

## ESTUDO QUANTITATIVO DO NERVO FRÊNICO DE RATO ALBINO EM FUNÇÃO DO ENVELHECIMENTO

Romeu Rodrigues de Souza<sup>1</sup>Ii-Sei Watanabe<sup>1</sup>Gerson Chadi<sup>1</sup>Maria Vilma de Araújo<sup>1</sup>

## ABSTRACT

*The phrenic nerve of albino rats was studied for age changes in number of fibres, myelin sheath thickness and axon calibre. Nerves were excised from three young and three aged rats. There is no significant morphological differences between nerves from young and aged rats and no difference with age was found in the number of fibres, myelin sheath thickness and axon calibre.*

## INTRODUÇÃO

O processo de envelhecimento é acompanhado por transformações cujo resultado final é a diminuição da velocidade de respostas (BIRREN e WALL, 1956). Muitos estudos foram realizados sobre o desenvolvimento de nervos periféricos (STEER, 1971; WILLIAM e WENDELL-SMITH, 1971; BRONSON e HEDLEY-WHITE 1977; FRAHER, 1978; KERNS, 1980) mas são escassas investigações sobre modificações que ocorrem nesses nervos durante o envelhecimento.

Alguns autores reportam diminuição do número de fibras em nervos periféricos em idades avançadas, tanto no homem como em animais (DUNCAN, 1934; CORBIN e GARDNER, 1937). Outros, porém (BIRREN e WALL, 1956) não encontram diminuição de fibras em nervos em função da idade.

Parte das fibras do nervo frênico dirige-se para o músculo diafragma. Nosso objetivo neste trabalho é verificar se ocorrem modificações morfológicas ou quantitativas em fibras mielínicas do nervo frênico de ratos albinos durante o envelhecimento.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados para este estudo, 3 animais com idades em torno de 2 meses (grupo jovem) e 3 com idade de 2 anos (grupo senil). Os animais foram anestesiados com Nembutal e a seguir, perfundidos com fixador de Karnowsky. Foram removidos segmentos do nervo frênico direito, da sua porção distal, os quais foram transferidos para uma solução tamponada de tetróxido de ósmio e incluídos em Araldite. Foram feitos cortes transversais de  $2\mu\text{m}$  de espessura os quais foram corados com acetato de uranila e citrato de chumbo. Depois de fotografados os cortes, as cópias foram ampliadas e utilizadas para fazer a contagem do número de fibras mielínicas (Fig. 1). Outros cortes, mais fi-

1. Departamento de Anatomia, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Av. Prof. Lineu Prestes. 2.415. Edifício Biomédicas III. - Cidade Universitária - São Paulo - CEP 05508.

nos foram examinados e 5 campos por nervo foram fotografados ao Microscópio Eletrônico, para medida da espessura da bainha de mielina e diâmetro do axônio. Em cada fibra nervosa foram medidos a espessura da bainha de mielina em 4 pontos opostos 2 a 2 e os diâmetros maior e menor do axônio. Os dados tabulados e os valores médios de cada parâmetro foram calculados para ambos os grupos de animais (jovem e senil).

## RESULTADOS

O nervo frênico de rato albino é constituído em sua maior parte por fibras mielínicas de várias espessuras, densamente dispostas entre fibras amielínicas e vasos (Fig. 1). O nervo é envolto em sua totalidade por um espesso perineuro; à microscopia eletrônica, observa-se que perifericamente o nervo é envolto por prolongamentos de células perineurais dispostas em várias lâminas. No interior do nervo, cada fibra nervosa é envolta por feixes de fibras colágenas dispostas longitudinalmente e obliquamente, em rede.

Não se observam diferenças morfológicas dignas de nota entre nervos de ratos jovens e senis (Figs. 2 e 3). Os resultados das contagens de fibras mielínicas e das medidas da espessura da bainha de mielina e do diâmetro das fibras estão na tabela 1.

O nervo frênico, no grupo jovem, apresenta, em média, 396 fibras mielínicas, com uma espessura média da bainha de mielina de  $0,10\mu\text{m}$  e um diâmetro médio de  $8,0\mu\text{m}$  para axônios. O nervo frênico, no grupo senil, mostrou 368 fibras, com uma espessura média da bainha de mielina de  $0,14\mu\text{m}$  e um diâmetro dos axônios de  $8,4\mu\text{m}$ .

Como se pode observar, não existe diferença significativa entre estes parâmetros nos grupos jovem e senil.

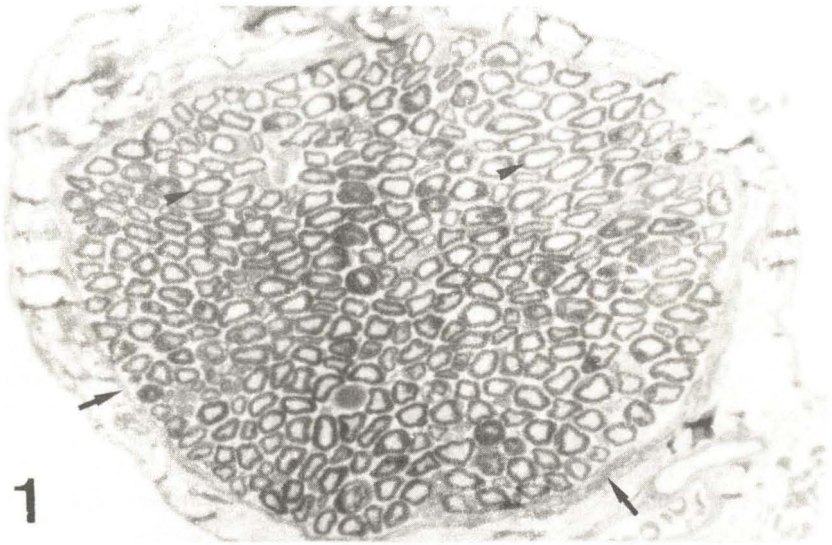
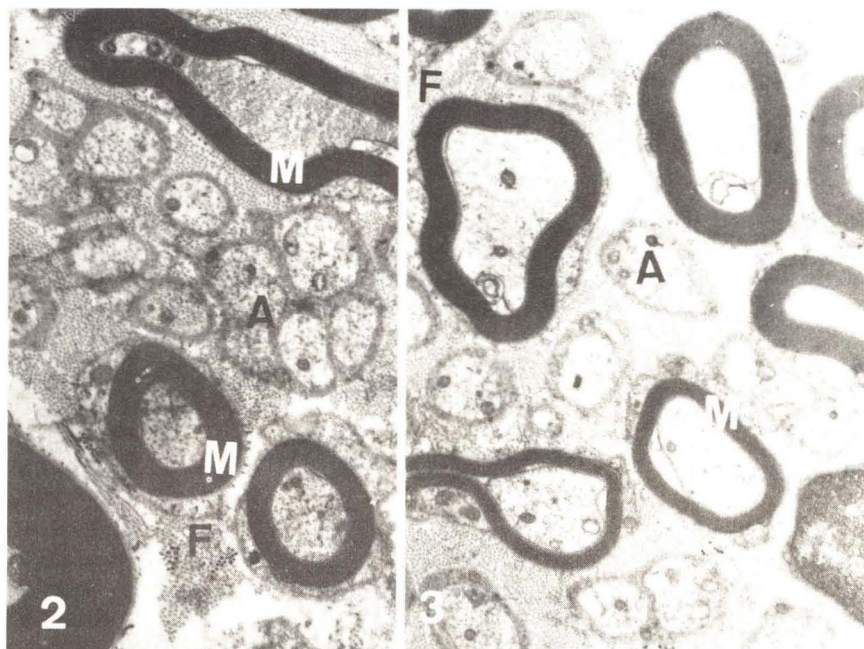


Fig. 1 – Corte transversal de nervo frênico, mostrando cápsula fibrosa periférica (setas) e numerosas fibras mielínicas no seu interior (cabeças de setas). Corte espesso, inclusão em Araldite. 30X.



**Fig. 2** – Micrografia eletrônica de corte transversal de nervo frênico, rato jovem. Observam-se fibras mielínicas (M) em meio a feixes de fibras amielínicas (A) e feixes colágenos (F). 14 200X.

**Fig. 3** – Micrografia eletrônica de corte transversal de nervo frênico, rato senil. Observam-se fibras amielínicas (A) em meio a fibras mielínicas (M) e feixes de fibrilas colágenas (F). 14 200X.

## DISCUSSÃO

O nervo frênico de rato albino tem origem nos nervos espinais C<sub>4</sub> e C<sub>5</sub> (WILSON, 1968). Segundo LANGFORD e SCHMIDT (1983) o nervo frênico do rato contém 700 axônios, sendo a metade mielínicos, o que está de acordo com nossos achados. Cerca de dois terços destas fibras são eferentes, segundo estes autores.

A estrutura interna do nervo frênico é semelhante a de outros nervos em geral. Também não observamos uma diminuição do número de fibras mielínicas no rato senil como referem alguns autores (DUNCAN, 1934; CORBIN e GARDNER, 1937). A discreta queda do número de fibras do grupo senil (0,92%) não permite afirmar que houve uma tendência a perda de fibras pois estes valores estão dentro de variações individuais esperadas, como afirmam BIRREN e WALL (1956).

Os valores que obtivemos para a espessura da bainha de mielina e diâmetro dos axônios, contrastam com os de alguns autores que observam à microscopia óptica uma diminuição desses valores com o envelhecimento (CORBIN e GARDNER, 1973; REXED, 1944).

A estrutura da bainha de mielina é influenciada por fatores genéticos e ambientais bem como por condições físicas envolvidas no processo de remoção e preparo do nervo para exame à microscopia eletrônica. Este seria, segundo FRIEDE e SAMORAJSKI



(1967) o melhor método para examinar e classificar uma população de fibras de nervos periféricos. As medidas da espessura da bainha de mielina e do diâmetro do axônio feitas em micrografias eletrônicas, como realizamos, tem maior precisão que utilizando microscopia de luz. FRAHER (1978) comparou os dois métodos e concluiu que à microscopia óptica, as fibras mais finas são subestimadas.

TABELA 1

Número de fibras mielínicas, espessura da bainha de mielina e diâmetro médio de fibras do nervo frênico em ratos jovens e senis

Grupo	Número de fibras	Espessura da bainha de mielina	Diâmetro do axônio
Jovem	396	0,10 $\mu\text{m}$	8,0 $\mu\text{m}$
Senil	368	0,14 $\mu\text{m}$	8,4 $\mu\text{m}$

### AGRADECIMENTO

Trabalho realizado com auxílio do CNPq para R.R.S. (303916/86 BM-FV).

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIRREN, J.E. & WALL, P.D. 1956. Age changes in conduction velocity, refractory period, number of fibers, connective tissue space and blood vessels in sciatic nerve of rats. *J. Comp. Neurol.*, 104: 1-16.
- BRONSON, R.T. & HEDLEY-WHITE, T. 1977. Morphometric analysis of the effects of exenteration and enucleation of the development of third and sixth cranial nerves in the rat. *J. Comp. Neurol.* 176: 315-330.
- CORBIN, K.B. & GARDNER, E.D. 1937. Decrease in number of myelinated fibers in human roots with age. *Anat. Rec.* 68: 63-74.
- DUNCAN, D., 1934. A determination of the number of nerve fibers in the eighth thoracic and the largest lumbar ventral roots of the albino rat. *J. Comp. Neurol.* 59: 47-60.
- FRAHER, J.P. 1978. Quantitative studies on the maturation of ventral and peripheral parts of individual ventral motoneuron axons. *J. Anat.* 123: 509-533.
- FRIEDE, R.L. & SAMORAJSKI, T. 1967. Relation between the number of Myelin lamellae and axon circumference in fibers of vagus and sciatic nerves of mice. *J. Comp. Neurol.* 130: 223-232.
- KERNS, J.M. 1980. Postnatal differentiation of the rat trochlear nerve. *J. Comp. Neurol.* 189: 291-306.
- LANGFORD, L.A. & SCHMIDT, R.F. 1983. An electron microscopic analysis of the left phrenic nerve in the rat. *Anat. Rec.* 205: 207-213.
- REXED, B. 1944. Contributions to the knowledge of the postnatal development of the peripheral nervous system in man. *Acta Psychiat. Neurol. Suppl.* 33, 206 p.
- STEER, J.M. 1971. Some observations on the fine structure of rat dorsal spinal nerve roots. *J. Anat.* 109: 467-485.
- WILLIAMS, P.L. & WENDELL-SMITH, C.P. 1971. Some additional parametric variations between peripheral nerve fibre populations. *J. Anat.* 109: 505-526.
- WILSON, A.S. 1968. Investigations on the innervation of the diaphragm in cats and rodents. *Anat. Rec.* 162: 425-433.