

CÉLULAS BINUCLEADAS NO NÚCLEO DO NERVO HIPOGLOSSO HUMANO ATRAVÉS DOS GRUPOS ETÁRIOS

CECIL JOSÉ REZZE *

Durante muito tempo foi considerada como praticamente nula a capacidade de reprodução dos neurônios no sistema nervoso central de mamíferos adultos. Entretanto, desde fins do século passado vários trabalhos têm demonstrado a viabilidade da divisão de células nervosas diferenciadas.

Parece não haver dúvidas quanto ao aparecimento de células nervosas binucleadas e multinucleadas no sistema nervoso de vertebrados, particularmente de mamíferos, inclusive o homem. Os trabalhos de Rand e Courville^{39, 40}, Ivanov²⁶, Afanasiev e Kotovsky¹ e Kirsche²³ permitem considerar como definitivamente aceita a existência de tais células. Discute-se o seu significado, isto é, se estaríamos diante de processo de divisão celular mitótica ou amitótica indicando regeneração de células nervosas diferenciadas ou indiferenciadas, ou se a divisão nuclear e nucleolar não indicaria apenas uma forma de defesa, sem chegar à divisão do citoplasma. Roussy e Mosinger⁴³ admitem que a célula binucleada possa resultar da fusão de dois elementos uninucleados.

Células bi- e multinucleadas têm sido descritas no sistema nervoso do homem em determinadas doenças como neurossifilis (Spielmeyer⁴⁶), atrofia muscular infantil (Greenfield e Stern¹⁸), em pacientes com sífilis (Lhermitte e Trelles³⁵, Andrew⁴, Gerebtzoff¹⁵), na demência senil (Riese e Zfass⁴²), em casos de parkinsonismo conseqüente à encefalite letárgica e na paralisia agitante idiopática (Greenfield e Bosanquet¹⁹). Vários autores têm relacionado o aparecimento dessas células com o estímulo que de alguma forma essas doenças imprimiriam à divisão nuclear dos neurônios. Particularmente na sífilis tem sido apontada a toxina do treponema como a responsável pelo aparecimento de células binucleadas. Stigliani⁴⁸ encontrou número expressivo destas células nos núcleos supra-óptico e paraventricular no hipotálamo de um homem que apresentava cirrose hepática. Assinala a divisão do núcleo por constrição e a posterior divisão de células que já apresentavam certos processos de necrobiose. O mesmo autor relata o encontro de células binucleadas, apenas uma ou duas, no hipotálamo do homem em outros processos patológicos e o mesmo no hipotálamo de cobaio, coelho e cão por ele estudados. Também Roussy e Mosinger⁴³ descrevem células binucleadas no hipotálamo do homem, do cobaio e do cão. Botar⁹ encontra

Departamento de Anatomia Descritiva e Topográfica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Prof. Odorico Machado de Sousa): * Professor Assistente.

cêrca de 1% de neurônios binucleados em gânglios simpáticos do homem, considerando-os como elementos jovens em divisão celular.

Em macacos inoculados com vírus de poliomielite, Bodian⁸ encontrou neurônios bi- e multinucleados na substância reticular, em vários núcleos de nervos crânicos, na medula espinal e em gânglios espinais. Também Andrew⁷, em macacos submetidos a vírus mortos de poliomielite, encontrou células binucleadas em gânglios de plexos autônomos. Jaryguin²⁷ comprovou a existência de células binucleadas no gânglio cervical superior de coelhos adultos e analisou a quantidade de RNA e DNA destas células concluindo que as mesmas não estavam em processo de divisão celular, salientando a necessidade de ser estudado seu verdadeiro significado citofisiológico.

Em animais desenvolveram-se estudos experimentais visando avaliar a capacidade de divisão dos neurônios. Os trabalhos vêm desde os fins do século passado e recentemente ganharam novo impulso com vistas aos problemas de regeneração do sistema nervoso em mamíferos. Pesquisadores, lesando partes do sistema nervoso (decorticação cerebral, aplicação local de substâncias irritativas ou inclusão de corpos estranhos), têm demonstrado divisão do núcleo produzindo células bi- ou multinucleadas sem divisão de citoplasma, divisão celular completa por processo mitótico ou amitótico. Neste sentido, os trabalhos de Schreiber e Wengler⁴⁴, Grafova¹⁷, Gladky¹⁶, Afanasiev e Kotovsky¹ documentam figuras de mitose em neurônios do córtex de ratos brancos. Kirsche²⁸, estudando peixes e mamíferos, conclui que a divisão celular pode ser feita por mitose ou amitose, a partir de células diferenciadas ou indiferenciadas do sistema nervoso. Analisando as células binucleadas este autor assinala que as mesmas não evolverão necessariamente para uma divisão citoplasmática, assertiva já apresentada anteriormente por Jaryguin.

No homem o equivalente a essas pesquisas é o estudo das lesões traumáticas encefálicas e medulares. Gaupp¹⁴ reaviva o tema que já havia sido tratado por autores mais antigos. Rand e Courville^{39, 40} encontram neurônios bi- e multinucleados próximos às margens da lesão, mesmo 17 anos após o traumatismo e, no caso de lesões antigas, embora prevalecessem as células binucleadas, ainda eram encontrados elementos multinucleados; a divisão nuclear era feita por uma constrição seguida da divisão total do núcleo, em neurônios diferenciados, que mostravam início de alterações necrobióticas; concluem os autores que a divisão citoplasmática não se efetua, sendo a multinucleação um processo positivo, porém abortivo, na recuperação celular. Para Rand e Courville, produtos originados de necrose ou alterações circulatórias poderiam desencadear a divisão nuclear, sendo tal agente inespecífico pois a multinucleação ocorre também nas imediações de hemorragias cerebrais intensas. Esse produto inespecífico não nos parece ser o fator de crescimento do sistema nervoso isolado por Levi-Montalcini³⁴ a partir do sarcoma 180 e 37, utilizado em suas experiências com embrião de galinha, porque em camundongos que tinham mais de 9 dias de idade esta autora não observou divisão celular, embora houvesse hipertrofia dos neurônios simpáticos. Courville¹⁰, estudando a ação do glioma maligno no encefalo humano, encontra neurônios bi- ou multinucleados no córtex cerebral

nas margens do tumor e explica o achado como uma alteração agônica transitória das células e não como uma degeneração neoplásica.

Em resumo, existem numerosos trabalhos, desde os que mostraram a simples existência de células binucleadas até aqueles que demonstram uma divisão celular completa de neurônios em indivíduos adultos. O tema avança para a regeneração do sistema nervoso central, salientando Ivanov²⁶ a sua importância porque devemos estudar as causas que atuam na divisão neuronal e descobrir as condições que a propiciam; a negação apriorística do fenômeno regenerativo é um pretexto para não se pesquisar o assunto a fundo.

Compreende-se a importância do tema quanto às alterações que ocorrem na senilidade, mormente quando consideramos os trabalhos de Inukai²⁵, Loo³⁶ e Andrew^{2, 5, 6}, que encontram células bi- e multinucleadas somente em animais velhos. Propuzemo-nos, então, a estudar estas possíveis modificações no homem, da infância à senilidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 26 medulas oblongas humanas retiradas de indivíduos brancos e masculinos, cujas idades variavam de 4 meses a 86 anos. A classificação dos indivíduos do ponto de vista étnico foi baseada nos caracteres somáticos externos essenciais.

A fim de lograr homogeneidade na amostra excluímos os cadáveres de indivíduos com estados mórbidos que pudessem alterar especificamente o número de células do sistema nervoso central ou de toda massa corpórea (tumores cerebrais, amolecimentos cerebrais, meningites e meningocefalites, poliomielite, malformações congênitas ou adquiridas); excluímos também os casos de tumores em geral e os estados caquéticos por moléstias ou desnutrição. O elemento fundamental para o diagnóstico foi o exame anátomo-patológico complementado, quando possível, pelo estudo do prontuário de evolução clínica.

O material era fixado em solução de formol a 10%, sendo a medula oblonga incluída em celoidina. Cortes seriados transversais (perpendiculares ao eixo anômico do tronco encefálico) com 30 μ de espessura foram corados pelo método de Pal-Weigert modificado por Erhart, sendo usado o picro-carmim para coloração de fundo.

O núcleo do nervo hipoglossal era localizado e, com aumento de 80 vezes, desenhávamos o contorno dos núcleos esquerdo e direito e seus subnúcleos. A seguir, com aumento de 320 vezes identificávamos os corpos celulares que eram contados desde que apresentassem citoplasma, núcleo e nucléolo evidentes. Contávamos separadamente as células do lado esquerdo e direito.

Em trabalho anterior (Rezze⁴¹), no qual utilizamos o mesmo material histológico, fizemos a contagem integral do número de células em 9 casos (3, 5, 6, 17, 18, 19, 23, 24 e 25). A partir dos dados assim obtidos, desenvolvemos cálculos estatísticos que nos permitiram usar uma em três seções, contando cerca de um terço do número de células de cada núcleo. Portanto, os demais casos não referidos acima estão nestas condições.

Para o estudo das células binucleadas utilizamos aumento de 800 vezes com objetiva de imersão. No mesmo corte em que a célula binucleada era encontrada fazíamos mensuração dessa célula e de 10 outras aí existentes. Avaliávamos os diâmetros maior e menor de cada corpo celular e de cada núcleo, medidos em sentido ortogonal.

A análise estatística dos diâmetros das células uni- e binucleadas foi feita mediante comparação de médias usando a curva de "Student", a um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Encontramos 33 células binucleadas para um total de 202.910 células contadas, não havendo distribuição preferencial delas em relação aos grupos etários (Quadro 1). As células binucleadas se diferenciavam das demais, fundamentalmente, pela apresentação de dois núcleos cada um dos quais possuía um nucléolo. A forma do corpo celular tendia ao retângulo, ao losângulo, à elipse e ao oval enquanto que as células uninucleadas, além destas, apresentavam, com frequência, as formas estrelada, triangular e arredondada. Os caracteres do citoplasma, núcleo e nucléolo não diferiam entre as células uni- e binucleadas a não ser pelas dimensões. Assim, estas células mostravam-se com citoplasma bem corado, com grânulos de Nissl grandes, membrana nuclear evidente e nucléolo central ou ligeiramente excêntrico, corado em negro. Núcleo quase sempre elíptico podendo ser arredondado, por vezes com a membrana nuclear enrugada. Não observamos núcleos lobados ou com outras indicações de divisão amitótica ou mitótica. A cromatina era fina e rendilhada na sua distribuição dentro do núcleo.

As células de indivíduos com mais de 50 anos apresentavam depósito de pigmento de cor amarelada, a lipofuscina ou pigmento de uso. A deposição era tanto mais intensa quanto mais avançado o grupo etário, dando-se sob a forma de finos grânulos, difíceis de se identificar quando em pequena quantidade, facilmente visíveis quando estes se reuniam formando conglomerados dentro do citoplasma. Este último mostrou aspecto de certa homogeneização em alguns indivíduos senis, com grânulos de Nissl menos evidentes. O nucléolo apresentou-se discretamente menos corável, aparecendo mais claro. Os vacúolos eram raros o que fazia supor a existência de um material retirado pelos solventes usados na técnica histológica. Dos caracteres descritos, apenas a deposição de lipofuscina era elemento privativo das idades mais avançadas, sendo que as demais alterações também ocorreram em alguns indivíduos de idades mais baixas.

As células binucleadas de indivíduos senis apresentaram pequeno depósito de lipofuscina; não observamos qualquer vacúolo. Os demais caracteres já foram descritos.

O estudo estatístico confirmou a observação de que o corpo da célula binucleada era maior do que a uninucleada e que, inversamente, o núcleo de uma célula uninucleada era maior de que cada um dos núcleos da célula binucleada, embora a massa nuclear total da célula binucleada fôsse maior do que a massa nuclear de uma célula uninucleada. As células binucleadas tiveram os seguintes valores médios para as dimensões estudadas: diâmetro maior do corpo celular $39,8\mu \pm 7,5$; diâmetro menor $23,7\mu \pm 4,3$; diâmetro maior do núcleo $13,3\mu \pm 2,7$; diâmetro menor $11,5\mu \pm 1,5$. As células uninucleadas tiveram os seguintes valores médios: diâmetro maior do corpo celular $33,9\mu \pm 7,9$; diâmetro menor $22,1\mu \pm 4,5$; diâmetro maior do núcleo $14,8\mu \pm 3,3$; diâmetro menor $12,3\mu \pm 2,5$.

Analisando os diâmetros obtidos mediante comparação de médias feitas a um nível de significância de 5%, cujo valor crítico é de $\pm 1,960$ na curva de "Student" no teste bicaudal, verificamos diferença estatisticamente válida entre os valores observados com os seguintes resultados comparativos: do diâmetro maior do corpo celular entre células bi- e uninucleadas 4,245; do diâmetro menor 2,162; do diâmetro maior do núcleo entre células bi- e uninucleadas -3,811; do diâmetro menor -3,478,

COMENTÁRIOS

Em nosso material, o pequeno número de células binucleadas (33 em relação a 202.910 células contadas), sua distribuição indiferente pelos diver-

Caso	Idade	Células		Causa de morte e doença
		bi-	uninucleadas	
1	4 m.	1*	4914	Toxemia. Broncopneumonia.
2	6 m.	0*	5127	Toxemia. Otite purulenta. Colapso pulmonar.
3	9 m.	1**	15065	Toxemia. Pneumonia lobar bilateral.
4	2 a.	0*	4476	Toxemia. Broncopneumonia.
5	4 a.	2**	14275	Insuficiência cardíaca. Miocardite crônica.
6	5 a.	3**	14534	Toxemia. Leucemia aguda. Broncopneumonia.
7	12 a.	2*	3998	Spticemia. Broncopneumonia abscedada.
8	20 a.	0*	4342	Insuficiência renal. Cirrose hepática. Esquistossomose.
9	22 a.	4*	5016	Toxemia. Atelectasia pulmonar. Fístula esôfago-bronquial.
10	28 a.	0*	4553	Insuficiência cardíaca. Miocardite crônica.
11	31 a.	1*	5172	Broncopneumonia. Broncopneumonia confluyente.
12	37 a.	0*	4708	Toxemia. Broncopneumonia.
13	38 a.	0*	4161	Anemia aguda. Cirrose de Lænnec. Úlcera gástrica.
14	41 a.	0*	4458	Toxemia. Tuberculose pulmonar.
15	47 a.	5*	5297	Indeterminada. Hipertensão essencial benigna.
16	47 a.	1*	5105	Choque. Enfarte do miocárdio. Arteriosclerose.
17	50 a.	1**	13925	Enfarte do miocárdio. Insuficiência cardíaca.
18	52 a.	3**	14561	Insuficiência cardíaca congestiva. Cor pulmonale.
19	53 a.	0**	15031	Toxemia. Broncopneumonia.
20	60 a.	1*	4729	Toxemia. Pneumonia lobar. Trombose art. femural.
21	62 a.	1*	3988	Toxemia. Pleuriz purulento.
22	63 a.	1*	4696	Enfarte do miocárdio. Arteriosclerose.
23	70 a.	2**	11335	Enfarte do miocárdio. Arteriosclerose.
24	76 a.	0**	12482	Insuficiência cardíaca. Endocardite reumatisal.
25	76 a.	4**	12032	Indeterminada. Hipertensão essencial benigna.
26	86 a.	0*	4930	Insuficiência cardíaca. Hipertensão essencial benigna.
Totais		33	202.910	

Quadro 1 — Número de células uni- e binucleadas do núcleo do nervo hipoglossos humano (soma dos lados esquerdo e direito) de 26 indivíduos brancos e masculinos de variados grupos etários: * contadas as células em uma de cada três secções; ** contagem integral do número de células; a. = anos; m. = meses.

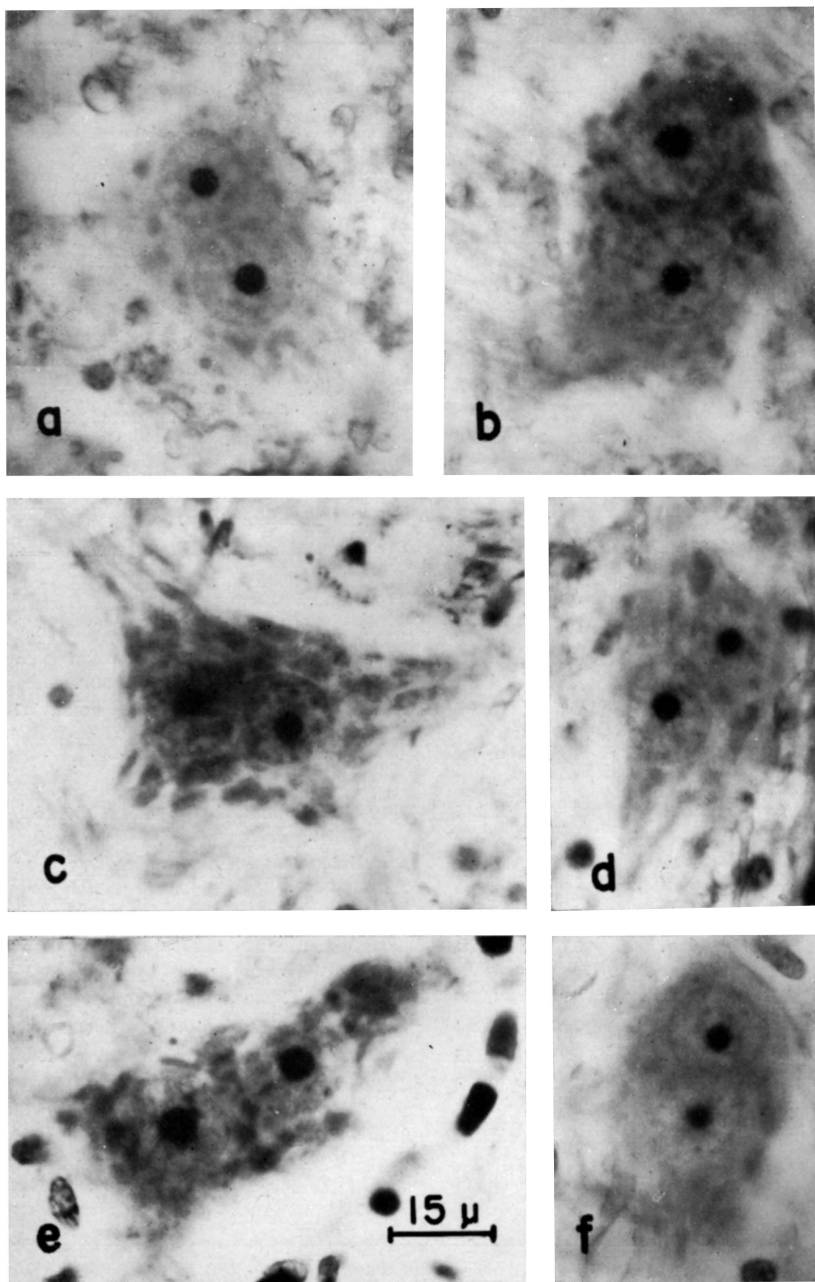


Fig. 1 — Células binucleadas e binucleoladas do núcleo do nervo hipoglossal humano. Método de Pal-Weigert modificado por Erhart, coloração de fundo picro-carmin. Fotografias obtidas com ocular 8X e objetiva 100 com imersão. Indivíduos de: a) 47 anos; b) 60 anos; c) 5 anos; d) 52 anos; e) 4 anos; f) 60 anos.

os grupos etários e a ausência de figuras de reprodução mitótica ou amitótica leva à conclusão de que tais células não caracterizam um processo de involução senil. Além disso, nos grupos senis, os outros caracteres morfológicos das células binucleadas eram idênticos aos das células uninucleadas. O tamanho do citoplasma das células binucleadas em relação às uninucleadas e o tamanho maior de um de seus núcleos, mas os dois perfazendo um tamanho maior, não nos dão indicação de divisão celular; todos os demais caracteres são de células adultas diferenciadas, com corpúsculos de Nissl, núcleo, substância cromatínica fina e rendilhada e nucléolo evidentes.

As células binucleadas foram identificadas com bastante clareza (fig. 1). Por 14 vezes tivemos certa dificuldade para distinguir entre figuras de superposição e células binucleadas. Movimentando o parafuso micrométrico com aumento de 800x, obtivemos a resolução adequada para classificá-las como figuras de superposição. A simples proximidade destas células, a nosso ver, não permite qualquer conclusão sobre a possibilidade de terem elas provindo da divisão de uma célula binucleada. Mesmo que a hipótese fosse levantada não teríamos qualquer indicação sobre a idade em que o fato se deu. Ressalte-se que o pequeno número de dúvidas, bem como a distribuição indiferente pelos diversos grupos etários, não alteraram as conclusões.

Comparando nossos resultados com aqueles constantes na literatura, devemos assinalar os que se referem a células bi- e multinucleadas em indivíduos senis. Assim, Andrew⁶, tendo encontrado figuras de divisão mitótica, conceitua o fenômeno de reação no qual uma das características é a multinucleação da célula nervosa em idades avançadas. Inukai²⁵ e Loo²⁶, trabalhando em ratos albinos, e Andrew^{2, 5}, com camundongos, encontram a multinucleação apenas em animais velhos. Entretanto, Wilcox⁵¹, em 26 cobaios de várias idades, encontra apenas uma célula que julga ter núcleo multilobado. Salientemos que o próprio Andrew^{3, 4} não encontrou, no homem, células binucleadas no velho, só o fazendo em um indivíduo de 22 anos com neurosífilis. Lhermitte e Trelles³⁵ referem o encontro de células binucleadas em um indivíduo de 70 anos, com o diagnóstico histopatológico de sífilis. Portanto nestes dois casos havia uma causa já estudada por outros autores, ou seja, a ação da toxina do treponema sobre a divisão nuclear.

Nossas observações estão de acordo com os achados de Andrew que, no homem, não encontrou células binucleadas caracterizando o processo de senilidade. Também devemos assinalar que vários autores, estudando as alterações citológicas relacionadas com a senilidade no sistema nervoso, não referem o encontro de células bi- ou multinucleadas (Hodge²³, Manouélian³⁸, Kuntz³²; Léris³³, Ellis^{11, 12}, Harms^{20, 21}, Spiegel⁴⁵, Sjövall⁴⁷, Kiss²⁹, Maleci³⁷, Gardner¹³, Truex⁴⁹, Truex e Zwemer⁵⁰, Kuhlenbeck^{30, 31}, Hopker²⁴, Wright e Spink⁵²).

É necessário observar que nossa amostra foi colhida de forma a evitar doenças que atuassem no sistema nervoso produzindo alterações celulares morfológicas e quantitativas. Por este fato é que explicamos as pequenas variações citológicas entre os grupos adulto e senil sendo, a nosso ver, o depósito de lipofucsina o único caráter essencial nessa diferenciação. Quanto

às células binucleadas, podemos salientar que a amostragem foi colhida de forma a evitar indivíduos com estados mórbidos que sabidamente determinam o aparecimento de tais elementos.

Encontramos pequeno número de células binucleadas não caracterizando qualquer grupo etário em particular. O significado biológico de nossos achados continua no campo das hipóteses, mas parece claro que as potencialidades celulares serão iguais sob o ponto de vista qualitativo, para os grupos etários estudados, embora quantitativamente não tenhamos meios para avaliação. As células binucleadas não estavam apresentando reprodução nuclear ou celular e o significado morfofuncional destas células continua a desafiar a argúcia dos pesquisadores.

RESUMO

Foram contadas e estudadas as células uni- e binucleadas do núcleo do nervo hipoglosso humano de 26 indivíduos brancos e do sexo masculino, com idades variando entre 4 meses a 86 anos, todos sem processos patológicos que presumivelmente determinassem alterações nas células nervosas. Os cortes seriados com 30 μ de espessura, foram corados pelo método de Pal Weigert modificado por Erhart, sendo feita coloração de fundo pelo picro-carmim. Mediante comparação dos diâmetros medidos ortogonalmente foi verificado, pelo estudo estatístico, que as células binucleadas eram maiores que as uninucleadas.

O pequeno número de células binucleadas (33 em 202.910 células contadas), sua distribuição indiferente nos diversos grupos etários e a ausência de figuras de reprodução mitótica ou amitótica, levam à conclusão de que a sua presença não caracteriza um processo de involução senil.

O significado deste achado que tem sido atribuído a processo de divisão celular mitótica ou amitótica, à divisão nuclear ou nucleolar sem chegar à divisão citoplasmática ou à fusão de duas células uninucleadas, é discutido à luz dos dados constantes da literatura.

SUMMARY

Binucleated nerve cells in the human nucleus n. hypoglossi through ages

It has been generally accepted that mature neurons of the central nervous system of adult mammals are incapable of cell-division. Nevertheless, recent data are suggesting the contrary. Mature neurons, bi- or multinucleated, observed in the central nervous system of vertebrates, mammals and man are being differently interpreted: as a result of mitotic or amitotic cell-division of mature neurons; as indifferentiated cells which could indicate a regeneration process; as a cellular reaction to nervous injuries; as the result of the fusion between two mononucleated elements.

The cells of the human nucleus n. hypoglossi were counted and studied in 26 white males, the youngest four months old, the eldest, eighty-six years old. The material secured at the necropsy table was selected in order to exclude diseases or physical conditions which could interfere with the final results.

The medulla oblongata were formalin fixed, imbedded in celloidin, 30 μ serial cross sectioned, numbered and stained by Pal-Weigert modified by Erhart method for myelin sheaths. The counterstain was by carmin.

The cells were counted when their cell-bodies showed evident nucleus and nucleolus. They were measured and carefully analysed including with high magnification.

From the 202.910 counted cells, 33 were binucleated. These latter did not present any characteristic of mitotic or amitotic cell-division and no relation between age and higher frequency of binucleated cells could be observed.

The general morphology of the binucleated cells was equivalent to the mononucleated ones although the former were significantly larger than the latter. The statistical analysis was made by comparison of sample mean of two populations at the five per cent level of significance.

It is concluded, considering the studied material and the current literature, that there is no reason to accept, the presence of binucleated nerve cells as a biological reaction due to old age. The real significance of these cells is still unknown, but it can be admitted that they should have a biological capacity which would be qualitatively the same in the different ages. Nevertheless, their quantitative evaluation is not possible, as far as we know.

REFERENCIAS

1. AFANASIEV, Y. I. & KOTOVSKY, E. F. — To the question of cerebral neuron division in mammals. *Path. Biol.* 9:880, 1961.
2. ANDREW, W. — The effects of fatigue due to muscular exercise on the Purkinje cells of the mouse, with special reference to the factor age. *Z. Zellforsch.* 27:534, 1937.
3. ANDREW, W. — The Purkinje cell in man from birth to senility. *Z. Zellforsch.* 28:292, 1938.
4. ANDREW, W. — Origin and significance of binucleate Purkinje cells in man. *Arch. Path.* 28:821, 1939.
5. ANDREW, W. — Amitotic division in senile tissues as a probable means of self preservation of cells. *J. Geront.* 10:1, 1955.
6. ANDREW, W. — Structural alterations with aging in the nervous system. *In Neurologic and Psychiatric Aspects of Disorders of Aging. Res. Publ. Ass. nerv. ment. Dis.* 35:129. William & Wilkins Co., Baltimore, 1956.
7. ANDREW, W. — Evidence for the division of nuclei and cell bodies of neurons of autonomic ganglia in adult mammal. *An. Fac. Med. Montevideo.* 44:191, 1959.
8. BODIAN, D. — Multinucleated neurons in *Macaca mulatta*. *Anat. Rec.* 91:267, 1945.
9. BOTAR, J. — Recherches qualitatives et quantitatives sur les cellules nerveuses du ganglion coelique de l'homme. *C.R. Ass. Anat.* 42^e Reün. :1441, 1955.
10. COURVILLE, C. B. — Multinucleation of cortical nerve cells at margin of malignant glioma. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 15:369, 1956.
11. ELLIS, R. S. — A preliminary quantitative study of the Purkinje cells in normal, subnormal and senescent human cerebella, with some notes on functional localization. *J. comp. Neurol.* 30:229, 1919.
12. ELLIS, R. S. — Norms for some structural changes in the human cerebellum from birth to old age. *J. comp. Neurol.* 32:1, 1920.
13. GARDNER, E. — Decrease in human neurons with age. *Anat. Rec.* 77:529, 1940.
14. GAUPP, R. — Zweikernige Ganglienzellen in traumatischen Hirndefekten. *Z. ges. Neurol. Psychiat.* 149:122, 1933.
15. GEREBTZOFF, M. A. — De la multinucleation dans les neurons du système nerveux central. *Acta Neurol. belg.* 53:234, 1953.
16. GLADYK, A. P. — Amitotic division of nerve cells. *Arch. Anat. Histol. Embriol.* 35:59, 1958 (Russ).
17. GRAFOVA, G. J. — Nerve-elements of the spinal cord system; their reactive changes in damage. *Arch. Anat. Histol. Embriol.* 34:67, 1957. (Russ).
18. GREENFIELD, J. G. & STERN, M. B. — The anatomical identity of the Werdnig-Hoffmann and Oppenheim forms of infantile muscular atrophy. *Brain.* 50:652, 1927.
19. GREENFIELD, J. G. & BOSANQUET, F. D. — Brain stem lesions in parkinsonism. *J. Neu-*

- rol. Neurosurg. Psychiat. 16:213, 1953. 20. HARMS, W. — Morphologische und experimentelle Untersuchungen an alternden Hunden. Z. Anat. Entwickl. Gesch. 71:340, 1924. 21. HARMS, W. — Alterserscheinungen im Hirn von Affen und Menschen. Zool. Anz. 75:249, 1927. 22. HATAI, S. — Number and size of the spinal ganglion cells and dorsal root fibers in the white rat at different ages. J. comp. Neurol. 12:107, 1902. 23. HODGE, C. F. — Changes in ganglion cells from birth to senile death. Observations on man and honey bee. J. Physiol. 17:129, 1894. 24. HOPKER, W. — Das altern des nucleus dentatus. Z. Forsch. 5:256, 1951. 25. INUKAI, T. — On the loss of Purkinje cells with advancing age from the cerebellar cortex of the albino rat. J. comp. Neurol. 45:1, 1928. 26. IVANOV, I. F. — Present state of the problem of division of differentiated neurons. Arch. Anat. Histol. Embriol. 38:89, 1960 (Russ). 27. JARYGUIN, U. N. — On binucleated nerve cells in sympathetic superior cervical ganglion in rabbit. Arch. Anat. Histol. Embriol. 47:77, 1964. (Russ). 28. KIRSCH, W. — Regenerative Vorgänge im Gehirn und Rückenmark. Ergebn. Anat. Entwickl. Gesch. 38:141, 1965. 29. KISS, F. — Senile und experimentelle Veränderungen an den Zellen der peripherischen Ganglien. Beitr. path. Anat. 92:127, 1933. 30. KUHLENBECK, H. — Senile changes in the brains of Wistar Institute rats. Anat. Rec. 88:441, 1944. 31. KUHLENBECK, H. — Some histologic age changes in the rat's brain and their relationship to comparable changes in the human brain. Confin. neurol. (Basel). 14:329, 1954. 32. KUNTZ, A. — Histological variations in autonomic ganglia and ganglion cells associated with age and disease. Amer. J. Path. 14:783, 1938. 33. LÉRI, A. — Le cerveau senile. Rev. Neurol. 14:756, 1906. 34. LEVI-MONTALCINI, E. — Growth control of nerve cells by a protein factor and its antiserum. Science, 143:105, 1964. 35. LHERMITTE, J. & TRELLES, J. O. — La dégénération hypertrophique des cellules de l'olive bulbaire chez le veillard. Rev. neurol. 57:618, 1932. 36. LOO, Y. T. — Thymonucleic acid in Purkinje cells. J. comp. Neurol. 67:423, 1937. 37. MALECI, O. — Contributo alla conoscenza delle variazioni quantitative delle cellule nervose nella senescenza. Arch. ital. Anat. Embriol. 33:883, 1934. 38. MANOUÉLIAN Y. — Des lésions des ganglions cérébro-spinaux dans la vieillesse. C. R. Soc. Biol. Paris. 55:115, 1903. 39. RAND, C. W. & COURVILLE, C. B. — Histologic changes in the brain in cases of fatal injury to the head. Arch. Neurol. Psychiat. 55:80, 1946. 40. RAND, C. W. & COURVILLE, C. B. — Multinucleation of cortical nerve cells at the margins of traumatic lesions of the human brain. J. Neuropath. exp. Neurol. 6:1, 1947. 41. REZZE, C. J. — Sobre o número de células do núcleo do nervo hipoglossa humano através dos grupos etários. Fol. Clin. et Biol. 34:31, 1965. 42. RIESE, W. & ZFASS, I. S. — Cerebral cortex of a man with senile dementia believed to be 107 years old. Arch. Neurol. Psychiat. 51:78, 1944. 43. ROUSSY, G. & MOSINGER, M. — Sur la plurinucleose neuronale dans les noyaux végétatifs de l'hypothalamus des mammifères. C. R. Soc. Biol. 118:736, 1935. 44. SCHEREIBER, L. & WENGLER, L. — Ueber Wirkungen des Scharlachöls auf die Netzhaut Mitosenbildung der Ganglienzellen. Zbl. allg. Path. path. Anat. 19:529, 1908. 45. SPIEGEL, A. — Ueber die degenerativen Veränderungen in der Kleinhirnrinde im Verlauf des Individualzyklus vom *Cavia cobaya* Marcgr. Zool. Anz. 79:173, 1927. 46. SPIELMEYER, W. — Histopathologie des Nervensystems. Julius Springer Verlag, Berlin, 1922. vol. 1, pp. 43 e 455. 47. SJÖVALL, E. — Die Bedeutung der altersveränderungen im Zentralnervensystem. Verh. anat. Ges. (Jena). 41:37, 1932. 48. STIGLIANI, R. — Sul reperto di divisioni dirette nelle cellule gangliari dell'ipotalamo dell'uomo e degli animali. Boll. Soc. ital. Biol. sper. 34:452, 1958. 49. TRUEX, R. — Morphological alterations in the gasserian ganglion cells and their association with senescence in man. Amer. J. Path. 16:255, 1940. 50. TRUEX, R. R. & ZWEMER, L. R. — True fatty degeneration in sensory neurons of the aged. Arch. Neurol. Psychiat. 48:988, 1942. 51. WILCOX, H. H. — The structural changes in the nervous system related to the process of aging. In BIRREN, J. E.; IMUS, H. A. & WINDLE, W. F. — The process of Aging in the Nervous System. Charles C. Thomas, Springfield (Illinois), 1959. p. 16. 52. WRIGHT, E. A. & SPINK, J. M. — A study of the loss of nerve cells in the central nervous system in relation to age. Gerontologia (Basel). 3:277, 1959.

Departamento de Anatomia (Descritiva e Topográfica). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Caixa Postal 2921. São Paulo SP — Brasil.