

EFEITOS DA DENERVAÇÃO EM MUSCULO SOLEUS DE RATOS

*J. A. KOUYOUMDJIAN **

*O. MARCATO ***

*L. A. MARQUES ***

O efeito da denervação em músculos em geral é conhecido, principalmente em experimentos com mamíferos. São conhecidas as alterações nucleares, as alterações no calibre das fibras musculares, a percentagem de perda de peso, a preservação das estriações e as alterações de tecido conjuntivo que sofre o músculo após denervação. Esses achados característicos foram descritos no trabalho clássico de Adams e revisões de outros autores^{1,2}.

O objetivo do presente estudo é o de repetir esse clássico experimento e observarmos essas anormalidades dando ênfase às alterações histológicas e às alterações tróficas. Realizamos tal trabalho em nosso meio, servindo de estímulo aos que se iniciam no estudo de patologia muscular.

MATERIAL E METODOS

O experimento foi realizado em 38 ratos Wistar do sexo feminino com peso variando de 164 a 290 gramas. O músculo testado foi sempre o músculo soleus esquerdo, servindo o direito como controle. A diferença normal de peso entre o músculo soleus direito e o esquerdo foi estabelecida em 10 ratos normais.

O nervo ciático esquerdo foi seccionado em 28 animais, retirando-se um fragmento de aproximadamente 5 mm, evitando-se assim a regeneração do nervo pela proximidade dos dois cotos, proximal e distal. Os músculos soleus direito e esquerdo foram retirados após 3, 5, 7, 10, 12, 17, 21, 30, 40 e 50 dias após a denervação. Imediatamente após a retirada dos músculos, estes foram pesados e a curva de perda estabelecida. Fotografias macrescópicas foram obtidas em tempos variáveis. Em seguida o material foi encaminhado ao laboratório de histologia, fixado em formol 10% e preparado em parafina segundo técnicas convencionais. Os cortes histológicos transversais e longitudinais foram feitos com espessura de 10 μ e preparados para coloração em hematoxilina-eosina. Fotografias microscópicas foram feitas das lâminas, usando-se fotomicroscópio Zeiss com objetivas números 16 e 40.

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, SP: * Chefe da Disciplina de Neurologia; ** Doutorandos.

RESULTADOS

A. *Peso* — A diferença normal de peso em miligramas foi estabelecida entre os músculos soleus esquerdo e direito em 10 ratos normais. O músculo soleus direito serviu sempre como controle e os valores negativo ou positivo dados ao músculo soleus esquerdo são relativos a ele. A tabela 1 mostra os resultados obtidos, evidenciando-se uma baixa variabilidade de peso entre os dois lados, pois a média da percentagem da diferença foi de (+) 0,61.

Os resultados obtidos no peso dos músculos após denervação em períodos variados de tempo (3º até 50º dia) são mostrados na tabela 2. Observa-se já no 3º dia após denervação uma diminuição de peso porém não significativa. Essa diminuição se acentuou quando foi alcançado o 10º dia, observando-se 18,3% de atrofia já macroscopicamente visível. Por volta do 20º dia foi observado hipotrofia de todo membro posterior denervado e uma diminuição de peso de aproximadamente 45% em comparação com o lado controle. A atrofia continuou se acentuando, atingindo aproximadamente 54% no 30º dia. Nas aferições subseqüentes (40º e 50º dias), todo o membro mostrava-se muito mais atrofiado e o músculo soleus assemelhava-se a um cordão no lado denervado.

Comparando os resultados obtidos em relação às percentagens de atrofia, pudemos observar que nas primeiras três semanas (até 21º dia) houve 45% de perda muscular e subseqüentemente (22º até 50º dia) apenas 17%. A evolução da atrofia muscular é mostrada no gráfico 1.

B. *Alterações histológicas* — O aspecto histológico do músculo soleus (HE) evidencia basicamente fibras poligonais regulares de mesmo calibre, núcleos periféricos picnóticos e alongados, fusos musculares esparsos e as estriações características nos cortes longitudinais. Esses aspectos são mostrados nas figuras 1 e 2.

		Direito Controle	Esquerdo Teste	Diferença		%
Soleus	1	167	174	(+)	7	4,19
	2	164	167	(+)	3	1,82
	3	139	136	(-)	3	2,15
	4	136	134	(-)	2	1,47
	5	103	105	(+)	2	1,94
	6	118	130	(+)	12	10,16
	7	93	96	(+)	3	3,22
	8	115	106	(-)	9	7,82
	9	110	114	(+)	4	3,63
	10	136	126	(-)	10	7,35
Média	/	/	(+)	0,70	(+)	0,61
Desvio Padrão	/	/		6,83		5,47

Tabela 1 — Comparação entre os pesos (mg) dos músculos soleus direito e esquerdo em ratos normais. O sinal (+) ou (-) é dado em relação ao músculo soleus direito (controle).

Dia	Nº de Ratos	Soleus D. Controle	Soleus E. Teste	M%
3º	3	135	125	— 2,8
		111	116	
		127	120	
5º	2	130	118	— 8,9
		171	156	
7º	3	142	125	— 11,2
		119	100	
		149	140	
10º	3	200	161	— 18,3
		161	129	
		201	166	
12º	3	155	112	— 25,8
		155	119	
		132	97	
17º	3	200	127	— 33,7
		200	130	
		118	83	
21º	3	134	71	— 44,8
		112	69	
		138	70	
30º	3	130	53	— 53,4
		141	82	
		135	57	
40º	3	112	50	— 54,9
		132	60	
		122	55	
50º	2	165	59	— 61,8
		200	81	

Tabela 2 — Média em % (M %) do decréscimo de peso (mg) de músculos soleus pós-denervação.

As alterações histológicas observadas foram nítidas e podem ser assim delineadas: os núcleos sarcolemas assumiram aspecto oval e/ou arredondado com nucléolos proeminentes; houve evidente aumento no número de núcleos, apesar de não ter sido feita a contagem dos mesmos; houve diminuição de calibre das fibras musculares; não houve anormalidades nas estriações ou no tecido conjuntivo. Todas estas anormalidades foram notadas já na 1ª semana e no final do 1º mês estavam marcantes. Os núcleos sarcolemas apresentavam-se mais dilatados e vesiculares, alguns com aspecto tigróide; persistia o aumento numérico dos mesmos. A redução no calibre das fibras musculares foi se acentuando e estas perderam sua forma poligonal característica e assumiram forma

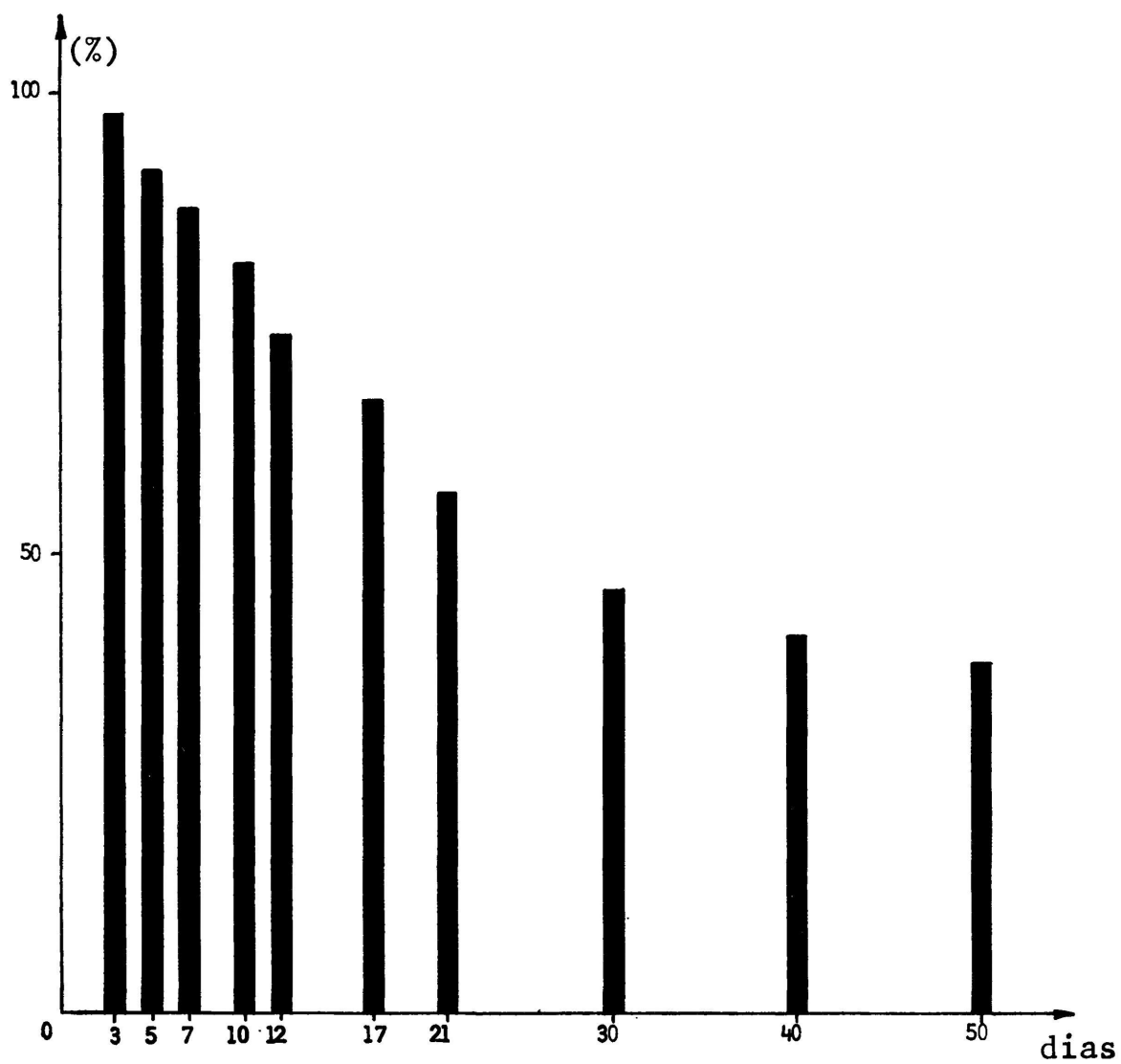
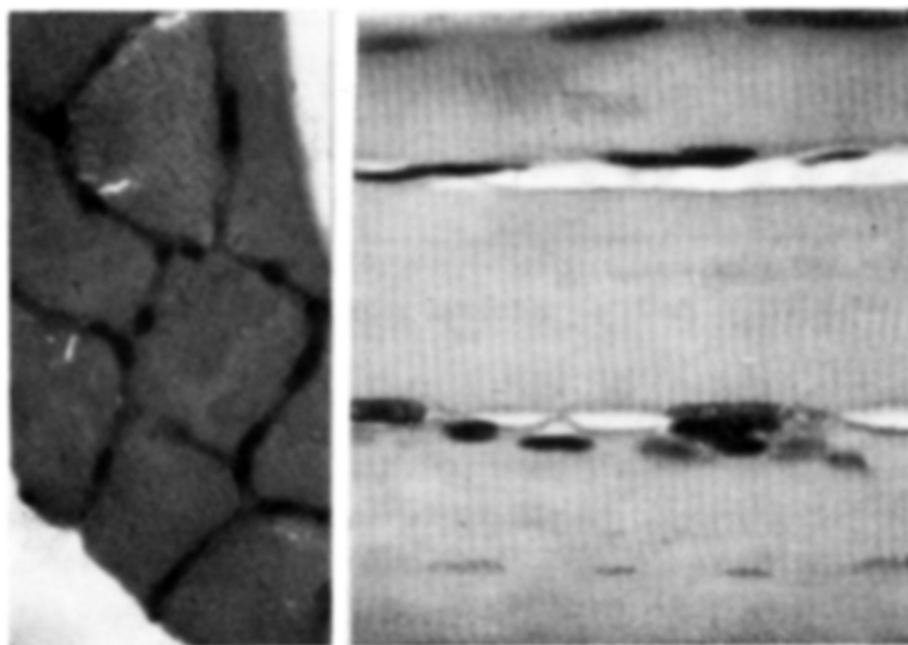


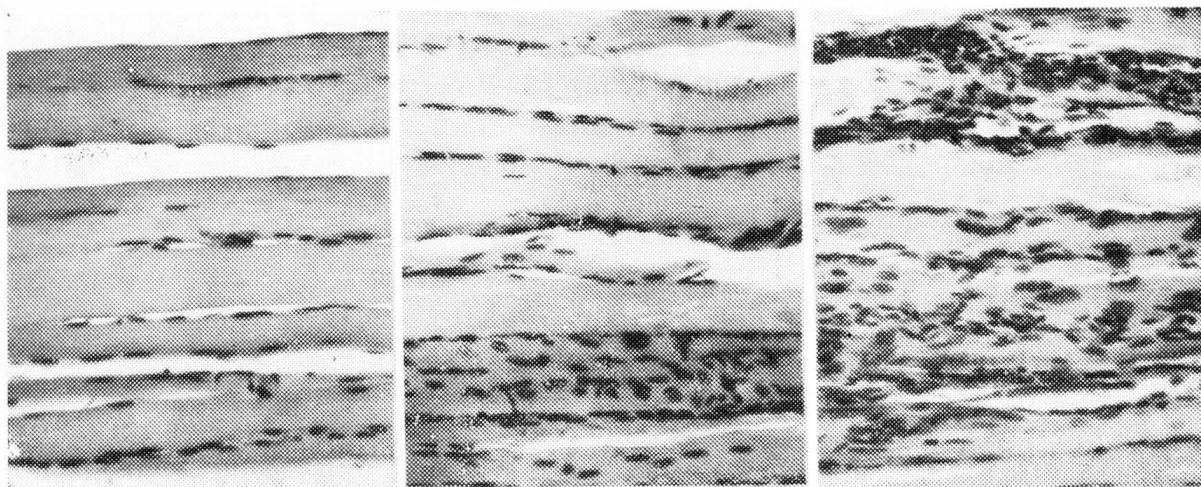
Gráfico 1 — Evolução da percentagem de queda de peso (atrofia) em músculos soleus de ratos pós-denervação.



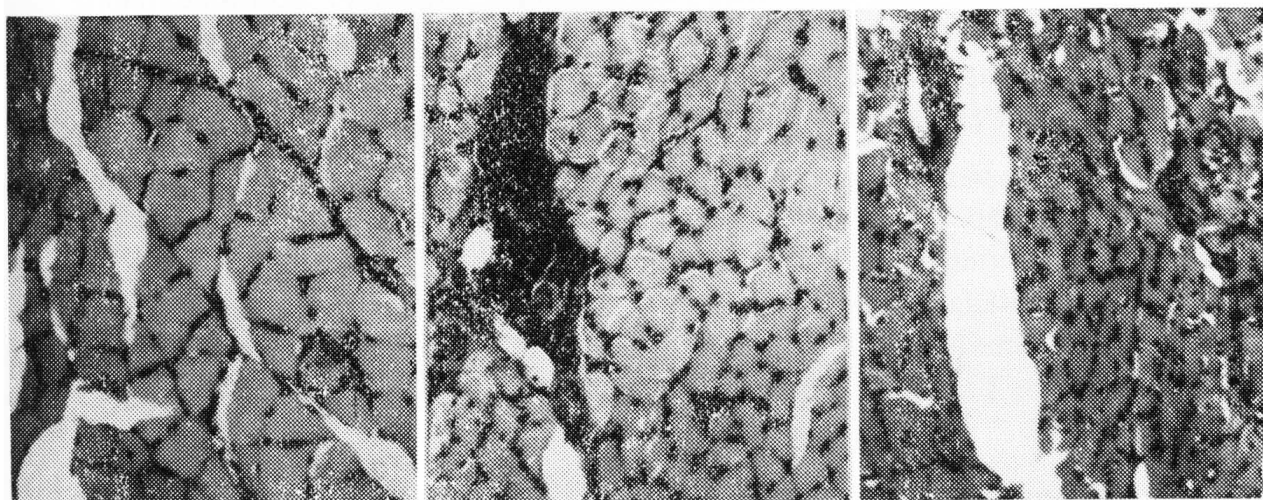
Figuras 1 e 2 — Aspecto microscópico (HE) do músculo soleus normal. Figura 1: corte transversal $\times 40$. Figura 2: corte longitudinal $\times 40$.

arredondada. Nas fases mais adiantadas do experimento observou-se discreta proliferação conjuntiva endomisial em algumas áreas. As estriações permaneceram inalteradas por todo o experimento. As anormalidades histológicas são mostradas nas figuras 3, 4, 5, 6, 7 e 8.

A tabela 3 sumariza todas as alterações observadas no trabalho, mostrando a percentagem de atrofia, alterações macroscópicas no músculo e no membro e as alterações histológicas.



Figuras 3, 4 e 5 — Aspecto microscópico (HE) em corte longitudinal do músculo soleus $\times 16$. Figura 3: normal. Figura 4: 7 dias após denervação. Figura 5: 30 dias após denervação.



Figuras 6, 7 e 8 — Aspecto microscópico (HE) em corte transversal do músculo soleus $\times 16$. Figura 6: 3 dias após denervação. Figura 7: 30 dias após denervação. Figura 8: 50 dias após denervação.

	Alts. de peso	Evidência macrosc./ de atrofia		Alterações de núcleo	Alterações no calibre da fibra	Alterações das estrias	Alterações no tec. conj.
		% de atrofia	Musc. soleus				
3º dia	3%	—	—	+	—	—	—
7º — 10º d	18%	+	—	+++	—	—	—
20º d	45%	++	—	+++	+	—	—
30º d	53%	++	+	+++	++	—	+
50º d	61%	+++	++	+++	+++	—	+

Tabela 3 — Sumário das alterações observadas pós-denervação: (+) discreto, (++) moderado e (+++) evidente.

COMENTARIOS

As alterações observadas mostraram o efeito da denervação em músculo soleus de ratos. Notamos basicamente as mesmas alterações observadas por Adams¹ e Astrom e Adams (citados por Walton²). As transformações ocorridas no músculo após denervação foram analisadas detalhadamente com ênfase às alterações histológicas e tróficas.

O decréscimo de peso foi bastante acentuado nos primeiros 30 dias e observamos cerca de 50% de atrofia muscular nesse período. A seguir, até o 50º dia o decréscimo foi menor, atingindo cerca de 15%. Essas anormalidades são idênticas às encontradas na literatura e mostram atrofia precoce e em seguida um plateau na curva atrofica.

As alterações nos núcleos sarcolemais foram importantes e precoces, sendo já observadas no 3º dia após denervação. Eles se tornaram volumosos, arredondados ou ovalados e com nucléolos proeminentes, diferindo acentuadamente dos núcleos sarcolemais normais. Por volta do 7º dia estas alterações foram máximas e houve um aparente aumento no número de núcleos, sendo este aumento ainda questionado por alguns autores, segundo Adams¹.

As alterações verificadas no diâmetro das fibras musculares não corresponderam à diminuição de peso verificada nas primeiras semanas. Assim sendo, houve discreta redução no calibre das fibras musculares nas duas primeiras semanas e acentuada redução após 50 dias. As fibras musculares progressivamente foram mudando de forma, tornando-se arredondadas. Houve discreta irregularidade no padrão de atrofia, sendo esta algo maior ou menor nos diferentes fascículos.

Coincidentemente com a literatura não notamos alterações acentuadas no tecido conjuntivo nas primeiras semanas. Foi observada discreta proliferação do tecido conjuntivo endomisial a partir do 30º dia. Como nos demais experimentos não encontramos alterações nas estriações em nenhuma fase do músculo

denervado, indicando integridade nas miofibrilas com provável diminuição apenas numérica.

RESUMO

As alterações histológicas e a evolução de peso foram estudadas em músculo soleus de ratos após denervação do nervo ciático. Os músculos foram retirados em períodos de tempo que variaram de 3 a 50 dias. Houve redução progressiva de peso com cerca de 50% de atrofia na 3ª semana, atingindo-se um plateau ao redor do 50º dia. As anormalidades histológicas mais acentuadas ocorreram nos núcleos, que se tornaram vesiculares, com nucléolos proeminentes e com aparente aumento de número; tais anormalidades foram observadas já na primeira semana. Houve redução de cerca de 50% no calibre das fibras musculares que se tornaram arredondadas. As normalidades de tecido conjuntivo foram discretas e as estriações persistiram inalteradas por todo tempo do estudo.

SUMMARY

Dennervation effects on rat soleus muscle.

Histological aspects and changes in wet weight were studied on rat soleus muscles after dennervation by cutting the sciatic nerve. The muscles were removed after a variable period of time from the third to the fiftieth day. There was a progressive fall off in wet weight and after the third week the muscles underwent 50% atrophy. Histological changes were most striking on sarcolemmal nuclei; they became vesicular, enlarged with prominent nucleolus and there was an apparent increase in their number. The muscle fibres changed their shape, becoming rounded and there was a 50% reduction in muscle fibre diameter after 50 days. Connective tissue abnormalities were minimal after 50 days and the striations remained intact.

REFERENCIAS

1. ADAMS, R. D. — Diseases of Muscle: A Study in Pathology. Part II: Pathologic Reactions of Skeletal Muscle. Chapter 3: Experimental Pathology. Harper & Row Publishers Inc., Hagerstown. Third Edition, 1975.
2. WALTON, J. B. — Disorders of Voluntary Muscle. Chapter 5: Pathological Reactions of the Skeletal Muscle Fibre in Man. Churchill Livingstone, Edinburgh — London — Melbourne — New York, Fourth Edition, 1981.

Fundação Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto — Departamento de Medicina Integrada, Disciplina de Neurologia — Av. Faria Lima 5544 — 15100 São José do Rio Preto, SP — Brasil.