

LOCALIZAÇÃO DOS AFERENTES PRIMÁRIOS QUE INERVAM A ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR DO MACACO CEBUS APELLA

Roelf Justino Cruz RIZZOLO*
Miguel Carlos MADEIRA**
José Américo de OLIVEIRA*
Ariovaldo Antônio MARTINS***

- **RESUMO:** A origem da inervação sensitiva da articulação temporomandibular (ATM) é motivo de controvérsia. Livros clássicos de anatomia indicam que os corpos neuronais responsáveis por essa inervação estariam localizados no núcleo mesencefálico do nervo trigêmeo. Entretanto, estudos realizados em mamíferos inferiores indicam que esses neurônios estariam localizados no gânglio trigeminal. Neste trabalho, empregando a técnica de traçado de vias nervosas mediante a utilização de peroxidase do rábano silvestre (HRP), estudou-se a inervação da ATM do primata *Cebus apella*. Os resultados mostram que os corpos neuronais responsáveis pela inervação sensitiva da ATM nesses animais se localizam apenas no gânglio trigeminal.
- **PALAVRAS-CHAVE:** Articulação temporomandibular; peroxidase do rábano silvestre (HRP); nervo trigêmeo; *Cebus apella*.

Introdução

Como elemento passivo nos movimentos resultantes dos processos de mastigação, deglutição, sucção, fonação etc., realizados pela ação direta de diversos grupos musculares, a articulação temporomandibular

* Departamento de Ciências Básicas – Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP – 16015-050 – Araçatuba – SP.

** Curso de Odontologia do Campus de Cascavel – UNIPAR – 84172-440 – Cascavel – PR.

*** Curso de Odontologia de Santa Fé do Sul – FISA – 15775-000 – Santa Fé do Sul – SP.

(ATM) deve ser capaz de captar as alterações dinâmicas e posturais ocorridas no sistema estomatognático, transferindo esta informação, junto com aquela proveniente dos receptores musculares e periodontais, ao sistema nervoso central. Essa informação de natureza proprioceptiva é captada na ATM por diversos tipos de receptores^{6, 10} localizados fundamentalmente na parede interna da cápsula, assim como na porção superficial do disco articular. Esses receptores estão conectados aos axônios periféricos dos neurônios sensitivos primários, os quais transitam por ramos do nervo trigêmeo, nervo responsável pela inervação da ATM. Os axônios centrais dos neurônios sensitivos primários enviam essa informação aos núcleos trigeminais.

Existe controvérsia em relação à localização dos corpos desses neurônios sensitivos primários. Textos básicos de neuroanatomia humana^{3, 13, 16} indicam que os pericários desses neurônios se localizam no núcleo mesencefálico do nervo trigêmeo (Vmes). Estes resultados foram confirmados, em parte, por estudos experimentais utilizando a técnica de traçado de vias nervosas.⁹ Estudos mais recentes, porém, realizados em gatos e em ratos, utilizando técnicas de registro de potencial evocado^{2, 11} e técnicas anatômicas de traçado de vias,^{1, 15} permitiram afirmar que estes pericários se encontravam exclusivamente no gânglio trigeminal (GT). Essa aparente contradição pode ser decorrente da metodologia experimental empregada ou, talvez, de diferenças filogenéticas existentes entre as espécies estudadas.

O objetivo deste estudo foi verificar, por meio de técnicas de traçado de vias nervosas, a localização dos pericários responsáveis pela inervação da ATM em um animal muito desenvolvido do ponto de vista filogenético, que é o macaco-prego (*Cebus apella*).

Material e método

Para o estudo, utilizaram-se cinco macacos *Cebus apella* adultos, machos, pesando entre 2 e 4 kg, fornecidos pelo Núcleo de Procriação de Macacos-prego, mantido pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP.

Foram tomadas todas as medidas possíveis com o objetivo de utilizar o menor número de animais e evitar seu sofrimento. Os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética para a Experimentação Animal pertencente à Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP.

Os animais foram anestesiados com uma injeção intramuscular de Ketalar hydrochloride (10 mg/kg), seguida por uma injeção intra-abdominal de Thiopental sódico (30 mg/kg).

A ATM foi exposta unilateralmente por meio de uma incisão paralela e ligeiramente inferior ao arco zigomático. Exposta a cápsula articular, foram injetados, por intermédio de uma seringa Hamilton de 10 µl, entre 10 e 20 µl de peroxidase do rábano silvestre (HRP) a 30%. As injeções foram realizadas de forma lenta e sob observação ao microscópio cirúrgico, para verificação de possíveis extravasamentos. Uma vez injetado o neurotraçador, a agulha permaneceu em posição por 5 minutos antes de ser cuidadosamente retirada. Após as injeções, a face externa da parede lateral da cápsula articular foi abundantemente irrigada com soro fisiológico e a pele reposicionada e suturada.

Um dos macacos foi utilizado como controle. Neste animal a injeção do neurotraçador foi realizada sem obedecer às medidas necessárias para evitar o extravasamento. Sob observação ao microscópio cirúrgico, e injetando de forma rápida uma quantidade maior de neurotraçador (40 µl), constatou-se um pequeno extravasamento que, certamente, contaminou as áreas laterais próximas à ATM.

Após um período de sobrevivência de 48 horas, os animais foram novamente anestesiados e perfundidos por via cardíaca, com a utilização de uma bomba perfusora peristáltica. Foi perfundida a seguinte sequência de soluções:

- Solução salina a temperatura ambiente e em uma quantidade suficiente para permitir um retorno vascular quase transparente (800 ml, aproximadamente).
- Solução fixadora composta de paraformaldeído a 1% e glutaraldeído a 1,5%, dissolvidos em tampão fosfato 0,1M, pH 7,4. Foram perfundidos aproximadamente três litros, a temperatura ambiente e de forma lenta (60 a 75 minutos).
- Soluções de sacarose a 5%, 10% e 20% dissolvidas em tampão fosfato 0,1m, 300 ml de cada uma a 4 C. Essas soluções foram perfundidas com a finalidade de eliminar o excesso de aldeídos livres do leito vascular e para iniciar a crioproteção do tecido.

Finalizada a perfusão, cada animal foi decapitado e sua cabeça fixada a um aparelho estereotáxico (David Kopf). Realiza-se, então, uma ampla craniotomia e removeu-se a dura-máter, expondo-se o encéfalo. Posteriormente, procedeu-se à remoção do encéfalo, o tronco encefálico foi dissecado e os gânglios trigeminiais removidos cuidadosamente

de suas lojas meníngeas. O tronco encefálico foi dividido em dois blocos, um contendo o mesencéfalo e os dois terços rostrais da ponte e o outro, o terço caudal da ponte, o bulbo e os dois primeiros segmentos medulares. Esses blocos e os gânglios foram finalmente envolvidos em gaze e colocados em recipiente contendo uma solução de sacarose a 20%, a 4 C, em agitação suave. Após verificar o afundamento dos blocos nessa solução, estes foram transferidos para sacarose a 30%, também a 4 C, por um tempo não inferior a 24 horas.

Após a crioproteção, os blocos foram cortados em um criostato, na espessura de corte de 40 μm . Para preservar a integridade dos gânglios trigeminiais, estes foram cortados a uma espessura de 100 μm , já que sua estrutura fibrilar levava à sua desagregação quando estes eram cortados com espessura menor. Os cortes foram recolhidos de forma seriada em duas séries em bandejas especialmente confeccionadas para essa finalidade. As duas séries foram submetidas à reação histoquímica do HRP, utilizando a tetrametilbenzidina como cromógeno.¹² Uma delas foi contracorada com vermelho neutro a 1% e a outra montada, sem contracorar, em lâminas gelatinizadas.

Os cortes foram analisados sob microscopia de campo claro e campo escuro, e áreas representativas foram fotografadas em diversos aumentos.

Resultado

Considerações gerais

A injeção cuidadosa de HRP dentro da ATM dos macacos provocou uma marcação retrógrada apenas no gânglio trigeminal ipsilateral ao lado injetado. Esta marcação foi evidenciada, após o procedimento histoquímico, como uma granulação azul-escura dentro do corpo celular dos neurônios (Figuras 1 e 2). Em muitas ocasiões, axônios marcados também foram observados (Figuras 2d e 4). Estes percorriam o gânglio trigeminal desde o nervo mandibular e continuavam pela raiz principal do nervo trigêmeo em direção à ponte. Neste caso, esse tipo de marcação foi definida como transganglionar. Quando marcados, os corpos celulares apresentavam variações quanto à intensidade dessa marcação, o que está relacionado com a quantidade de neurotraçador que foi incorporada pela célula. No animal controle, foram observados, além

da marcação no gânglio trigeminal, neurônios retrogradamente marcados no núcleo motor (Figura 3) e alguns no núcleo mesencefálico do nervo trigêmeo. Embora não tenha sido realizado um estudo quantitativo, o número de neurônios marcados não foi visivelmente diferente entre os animais utilizados neste experimento, salvo no animal controle, no qual este número pareceu maior.

A seguir, será descrita, detalhadamente, a marcação observada.

Localização de neurônios retrogradamente marcados

Núcleo mesencefálico do V

Observamos neste núcleo um pequeno número de neurônios esféricos, com aspecto morfológico característico de neurônios pseudo-unipolares ganglionares, positivos para HRP apenas no animal controle.

Núcleo motor do V (Vmot)

Motoneurônios típicos, HRP positivos, foram localizados apenas no Vmot do animal controle, ipsilateralmente ao lado injetado, o qual também apresentou marcação no Vmes (Figura 3). O número de motoneurônios marcados foi pequeno, mas a marcação intensa, o que sugere que o neurotraçador deve ter contaminado uma pequena área vizinha ao ponto de entrada da agulha na cápsula articular.

Gânglio trigeminal

Neurônios ganglionares HRP positivos, em grande quantidade, foram observados fundamentalmente no território mandibular do GT (Figuras 1, 2 e 4) de todos os animais estudados (incluindo o controle). Não foi possível observar um padrão somatotópico evidente, embora houvesse uma concentração maior de neurônios marcados ao redor da raiz do nervo mandibular (Figura 4).

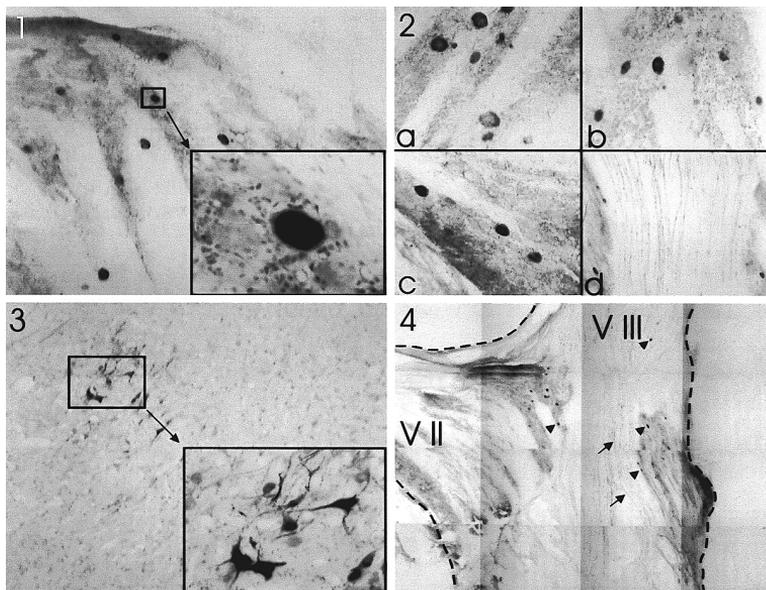


FIGURA 1 – Fotomicrografia do gânglio trigeminal do macaco *Cebus apella* com neurônios HRP positivos após injeção do neurotraçador na ATM, e contracorado com vermelho neutro. No destaque, um neurônio pseudo-unipolar típico com grande incorporação de HRP.

FIGURA 2 – Fotomicrografia do gânglio trigeminal do macaco *Cebus apella* com neurônios HRP positivos após injeção do neurotraçador na ATM, e contracorado com vermelho neutro. Axônios HRP positivos podem ser visualizados na Figura 2d.

FIGURA 3 – Fotomicrografia do núcleo motor do nervo trigêmeo (Vmot) do animal controle (detalhes no texto). O extravasamento proposital do neurotraçador atingiu músculos vizinhos inervados pelo Vmot, o que provocou a incorporação do HRP no corpo dos motoneurônios trigeminiais. Estes podem ser observados com detalhe no destaque, onde se evidencia o aspecto multipolar típico deste tipo celular.

FIGURA 4 – Reconstrução em pequeno aumento do gânglio trigeminal. As linhas tracejadas indicam o contorno aproximado do gânglio. Observar que axônios HRP positivos (setas) penetram no gânglio pelo nervo mandibular (parte superior da Figura) e o percorrem em toda sua extensão. As pontas de seta indicam corpos celulares (neurônios pseudo-unipolares) HRP positivos. V II, nervo maxilar; V III, nervo mandibular.

Aumentos: Figuras 1 e 3, 40x (destaques 200x); Figura 2, 80x; Figura 4, 20x.

Discussão

Nossos resultados indicam que a ATM do macaco-prego é inervada por células localizadas no GT. Neurônios marcados no Vmot e no

Vmes foram apenas encontrados no animal controle, no qual a injeção de HRP foi injetada de forma a permitir que o neurotraçador extravasasse do espaço articular, contaminando as estruturas cutâneas e musculares vizinhas. Neste caso, a marcação no Vmes seria justificada pela incorporação do neurotraçador por fusos neuromusculares. Estes fusos estariam localizados em músculos supridos pelo nervo trigêmeo e próximos ao local de injeção. Nos outros animais, em que foram tomados os cuidados para evitar que o neurotraçador escapasse dos limites do espaço articular, observamos neurônios marcados apenas no GT. Mesmo existindo, nestes casos, a possibilidade de o neurotraçador entrar em contato com fibras do músculo pterigóideo lateral que se inserem no disco articular, não foi observada marcação nem no Vmot nem no Vmes desses animais. Esses resultados, embora confirmem dados obtidos por meio de estudos anatômicos e eletrofisiológicos em outras espécies animais,^{1, 2, 11, 15, 18} estão em desacordo com dados da literatura segundo os quais, por “razões a priori”,¹⁹ os corpos neuronais dos neurônios sensitivos primários conectados a mecanorreceptores na ATM estariam localizados no Vmes. Os axônios periféricos destes neurônios alcançariam a ATM por meio, fundamentalmente, dos ramos motores que a inervam (ramos dos nervos massetérico, temporal profundo posterior e, provavelmente, do nervo pterigóideo lateral). Da mesma forma, a sensibilidade dolorosa captada pelas terminações nervosas livres localizadas na parede articular alcançaria neurônios localizados no GT por meio do ramo trigeminal sensitivo correspondente (nervo auriculotemporal). Henry et al.,⁹ injetando HRP no interior da ATM de roedores, observaram neurônios marcados em todos os núcleos trigeminais, incluindo o Vmes. Porém, esses autores relatam que, de forma semelhante ao que aconteceu no nosso animal controle, o neurotraçador contaminou áreas vizinhas à cápsula, o que impediu concluir qual estrutura se encontra conectada com o Vmes.

A possibilidade de o Vmes ser o responsável pela inervação da ATM foi aceita durante muito tempo de forma bastante generalizada, apesar de nunca ter sido confirmada experimentalmente. Estudos anatômicos e eletrofisiológicos^{2, 11, 15, 18} indicam, porém, que em gatos e ratos os neurônios responsáveis pela inervação da ATM se localizam exclusivamente no GT. Em camundongos, algumas evidências, como, de um lado, a presença apenas de terminações nervosas livres e, de outro, a falta de mecanorreceptores específicos na ATM,⁴ indicam que estes neurônios estão fundamentalmente relacionados ao processamento de estímulos dolorosos, embora não esteja descartada a possibi-

lidade de que estas terminações livres sejam também capazes de captar e transmitir impulsos proprioceptivos.⁷ De fato, estudos fisiológicos realizados em gatos² e em coelhos¹¹ demonstram que algumas destas células são capazes de responder aos estímulos relacionados à movimentação da mandíbula.

A existência de receptores proprioceptivos na ATM de algumas espécies, incluindo a ATM humana, levou inicialmente a associar a inervação desta articulação com o Vmes, sabidamente responsável pelo processamento de informação proprioceptiva originada de receptores musculares e periodontais. De fato, na ATM de macacos do Velho Mundo, foram reconhecidos os quatro diferentes tipos de receptores articulares descritos por Wyke.⁹ Predominam terminações nervosas livres (provavelmente nociceptores), seguindo, em ordem decrescente, terminações tipo Ruffini, Golgi e paciniformes, sendo estes três últimos fundamentalmente proprioceptivos. Resultados semelhantes, apesar das diferentes nomenclaturas adotadas, foram verificados na ATM humana.⁸ Em camundongos, como vimos anteriormente, não foram observadas terminações tipicamente proprioceptivas na ATM.⁴

A existência, pelo menos em primatas, de mecanorreceptores capazes de captar diversos tipos de estímulos dinâmicos e estáticos indica que a ATM poderia ser capaz de monitorar tanto a posição como os movimentos da mandíbula. Estudos clínicos confirmam essa hipótese, uma vez que injeção de anestesia local no interior da ATM humana reduziu de forma significativa a capacidade de perceber os movimentos mandibulares.^{14, 17}

Nossos resultados obtidos no macaco-prego, assim como de outros autores em diferentes espécies,⁵ sugerem que há relação entre os neurônios do GT com o processamento de informação cinestésica proveniente da ATM, e que há necessidade de uma reavaliação sobre o papel do Vmes como único responsável pelo processamento de informação trigeminal proprioceptiva. Provavelmente, este tipo de informação tenha um processamento mais complexo, e atributos específicos desta informação sensorial possam ser processados em paralelo por diferentes subsistemas ou redes neuronais. Estudos em andamento em nosso laboratório visando à identificação dos componentes autonômicos responsáveis também pela inervação da ATM, assim como a localização das projeções centrais dos neurônios ganglionares identificados no presente estudo, poderão contribuir para um melhor conhecimento da dinâmica da ATM e classificar de forma mais adequada a informação que ela envia ao sistema nervoso central.

Conclusão

Nossos resultados permitem concluir que, de forma contrária ao exposto em conceituados textos de anatomia, a origem da inervação sensitiva da ATM do primata se localiza no gânglio trigeminal e não no núcleo mesencefálico do nervo trigêmeo.

RIZZOLO, R. J. C. et al. Localization of primary afferent neurons that innervate the temporomandibular joint in Cebus monkey. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.30, n.2, p.291-300, 2001.

- **ABSTRACT:** The origin of sensory innervation of the temporomandibular joint (TMJ) is a question that has given rise to much controversy. Classic anatomical books point out that neuronal bodies which are responsible for this innervation would be localized in the mesencephalic nucleus of the trigeminal nerve. However latter researches on lower mammals indicate that these neurons would be situated in the trigeminal ganglion. In this work the innervation of the TMJ was studied in primates (*Cebus apella*) with the aid of the retrograde axonal tracing technique, by using horseradish peroxidase (HRP). The results show that the neuronal bodies responsible for the TMJ sensory innervation in the Cebus monkey are localized only in the trigeminal ganglion.
- **KEYWORDS:** Temporomandibular joint; horseradish peroxidase (HRP); trigeminal nerve; *Cebus apella*.

Referências bibliográficas

- 1 CAPRA, N. F. Localization and central projections of primary afferent nerves that innervate the temporomandibular joint in cats. *Somatosens Res. (New York)*, v.4, n.3, p.201-13, 1987.
- 2 CAPRA, N. F., GATIPON, G. B. Unit activity of trigeminal ganglion neurons recorded during jaw opening and closing. *Abstr. Soc. Neurosci. (Bethesda)*, v.6, p.674, 1981.
- 3 CARPENTER, M. B. *Neuroanatomia humana*. Rio de Janeiro: Ed. Interamericana, 1976.
- 4 DRESSEN, D., HALATA, Z., STRASMANN, T. Sensory innervation of the temporomandibular joint in the mouse. *Acta Anat. (Basel)*, v.139, n.2, p.154-60, 1990.

- 5 DUBNER, R., SESSLE, B. J., STOREY, A. T. The neural basis of oral and facial function. New York: Plenum Press, 1978.
- 6 FREEMAN, M. A. R., WYKE, B. The innervation of knee joint. An anatomical and histological study in the cat. *J. Anat. (London)*, v.101, n.3, p.505-52, June 1967.
- 7 FROMMER, J., MONROE, C. W. The morphology and distribution of nerve fibers and endings associated with the mandibular joint of the mouse. *J. Dent. Res. (Washington)*, v.45, n.6, p.1762-6, Nov./Dec. 1966.
- 8 GRIFFIN, C. J., HARRIS, R. Innervation of the temporomandibular joint. *Aust. Dent. J. (Sydney)*, v.20, n.2, p.78-85, Apr. 1975.
- 9 HENRY, M., WESTRUN, L., CANFIELD, R. Intracapsular injections of horseradish peroxidase in the cat TMJ. *J. Dent. Res. (Washington)*, v.66, sp. iss., p.237, 1987. (Abstract 1047).
- 10 KELLER, J. H., MOFFET, B. J. Nerve endings in the temporomandibular joint of the Rhesus macaque. *Anat. Rec. (New York)*, v.160, n.3, p.587-94, Mar. 1968.
- 11 LUND, J. P., MATTHEWS, B. Responses of temporomandibular joint afferents recorded in the gasserian ganglion of the rabbit to passive movements of the mandible. 1981 apud CAPRA, N. F. Localization and central projections of primary afferent nerves that innervate the temporomandibular joint in cats. *Somatosens Res. (New York)*, v.4, n.3, p.201-13, 1987.
- 12 MESULAM, M.-M. Tracing neural connections with horseradish peroxidase. New York: John Wiley & Sons, 1982.
- 13 NETTER, F. The Ciba collection of medical illustrations. New York: Ciba Pharmaceutical, 1957.
- 14 RANSJÖ, K., THILANDER, B. Perception of mandibular position in cases of temporomandibular joint disorders. *Odontol. Tidskr. (Stockholm)*, v.71, n.2, p.134-44, 1963.
- 15 ROMFH, J. H., CAPRA, N. F., GATIPON, G. B. Trigeminal nerve and temporomandibular joint of the cat: a horseradish peroxidase study. *Exp. Neurol. (Orlando)*, v.65, n.1, p.99-106, July 1979.
- 16 SICHER, H., DU BRUL, E. L. Anatomia bucal. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977.
- 17 THILANDER, B. Innervation of the temporomandibular joint capsule in man. *Trans. R. Sch. Dent. Stockh. Umea (Umea)*, v.7, p.9-67, 1961.
- 18 WIDENFALK, B., WIBERG, M. Origin of sympathetic and sensory innervation of the temporomandibular joint. A retrograde axonal tracing study in the rat. *Neurosci. Lett. (Limerick)*, v.109, n.1/2, p.30-5, Feb. 1990.
- 19 WYKE, B. The neurology of joints. *Ann. R. Coll. Surg. Engl. (London)*, v.41, n.1, p.25-50, July 1967.