endoneurais dos nervos dos animais do grupo II, a análise estatística mostrou que esse parâmetro foi significativamente maior nos segmentos distais quando comparado aos segmentos médios, bem como aos proximais e, também, maior nos segmentos médios comparados aos proximais.

Os valores médios das áreas fasciculares e dos somatórios das áreas dos capilares endoneurais para os nervos do grupo III, nos seus diferentes segmentos, bem como os valores médios entre os segmentos, estão representados na tabela 3.

NERVO I			NERVO II		NERVO III		MÉDIAS	
Segmento	Fascículo	Vaso	Fascículo	Vaso	Fascículo	Vaso	Fascículo	Vaso
Proximal	99408	1290	56963	106	54642	271	68642	559
	±	±	±	±	±	±	±	±
	2333	103	3647	10	3412	58	4014	93
Médio	84249	1670	75933	1082	64339	578	74656	1085
	±	±	±	±	±	±	±	±
	1051	59	712	46	1086	46	754	41#
Distal	90850	1353	74695	927	61362	578	74736	929
	±	±	±	±	±	±	±	±
	1783	147	809	99	1004	40	1639	69*

Tabela 3: Área fascicular média (μm^2) e a média da área total dos capilares endoneurais (μm^2) dos segmentos proximal, médio e distal dos nervos vagos dos ratos do grupo III. Valores expressos em média $\pm$ EPM. * indica significância entre segmentos proximal e distal. # indica significância entre segmentos proximal e médio. Não houve diferenças significantes estatisticamente.

A análise estatística mostrou que, para os nervos dos animais do grupo III, a área fascicular média não foi significativamente diferente entre os segmentos estudados. Para a média da área total dos capilares endoneurais dos nervos dos animais do grupo III, a análise estatística mostrou que esse parâmetro foi significativamente maior nos segmentos distais quando comparado aos segmentos proximais e, significativamente maior nos segmentos médios comparados aos proximais. Não houve diferença entre os segmentos médios e distais.

A figura 20 mostra a comparação da área fascicular média dos diversos segmentos estudados entre os grupos experimentais. A análise estatística mostrou que, nos

segmentos proximais, essa área foi significativamente maior nos grupos II e III, comparados ao grupo I. Não houve diferença entre os grupos II e III.

Figura 20: Área fascicular média dos diversos segmentos estudados nos diferentes grupos experimentais. * indica diferença significativa entre grupos I e II. # indica diferença significativa entre grupo I e III. + indica diferença significativa entre grupo II e III.

Para os segmentos médios, a análise estatística mostrou que a área fascicular média foi significativamente maior nos grupos II e III, comparados ao grupo I, bem como no grupo III comparado ao grupo II. Para os segmentos distais, essa área foi significativamente maior nos grupos II e III, comparados ao grupo I, sem diferença entre os grupos II e III.

A figura 21 mostra a comparação da área total média dos capilares endoneurais dos diversos segmentos estudados entre os grupos experimentais. A análise estatística mostrou que, nos segmentos proximais, essa área foi significativamente menor no grupo

III, comparado ao grupo II. Não houve diferença entre os grupos I e II, bem como entre os grupos I e III.

Figura 21: Área média capilares endoneurais dos diversos segmentos estudados nos diferentes grupos experimentais. * indica diferença significativa entre grupos I e II. # indica diferença significativa entre grupo I e III. + indica diferença significativa entre grupo II e III.

Para os segmentos médios, a análise estatística mostrou que a área média dos capilares endoneurais foi significativamente menor no grupo III, comparado aos grupos I e II, sem diferença entre os grupos I e II. Para os segmentos distais, essa área também foi significativamente menor no grupo III, comparados ao grupo II, sem diferenças entre os grupos I e II.

3.3- Porcentagem da área fascicular total ocupada pelos capilares

Os valores médios das porcentagens da área fascicular total ocupada pelos capilares nos nervos dos grupos I, II e III estão representados nas figuras 22, 23 e 24, respectivamente.

Figura 22: Porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares nos diferentes segmentos dos nervos do grupo I. * indica diferença significativa entre os segmentos proximal e distal. # indica diferença significativa entre os segmentos proximal e médio.

A análise estatística mostrou que, no grupo I, a porcentagem da área fascicular total ocupada pelos capilares foi significativamente maior nos segmentos médio e distal, quando comparados ao segmento proximal. Não houve diferença entre os segmentos médio e distal nesse grupo. Para os nervos dos grupos II e III, foram observadas as mesmas diferenças descritas para os nervos do grupo I.

Figura 23: Porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares nos diferentes segmentos dos nervos do grupo II. * indica diferença significativa entre os segmentos proximal e distal. # indica diferença significativa entre os segmentos proximal e médio.

A figura 25 mostra a comparação da porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares endoneurais dos diversos segmentos estudados entre os grupos experimentais. A análise estatística mostrou que, nos segmentos proximais, essa área foi significativamente menor nos grupos II e III, comparado ao grupo I. Ainda no segmento proximal, essa porcentagem também foi significativamente menor no grupo III, comparado ao grupo II. As diferenças observadas nos segmentos proximais entre os três grupos experimentais se repetiram para os segmentos médios e distais.

Figura 24: Porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares nos diferentes segmentos dos nervos do grupo III. * indica diferença significativa entre os segmentos proximal e distal. # indica diferença significativa entre os segmentos proximal e médio.

Figura 25: Porcentagem média da área fascicular total ocupada pelos capilares nos diferentes segmentos dos nervos dos grupos I, II e III. * indica diferença significativa entre os segmentos dos grupos I e II. # indica diferença significativa entre os segmentos dos grupos II e III. + indica diferença significativa entre os segmentos dos grupos I e III.

3.4- Diâmetro médio e distribuição de diâmetro dos capilares endoneurais

Os diâmetros médios dos capilares endoneurais nos diferentes segmentos dos grupos I, II e III estão representados na tabela 4. A análise estatística entre os segmentos dos nervos do mesmo grupo não mostrou diferença significativa. Na comparação entre os segmentos de mesmo nível, entre os diferentes grupos experimentais, a análise estatística mostrou diferenças apenas entre os segmentos proximais e distais, sendo os valores obtidos para os segmentos médios semelhantes entre os grupos. Para os segmentos proximais, houve diferença significativa entre os grupos I e III, sendo os valores médios dos diâmetros capilares do segmento proximal do grupo I significativamente maior que do grupo III. Para os segmentos distais, essas mesmas diferenças descritas para os segmentos proximais foram observadas.

<i>Segmento</i>	Grupo I	Grupo II	Grupo III
<i>Proximal</i>	11,3 ± 1,1	9,0 ± 1,4	6,3 ± 0,6*
<i>Médio</i>	11,4 ± 1,1	11,0 ± 1,2	8,3 ± 1,2
<i>Distal</i>	13,5 ± 0,9	12,8 ± 1,7	8,9 ± 1,3*

Tabela 4: Diâmetro médio (μm) dos capilares endoneurais dos segmentos proximal, médio e distal dos nervos vagos dos ratos dos grupos I, II e III. Valores expressos em média $\pm$ EPM.
* indica significância entre os grupos I e III.

As distribuições dos diâmetros dos capilares endoneurais nos diferentes segmentos dos grupos I, II e III estão representadas nas figuras 26, 27 e 28, respectivamente. Para os segmentos proximais dos nervos do grupo I, os diâmetros dos

capilares endoneurais variaram de 4 a 22 μm , com distribuição bimodal, com picos em 8 e 16 μm . Para os segmentos médios desse grupo, os diâmetros variaram de 2 a 18 μm , com histograma também de distribuição bimodal, com picos em 6 e 18 μm . Nos segmentos distais, os diâmetros variaram de 4 a 22 μm , com histograma de padrão unimodal, com pico em 14 μm .

Para os segmentos proximais dos nervos do grupo II, os diâmetros dos capilares endoneurais variaram de 2 a 30 μm , com distribuição unimodal, com picos idênticos em 6 e 8 μm . Para os segmentos médios desse grupo, os diâmetros variaram de 4 a 30 μm , com histograma de distribuição bimodal, com picos em 6 e 14 μm . Nos segmentos distais, os diâmetros variaram de 4 a 26 μm , com histograma de padrão mal definido, com picos em 4 e 22 μm .

Para os segmentos proximais dos nervos do grupo III, os diâmetros dos capilares endoneurais variaram de 1 a 24 μm , com distribuição unimodal, com pico em 6 μm . Para os segmentos médios desse grupo, os diâmetros variaram de 2 a 28 μm , com histograma de distribuição também unimodal, com pico em 10 μm . Nos segmentos distais, os diâmetros variaram de 2 a 28 μm , com histograma de padrão mal definido, com picos em 4 e 16 e 18 μm .

A análise estatística não mostrou diferenças quando comparamos as distribuições dos diâmetros dos capilares endoneurais entre os diferentes segmentos de um mesmo grupo, bem como os segmentos do mesmo nível (proximal, médio e distal) entre os diferentes grupos.

Figura 26: Histogramas de distribuição dos diâmetros dos vasos capilares endoneurais nos segmentos proximal, médio e distal dos nervos vagos de ratos com 30 dias de vida.

Figura 27: Histogramas de distribuição dos diâmetros dos vasos capilares endoneurais nos segmentos proximal, médio e distal dos nervos vagos de ratos com 180 dias de vida.

Figura 28: Histogramas de distribuição dos diâmetros dos vasos capilares endoneurais nos segmentos proximal, médio e distal dos nervos vagos de ratos com 360 dias de vida.

DISCUSSÃO

1- DADOS PONDERAIS

Ratos da linhagem Wistar-Kyoto foram utilizados nesse estudo porque são animais de fácil manipulação e manutenção em pequenos biotérios e também porque essa linhagem de animais é largamente utilizada em experimentos que envolvem estudos de hipertensão experimental, uma vez que são os controles naturais dos animais SHR. Além disso, fêmeas foram utilizadas porque se mostraram menos susceptíveis ao desenvolvimento de uma neuropatia espontânea (MAJJED, 1992) e também porque, como utilizamos animais velhos, sabe-se que fêmeas sobrevivem mais tempo e em melhores condições que ratos machos (VAN STEENIS & KROES, 1971).

SHARMA e colaboradores (1980) publicaram uma curva de peso corporal de ratos Wistar machos com idade de 7 a 72 semanas de vida. Embora os autores não tenham referido uma análise estatística dessa curva, observa-se que um aumento muito rápido no peso corporal acontece no período de 7 a 15 semanas. Um aumento discretamente mais lento ocorre da 15^a a 20^a semanas e um aumento discreto desse peso acontece da 20^a a 30^a semanas. A partir de então, a curva mostra que o peso corporal dos animais continua aumentando em menores proporções, até uma aparente estabilização em torno da 50^a semana. Os ratos atingem um peso corporal máximo de aproximadamente 600 g. JERÔNIMO et al. (2005) estudaram ratas da linhagem Wistar e mostraram que os dados obtidos em fêmeas foram semelhantes aos obtidos por SHARMA et al. (1980), com a diferença de que as fêmeas estabilizaram o peso corporal em valor menor (em torno de 350 g) que o dos machos. Nossas observações mostraram que as ratas da linhagem WKY apresentaram um ganho do peso corporal muito acentuado entre 30 e 180 dias, reduzindo esse ganho entre as idades de 180 e 360 dias, embora ainda com diferença significativa entre essas duas idades. Esse resultado é idêntico ao observado para ratas da linhagem

Wistar, mostrando que o ganho ponderal de ratas normotensas de duas linhagens diferentes apresenta o mesmo comportamento.

2- MORFOLOGIA

O nervo vago contém fibras eferentes viscerais, aferentes viscerais e aferentes somáticas, sendo um nervo muito complexo, apresentando ampla distribuição no pescoço, no tórax e no abdome (SOLTANPOUR & SANTER, 1996). A composição morfológica do tronco do nervo vago abdominal ou de seus ramos subdiafragmáticos foram quantitativamente investigadas em várias espécies: gatos (AGOSTINI et al., 1957; DUBOIS et al., 1937; MEI et al., 1980), carneiros (HASAN et al., 1993), coelhos (DE NEEF et al., 1982; EVANS & MURRAY, 1954), cães (CHASE & RANSON, 1914) e ratos (GABELLA & PEASE, 1973; PRECHTL & POWLEY, 1987). Estudos do segmento cervical desse nervo são encontrados em número menor na literatura. O nervo vago, na sua porção cervical, foi estudado por SOLTANPOUR & SANTER (1996) em ratos idosos e por FAZAN & LACHAT (1997) em ratos inoculados com *T. cruzi*.

Nossos resultados morfológicos mostram que o nervo vago cervical, em secções transversais, é arredondado ou oval, envolto por um perineuro bem definido, não subdividido em fascículos, como descrito por SOLTANPOUR & SANTER (1996) e também por FAZAN & LACHAT (1997). No endoneuro, a sua citologia geral não difere daquela de outros nervos periféricos e, de modo geral, pode ser comparável com observações morfológicas realizadas em nervos sensitivos (CAUSEY & BARTON, 1959; FERRIERE et al., 1985; JACOBS & LOVE, 1985, FAZAN et al., 1997) e mistos (CAUSEY & BARTON, 1959; FRIEDE & SAMORAJSKI, 1967; WOZNIAC et al., 1982; JERONIMO

et al., 2005). Algumas características específicas podem ser apontadas como, por exemplo, a presença, nos segmentos distais, de um grupamento de fibras mielínicas mais calibrosas na periferia do nervo. STATHAKIS e colaboradores (1994) confirmam que esse agrupamento de fibras mielínicas dará origem ao nervo laríngeo recorrente.

Quanto ao grupo celular por nós encontrado no segmento cervical do nervo vago, alguns autores já descreveram a presença de células semelhantes, porém, no segmento abdominal desse nervo. CHEN & YATES (1970) encontraram um grupo de células granulares, com grande número de capilares entre si, ao estudarem o vago abdominal de hamsters. Tal grupo celular foi interpretado como sendo paragânglios vagais típicos, encapsulados, apresentando dois tipos celulares: as células principais e as células de sustentação, com as mesmas características por nós observadas. Esses autores sugeriram a presença de catecolaminas nos grânulos citoplasmáticos das células principais. Posteriormente, GABELLA & PEASE (1973) confirmaram a ocorrência de células semelhantes, nos segmentos torácico e abdominal do nervo vago de ratos, descrevendo-as como células granulares, que aparecem geralmente agrupadas, de fácil reconhecimento à microscopia de luz, e entre as quais há grande número de capilares. Em nível de microscopia eletrônica, elas apresentam grandes vesículas granulares, espalhadas pelo citoplasma e, emitem prolongamentos que podem apresentar centenas de micrômetros, que são ocupados por essas mesmas vesículas. As conexões e a origem dessas células granulares ainda não são conhecidas. Esses mesmos autores (GABELLA & PEASE, 1973) mencionam a semelhança desse grupo celular com os já descritos no gânglio cervical superior. Embora esse grupo celular já tenha sido alvo de alguns estudos, os dados de literatura não são conclusivos a seu respeito. Alguns autores sugerem que tais células sejam paragânglios (CHEN & YATES, 1970), outros classificam-nas como células intensamente fluorescentes ("SIF cells") (GABELLA & PEASE, 1973), e outros acreditam

que sejam células glômicas (PRECHTL & POWLEY, 1990). Ainda assim, nossas observações morfológicas são compatíveis com todas as descrições realizadas pelos autores mencionados acima.

O aparecimento de corpos celulares neuroniais em diversos cortes transversais do nervo por nós estudado, já foi descrito na literatura, tanto para o rato (PRECHTL & POWLEY, 1990) quanto para outros animais (HOFFMAN & KUNTZ, 1927). HOFFMAN & KUNTZ (1927) afirmam que, em secções seriadas de ambos os nervos vagos de gatos, desde o gânglio nodoso até os ramos terminais abdominais, células ganglionares ocorrem ao longo de toda extensão do nervo e seus ramos, mas a distribuição delas é bastante irregular. Essas células são mais abundantes nos segmentos torácicos em relação aos segmentos cervicais e abdominais e aparecem em número maior nos nervos do lado direito em relação aos do lado esquerdo. Tais células já foram contabilizadas ao longo dos nervos vagos tanto de gatos quanto de cães e também de humanos (HOFFMAN & KUNTZ, 1927). Em nossas observações, confirmamos que o aparecimento dessas células é irregular e pouco freqüente nos segmentos vagais cervicais de ratas da linhagem WKY, sem nenhuma preferência em relação ao nível cervical estudado.

3- MORFOMETRIA

Não encontramos relatos de literatura de nenhum estudo dedicado à exploração ou descrição de uma correlação entre a área fascicular e a área total ocupada pelos capilares endoneurais. Sendo assim, o dado aqui apresentado é totalmente original, não só para o nervo vago, como para a linhagem de rato estudada, quanto para os nervos periféricos, de maneira geral. GIANNINI & DYCK (1993) realizaram uma correlação entre a idade e o

diâmetro dos vasos em nervos surais de humanos, mostrando que os diâmetros não se alteram com a idade. De maneira geral, são raras as publicações que se dedicaram ao estudo dos vasos endoneurais. Quando essas descrições são encontradas, os parâmetros diâmetro e área são os mais freqüentemente descritos. Ainda assim, pode-se encontrar relatos sobre a porcentagem da área fascicular ocupada pelos capilares em alguns trabalhos.

BELL & WEDDELL (1984a) relataram que os valores percentuais da área endoneural ocupada pelos capilares podem estar aumentados em decorrência de um estado geral de vasodilatação devido a condições de intenso fluxo. Assim, os autores utilizaram fixação por imersão, não por perfusão, para o estudo da vascularização do nervo isquiático. Entretanto, se observarmos as imagens apresentadas por esses autores, os vasos estudados não estavam, necessariamente, totalmente esvaziados e nem apresentavam a forma arredondada esperada para um vaso. Em nosso estudo, optamos por utilizar a técnica de fixação por perfusão, utilizando a força da gravidade, para que a pressão da perfusão fosse mantida constante. O método de perfusão tem sido utilizado de rotina por diversos autores para a preservação do tecido nervoso, uma vez que o mesmo é muito susceptível à isquemia e hipóxia. O método de fixação por perfusão é conhecido por preservar, da melhor maneira possível, a morfologia dos tecidos como se apresentam *in vivo*. A fixação por perfusão é considerada superior ao método de imersão pelo fato de que esse último pode preservar apenas as camadas mais externas dos tecidos ou órgãos (HAYAT, 1970). Nossos resultados morfológicos mostraram uma excelente qualidade de preservação dos nervos estudados, ao longo de toda sua extensão, o que possibilitou a realização das secções seriadas. Além disso, os vasos incluídos nesse nosso estudo apresentaram-se vazios e com a forma arredondada, proporcionando boa precisão nas medidas de área e diâmetro luminal.

BELL & WEDDELL (1984a) estudaram ratos com 3 ½ meses e 1 ano de idade e não encontraram diferenças significativas na porcentagem da área endoneural ocupada pelos capilares, entre as idades. Esses resultados diferem dos nossos, uma vez que mostramos que a porcentagem da área endoneural ocupada pelos capilares aumenta no sentido proximal para distal nos grupos jovens, e diminui drasticamente nos animais mais velhos, em todos os segmentos estudados, comparados aos animais jovens. Em relação ao diâmetro médio dos capilares, BELL & WEDDELL (1984a) relataram valores médios não significativos entre as idades estudadas. Novamente esses resultados diferem dos nossos, uma vez que observamos que, nos segmentos proximais e distais, os diâmetros dos capilares dos animais com 360 dias de vida são significativamente menores que dos animais com 30 dias de vida. Essas diferenças podem estar diretamente relacionadas às diferenças de protocolo experimental dos dois estudos, entre elas: metodologia de fixação, linhagem de animais, metodologia morfométrica e escolha do nervo estudado.

Capilares endoneurais podem se afastar entre si quando os axônios, a bainha de mielina e o tecido conjuntivo endoneural alcançam o volume máximo. Com o envelhecimento, observamos um aumento significativo da área fascicular dos nervos vagos. Esse resultado é compatível com observações nesse mesmo nervo, em outros estudos (FAZAN & LACHAT, 1997; SOLTANPOUR, 1996), bem como em outros nervos de ratos (SHARMA et al., 1980; JERONIMO et al., 2005). Informações sobre número e tamanho dos fascículos dos nervos em geral são raras na literatura, tanto em estudos com nervos humanos quanto em estudos experimentais. Os parâmetros morfológicos e morfométricos comumente descritos são o número de fibras e sua densidade, sem que os autores mencionem a área fascicular. Muito provavelmente, isso se deve ao fato de que, em humanos, as biópsias são fasciculares, para reduzir ao máximo o déficit neurológico pós-biópsia (DYCK & LOFGREN, 1968; THOMAS, 1970) e, em trabalhos experimentais,

apenas uma pequena região da área fascicular é estudada (UNGER et al., 1998; KOVACIC et al., 2003).

Embora a área fascicular dos nervos vagos tenha aumentado com o envelhecimento dos animais, a área total dos vasos capilares não acompanhou esse aumento, apesar do aumento dessa área no sentido longitudinal. Assim sendo, esses resultados sugerem que o nervo vago de animais mais velhos apresente uma vascularização limítrofe, podendo estar mais susceptível aos processos isquêmicos. BELL & WEDDELL (1984a) relataram um aumento não significativo da porcentagem da área endoneural ocupada pelos capilares no nervo isquiático de ratos, com o avançar da idade. Esse resultado é contrário ao obtido no nervo vago de ratos, uma vez que demonstramos que a área média dos capilares endoneurais diminui com a idade, bem como a porcentagem da área fascicular ocupada por esses capilares. BAKER e colaboradores (1989) estudaram a microvasculatura de gânglios simpáticos de ratos Wistar em diferentes idades. Esses autores mostraram uma diminuição da densidade dos capilares e da área total dos capilares entre as idades de 6 e 12 meses. Esses dados são compatíveis com nossos resultados e, mais importante, a metodologia utilizada para o preparo do tecido nervoso nesse estudo foi semelhante à nossa. Nesse mesmo estudo, os autores mostraram uma redução da área total dos capilares entre as idades de 6 e 12 meses, embora essa redução não tenha alcançado níveis significativos. BAKER e colaboradores (1989) também estudaram o diâmetro médio dos capilares dos gânglios simpáticos de ratos Wistar e não mostraram diferença nesse diâmetro em ratos com 6 e 24 meses de idade. Mais uma vez, esse resultado é semelhante ao observado em nossos animais e os autores discutem que a diminuição da densidade dos capilares com a idade implica em que a distância média entre os capilares tenha aumentado, o que pode ser também inferido para as nossas observações.

BLUNT & STRATTON (1956) realizaram um estudo elegante, utilizando o “clearance” de sódio como índice de eficiência circulatória, em nervos isquiáticos de coelhos. Com essa metodologia, esses autores descreveram a importância da vascularização regional (vasos extrínsecos) e do plexo vascular longitudinal intrínseco na manutenção do fluxo sanguíneo nas porções proximal e distal do nervo. Esse estudo mostrou que o fluxo sanguíneo da porção distal do nervo é muito mais dependente dos vasos regionais que do plexo intrínseco. Por outro lado, na porção proximal, os vasos regionais contribuem bem menos para o suprimento vascular do nervo. Os autores concluíram que essa diferença é resultante do arranjo anatômico dos vasos regionais, sendo os da extremidade proximal mais próximos dos *vasa nervorum* enquanto os da extremidade distal estão mais distantes. Não encontramos relatos de literatura a respeito da descrição da irrigação específica do nervo vago de ratos mas, nossos resultados mostraram diferenças significativas entre os segmentos proximal e distal sugerindo que, nos animais mais velhos, os segmentos distais possam ser menos vascularizados que os proximais. Esse resultado vai ao encontro dessa descrição de maior dependência, do segmento distal do nervo, da vascularização extrínseca do mesmo.

MARCARIAN & SMITH (1968), investigando os vasos endoneurais do nervo ulnar de gatos mostrou que houve um aumento progressivo do número de vasos no sentido proximal até a bifurcação terminal. Entretanto, esses autores não mencionaram a relação entre esse aumento no número, com o tamanho dos vasos estudados. Em relação à distribuição dos diâmetros dos vasos, os autores descrevem que os diâmetros dos vasos variaram de 2,7 a 51,8 μm , sendo 92% dos vasos com diâmetros menores que 10 μm . Nossos resultados mostraram que os diâmetros dos capilares do nervo vago variaram de 2 a 30 μm , também com o maior número de vasos com diâmetros menores que 10 μm . Muito provavelmente, nossos valores foram menores que os descritos por MARCARIAN &

SMITH (1968), porque o rato é um animal menor e, conseqüentemente, os nervos e vasos devem apresentar dimensões reduzidas em relação aos animais de maior porte, como o gato.

Em nervos surais de humanos, GIANINI & DYCK (1993) observaram que os diâmetros dos capilares endoneurais foram amplamente distribuídos entre valores de 5 a 22 μm , sendo que, de acordo com o diâmetro dos capilares, subclasses de microvasos não puderam ser distinguidas. Além disso, diferenças na distribuição de frequência do diâmetro dos microvasos entre as idades e o sexo não foram evidenciadas. Os autores descrevem apenas um discreto decréscimo na densidade dos capilares endoneurais com o avançar da idade. Esses resultados são totalmente compatíveis com os obtidos em nosso estudo, uma vez que, nos nervos vagos estudados nas diferentes idades, os diâmetros dos capilares foram amplamente distribuídos, sem nenhum padrão determinado quer entre os segmentos, quer entre as idades, o que é também compatível com os resultados de MARCARIAN & SMITH (1968), para nervos de gatos. Parece, então, que a rede capilar endoneural apresenta-se com vasos de diâmetros variados, sem obedecer a um padrão de tamanho de vasos de acordo com o tamanho, ou localização específica dos nervos em geral, ou idade. SOLTANPOUR e colaboradores (1996) estudaram os microvasos do gânglio nodoso de ratos Wistar machos e verificaram que o diâmetros desses vasos tem distribuição unimodal, sem diferença entre ratos com 4 e 24 meses de idade. Os autores sugerem que os neurônios sensitivos vagais não são afetados pela idade. Esses resultados podem, de certa forma, ser compatíveis com aqueles descritos acima, com a diferença que, nesse caso, houve o padrão unimodal de distribuição dos diâmetros.

CONCLUSÕES

Nossos resultados permitem as seguintes conclusões:

- 1- O aspecto geral do endoneuro dos segmentos cervicais do nervo vago, de ratas da linhagem WKY não difere de outros nervos em geral, bem como do nervo vago de outras linhagens de ratos ou de outros animais.
- 2- Não há correlação importante entre a área fascicular e a área total ocupada pelos capilares nos nervos vagos de ratas da linhagem WKY, nem em ratos jovens, nem em ratos adultos ou velhos. Esse achado pode trazer implicações para aqueles estudos onde os autores realizam o cálculo da densidade das fibras, sem descontar a área do vaso endoneural. Isso porque não necessariamente o tamanho do fascículo acompanha a entrada de um vaso mais calibroso. Assim, na presença de vasos calibrosos e a não exclusão dessa área no cálculo da densidade das fibras, o resultado poderá ser subestimado, uma vez que a área do vaso estaria sendo computada como parte da área endoneural que contém fibras.
- 3- A área fascicular aumenta com o avançar da idade, mas se mantém constante no sentido longitudinal do nervo vago cervical de ratas da linhagem WKY.
- 4- O somatório da área média dos capilares endoneurais diminui com o avançar da idade, embora seja relativamente constante no sentido longitudinal do nervo vago cervical de ratas da linhagem WKY. Esse achado pode implicar em uma pior vascularização nos nervos de animais mais velhos, deixando-os mais susceptíveis aos processos isquêmicos.
- 5- A porcentagem da área fascicular ocupada pelos capilares no nervo vago cervical de ratas da linhagem WKY tende a diminuir no sentido longitudinal e diminui drasticamente nos nervos dos animais mais velhos. Esse resultado pode ser sugestivo de que, além dos animais mais velhos apresentarem uma pior

vascularização, os segmentos distais possam ser menos vascularizados que os proximais. Esse achado implica em que estudos de isquemia nervosa possam apresentar resultados diferentes, dependendo do nível estudado.

- 6- O diâmetro médio dos capilares endoneurais do nervo vago cervical de ratas da linhagem WKY está mantido no sentido longitudinal nos animais das diferentes idades e apresenta-se discretamente diminuído nos animais mais velhos, em relação aos animais jovens.
- 7- A rede capilar endoneural do nervo vago cervical de ratas da linhagem WKY apresenta-se com vasos de diâmetros variados, sem obedecer a um padrão de distribuição de tamanho de acordo com o nível do nervo ou de acordo com a idade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AALKJAER, C; MULVANY, MJ. **Morphological and mechanical properties of small mesenteric arteries and veins in spontaneously hypertensive rats.** Acta Physiol. Scand, v. 107, p. 309-312, 1979

AGOSTINI, E; CHINNOCK, JE; DALY, MDB; MURRAY, JG. **Functional and histological studies of the vagus nerve and its branches to the heart, lungs and abdominal viscera in the cat.** J. Pshysiol., v. 135, p. 182-205, 1957.

ADAMS, WE. **The blood supply of nerves.** I. Historical review. J. Anat., v.76, p. 323-341, 1942.

BAKER, DM.; SANTER, RM.; BLAGGAN, AS. **Morphometric studies on the microvasculature of pre-and paravertebral sympathetic ganglion in the adult and aged rat by light and electron microscopy.** J. Neurocytol., v.18, p. 647-660, 1989.

BEHSE, F; BUCHTHAL F; CARLSEN F; KNAPPEIS, GG. **Endoneural space and its constituents in the sural nerve of patients with neuropathy.** Brain, v. 97, p.773, 1974.

BEHSE, F. **Morphometric studies on the human sural nerve.** Acta Neurol. Scand., v.82, Suplementum n.132, p. 5-38, 1990.

BELL, MA; WEDDELL, MD. **A morphometric study of intrafascicular vessels of mammalian sciatic nerve.** Muscle & Nerve, v.7, p. 524-534, 1984a.

BELL, MA.; WEDDELL, MD. **A descriptive study of the blood vessels of the sciatic nerve in the rat, man and other mammals.** Brain, v. 107, p. 871-898, 1984.

BLUNT, MJ.; STRATTON, K. **The immediate effects of ligature of vasa nervorum.** J. Anat, v. 90, p. 204-216, 1956.

CAMPADELLI, P; GANGAI, C; PASQUALE, F. **Automated morphometric analysis in peripheral neuropathies.** Comput. Biol. Méd., v. 29, p. 147-156, 1999.

CAUSEY, G; BARTON, AA. **The celular component of the endoneurium of peripheral nerve.** Brain, v. 82, p. 594-598, 1959.

CHEN, I-LI; YATES, RD. **Ultrastructural studies of vagal paraganglia in Syrian Hamster.** *ZZellforsch. Mikrosck. Anat.*, v. 108, p. 309-323, 1970.

CRLSEN, F; BEHSE, F. **Three dimensional analysis of schwann cells associated with unmyelinated nerve fibres in human sural nerve.** J. Anat., v.130, p. 545-557, 1980.

CEBALLOS, D; CUADRAS, J; VERDÚ, E; NAVARRO, X. **Morphometric and ultrastrutural changes with ageing in mouse peripheral nerve.** J. Anat., v. 195, p. 563-576, 1999.

CHASE, MR. **An experimental study of the vagus nerve.** J. Comp. Neurology., v. 26, p. 421-431, 1916.

CHASE, MR.; RANSON, SW. **The structure of the rots, trunk, and branches of the vagus nerve.** J. Compl. Neurol., v. 24, p. 31, 1914.

DE NEEF, KJ; JASEN, JRC; VERSPRILLE, A. **Developmental morphometry and physiology of the rabbit vagus nerve.** Dev. Brain Res, v. 4, p. 265-274, 1982.

DUBOIS, FS; FOLEY, JO. **Quantitative studies of the vagus nerve in the cat. II.** The ratio of jugular to nodose fibres. J. Comp. Neurol., v. 67, p. 69-87, 1937.

DUSSEAU, JW; HUTCHINS, PM. **Stimulation of arteriolar number by salbutamol in spontaneously hypertensive rats.** Am. J. Physiol., v. 236, p. H134-H140, 1979.

DYCK, PJ; KARNES, J; LAIS, A; LEOFGREN, EP; STEVENS, JC. **Pathologic alteractions of the peripheral nervous system of humans.** In: Peripheral neurophaty. Eds. DYCK, PJ; THOMAS, PK; LAMBERT, EH; BUNGE, R; 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, Cap.36, p. 760-870, 1984a.

DYCK, PJ; KARNES, J; O'BRIEN, P; NUKADA, H; LAIS, A; LOW, P. **Spatial pattern of nerve fiber abnormality indicative of pathologic mechanisms.** Am. J. Pathol., v. 117, p. 225-238, 1984b.

DICK, PJ; LOFGREN, EP. **Nerve biopsy** .Choice of nerve, method, symptoms, and usefulness. Med. Clin. North Am., v. 52(4), p. 885-93, 1968.

EVANS, DHL; MURRAY, JG. **Histological and functional studies on the fibers composition of the vagus nerve of the rabbit.** J. Anat., v. 88, p. 320-337, 1954.

FAZAN, VPS; FAZAN, Jr R; SALGADO, HCS; BARREIRA, AA. **Aortic depressor nerve myelinated fibers morphology in normotensive wistar-kyoto and spontaneously hypertensive rats.** J. Auton. Nerv. Sys. v. 77, p. 133-139, 1999.

FAZAN, VPS; LACHAT, JJ. **Qualitative and quantitative morphology of the vagus nerve in experimental chagas disease in rats: a light microscopy study.** J. Trop. Med. Hyg. v. 57, p. 672-677, 1997.

FAZAN, VPS; SALGADO, HC; BARREIRA, AA. **Aortic depressor nerve unmyelinated fibers in spontaneously hypertensive rats.** Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., v. 280, p. H1560-H1564, 2001.

FAZAN, VPS; XIUYING, MA; CHAPLEAU, MW; BARREIRA, AA. **Qualitative and quantitative morphology of renal nerves in C57BL/6J mice.** Anat. Rec., v. 268, p. 399-404, 2002.

FERRIERE, G; DENEFF, J-F; RODRIGUEZ, J; GUZZETTA, F. **Morphometric studies of normal sural nerves in children.** Muscle & Nerve, v. 8, p. 697-704, 1985.

FRIEDE, RL; SAMORAJSKI, T. **Relation between the number of myelin lamellae and axon circumference in fibers of vagus and sciatic nerves of mice.** J. Comp. Neurol., v. 130, p. 223, 1967.

GABELLA, G; PEASE, HL. **Number of axons in the abdominal vagus of the rat.** *Brain Res.*, v.58, p.465, 1973.

GIANNINI, C; DYCK, PJ. **Ultrastructural morphometric features of human sural nerve endoneurial microvessels.** *J. Neuropathol. Exp Neurol.*, v. 52, p. 361-369, 1993.

GREENBERG, S; PALMER, EC; WILBORN, WM. **Pressure-independent hypertrophy of veins and pulmonary arteries of spontaneously hypertensive rats.** Characterization of function, structural and histochemical changes. *Clin. Sci. Mol. Méd.*, v. 53, p. 31-36, 1978.

GREENE, EC. **Anatomy of the rat.** New York and London: Philadelphia, 1955.

GUO, YP; McLEOD, JG; BAVERSTOCK, J. **Pathological changes in the vagus nerve in diabetes and chronic alcoholism.** *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.*, v. 50, p.1449, 1987.

HALLBACK, M; GOTHBERG, G; LUNDIN, S; RICKSTEN, SE; FOLKOW, B. **Hemodynamic consequences of resistance vessels rarification and changes in smooth muscle sensitivity.** *Acta Physiol Scand*, v. 97, p. 233-240, 1976.

HASAN, SU; SARNAT, HB; AUER, RN. **Vagal nerve maturation in the fetal lamb: an ultrastructural and morphometric study.** *Anat. Rec.*, v. 237, p. 527, 1993.

HASSLER, O. **Vascular reaction afther experimental nerve section, suture, and transplantation.** A stereo-microangiographical study on the sciatic nerve of the rabbit. *Acta Neurol. Scan.*, v. 45, p. 335-341, 1969.

HAYATE, MA. **Principals and techniques of electron microscopy.** *Biol. Applic.*, v. 1, p. 412, 1970.

HEINBECKER, P; O'LEARY, J. **The mammalian vagus nerve - a functional and histological study.** *Am. J. Physiol.*, v.106, p. 623-646, 1933.

HEIMER, L. **The human brain and spinal cord.** Functional neuroanatomy and dissection guide. 2nd edition, New York Springer-Verlag, p. 241-265, 1995.

HOFFMAN, HH; KUNTZ, A. **Vagus nerve components.** Anat. Rec. 127: 551, 1927.

HOLLOWAY, ET; BOHR, DR. **Reactivity of vascular smooth muscle in hypertensive rats.** Circ Res., v. 33, p. 678-685, 1973

HUTCHINS, PM; DARNELL, AE. **Observation of a decreased number of small arterioles in spontaneously hypertensive rats.** Circ Res., v. 34/35 (suppl), p. 161-165, 1974.

ISHIKAWA, H. **A metrological study of the blood capillary density of the rhombencephalon, spinal cord and the peripheral nerve in the cat.** Fukuoka Acta Medica, v. 50, p. 4275-4292, 1959.

JACOBS, JM; LOVE, S. **Qualitative and quanlitative morphology of human sural nerve at different ages.** Brain, v. 108, p. 897-924, 1985.

JERONIMO, A; JERONIMO, CA; FILHO, OA; SANADA, LS; FAZAN, VP. **Microscopy anatomy of the sural nerve in yhe postnatal developing rat a longitudinal and lateral symmetry study.** J. Anat., v. 206(1), p. 93-9, 2005.

KIMACHI, T; LOMONACO, DA; VERÍSSIMO, JMT. **Exploração funcional do eixo hipotálamo-hipófise-córtex adrenal na forma crônica da moléstia de Chagas.** Rev. Assoc. Med. Bras., v.20, p.57-66, 1974.

KING, RHM. **Atlas of Peripheral Nerve Pathology.** Arnold, Lonfodn, p. 217, 1999.

KOVACIC, U; SKETELJ, J; BAJROVIC, FF. **Sex-related difference in collateral sprouting of nociceptive axons after peripheral nerve injury in the rat.** Exp. Neurol., v. 184, p. 479-488, 2003.

LANG, J. **Über das Bindegewebe und die Gefäße der nerven.** Z. Anat. Entw-Gesch., v.123, p. 61, 1962.

LEGROS, G; GRIFFITH, CA. **The abdominal vagal system in rats.** J. Surg. Res., v. 9, p.183-186, 1969.

LUNDBORG, G. **Ischemic, nerve injury.** Scand J. Plast Rec Surg. (Supplementum), v. 6, p. 1-113, 1970.

LUNDBORG, G. **Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation, and nerve function.** J Bone Joint Surg Am., v. 57, p. 95-107, 1975.

MARCARIAN, HQ.; SMITH, RD. **A quantitative study the vasa nervorum in the ulnar nerve of cats.** Anat. Rec., v. 161, p.105-110, 1968.

MAJJED, SK. **Surgery on spontaneous peripheral neuropathy in aging rats.** Arzneim-Forsch/Drugs Res., v. 42, p.986-990, 1992.

MEI, N., CONDAMIN, M., BOYER, A. **The composition of the vagus nerve of the cat.** Cell.Tiss. Res., v. 209, p. 432, 1980.

OKAMOTO, K; AOKI, K. **Development of a strain spontaneously hypertensive rats.** Jap Circ. J., v. 27, p. 282-293, 1963.

OKAMOTO, K; TABEL, R; FUKUSHIMA, M; NOSAKA, S; YAMORI, Y; ICHIJIMA, K; HAEBARA, H; MATSUMOTO, M; MARUYAMA, T; SUZUKI, Y; TAMEGAI, M. **Further observations of the development of a strain of spontaneously hypertensive rats.** Jap Circ J., v. 30, p. 703-716, 1966.

OLSSON, Y. **Vascular permeability in the peripheral nervous system.** In: Peripheral Neuropathy. Edited by p.J. Dyck, P.K. Thomas, and E.H. Lambert. Philadelphia and London: Saunders, pp. 190-200, 1975.

POVLSEN, B; HILDEBRAND, C; WIESENFELD-HALLIN, Z.; STANKOVIC, N. **Fiber composition of the lateral plantar and superficial peroneal nerves in the rat foot.** Anat. Embryol., v. 189, p. 393-399, 1994.

PRECHTL, JC; POWLEY, TL. **The fiber composition of the abdominal vagus of the rat.** Anat. Embryol., v.181, p. 101-115, 1990.

PRECHTL, JC; POWLEY, TL. **A light and microscopic examination of the vagal hepatic branch of the rat.** Anat. Embryol., v. 176, p. 115-126, 1987.

RANSON, SW; FOLEY, JO.; ALPERT, CD. **Observations on the structure of the vagus nerve.** Am. J. Anat.. V. 53, p. 289-315, 1933.

RANSON, SW; MIHÁLIK, P. **The structure of the vagus nerve.** Anat. Rec., v. 54, p. 355-360, 1932

RICHARDS, RL. **Ischaemic lesions of peripheral nerves: a review.** J Neurol Neurosurg Psych., v. 14, p. 76-87, 1951.

ROBERTS, JT; MURDOCK, HR Jr.; CAMPO, JL; TANNER, CJ; PAPARELLA, JA **Blood vessels of nerves, as seen in living animals with quartz rod illumination and their response to drugs including cortisone.** Fed. Proc., v. 9, p. 106-107, 1950.

SABBATINI, M; VEGA, JA.; AMENTA, F. **Peripheral nerve vascular changes in spontaneously hypertensive rats.** Neurosci. Lett., v. 217, p. 85-88, 1996.

SACHIS, PN.; ARMSTRONG, DL.; BECKER, LE.; BRYAN, AC. **The vagus nerve and sudden infant death syndrome: A morphometric study.** J. Pediatr.,v. 98, p. 278-280, 1981.

SACHIS, PN.; ARMSTRONG, DL.; BECKER, LE; BRYAN, AC. **Myelination of the human vagus nerve from 24 weeks postconceptional age to adolescence.** J. Neuropathol. Exp. Neurol., v. 41, p: 466-472, 1982.

SCHNITZLEIN, HN; ROWE, LC; HOFFMAN, HH. **The myelinated component of the vagus nerves in man.** Anat. Rec., v. 131, p. 649-667, 1958.

SCHRÖDER, JM; BOHL, J; BRODDA, K. **Changes of the ratio between myelin thickness and axon diameter in the human developing sural nerve.** Acta Neuropathol., v. 43, p. 169, 1978.

SHARMA, AK; BAJADFA, S; THOMAS, PK. **Age changes in the tibial and plantar nerves of the rat.** J. Anat., v. 130, p. 417-428, 1980.

SHIELD, LK; KING, RHM; THOMAS, PK. **A morphometric study of human fetal sural nerve.** Acta Neuropathol., v. 70, p. 60-70, 1986.

SJÖSTRAND, J; RYDEVIK, B; LUNDBORG, G; McLEAN, WG. **Impairment of intraneural micro-circulation, blood-nerve barrier and axonal transport in experimental nerve ischemia and compression.** In: The Neurobiologic Mechanisms in Manipulative Therapy. Edited by I. M. Korr. New York and London: Plenus Press, pp. 337-358, 1977.

SOLTANPOUR, N; BAKER, DM; SANTER, RM. **Neurons and microvessels of the nodose (vagal sensory) ganglion in young adult and aged rats: morphometric and enzyme histochemical studies.** Tissue & Cell, v. 28, p. 593-602, 1996.

SOLTANPOUR, N; SANTER, RM. **Preservation of the cervical vagus nerve in aged rats: morphometric and enzyme histochemical evidence.** J. Anat. Nerv. Syst., v. 60, p. 93-101, 1996.

STATHAKIS, P; FERNANDO, DA; LORD, RSA. **The course of the right recurrent laryngeal nerve within the vagus nerve of the rat.** Acta Anat., v. 149, p. 70-73, 1994.

SUNDERLAND, S. **Blood supply of the nerves of the upper limb in man.** Acta. Neurol. Psychiatrt., v.53, p.91-115, 1945.

SUNDERLAND, S. **The blood vessels of peripheral nerve trunks.** In: Nerves and Nerves Injuries. Second Edition, Part I, Chapter 2, Churchill Livingstone, New York, p. 46-55, 1978.

THOMAS, PK. **The quantification of nerve biopsy findings.** J. Neurol. Sci., v. 11, p. 285-295, 1970.

TOMASSONI, D; TRAINI, E; VITAIOLI, L; AMENTA, F. **Morphological and conduction changes in the sciatic nerve of spontaneously hypertensive rats.** Neurosci. Lett., v. 362, p. 131-135, 2004.

TOHGI, H; TSUKAGOSHI, H; TOYOKURA, Y. **Quantitative changes with age in normal sural nerves.** Acta Neuropatol., v. 38, p. 213-220, 1977.

TRIPPODO, NC.; FROHLICH, ED. **Similaris of Genetic (Spontaneous).** Hypertension Circ. Res., v. 48, p. 309-319, 1981.

UNGER, JW; KLITZSCH, T; PERA, S; REITER, R. **Nerve growth factor (NGF) and diabetic neuropathy in the rat: morphological investigation of the sural nerve, dorsal root ganglion, and spinal cord.** Exp. Neurol., v. 153, p. 23-34, 1998.

VAN STEENIS, G; KROES, R. **Changes in the nervous system and musculature of old rats.** Vet. Pathol., v. 8, p. 320-332, 1971.

WAKSMAN, BH. **Experimental study of diphtheritic polyneuritis in the rabbit and guinea pig. III.** The blood-nerve barrier in the rabbit. J. Neuropathol Exp. Neurol., v. 20, p. 35-77, 1961.

WARWICK, R; WILLIAMS, PL. **Gray Anatomia.** Tomo II. 35° ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, R.J. cap. 7, 1979.

WEDDELL, AGM.; SINCLAIR, DC. **'Pins and needles':** observations on some of the sensations aroused in a limb by the application of pressure. J Neurol Neurosurg Psych., v.10, p. 26-46, 1947.

WORZNIAK, W; O'RAHILLY, R; BRUSKA, M. **Myelination of the human fetal phrenic nerve.** Acta Anat., v. 112, p. 281-296, 1982.

ANEXOS

COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO

Ração: **NUVILAB CR1** **NUVITAL®**

Composição básica do produto: Carbonato de cálcio; farelo de milho; farelo de soja; farelo de trigo; fosfato de bicálcio; cloreto de sódio; premix mineral vitamínico; aminoácido.

NÍVEIS DE GARANTIA

Umidade	(máx.).....	12,50%
Proteína Bruta	(min.).....	22,00%
Extrato Etéreo (min.).....		4,00%
Material Mineral	(máx.).....	10,00%
Matéria Fibrosa	(máx.).....	8,00%
Cálcio	(máx.).....	1,40%
Fósforo	(min.).....	0,80%

Suplemento por quilo não menos que:

Vitaminas: Vitamina – A 12000 UI; Vitamina – D₃ 1800 UI ; Vitamina – E 30,00 mg; vitamina – B₂ 6,00 mg; Vitamina – K₃ 3,00 mg; Vitamina B₁ 5,00 mg; Vitamina – B₆ 7,00 mg Vitamina – B₁₂ 20,00 mcg; Niacina – 60,00 mg; Ácido pantotênico 20,00 mg; Ácido fólico 1,00 mg; Biotina – 0,05 mg; Colina 600,00 mg.

Microelementos Minerais: Ferro – 50,00 mg; Zinco – 60,00 mg; Cobre – 10,00 mg; Iodo – 2,00 mg; Manganês – 60,00 mg; Selenio – 0,05 mg; Cobalto – 1,50 mg.

Aminoácidos: DL – Metionina 300,00 mg; Lisina – 100,00 mg.

Aditivos: Antioxidante – 100,0 mg.

**Resumo da dissertação, apresentado na
REUNIÃO DE INTEGRAÇÃO DA MORFOLOGIA PAN-AMERICANA**

Temas Livres

[Trabalho 1610]

**CORRELAÇÃO ENTRE A ÁREA FASCICULAR E A ÁREA DOS VASOS
CAPILARES ENDONEURAIIS NO NERVO VAGO DE RATOS**

Lopes Schiavoni, MC.¹; Fazan, VPS.¹

¹Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto -USP, Ribeirão Preto, SP - Brasil

Palavras-chave: Área fascicular, nervo vago, capilar endoneural, morfometria, rato

Os nervos são abundantemente vascularizados em toda sua extensão por intermédio de uma sucessão de vasos que, por suas consecutivas divisões e anastomoses no interior do nervo, formam uma rede vascular intraneural ininterrupta. Já está bem definido que o número de vasos nutrientes para um nervo em particular varia amplamente, não apenas de indivíduo para indivíduo como também entre os dois lados do corpo. Nervos maiores não necessariamente recebem mais vasos que nervos menores. Os nervos podem percorrer distâncias consideráveis sem receber um vaso nutriente e o calibre desses vasos varia em amplos intervalos. Desse modo, o número e o tamanho dos vasos, juntamente com a sua distribuição no interior dos nervos estão sujeitos a uma grande variabilidade, não apenas em vários segmentos do mesmo nervo como também no mesmo nervo em diferentes sujeitos. Estudos morfométricos em nervos, que envolvem contagem de fibras e o cálculo de sua densidade têm sido realizados tanto para as descrições dos parâmetros normais quanto para os estudos das neuropatias em geral. O cálculo da densidade das fibras têm sido feito através da razão simples entre o número de fibras e a área do fascículo. Entretanto, nenhuma avaliação sistematizada sobre a importância da subtração, ou não, da área total dos vasos, para o cálculo da densidade das fibras, encontra-se disponível na literatura, ficando tal decisão a critério de cada pesquisador. Nosso objetivo foi o de avaliar a existência de uma possível correlação entre a área fascicular e a área endoneural ocupada pelos vasos capilares, no nervo vago de ratas da linhagem Wistar-Kyoto, com 30 dias de idade. Para tanto, 3 animais foram sacrificados e tiveram seus nervos vagos direitos preparados com técnicas histológicas de rotina para inclusão em resina. Secções transversais semifinas (0,4 µm) seriadas, obtidas a cada 100 µm de extensão longitudinal do nervo, até o esgotamento completo do bloco, foram analisadas em nível de microscopia de luz. A morfometria dos fascículos e dos vasos capilares endoneurais, foi realizada com o auxílio de um sistema analisador de imagens computacional. Para o cálculo dos coeficientes de correlação entre a área fascicular total e a área endoneural total ocupada pelos capilares, o coeficiente de correlação de Pearson (*r*) foi obtido. Os nervos estudados apresentaram área fascicular média de $45238 \pm 1188 \mu\text{m}^2$ e área média total dos capilares endoneurais de $1299 \pm 133 \mu\text{m}^2$ (3 % da área fascicular). A média do coeficiente de correlação foi de 0,12, indicando uma correlação positiva fraca entre os parâmetros analisados. Esses dados sugerem que a entrada dos capilares no nervo não é acompanhada de um aumento proporcional na área do fascículo podendo, assim, alterar os valores de densidade total de fibras mielínicas nas secções transversais estudadas, caso a área ocupada pelos capilares não seja descontada da área fascicular.

Apoio: CNPq nº 420105/2000-0, CNPq nº 501230/2003-3, FAPESP nº 02/09406-5, FAEPA

http://www.temaslivres.com.br/anatomia/visualizar_tema.asp?tema_cod=

Cortes Semifinos Seriados Sequênciais

COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO

Ração: **NUVILAB CR1** **NUVITAL®**

Composição básica do produto: Carbonato de cálcio; farelo de milho; farelo de soja; farelo de trigo; fosfato de bicálcio; cloreto de sódio; premix mineral vitamínico; aminoácido.

NIVEIS DE GARANTIA

Umidade	(máx.).....	12,50%
Proteína Bruta	(min.).....	22,00%
Extrato Etéreo	(min.).....	4,00%
Material Mineral	(máx.).....	10,00%
Matéria Fibrosa	(máx.).....	8,00%
Cálcio	(máx.).....	1,40%
Fósforo	(min.).....	0,80%

Suplemento por quilo não menos que:

Vitaminas: Vitamina – A 12000 UI; Vitamina – D₃ 1800 UI ; Vitamina – E 30,00 mg; vitamina – B₂ 6,00 mg; Vitamina – K₃ 3,00 mg; Vitamina B₁ 5,00 mg; Vitamina – B₆ 7,00 mg Vitamina – B₁₂ 20,00 mcg; Niacina – 60,00 mg; Ácido pantotênico 20,00 mg; Ácido fólico 1,00 mg; Biotina – 0,05 mg; Colina 600,00 mg.

Microelementos Minerais: Ferro – 50,00 mg; Zinco – 60,00 mg; Cobre – 10,00 mg; Iodo – 2,00 mg; Manganês – 60,00 mg; Selenio – 0,05 mg; Cobalto – 1,50 mg.

Aminoácidos: DL – Metianina 300,00 mg; Lisina – 100,00 mg.

Aditivos: Antioxidante – 100,0 mg.