

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA INERVAÇÃO DA CÓCLEA

P. CONTU
R. M. NEVES PINTO

INTRODUÇÃO

Não obstante o já apreciável volume de publicações sobre o assunto, a complexidade da inervação da cóclea continua desafiando a argúcia de quantos trabalham nesse apaixonante campo. Mas seu perfeito conhecimento parece imprescindível à elucidação da fisiologia auditiva e, conseqüentemente, de um sem-número de problemas audiológicos de ordem clínica ou meramente especulativa.

Hoje, com as técnicas histoquímicas e o uso cada vez maior da microscopia electrónica, poder-se-ia pensar nas impregnações metálicas e métodos de coloração como coisas do passado. Nossa impressão, todavia, é que muito ainda poderá ser dito por aqueles que usam convenientemente essas "velhas técnicas".

No presente trabalho, o objetivo é comunicar os resultados de nossas observações, com os métodos de Cajal-De Castro, Bodian modificado e hematoxilina férrica, num estudo sobre a inervação da cóclea.

REVISÃO DA LITERATURA

Em 1937, LORENTE de NÓ (1), após cuidadosa revisão de tudo quanto havia sido publicado (2, 3, 4, 5, etc.) apresenta um magnífico sumário e sistematização do assunto, incluindo detalhes inéditos até então. Segundo esse importante trabalho, as

Trabalho realizado no Departamento de Neuro-Anatomia com auxílio da Fundação Rockefeller, do Conselho Nacional de Pesquisas e do Conselho de Pesquisas da U.F.R.G.S.

células ganglionares, de acôrdo com o curso de seus processos periféricos, podem ser grupadas sob duas categorias:

CLASSE I — Os processos periféricos pertencentes às células desta classe, após um curto trajeto através do gânglio espiral, dirigem-se diretamente ao órgão espiral, grupados em pequenos feixes radiais.

CLASSE II — Os processos desta outra classe de células caminham dentro do gânglio, por distâncias consideráveis, formando o feixe espiral intraganglionar descrito por BOETTCHER (6) e KOLLIKER (7, 8). Esse feixe espiral dirige-se para cima e, como já havia sido estabelecido por RETZIUS (2), CAJAL (4) e HELD (9), dá um sem-número de finas colaterais as quais se juntam aos feixes radiais e penetram no órgão espiral (fig. 1 A, 1 B)

Quanto às terminações das fibras nervosas, no órgão espiral da cóclea, distingue:

1 — **FIBRAS RADIAIS**: Constituídas pelos processos das células ganglionares da classe I. Essas fibras, após chegarem ao órgão espiral, dividem-se em feixes, os quais se põem em contato com as células ciliadas internas.

2 — **FIBRAS ESPIRAIS EXTERNAS**: essas fibras foram observadas por RETZIUS (2), von EBNER (10) e HELD (9). Têm aproximadamente o mesmo diâmetro das fibras radiais. Cruzam sob as células ciliadas internas e atravessam o túnel espiral.

Ao saírem, dão ramos colaterais que chegam às células ciliadas externas, dobram-se em ângulo reto e, grupados em delgados feixes, dirigem-se para a base da cóclea, percorrendo distâncias consideráveis. Existem tantos feixes espirais externos quantas são as células ciliadas externas, mas cada fibra isoladamente não segue todo o seu curso dentro de um mesmo feixe, podendo passar de um para outro. Cada fibra inerva várias células ciliadas externas. As dimensões do feixe espiral não são bem conhecidas.

3 — **FIBRAS ESPIRAIS INTERNAS**: Sob as células internas existe um feixe de fibras espirais de pequeno calibre, já descrito por RETZIUS (2), HELD (9) e POLYAK (11, 12). Essas fibras seriam as terminações colaterais do feixe espiral intraganglionar. As fibras do feixe espiral, antes de formá-lo, dividem-se muitas vezes, dando numerosas colaterais. A maioria delas é de pequeno calibre e se incorpora logo a um dos feixes radiais, penetrando no órgão espiral. Essas fibras se dirigem então para o ápice da cóclea, dando um número considerável de colaterais.

Anos mais tarde, RASMUSSEN (13, 14, 15) demonstrou que o chamado pedúnculo olivar terminaria na cóclea do lado oposto. Após destruição intramedular do pedúnculo olivar (no

gato) verificou que as fibras degeneradas eram provenientes do nervo de Oort e alcançavam o gânglio na porção proximal do giro basal da cóclea. Essas fibras eferentes, após se juntarem num delgado feixe, dirigiam-se para cima, cursando a margem externa do gânglio espiral (fig. 2) e corresponderiam às fibras espirais do gânglio espiral, descritas por diversos autores. Esses autores supunham que tais fibras se tratassem de fibras cocleares eferentes com trajeto peculiar. As preparações pelo método de Marchi demonstraram que nem tôdas as fibras eferentes terminariam no gânglio espiral e que algumas, ou possivelmente tôdas, alcançariam o órgão espiral de Corti.

Em 1963, RASMUSSEN (16) foi capaz de seguir as fibras dêsse feixe além da habênula perfurada, concluindo que elas provavelmente terminariam nas células ciliadas internas. Todavia, deixou claro que outros métodos e outras investigações ainda seriam necessárias antes de se considerar esse ponto como definitivamente assentado. Isso porque as dificuldades em se acompanhar essas fibras até as suas últimas terminações, por meio de degeneração e com o microscópio óptico, eram tremendas senão intransponíveis.

FERNANDEZ (17), utilizando cobaios normais e cobaios sujeitados a trauma sonoro, pôde observar que:

A inervação das células ciliadas externas e internas é bastante complexa. Em ambos os casos há duas classes de fibras nervosas: espirais e radiais (fig. 3).

As fibras radiais têm um curso direto, do gânglio para o órgão espiral e cada fibra inerva até 3 células ciliadas. As fibras radiais constituem a inervação predominante das células ciliadas internas. Os centros tróficos dêsse tipo de fibras se encontram no gânglio espiral.

As fibras espirais tanto se dirigem para o ápice como para a base da cóclea ao longo do órgão espiral. Cada fibra inerva várias células. As fibras espirais constituem a inervação predominante das células ciliadas externas e seu conjunto forma o feixe espiral externo.

Embora em intensidade muito menor, tanto as células ciliadas internas saem inervadas por fibras espirais como as células externas por fibras radiais. Todavia, as fibras espirais que inervam as células ciliadas externas têm centro trófico no gânglio espiral, enquanto que as fibras espirais, que se destinam às células ciliadas internas, parecem se originar no complexo olivar superior contralateral. Essas fibras seriam eferentes e constituiriam o feixe olivococlear de Rasmussen o qual forma um feixe compacto ao nervo cócleo-vestibular. O feixe olivococlear é claramente identificado no giro basal como o feixe espiral intraganglionar, cujas colaterais inervam as células ciliadas internas. O feixe intraganglionar e o

feixe de Rasmussen não degeneram quando o órgão espiral e o gânglio de Corti são destruídos por trauma sonoro.

O esquema apresentado (fig. 4) facilita a compreensão da dupla inervação das células ciliadas segundo FERNANDEZ (17).

Todavia, PALUMBI (18) descreveu um plexo espiral interno e plexos espirais externos, negando a independência morfológica e funcional das fibras nervosas da cóclea. Descreveu também um plexo, constituído por fibras de natureza simpática, no helicotrema, lembrando a provável existência de grupos celulares ainda desconhecidos, no labirinto.

DEL BÓ e LIVAN (19, 20) utilizando o mesmo método e o mesmo material experimental, também descreveram uma série de plexos nervosos cocleares: plexo paramarginal, marginal, espiral interno e espiral externo.

Por outro lado, BOCCA (21, 22) concorda com a existência de dois sistemas independentes de fibras nervosas: o radial e o espiral. Segundo esse autor, o sistema espiral seria inteiramente independente do gânglio epiral. Não esclarece nem a origem, nem o destino de tais fibras, porém é da opinião de que algumas, ou mesmo todas, representam as expansões periféricas das células vestibulares do gânglio de Bottcher. Isso estaria claramente demonstrado em suas preparações e o nervo de Oort seria, pelo menos parcialmente, formado por essas fibras ao passarem do ramo vestibular para o ramo coclear do nervo cócleo-vestibular. As fibras espirais seriam então fibras vestibulares. Inclusive, acha que não existe evidência anatômica capaz de provar a continuidade do feixe pedículo-olivar com os feixes espirais, permanecendo esse problema ainda em aberto.

G. e C. PORTMANN (23) também demonstraram a absoluta independência dos sistemas radial e espiral. Entretanto, acreditam que o sistema de fibras espirais seja a continuação das fibras olivares, as quais RASMUSSEN não foi capaz de seguir além da primeira metade do turno basal. Segundo esses autores, as fibras espirais poderiam ser encaradas como fibras autônomas, de origem olivar, desempenhando um papel mal definido na interação interauricular e na representação espacial dos sons. Essa opinião também é partilhada por FERNANDEZ (17).

KATSUKY e COVELL (24) descreveram um detalhe curioso das fibras nervosas que se distribuem entre as células ciliadas internas. Além das ramificações nervosas que envolvem a base de cada célula, existe uma fibra nervosa, terminada em botão, que se insinua entre cada duas células.

CONTU e PIRODDA (25) revisaram o problema da inervação da cóclea confirmando a descrição de KOLMER (26, 27) e a existência do feixe nervoso descrito por RASMUSSEN (13, 14, 15).

Entre nós, no Laboratório de Anatomia Microscópica da Faculdade de Medicina da Universidade do Recife, FREIRE de Barros (28) demonstrou a individualidade do feixe intraganglionar e sua independência das células do gânglio espiral de Corti e Scarpa. Em 1956, CONTU e NEVES PINTO (29) demonstraram que as células do gânglio espiral da cóclea não se achavam circunscritas ao canal espiral, sendo encontradas também nos canais aferentes do modíolo. Na realidade, parecia haver uma gradual rarefação desses elementos, do canal espiral para a base da cóclea. CONTU, NEVES PINTO e SANTOS (30) evidenciaram também a existência de células multipolares, com nucléolo evidente na espessura do ramo coclear do VII nervo. Ainda em 1956, CONTU (31) confirmou os estudos de KOLMER (26, 27), LORENTE DE NÓ (1), RASMUSSEN (13, 14, 15) e FERNANDEZ (17). Além do mais, descreveu no limbo espiral células nervosas piriformes do tipo pseudo-unipolar, cujos prolongamentos se orientavam em direção à membrana de Reissner e membrana tectória ou em direção ao sulco espiral interno e base do limbo espiral. Essas células só foram vistas com o método de Del Rio Hortega (no gato).

Cumprir citar que M. e C. PORTMANN (32), com o método de Weber (no gato), haviam descrito no limbo espiral da cóclea fibras de aspecto sensitivo cujas origens atribuíam ser nas células do gânglio espiral.

Os resultados dos estudos supracitados, de CONTU e colaboradores, foram apresentados por CONTU (33) na Conferência Internacional de Audiologia, realizada em Saint Louis (EUA), em 1957.

Em 1961, CONTU (34), estudando a topografia das células do gânglio espiral de Corti, comunicou a existência de células bipolares ao longo do ramo coclear, fora do modíolo. Pareceu-lhe possuírem o mesmo volume das células bipolares do gânglio espiral, o que as diferenciaria das do gânglio de Scarpa que são sabidamente de volume dobrado. Discute o velho problema da anastomose vestibulo-coclear, a inervação vegetativa da cóclea e a existência de células unipolares, tripolares e de transição ao nível do gânglio espiral.

Recentemente, as fibras eferentes da cóclea têm sido estudadas por meio de métodos histoquímicos.

Em gatos normais, SCHUKNECHT, CHURCHILL e DORRAN (36, 36), usando o método de Koelle, encontraram uma marcada concentração de acetilcolinesterase ao nível das células ciliadas. Essa concentração era muito maior na região do feixe espiral interno. Demonstraram também que essa concentração diminuía grandemente após a seção do feixe olivococlear de Rasmussen. Esses resultados revelaram, pela primeira vez, que as fi-

bras eferentes eram quimicamente diferentes das aferentes, pelo menos no que diz respeito à concentração de acetilcolinesterase (lembramos que as fibras eferentes são muito menos numerosas que as aferentes. No gato, segundo GACEK-RASMUSSEN (37) a relação seria de 500 para 50 000).

HILDING e WERSAELL (38) combinaram o método histoquímico com a microscopia eletrônica a fim de precisar melhor a localização do precipitado marrom-indicador da presença da acetilcolinesterase. Seus resultados demonstraram que a atividade da acetilcolinesterase, no cobaio, era correlacionável às grandes terminações nervosas encontradas ao nível das células ciliadas, como já havia sido demonstrado por SMITH e SJOESTRAND (39).

Esses estudos demonstraram claramente que as fibras eferentes atravessavam o túnel de Corti e se distribuíam pelas ciliadas externas.

Em 1963, finalmente, SMITH e RASMUSSEN (40), na chinchila, após a revisão dos estudos realizados com o auxílio da microscopia eletrônica e métodos histoquímicos (por exemplo: ENGSTROM, ENGSTROM e WERSAELL, SMITH e SJOESTRAND, SMITH, IURATO, KIMURA e WERSAELL, BAIRATI e IURATO etc. . . . (41, 42, 43, 44, 45, 46, 47) traçaram o curso periférico de feixe olivococlear, a partir do feixe espiral interno (fig. 4).

Segundo esses autores, a maioria das fibras do feixe espiral interno seria eferente. Algumas dessas fibras se dirigiriam às células ciliadas internas onde assumiriam o aspecto de contatos de rosário entrando, ao que tudo indica, em extensos contatos sinápticos com os dendritos colcleaseos radiais "curtos". Ainda que essas terminações toquem as células ciliadas internas seria duvidoso que algumas delas realmente terminassem nelas.

Outras fibras acompanhariam as fibras aferentes longas, através do túnel espiral, formando aí o feixe espiral do túnel. Esse feixe seria completamente constituído por fibras eferentes. Essas pequenas fibras se incorporariam e abandonariam o feixe do túnel de tempos em tempos. Acompanhariam as aferentes longas através do túnel espiral e atingiriam a zona das células ciliadas externas onde assumiriam o mesmo aspecto observado ao nível das células ciliadas internas. Por meio dessas dilatações, em forma de contatos, elas fariam seus contatos sinápticos com as fibras espirais externas, entre as células de Deiters (40).

A distância que as fibras eferentes percorrem, entre as células ciliadas externas, após cruzarem o túnel de Corti, seria indeterminada. A evidência mostra que algumas terminariam como as longas terminações nervosas. Não pôde ser determinada quantas células ciliadas externas eram inervadas por cada fibra, nem

se tôdas essas células eram inervadas pelo tipo longo de terminação (40).

O feixe olivococlear de Rasmussen parece estar presente na cóclea de todos os vertebrados, tendo sido descrito também no pombo, no jacaré (BOORD (48) e homem (GACEK) (37, 49).

MATERIAL E MÉTODOS

Como animal de experiência empregamos gatos. A fixação foi intravital — A inclusão foi em celoidina-parafina (Cajal-De Castro, hematoxilina Férrica) e celoidina (Bodian). Os métodos de evidenciação histológica foram os de Cajal-De Castro, Bodian modificado e hematoxilina férrica.

OBSERVAÇÕES PESSOAIS

O método de Cajal-De Castro foi sem dúvida aquêle que nos proporcionou os melhores resultados. Graças à inclusão mista celoidina-parafina, permitiu seriação completa das cócleas. As fibras mielínicas e amielínicas, bem como os elementos celulares, apareceram com excelente diferenciação.

O método de Bodian modificado funcionou como se fôra um complemento para o primeiro. Como é sabido, êsse método não permite boa seriação dos cortes e é particularmente difícil o estudo de um órgão como a cóclea sem êsse recurso. Todavia, as imagens conseguidas, de fibras e células, foram ótimas.

A surpresa foi o método da hematoxilina férrica. Apesar de não ser utilizável no estudo das fibras amielínicas, revelou-se surpreendente na evidenciação das fibras mielínicas e células ganglionares. Também permite seriação completa dos cortes.

E' particularmente importante a ausência quase absoluta de precipitações indesejáveis de prata ou corante nas preparações com êsses métodos. Tais resultados devem ser atribuídos principalmente ao uso da fixação intravital, da descalcificação electrolítica e à prática sistemática da diferenciação controlada ao microscópio, durante o processo de impregnanção (Bodian) e de coloração (hematoxilina férrica) dos cortes. Assim, os elementos nervosos foram sempre preservados ao máximo e as precipitações de prata ou corante limitadas ao desejável. Isso pode ser visto nas microfotografias que ilustram essa comunicação.

Na descrição particularizada de nossos resultados tomamos por base o esquema proposto por Fernandez (fig. 2 A) e o critério topográfico. Descrevemos então, sucessivamente, nossos achados — (1) nos canais descendente do modíolo e base da cóclea, (2) no gânglio espiral de Corti e (3) na lâmina espiral e órgão espiral de Corti.

1 — CANAIS DESCENDENTES DO MODÍOLO E BASE DA CÓCLEA — Ai se revelaram particularmente interessantes os resultados obtidos com a hematoxilina férrica. Não que a hematoxilina férrica possa oferecer maior precisão de detalhes que o Bodian modificado e o Cajal-De Castro, mas, por se tratar de um método sumamente simples e rápido, seria justificável o seu emprego em estudos dessa natureza.

A fig. 5 A é um corte sagital da cóclea corado pela hematoxilina férrica. Nela são visíveis as fibras cocleares, ao longo dos canais descendentes, com notável clareza. Também são visíveis o canal espiral, o gânglio espiral, o crivo espiral e, além dêle, já em pleno ramo coclear do VIII nervo, células bipolares análogas às que constituem o gânglio espiral de Corti. Por sua numerosidade e por sua localização, temos a impressão de que, por vêzes, poderiam constituir um acúmulo semelhante a um gânglio e essa seria uma explicação da controvérsia sobre o gânglio de Böttcher — um acúmulo eventual de células migradas do gânglio espiral de Corti.

A fig. 5 B é um aspecto, em maior aumento, da base da cóclea corada pela hematoxilina férrica. Perfeitamente diferenciadas são observáveis as fibras do nervo coclear surpreendidas em vários momentos de seu trajeto helicoidal.

A fig. 6 A e B mostram aspectos das fibras cocleares, nos canais descendentes do modíolo (seção transversal) e base da cóclea (seção transversal), impregnadas pelo Bodian modificado.

2 — GÂNGLIO ESPIRAL DE CORTI — As células ganglionares, as fibras cocleares e as fibras do feixe intraganglionar apareceram muito bem com os três métodos utilizados.

O método de Bodian modificado e o Cajal-De Castro nos permitiu impregnações excelentes de células e fibras. Na fig. 7 por exemplo, temos um corte tratado pelo Bodian. Nela são muito bem evidenciadas as células bipolares, seus prolongamentos centrais e periféricos, e as fibras espirais do feixe intraganglionar. Mas esse método não nos permitiu acompanhar as fibras espirais como o Cajal-De Castro.

Com o método de Cajal-De Castro nos foi perfeitamente possível acompanhar todo o trajeto de feixe intraganglionar, desde sua entrada ao nível do giro basal da cóclea, o que confirma a indicação dêsse método por outros autores e justifica, inclusive, o entusiasmo de alguns.

Os resultados proporcionados pelo hematoxilina férrica, a esse nível, também mereceriam a classificação de notáveis. Isso pode ser apreciado na fig. 8.

Na verdade, os aspectos conseguidos dificilmente poderão ser superados com outros métodos. Aparecem muito bem as fibras radiais e espirais. Um detalhe, porém, merece reparo. As célu-

las bipolares se diferenciam primeiro e quando conseguimos a evidência ideal das fibras já há uma deposição exagerada do corante ao nível dessas células, além de uma certa retração do citoplasma.

3 — LÂMINA ESPIRAL E ÓRGÃO ESPIRAL DE CORTI — Não obstante as excelentes imagens obtidas ao nível do túnel espiral, o Bodian não parece indicado como método isolado e sim como auxiliar.

Novamente surpreendentes os resultados proporcionados pela hematoxilina férrica. Na fig. 9 A e B são visíveis as fibras radiais e espirais, ao nível da lâmina espiral. Cada fibra pode ser seguida de per si sem a menor dificuldade. Todavia, a utilidade desse método cessa quando se ultrapassa a habênula perfurada. Aí, as fibras nervosas perdem suas bainhas de mielina e não são mais evidenciáveis pela hematoxilina férrica.

O método de Cajal-De Castro, é, sem dúvida, o que proporcionou os melhores resultados. Na lâmina espiral, as fibras radiais e espirais aparecem com uma nitidez dificilmente iguais e, além da habênula perfurada, se pode seguir as fibras radiais e espirais. Na fig. 10 é nítida a formação típica em leque dos feixes radiais, o feixe espiral interno, o feixe espiral do túnel e o feixe espiral externo. As fibras que atravessam o túnel espiral, em demanda das células ciliadas externas, são bem visíveis na fig. 11 A e B. Entretanto, o detalhe que merece destaque é a evidência de fibras que de maneira constante se dirigem ao limbo espiral após deixarem a lâmina espiral pela habênula perfurada (Fig. 12 A e B). Essas fibras foram seguidas até a espessura do limbo espiral. Seu destino, porém, permanece desconhecido.

COMENTÁRIO

Na análise do mecanismo da audição e na interpretação do valor fisiológico dos sistemas aferentes e eferentes de fibras nervosas da cóclea, seria interessante o estudo comparado entre a densidade das diversas classes de fibras radiais e espirais e a discriminação auditiva, na escala zoológica. Então, além dos estudos que visam à elucidação do detalhe máximo das terminações dessas fibras nervosas, coisa que vem sendo exaustivamente estudada com os métodos da ultramicroscopia e da microscopia eletrônica, teria máxima importância a standardização de técnicas mais simples que permitissem observações em massa da inervação da cóclea do maior número possível de animais.

Por outro lado, é perigoso partir para o ultradetalhe sem o perfeito conhecimento dos aspectos mais gerais. Principalmente quando se sabe da imensa possibilidade de artefatos capazes de

produzir falsas impressões. Seria, então, indicado que aquêles que se interessam pela assunto não se esquecessem de amadurecer no "velhos método" antes de se lançarem às novas técnicas.

No passado, foi nítida a preocupação de alguns autores em utilizarem um sem número de métodos, de mesma natureza, afim de compararem os resultados. Isso porque, certamente, alguns achados contraditórios teriam sua explicação no uso inadequado ou na impropriedade de certas técnicas. Como exemplo de técnicas inadequadas citamos aquelas que não permitem seriação completa dos cortes. Não é possível se pensar em estudar a topografia de um órgão espiral sem êsse requisito. Todavia, várias conclusões foram avançadas tendo como base métodos com essa imperdoável limitação.

No presente, parece ser mais indicada a escolha de um método único que, auxiliado por um ou dois outros, esclareça tudo quanto se possa esperar de um método de prata. Nossas observações parecem justificar plenamente a escolha de Cajal-De Castro como método principal e o Bodian modificado e a hematoxilina férrica como métodos auxiliares de contrôlo.

Muito importante, também, parece a vivência do pesquisador com o método utilizado. A permanência maior ou menor num determinado reagente é por vêzes decisiva.

Os métodos de prata são sumamente caprichosos. Há um "quantum satis", para que se obtenham impregnações precisas, que somente a experiência é capaz de ensinar. Daí os resultados brilhantes de um autor muitas vêzes não serem reproduzidos por um outro usando a mesma técnica.

Cada pesquisador acaba por desenvolver uma maneira pessoal de executar uma técnica e apenas as modificações maiores têm merecido comunicações em separado.

Os resultados por nós conseguidos, os quais julgamos amplamente satisfatórios, parecem dever muito ao uso da fixação intravital, da descalcificação electrolítica e da diferenciação controlada ao microscópio.

Não insistiremos sobre os benefícios da fixação intravital e da descalcificação electrolítica na preservação do material. E' lógico que a intravital evitando a degeneração pós-morte, e a descalcificação electrolítica, diminuindo ao máximo a permanência das peças em meio deteriorante, são subsídios inestimáveis ao êxito das preparações histológicas.

Entretanto, dois outros aspectos devem ser lembrados. O primeiro é a vantagem proporcionada pela "lavagem" de todo o sangue existente no animal. Isso evitaria deposições de prata sobre elementos figurados do sangue criando artefatos que poderão simular estruturas ou mascarar outras. O segundo diz respeito às modificações químicas provocadas pela descalcificação electro-

lítica, inclusive melhorando os resultados com certos métodos. Essa observação pode ser encontrada também numa comunicação de CONTU e FARIAS (50) sobre o método de Bodian.

No que tange aos aspectos puramente morfológicos, nossas observações confirmam os trabalhos básicos de FERNANDEZ (17) e CONTU (31).

A independência dos sistemas aferentes e eferente, bem como a dupla inervação das células ciliadas internas e externas, nos pareceu evidente.

Merece destaque a presença de fibras que da habênula perfurada se voltam para o limbo espiral da cóclea. Esse achado vai de encontro àqueles de B. e C. Portmann (32) e CONTU (31, 33). Entretanto parece que esse detalhe terá que ser estudado por meio da microscopia eletrônica. Outrossim, seria interessante provocar a degeneração do sistema aferente ou eferente a fim de que se saiba a que sistema pertencem essas fibras.

CONCLUSÕES

Da análise do material por nós utilizado somos levados a crer que: —

1 — Um bom estudo topográfico da inervação da cóclea poderá ser realizado com um único método de impregnação de prata, desde que esse método evidencie bem os elementos celulares, as fibras mielínicas, amielínicas e permita seriação dos cortes.

2 — O método de Cajal-De Castro preenche perfeitamente essas condições.

3 — É sumamente importante, pelo menos no Cajal-De Castro e nos dois outros métodos utilizados, o uso sistemático da fixação intravital e da descalfificação electrolítica para a obtenção de preparações como as que ilustram a presente comunicação.

4 — O método de Bodian modificado por Contu, Pirodda e Lipparini, não obstante ser muito bom para a evidencição de células e fibras, por não permitir seriação completa dos cortes deve ser empregado como método auxiliar apenas.

5 — O método da hematoxilina férrica é muito aconselhável. Evidencia muito bem os elementos celulares e as fibras mielínicas.

Permite seriação completa dos cortes, é rápido e sumamente simples em sua execução. Todavia, por não servir para a demonstração das fibras amielínicas não pode ser empregado como método exclusivo ou principal e sim como um excelente método auxiliar.

6 — O método da hematoxilina férrica, em virtude de corar

apenas as fibras que possuem bainha de mielina, poderia ser utilizado nos métodos experimentais de degeneração walleriana.

7 — Para o estudo em questão foi muito interessante a combinação do método de Cajal-De Castro com um método auxiliar de impregnação (Bodian modificado e outro de coloração (hematoxilina férrica).

8 — A independência morfológica dos sistemas aferentes e eferentes, bem como a dupla inervação das células ciliadas internas e externas, foi perfeitamente demonstrável.

9 — Um certo número de fibras nervosas de maneira constante, ao saírem da lâmina espiral pela habênula perfurada, se dirigem para o limbo espiral tendo sido acompanhadas até a espessura do mesmo.

SUMMARY

The authors studied cats' cochleas with Cayal-De Castro's, Bodian and F. H. methods, arriving to the following conclusions:

- 1°) A good topographical study of the cochlear innervation with a single silver impregnation method, since it gives a good visualization of the cellular elements, the myelinated and amyelinated fibers and permits useful serial sections.
- 2°) Those conditions are fulfilled by the Cayal-De Castro method.
- 3°) It is very important, at least in Cayal-De Castro and in the other two methods utilized, the systematic use of electrolytical decalcification and intravital fixation for obtention of histological pictures like those achieved by us.
- 4°) The Bodian's method modified by Contu, Pirodda and Liparini, is very good for cells and fibers but doesn't permit useful serial sections. Therefore it would be used as an auxiliary method only.
- 5°) The F. H. method seems very useful. It permits good evidenciation of cells and myelinic fibers, serial sections, and its rapid and very simple in making. However its no good for evidenciation of myelinic fibers and cannot be used as an exclusive method but as an excellent auxiliary one.
- 6°) The F. H. method, coloring only the myelinated fibers, could be used in the experimental Waler's degeneration.
- 7°) In that study was very interesting the combination of Cayal-De Castro's method with an auxiliary method of silver impregnation (Bodian) and a staining one (F. H.).
- 8°) The morphological independence of the afferent and efferent systems and the inner and outer hair cells double innervation was demonstrated.

- 9^o) Some nervous fibers, in a constant manner, were observed running from the "habenula perforata" to the "limbus spiralis". Fibers were observed inside the limbus structura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) — LORIENTE de NÓ — Symposium: The neural mechanism of hearing — Anatomy and physiology: the sensory endings in the cochlea. *Laryngoscope*, 47:373, 1.937.
- 2) — RETZIUS — Die endigungweise des Gehoernerven. *Biol. Untersuch.*, N. F., 3, 1.892.
- 3) — GEHUCHTEN (van) — Contribution a l'étude des ganglions cérébro-spinaux. *La cellule*, 8:217, 1.892.
- 4) — CAJAL, S. R. — Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux. Paris, 1.894.
- 5) — HELD, H. — Zur Kenntniss der peripheren Gehorleitung. *Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abtheil.*, 6:352, 1.897.
- 6) — BÖTTCHER, A. — Weitere Beiträge zur Anatomie der Schnecke. *Arch. path. Anat.*, 17:243, 1.859.
- 7) — KÖLLIKER, R. A. — Mikroskopische Anatomie der Gewebe des Menschen. Julius Springer, Berlin, 1.852.
- 8) — KÖLLIKER, R. A. — Handbuch der Gewebe des Menschen. Julius Springer, Berlin, 1.896.
- 9) — HELDE, H. — Untersuchungen ueber den feineren Bau des Ohrlabyrinthes der Wirbeltiere. *Abhandl. Math. Phys. Cl. k. sächs. Gesselsch. Wissensch.*, 31:193, 1.909.
- 10) — EBNER von, (em Kölliker, R. A. — Handbuch der Gewebe des Menschen. Engelmann, Leipzig, 1.902.
- 11) — POLYAK, S. — The connections of the acoustic nerve. *J. Anat.*, 60:465, 1.926.
- 12) — POLYAK, S. — Ueber den allgemeinen Bauplan des Gehoersystems. *Ztschr. ges. neur. u. Psychiat.*, 111:1, 1.927.
- 13) — RASMUSSEN, G. L. — An efferent cochlear bundle. *Anat. Rec.*, 82:441, 1.942.
- 14) — RASMUSSEN, G. L. — The olivary peduncle and other fibers projections of the superior olivary complex. *J. Comp. Neur.*, 84:141, 1.946.
- 15) — RASMUSSEN, G. L. — Further observations on the termination of the so-called olivary peduncle. *Anat. Rec.*, 106:69, 1.950.
- 16) — RASMUSSEN, G. L. — Further observations of the efferent cochlear bundle. *J. Comp. Neur.*, 99:61, 1.963.

- 17) — FERNANDEZ, C. — The innervation of the cochle. *Laryngoscope*, 61:1152, 1.951.
- 18) — PALUBI, G. — Nuovi apparati espansionali nervosi recettori nel labirinto membranoso dell'orecchio umano. *Boll. Soc. med. chir. Pavia*, 5:1, 1.950.
- 19) — DEL BÓ, M. e LIVAN, M. — Nuovi dati sulla distribuzione delle fibre cocleari. *Boll. Soc. Med. Chir. Pavia*, 5:1103, 1.950.
- 20) — DEL BÓ, B. e LIVAN, M. — De l'existence d'un plexe nerveux marginal et paramarginal au niveau de la lame spirale. *Acta Anatomica*, 13:16, 1.951.
- 21) — BOCCA, E. — Notes on the innervation of the cochlea (I). *A. M. A. Arch. Otolaryng.*, 55:188, 1.952.
- 22) — BOCCA, E. — Notes on the innervation of the cochlea (II). *A. M. A. Arch. Otolaryng.*, 58:690, 1.953.
- 23) — PORTMANN, G. e C. — La double innervation de l'organe de Corti. *Acta otolaryngol.* 43:226, 1.953.
- 24) — KATSUKY, Y. and COVELL, W. P. — The organ of Corti by phase contrast microscopy. *Laryngoscope*, 61:1, 1.953.
- 25) — CONTU, P. e PIRODDA, E. — Note di morfologia sulle terminazioni nervose della coclea del gatto. *Monit. Zool. Ital.*, 61:1, 1.953.
- 26) — KOLMER, W. (em Alexander, G. und Marburg. O.) — *Handbuch der neurologie des Ohres*. Urban & Schwarzenberg. Berlin, 1.924.
- 27) — KOLMER, W. (em von Möllendorf) — *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Julius Springer, Berlin, 1.928.
- 28) — FREIRE DE BARROS, H. — Avaliação comparativa de vários métodos de impregnação de prata, para o estudo das células do gânglio de Corti e do feixe intraganglionar. Tese de concurso para docente-livre da Cad. de Anatomia do Curso Odont. Fac. Med. Univ. Recife, Recife, 1.955.
- 29) — CONTU P. e NEVES PINTO, R. M. — Nota sobre a topografia de gânglio espiral de Corti. *An. Fac. Med. Univ. Recife*, 16:277, 1.956.
- 30) — CONTU, P., NEVES PINTO, R. M. e SANTOS, M.S.L. — Considerações sobre a anatomia do ramo coclear do nervo acústico: *An. Fac. Med. Univ. Recife*, 16:271, 1.956.
- 31) — CONTU, P. — Estudo sobre a inervação da cóclea e sobre novos dispositivos nervosos na crista da parede vestibular do limbo espiral. *A. Fac. Med. Univ. Recife*, 16:7, 1.956.

- 32) — PORTMANN, B. e PORTMANN, C. — Innervation de la bandelette sillonnée (*Limbus laminae spiralis*) chez le chat *Experimentia*, 8:11, 1.952.
- 33) — CONTU, P. — Observations and considerations about the cochlear innervation of the cat. *Laryngoscope*, 68:586, 1.953.
- 34) — CONTU, P. — Sobre a topografia das células do gânglio de Corti. *Rev. Fac. Med. P. Alegre*, 21:39, 1.961.
- 35) — SCHUKNECH, H., CHURCHILL, J. And. DORAN, R. — Acetylcholinesterase activity in the cochlea. *Laryngoscope*, 66:1, 1.956.
- 36) — SCHKNECHT, H., CHURCHILL, J. and. DORAN, R. — Localization of actetylcholinesterase in the cochlea. *A. M. A. — Arch. Oto-Laryng.*, 69:549, 1.959.
- 37) — GACEK, R. — The efferente olivo-cochlear bundle in man. *A. M. A. Arch. Oto-laryng.* 74:690, 1.961.
- 38) — HILDING, D. and WESALL, J. — Cholinesterase and its reaction to the nerve endings in the inner ear. *Acta Oto-Laryng.*, 55:205, 1.962.
- 39) — SMITH, C. and SJÖSTRAND, F. — Structure of the nerve endings on the external hair of guinea pig cochlea as studied by serial section. *J. Ultrastruct. Res.*, 5:523, 1.961.
- 40) — SMITH, C. and Rasmussen, G. L. — Recent observations on the olivocochlear bundle. *Ann. Otol. Rhin. Laryng.*, 72:489, 1.963.
- 41) — ENGSTRÖM, H. — On the double innervations of the sensory epithelium of inner ear. *Acta Oto-laryng.* 49:109, 1.958.
- 42) — ENGSTRÖM, H. and WERSALL, J. — Structure and innervation of the inner ear sensory epithelia. *Internat. Rev. Cytol.*, 7:535, 1.958.
- 43) — SMITH, C. and SJÖSTRAND, F. — A synaptic structure in the hair cells of guinea pig cochlea. *J. Ultrastruct. Res.*, 5:184, 1.961.
- 44) — SMITH, C. — Innervation pattern the cochlea. *Ann. Otl. Rhin. Laryng.*, 70:504, 1.961.
- 45) — IURATO, S. — Submicroscopic structure of the membranous labyrinth. *Zeitschr. f. Zellfrschg.*, 53:259, 1.961.
- 46) — KIMURA, R. and WERSALL, J. — Termination of the olivo-cochlear bundle in relation to the outer hair cells of the organ of Corti in guinea pig. *Acta Oto-Laryng.*, 55:1, 1.962.
- 47) — BAIRATI, A. e IURATO, S. — Experimental data on the termination of the efferent fibers to the inner ear.

Prcc. 5th. Internat. Congr. Elec. Mic., v. 2, U-2, Acd. Press, N Y, 1.962.

- 48) — BOORD, R. — The efferent cochlea bundle in the caiman and pigeon. *Exp. Neur.*, 3:225, 1.961.
- 49) — GACEK, R. and RASMUSSEN, G. L. — Fiber analysis of the stato-acoustic nerve of guinea pig, cat and monkey. *Anat. Rec.*, 139:455, 1.961.
- 50) — CONTU, P. e FARIAS, A. S. — Observações histológicas sobre o tecido ósseo tratado com o método de Bodian depois de descalcificação electrolítica. *Rev. Fac. Med. P. Alegre*, 22:81, 1.962.

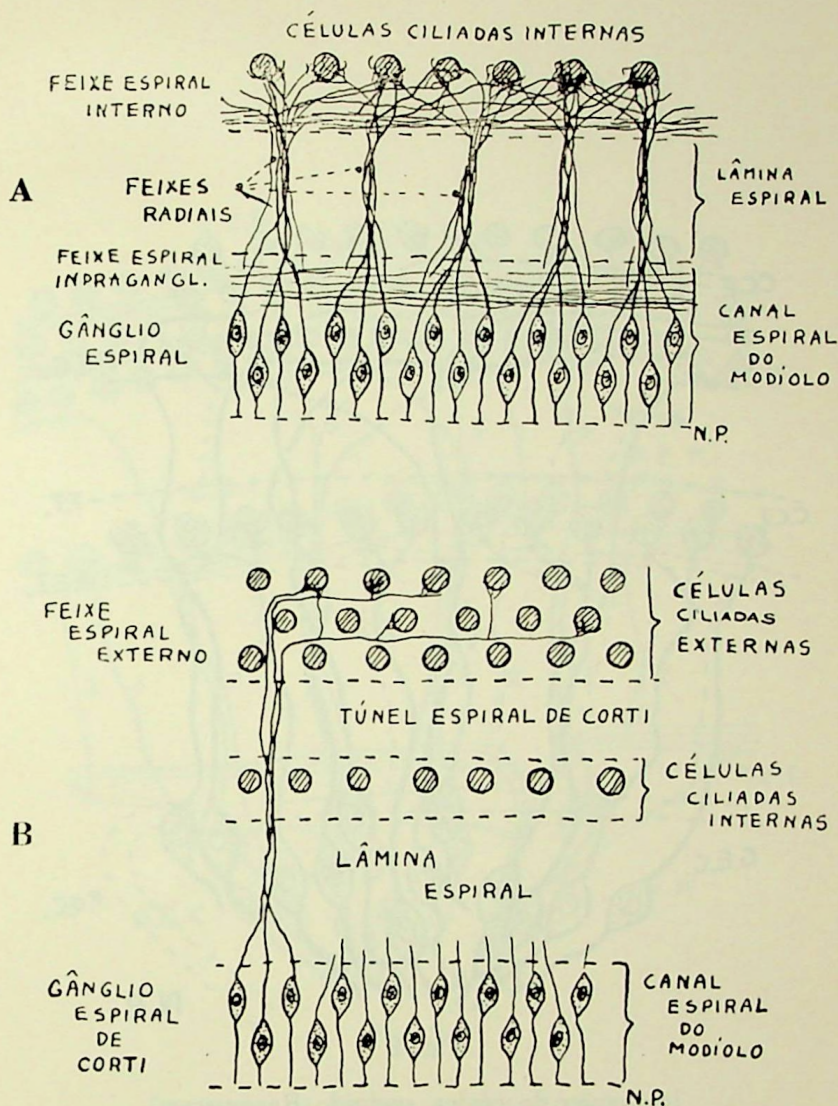


Fig. 1

Em A representação esquemática das células da Classe I de Lorente de Nó.

Em B representação esquemática das células da Classe II de Lorente de Nó.

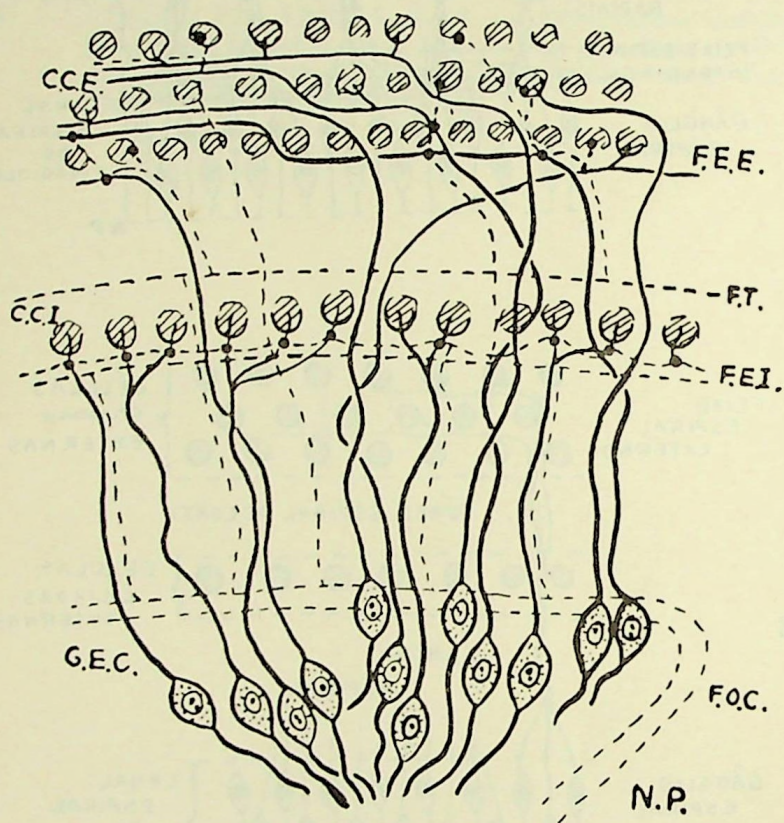


Fig. 2

Inervação da cóclea segundo Rasmussen

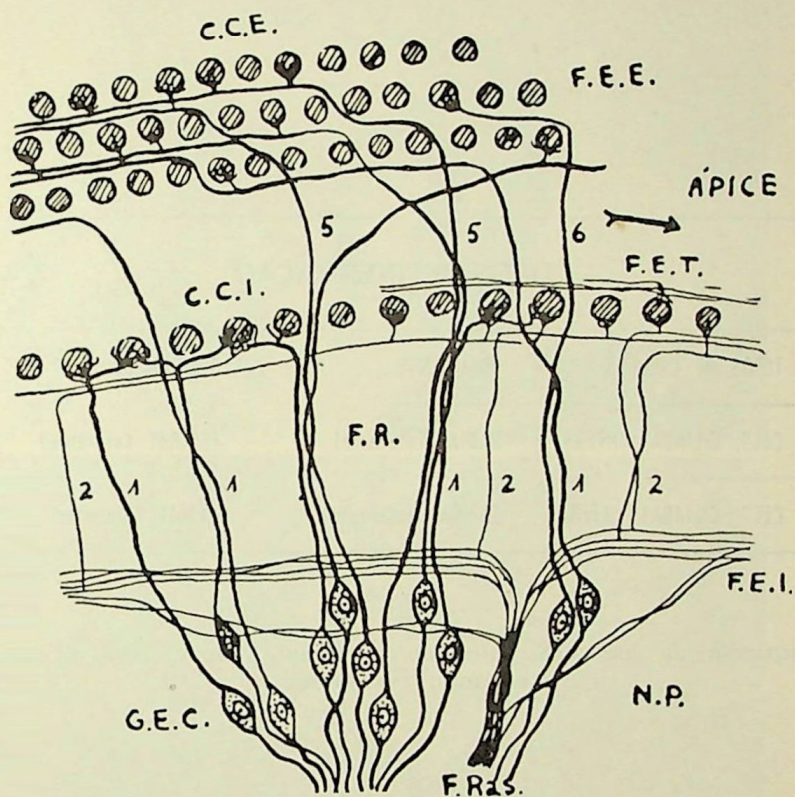


Fig. 3

Inervação da cóclea segundo Fernandez

TIPOS DE INERVAÇÃO		
TIPOS DE CÉLULAS	DOMINANTE	SECUNDÁRIA
CÉLS. CILIADAS INTERS	RADIAL (aferente)	ESPIRAL (aferente)
CELS. CILIADAS EXTER.	ESPIRAL (aferente)	RADIAL (aferente)

Fig. 4

Esquema da inervação aferente e eferente das células ciliadas, segundo Fernandez.

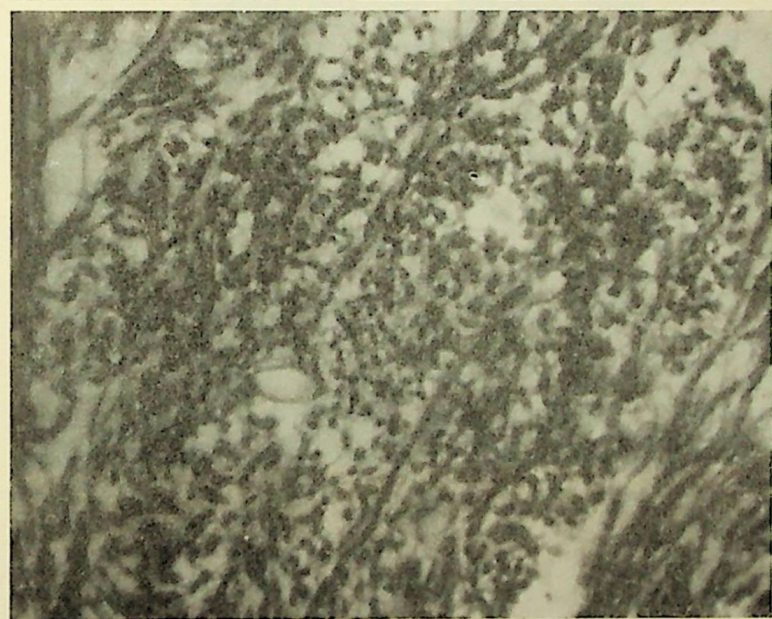


Fig. 5

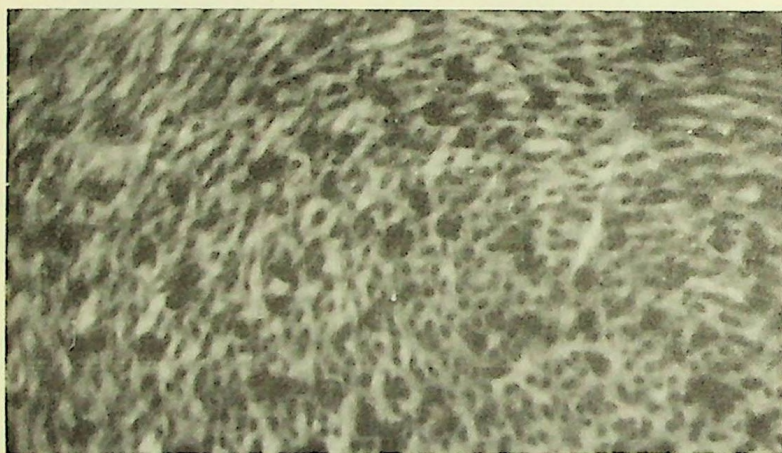
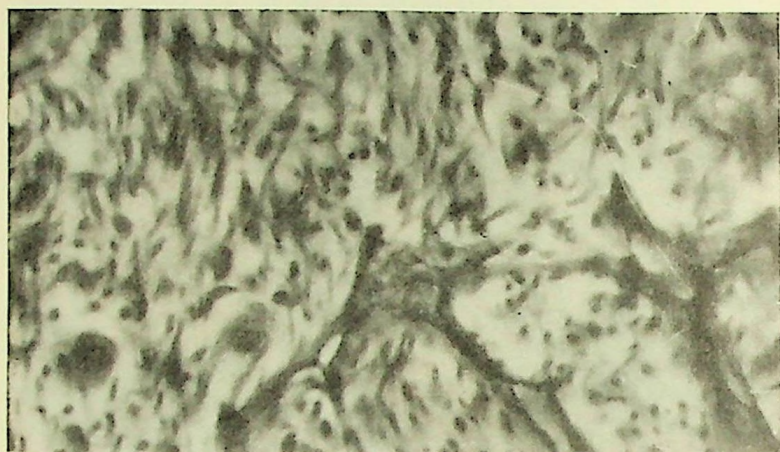


Fig. 6

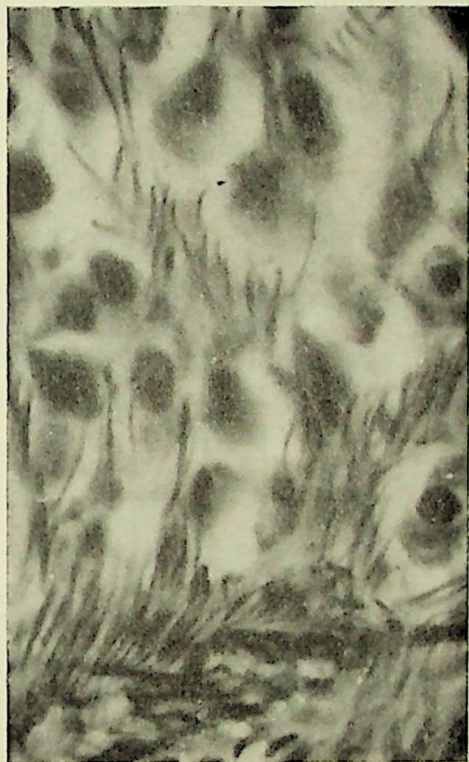


Fig. 7

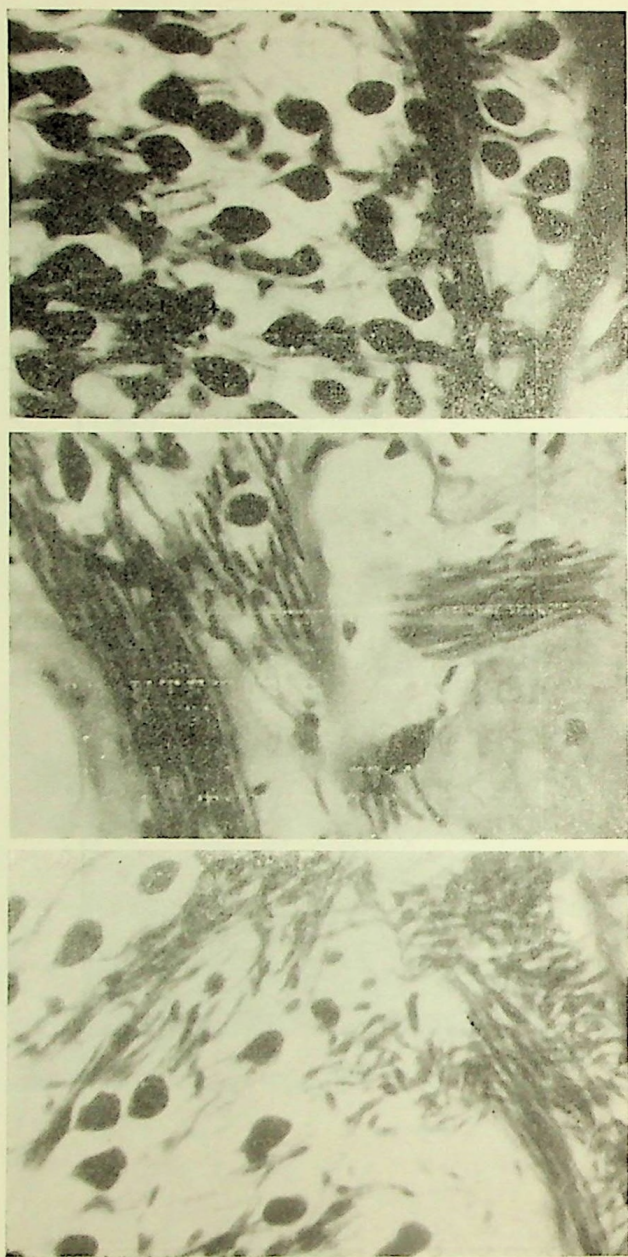


Fig. 8

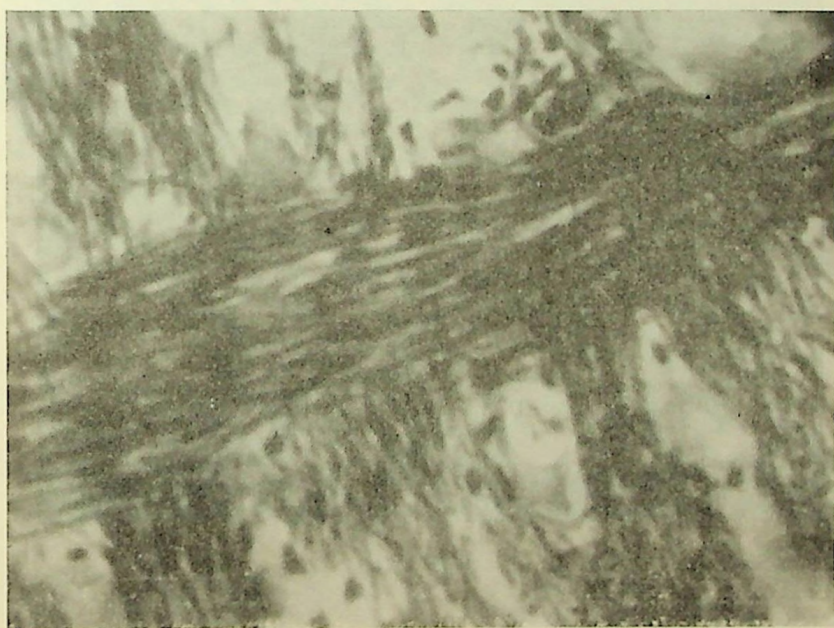
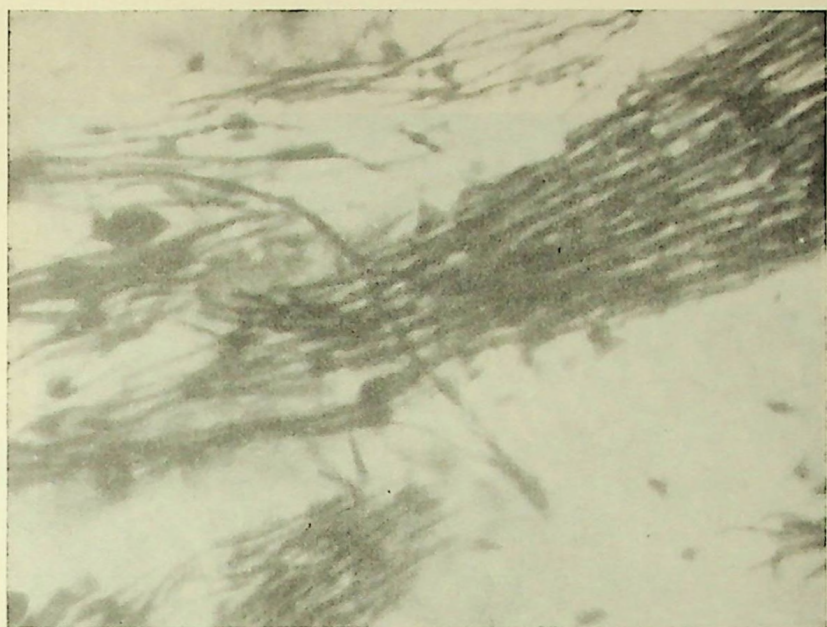


Fig. 9

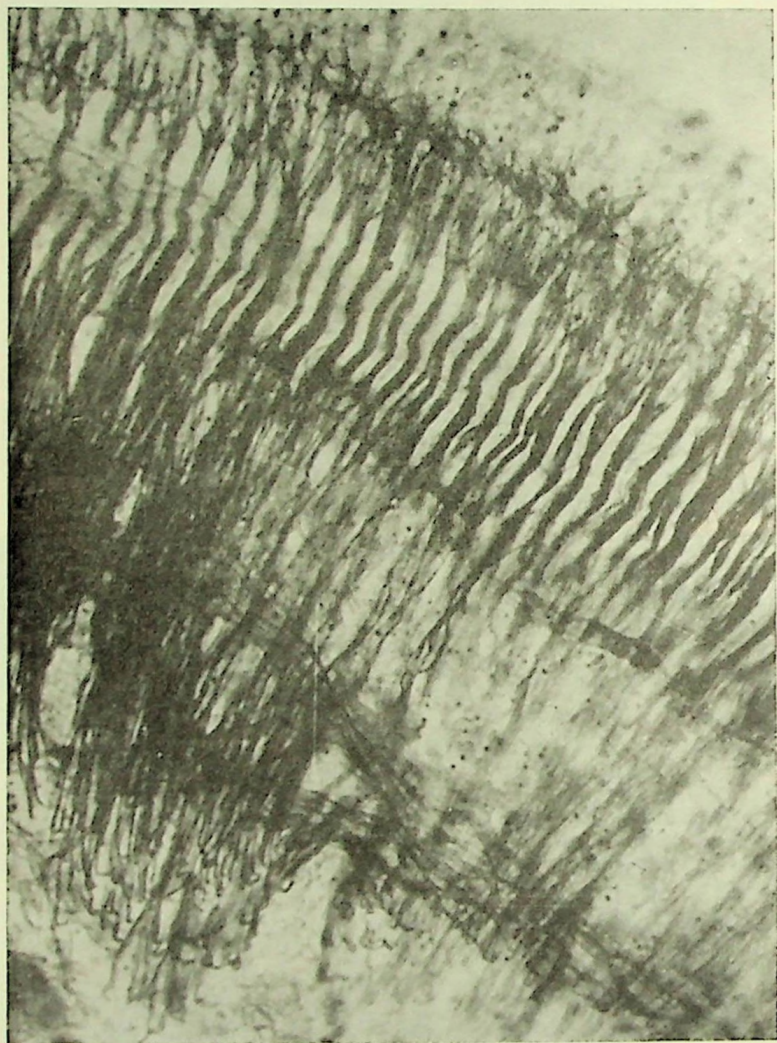


Fig. 10



Fig. 11

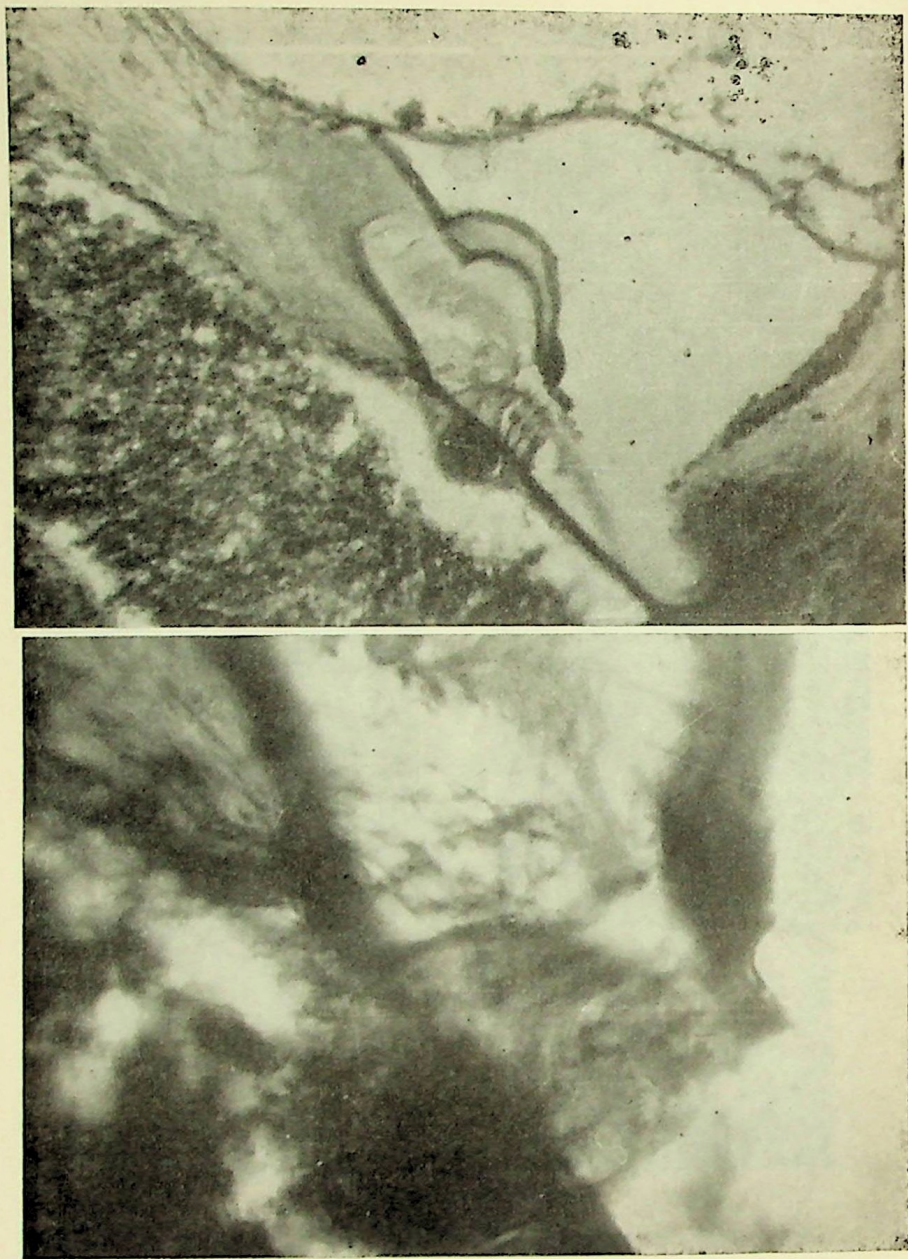


Fig. 12