

ONTOGENIA E FILOGENIA DO SISTEMA NERVOSO ENTÉRICO

Maria Montserrat Diaz Pedrosa Furlan*

FURLAN, Maria Montserrat Diaz Pedrosa. Ontogenia e filogenia do sistema nervoso entérico. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, 4(2): 149-157, 2000.

RESUMO: O sistema nervoso entérico é a divisão nervosa autonômica responsável pela inervação do trato gastrointestinal e suas estruturas acessórias. Composto de corpos celulares neuronais e fibras nervosas intrínsecas e extrínsecas, é uma rede nervosa complexa, em termos estruturais e funcionais. Este trabalho revisa os aspectos evolutivos e ontogenéticos do sistema nervoso entérico de forma a fornecer uma visão geral de sua história.

PALAVRAS-CHAVE: filogenia; ontogenia; sistema nervoso entérico.

ONTOGENESIS AND PHYLOGENESIS OF THE ENTERIC NERVOUS SYSTEM

FURLAN, Maria Montserrat Diaz Pedrosa. Ontogenesis and phylogenesis of the enteric nervous system. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, 4(2): 149-157, 2000.

ABSTRACT: The Enteric Nervous System is the autonomic nervous division responsible for the innervation of the gastrointestinal tract and its accessory structures. Composed of neuronal cell bodies and intrinsic and extrinsic nerve fibers, it is a complex neural network, both structurally and functionally. This work reviews the evolutionary and ontogenetic aspects of the Enteric Nervous System so as to provide a general view of its history.

KEY WORDS: enteric nervous system; ontogenesis; phylogenesis.

Introdução

Por muito tempo, o sistema nervoso entérico foi encarado como a porção pós-ganglionar da divisão parassimpática do sistema nervoso autônomo. Entretanto, é atualmente reconhecido como uma divisão própria do sistema nervoso autônomo, juntamente com o sistema simpático e o parassimpático. Diversos fatores contribuem para esse fato. Em sua revisão sobre o desenvolvimento do sistema nervoso entérico, GERSHON *et al.* (1993) apresentam uma descrição que justifica o reconhecimento do sistema nervoso entérico como uma divisão autonômica individualizada:

“O sistema nervoso entérico (SNE) é a maior e mais complicada divisão do sistema nervoso periférico. Contém mais neurônios do que a medula espinhal e, em contraste com outras regiões do sistema nervoso periférico, o SNE é capaz de mediar atividade reflexa na ausência de aferências neurais centrais. De fato, a maior parte dos neurônios do SNE não é

diretamente inervada por uma aferência pré-ganglionar do cérebro ou medula espinhal. A independência funcional do SNE é espelhada em sua química e estrutura. A diversidade fenotípica do SNE excede aquela do restante do sistema nervoso periférico e cada uma das classes de neurotransmissores encontradas no cérebro, se não todos os próprios transmissores, está representada no SNE. Os muitos neurônios do SNE estão agrupados em complexos microcircuitos que estão apenas começando a ser compreendidos. Esses microcircuitos incluem neurônios aferentes primários e interneurônios, bem como neurônios motores excitatórios e inibitórios. O suporte interno para os neurônios do SNE não é fornecido por colágeno e células de Schwann como nas regiões extra-entericas do sistema nervoso periférico; em vez disso, os neurônios entéricos são sustentados por células que se assemelham

* Professora Assistente do Departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá.

Endereço: Maria Montserrat Diaz Pedrosa Furlan. DCM/UEM. Av. Colombo, 5790 – Bloco H79. 87020-900. Maringá-Pr.
E-mail: mmdpfurlan@uem.br

aos astrócitos do sistema nervoso central e que foram denominadas glia entérica.”

Essas peculiaridades do sistema nervoso entérico, quando comparadas ao restante do sistema nervoso visceral, atraem a atenção dos pesquisadores, que tentam esclarecer sua complexa estrutura e seu funcionamento em condições normais e em diversos quadros patofisiológicos que afetam o trato gastrointestinal. Além disso, são também inúmeras as investigações sobre dois aspectos “históricos” do sistema nervoso entérico: Como ele está organizado em outros mamíferos, em vertebrados inferiores, e em invertebrados, em adição ao homem e os familiares roedores? Como e quando os neurônios entéricos aparecem no tubo digestório de um determinado animal e como se modificam desde a vida embrionária até a idade adulta? O objetivo desta revisão é apresentar esses dois aspectos.

Desenvolvimento

Ontogenia do Sistema Nervoso Entérico

O sistema nervoso entérico é observado desde invertebrados até vertebrados. Porém, o aparecimento e desenvolvimento dos neurônios entéricos são diferentes entre os dois grupos. Na literatura, há relatos sobre a ontogênese do sistema nervoso gastrointestinal de algumas espécies de invertebrados, mas os dados referentes a vertebrados são, sem dúvida, mais abundantes e completos, especialmente em aves e mamíferos.

Desenvolvimento Embrionário em Invertebrados

COPENHAVER & TAGHERT (1989a,b; 1991) descreveram a origem epitelial do sistema nervoso entérico de insetos. Na mariposa, há dois domínios celulares distintos: um domínio anterior que inclui muitos gânglios pequenos na superfície do tubo digestório anterior, e um domínio mais posterior que consiste de um plexo nervoso ramificado que atravessa o limite antero-posterior do tubo digestório. Os neurônios do domínio posterior são gerados de uma grande placa que se invagina da borda caudal dorsal do tubo digestório anterior; subsequentemente, as células distribuem-se por todo o plexo entérico por uma seqüência de migração ativa. As fases migratórias ocorrem ao longo de rotas definidas no tubo digestório. Bandas musculares viscerais no tubo digestório médio da mariposa servem como vias de migração para as células do plexo entérico deste inseto (COPENHAVER *et al.*, 1996). Antes do início da

migração, cada neurônio estende muitos filopódios, mas à medida que as bandas musculares coalescem, aparentemente em resposta a sinais regionais associados ao epitélio subjacente, os processos das células nervosas tornam-se mais confinados a uma banda específica, sobre a qual elas subsequentemente migram. A expressão fenotípica de substâncias peptidérgicas específicas começa nessas populações neuronais apenas depois das fases migratórias estarem completas (COPENHAVER & TAGHERT, 1989b).

Logo depois de iniciarem sua migração, as células do plexo entérico da mariposa começam a expressar guanilato ciclases solúveis. Porém, a atividade de óxido nítrico (NO) sintase foi detectada apenas nos estágios avançados de colonização do tubo digestório. Aparentemente, esse mecanismo de comunicação neuronal não influencia a migração e o crescimento axonal das células nervosas, mas por outro lado participa da formação das conexões sinápticas maduras (WRIGHT *et al.*, 1998).

Os neurônios do domínio anterior da mariposa surgem por uma seqüência de desenvolvimento distinta. Pouco depois do tubo digestório anterior começar a se formar, três zonas neurogênicas se diferenciam no seu epitélio e originam cadeias de células que emergem na superfície do tubo digestório anterior. As três zonas não são locais de mitose ativa, mas servem de locais através dos quais as células epiteliais são recrutadas em uma seqüência de delaminação e diferenciação neuronal. À medida que emergem do epitélio, as células tornam-se brevemente ativas mitoticamente, cada célula dividindo-se uma ou duas vezes. A progênie desses precursores derivados das zonas gradualmente coalescem nos gânglios e nervos do sistema nervoso entérico anterior (COPENHAVER & TAGHERT, 1991). Embora essa reorganização resulte em alguma variabilidade na configuração precisa dos neurônios dentro dos gânglios, a morfologia global dos gânglios é altamente estereotipada, consistindo de camadas corticais de células que circundam uma neurópila ventral. Um padrão semelhante foi descrito no gafanhoto (GANFORNINA *et al.*, 1996) e parece ser característico dos demais grupos de insetos.

Desenvolvimento Embrionário em Vertebrados

Uma modificação ontogenética acentuada foi descrita no duodeno de anfíbios (TORIHASHI, 1990). Os neurônios mientéricos observados no estágio larval degeneram e diminuem em número durante o clímax metamórfico inicial por

encolhimento do corpo celular e autólise do citoplasma. Eventualmente, esses neurônios larvais desaparecem e são substituídos por dois novos tipos neuronais, que aumentam de número no clímax final e após a metamorfose: os neurônios do tipo A têm um axônio proeminente e aumentam de tamanho durante os estágios seguintes do desenvolvimento. Os neurônios do tipo B são pequenos e modificam-se por aumento da árvore dendrítica e mudança de forma.

O desenvolvimento embrionário do sistema nervoso entérico dos vertebrados foi particularmente investigado em aves. ANDREW (1971) apresentou uma revisão crítica da literatura sobre o assunto. Juntamente com dados experimentais coletados pela autora (ANDREW, 1963; 1964; 1969; 1970), esse detalhado trabalho permitiu a refutação de algumas teorias sobre a origem embrionária do sistema nervoso entérico, tais como as teorias mesodermis e endodermis e a confirmação de que a crista neural vagal origina células ganglionares entéricas em aves.

Experimentos de diversos tipos, incluindo transplantes e remoção de células embrionárias (como os descritos em ANDREW, 1971) e marcadores, estabeleceram que os precursores neurais e gliais entéricos são emigrantes da crista neural (GERSHON *et al.*, 1993). Os níveis da crista de onde as células migram para o tubo digestório são o vagal (somitos 1 a 7) e o sacral (caudal ao somito 28). Em embriões de galinha, os precursores dos neurônios ganglionares entéricos podem estar presentes no tubo digestório no estágio de 10 somitos (correspondente a 36 horas de incubação) (GABELLA, 1979). As células vagais colonizam o tubo digestório inteiro, mas as células derivadas da crista neural sacral foram observadas apenas no tubo digestório pós-umbilical. O uso de marcadores neurais, como DiI (um corante fluorescente intercalante) e LZ10 (um retrovírus não replicante) foi importante para confirmar a migração das células da crista neural para sítios periféricos em aves (POMERANZ *et al.*, 1991a). Injeções desses marcadores no nível axial vagal permitiram a evidência de células marcadas na moela e no duodeno de aves. Injeções ao nível do tronco marcaram células nos gânglios simpáticos, e injeções sacrais evidenciaram células no tubo digestório pós-umbilical e no gânglio de Remak (um dos gânglios do plexo gástrico). As mesmas observações foram obtidas em murídeos por SERBEDZIJA *et al.* (1991). Esse tipo de experimento também permitiu

a observação de células nos gânglios da raiz dorsal, independente do nível da crista neural onde as injeções foram feitas.

É importante observar que nem todas as células derivadas da crista neural que colonizam o tubo digestório formam neurônios. Certamente, algumas irão originar a glia entérica. Além disso, porém, a descendência das células de origem sacral permanecia incógnita: elas talvez não originassem neurônios, e sim apenas glia ou tecido conjuntivo; ou então, só poderiam desenvolver-se como neurônios apenas depois de interagir com as células derivadas da crista vagal (GERSHON *et al.*, 1993). O uso de LZ10 permitiu concluir que as células derivadas da crista neural sacral originam neurônios e glia, mas que a diferenciação neural não ocorre até que o tubo digestório pós-umbilical tenha sido colonizado por células da crista neural vagal (GERSHON *et al.*, 1993).

É improvável que as células da crista vagal ou sacral estejam destinadas a ser neurônios entéricos ou células gliais antes de deixarem a crista neural. Em transplantes quiméricos feitos em aves, o destino das células derivadas da crista doadora depende mais da localização do transplante no embrião hospedeiro do que do local de onde foram removidas (LE DOUARIN, 1982). Experimentos desse tipo implicam que as células derivadas da crista neural migram nos embriões ao longo de rotas definidas, e portanto seu destino é determinado pela rota em que foram colocadas, e não pela origem espacial das células.

As propriedades das células derivadas da crista neural parecem mudar à medida que elas (ou sua progênie) migram. Uma das mudanças é a aquisição de uma proteína de membrana ligante de laminina (POMERANZ *et al.*, 1991b). A expressão desse receptor é responsável pela mudança na resposta das células dentro do tubo digestório à laminina. Ao entrar em contato com a laminina presente no mesênquima entérico, as células derivadas da crista neural provavelmente cessam sua migração e estendem neuritos ou processos gliais, como sugerido para camundongos mutantes (POMERANZ *et al.*, 1991b).

Outro fato interessante refere-se ao fenótipo terminalmente diferenciado das células migrantes. Ele provavelmente não é determinado antes dessas células começarem a migrar. A expressão fenotípica, portanto, pode ser influenciada por sinais encontrados pelas células migrantes, ou ao longo da via de

migração, ou no local de diferenciação terminal (GERSHON *et al.*, 1993). Na verdade, os estudos com culturas clonadas mostraram que as células pré-migratórias da crista neural são multipotentes (BAROFFIO *et al.*, 1988; SEXTIER-SAINTE CLAIRE DEVILLE *et al.*, 1992). Segundo os referidos autores, algumas dão origem, *in vitro*, a um clone que consiste de um único tipo celular; outros clones contêm múltiplos fenótipos terminalmente diferenciados. Além disso, algumas células derivadas da crista neural permanecem multipotentes mesmo depois de terem começado a migração e colonização de seus órgãos-alvo. A proporção de células nos gânglios que origina clones que expressam uma multiplicidade de fenótipos, entretanto, diminui conforme o desenvolvimento prossegue. As células da crista que colonizam o tubo digestório, assim como aquelas encontradas nos gânglios periféricos extra-entéricos, parecem ser multipotentes no momento em que chegam em seu órgão-alvo, porém não se desenvolvem em melanócitos, como ocorre com outros clones de células derivadas da crista neural. Provavelmente, a capacidade de diferenciação em melanócitos é a primeira a ser perdida uma vez iniciado o processo de migração/colonização (GERSHON *et al.*, 1993).

O microambiente entérico influencia a escolha fenotípica dos precursores derivados da crista neural. A ilustração mais marcante desse fenômeno é a expressão transitória de um fenótipo catecolaminérgico pelas células que colonizam o tubo digestório de mamíferos (GERSHON *et al.*, 1993). Os nervos vagos em desenvolvimento, que no animal maduro não contém neurônios, contém precursores neurais que são catecolaminérgicos. Essas células TC (transitoriamente catecolaminérgicas) nos nervos vagos são membros da população de células derivadas da crista vagal que coloniza o tubo digestório. Foram postuladas como sendo células que migram mais lentamente que os demais precursores, os quais entram no tubo digestório adiante das fibras vagais. Eventualmente, as células TC desaparecem, mas não porque morrem, e sim porque se diferenciam em neurônios entéricos que não são catecolaminérgicos. Os muitos neurônios do animal adulto que contém DBH (dopamina beta-hidroxilase, uma enzima da biossíntese de catecolaminas), o que provavelmente reflete sua derivação das células TC, contêm neurotransmissores ou neuromoduladores reconhecidos, como serotonina, substância P, ou neuropeptídeo Y.

O fato dos neurônios entéricos e simpatoadrenais derivarem de um tipo precursor comum reforça a idéia de que o microambiente do local onde ocorre a diferenciação terminal determina o fenótipo final do neurônio (GERSHON *et al.*, 1993). A interação célula-célula entre células derivadas da crista neural parece crítica na estimulação da diferenciação do fenótipo adrenérgico (SEXTIER-SAINTE CLAIRE DEVILLE *et al.*, 1992).

A diferenciação dos neurônios intramurais foi estudada também com o método histoquímico para acetilcolinesterase, AchE (CANTINO, 1970; KELLER, 1976). No embrião de galinha, os neurônios AchE-positivos aparecem primeiro no estômago e duodeno e depois no reto, e o desenvolvimento então se espalha caudal e cranialmente, respectivamente. Nos embriões de rato e coelho a AchE aparece primeiro nos neurônios mientéricos do duodeno e reto (15-18 dias de gestação) e então se espalha para os neurônios das regiões intervenientes. Esses dados reforçam a hipótese da origem - e colonização - dual do sistema nervoso entérico.

Em humanos, o período entre a 10^a e a 18^a semanas de gestação parece ser de grande importância na maturação do sistema nervoso entérico intestinal (FEKETE *et al.*, 1995). Neste período, os autores observaram a presença de neurônios diferenciados e de neuroblastos, uma neurópila de aparência madura se desenvolveu, bem como a inervação noradrenérgica inibitória extrínseca e os contatos neuromusculares. No esôfago, as camadas musculares e a inervação amadurecem entre a 8^a e a 16^a semanas de gestação (HITCHCOCK *et al.*, 1992).

Os neurônios entéricos, especialmente ao assumirem uma organização ganglionar, são revestidos externamente por tecido conjuntivo, o qual separa os gânglios do tecido muscular circundante. Somente em alguns casos (por ex., GOMES *et al.*, 1997) foi descrito que o revestimento, predominantemente colágeno, forma septos intraganglionares. GABELLA (1982) afirma que a exclusão do tecido conjuntivo dos gânglios, em mamíferos, ocorre durante o desenvolvimento embrionário e se completa logo após o nascimento.

Desenvolvimento Pós-Embrionário em Vertebrados

A população neuronal entérica não permanece numérica ou morfológicamente constante após a vida embrionária. No galo, ocorre uma diminuição da

densidade neuronal de aproximadamente 25% durante o desenvolvimento pós-embriônico, com aumento concomitante do tamanho celular e um acréscimo lento no número total de neurônios até a idade adulta (GABRIEL *et al.*, 1988). No rato recém-nascido, o número total de células nervosas é cerca de ¼ daquele no rato adulto, embora a densidade neuronal esteja aumentada, sugerindo que um número substancial de neurônios se desenvolve após o nascimento (GABELLA, 1971). O tamanho celular médio e a variação nos tamanhos neuronais também são maiores na vida pós-natal. Esse autor então propõe que o crescimento do tubo digestório é acompanhado por mudanças neuronais divididas em três estágios: 1) aumento no número de neurônios e no tamanho de alguns neurônios; 2) crescimento dos neurônios pequenos; e 3) aumento de tamanho dos neurônios grandes.

A rede do plexo mientérico do intestino delgado torna-se menos densa durante os primeiros anos de vida em humanos e a densidade de células ganglionares também diminui significativamente até o 3º ou 4º ano de vida (WESTER *et al.*, 1999). Aumentos no tamanho das células nervosas esofágicas humanas foram descritas desde a vida embrionária até o 28º mês de vida, enquanto o número de células diminui após a 20ª semana de gestação (HITCHCOCK *et al.*, 1992).

História Filogenética do Sistema Nervoso Entérico

O estudo da filogenia do sistema nervoso entérico é representado por investigações que foram feitas em espécies representativas dos diversos grupos animais. Vários aspectos filogenéticos podem ser comparados, como a organização, revestimento, localização, forma, número e tamanho dos neurônios mientéricos e a estrutura do plexo submucoso.

Organização dos Neurônios Mientéricos

Na minhoca, o plexo nervoso do tubo digestório contém células nervosas sub-epiteliais solitárias, fibras e uma neurópila extensa entre as fibras musculares. Apenas dois tipos celulares nervosos, um provavelmente catecolaminérgico e outro peptidérgico, foram descritos (CSOKNYA *et al.*, 1992). O sistema nervoso entérico da mariposa consiste de dois pequenos gânglios e várias redes nervosas que se dispõem superficialmente ao longo do trato alimentar. O termo "plexo entérico" é usado para identificar os neurônios e fibras nervosas que estão distribuídos no limite entre o tubo digestório anterior e o médio (COPENHAVER &

TAGHERT, 1989a,b). No gafanhoto, o sistema nervoso entérico está organizado em quatro gânglios localizados no tubo digestório anterior, e dois plexos que inervam o tubo digestório anterior e o médio (GANFORNINA *et al.*, 1996).

GABRIEL e seus colaboradores publicaram vários estudos sobre o plexo mientérico em invertebrados e vertebrados inferiores. Eles descrevem, de um modo geral, a presença de neurônios isolados no plexo mientérico de invertebrados, embora a organização do plexo seja diferente em cada grupo; por exemplo, em gastrópodes os neurônios estão presentes em todas as partes do plexo, enquanto na lagosta tendem a ser mais abundantes em determinadas regiões (GABRIEL *et al.*, 1988). Os gânglios, definidos como agrupamentos distintos de neurônios, aparecem pela primeira vez no tubo digestório anterior de vertebrados inferiores. Na truta, os agrupamentos celulares são raros, presentes apenas nos nodos entre as fibras de conexão, e compostos por apenas algumas células, de forma que as células isoladas, observadas no trajeto das fibras conectivas, são predominantes (BURNSTOCK, 1959). No sapo, os gânglios aparecem no duodeno (GABRIEL *et al.*, 1992a) e no tubo digestório superior (GUNN, 1951), enquanto nas demais regiões do tubo digestório médio e do intestino grosso os neurônios mostram uma distribuição aleatória (GABRIEL *et al.*, 1989; 1992a). No estômago do axolote, um anfíbio urodelo, estruturas ganglionares pouco desenvolvidas foram observadas (GABRIEL *et al.*, 1992b). Essas observações, do ponto de vista filogenético, são um indício da tendência de agrupamento dos neurônios entéricos, a qual se confirma em grupos superiores. O arranjo ganglionado característico dos vertebrados superiores, entretanto, só é observado a partir de galináceos (GABELLA & HALASY, 1987; GABRIEL *et al.*, 1988). GABRIEL e seus colaboradores (1988) sugerem então que o desenvolvimento do arranjo ganglionado se deu primeiro no tubo digestório anterior, representado pelo plexo mientérico duodenal do sapo e também do lagarto, e depois generalizou-se para as demais porções do tubo digestório.

Em mamíferos, onde as formações ganglionares são predominantes, o tamanho e a forma das redes de gânglios e fibras diferem entre os plexos mientérico e submucoso, em um mesmo plexo em diferentes partes do trato alimentar, e na

mesma porção do trato em diferentes espécies (GABELLA, 1979). A predominância de neurônios arrançados em gânglios já é aparente na 18ª semana de gestação em humanos (FEKETE *et al.*, 1995). Entretanto, neurônios isolados também são observados em roedores (GABELLA, 1987), e são mais comuns no jejuno-íleo do que no duodeno, e em animais mais velhos.

Revestimento Conjuntivo

Externamente, os gânglios mientéricos possuem um revestimento conjuntivo ricamente vascularizado, o qual foi relatado como sendo morfológicamente distinto de uma cápsula (GABELLA, 1979). O revestimento conjuntivo dos gânglios entéricos tende a tornar-se mais pronunciado em espécies mais avançadas na escala filogenética, e em animais maiores e/ou mais velhos. Na carpa, são encontradas fibras colágenas circundando os neurônios e gânglios (STABILLE *et al.*, 1998; 1999). Na moela de frangos, os gânglios mostram um revestimento externo conjuntivo, bem como feixes intraganglionares de fibrilas colágenas e vasos sanguíneos (GABELLA & HALASY, 1987). No colo proximal de ratos, o elemento colágeno predomina nos revestimentos ganglionares observados (LEITE-MELLO *et al.*, 1996). No colo de humanos, o revestimento ganglionar é composto de elementos colágenos e elásticos, e é mais espesso em indivíduos com mais de 65 anos de idade. Septos conjuntivos também foram observados, mais evidentemente, nos indivíduos mais velhos (GOMES *et al.*, 1997).

Morfologia Neuronal

O grau de ramificação dos neurônios também aumenta progressivamente ao longo da escala filogenética, sendo que em gastrópodes predominam os neurônios unipolares, na lagosta, aparecem neurônios bi- e multipolares, na carpa e no sapo os neurônios multipolares são os mais abundantes (GABRIEL *et al.*, 1988, 1989). Isso provavelmente reflete um maior grau de interconexão entre os próprios neurônios intrínsecos do tubo digestório, e entre eles e as fibras de origem extrínseca.

Localização dos Neurônios Mientéricos

A localização dos neurônios ou agrupamentos neuronais do plexo mientérico na parede do trato digestório não costuma diferir muito entre os grupos, estando geralmente entre as camadas musculares circular e longitudinal. Essa localização é descrita em gastrópodes (GABRIEL *et al.*, 1988), na carpa (STABILLE *et al.*, 1998), no mandi (DE SOUZA

et al., 1982), e no estômago e faces intermediárias do colo proximal de ratos (LEITE-MELLO *et al.*, 1996; FREGONESI *et al.*, 1998). Ocasionalmente, são encontrados neurônios entre as fibras circulares, como na região pilórica de cobaias (IRWIN, 1931) e no estômago glandular do pato (MOLINARI *et al.*, 1994); no músculo longitudinal, como no colo de cavalos (SCHUSSER & WHITE, 1997); ou entre o músculo e a subserosa, como no sapo (GABRIEL *et al.*, 1988) e nas faces mesocólica e antimesocólica do colo proximal de ratos (LEITE-MELLO *et al.*, 1996). Na truta marrom, BURNSTOCK (1959) descreve que os neurônios pequenos localizam-se entre as camadas musculares do tubo digestório, enquanto as células nervosas grandes geralmente estão embebidas no músculo longitudinal. No frango, os gânglios mientéricos localizam-se logo abaixo da serosa e muitos gânglios pequenos aparecem envoltos pela musculatura lisa circular (GABELLA & HALASY, 1987).

Quantificação dos Neurônios Mientéricos

A evolução filogenética do sistema nervoso entérico, especialmente dos neurônios mientéricos, se reflete também nos aspectos quantitativos das células nervosas, de forma que podem ser observadas diferenças entre os grupos animais e entre regiões diversas do tubo digestório. Em mamíferos, a variação morfoquantitativa do plexo mientérico foi apresentada em uma revisão de GABELLA (1979), na qual ele mostra que o padrão de organização morfológica e quantitativa do plexo mientérico é característico de um dado segmento em cada espécie animal. Além disso, o autor observa que, de modo geral, nas espécies de mamíferos estudadas até então, em que as colorações por azul de metileno eram as mais empregadas, a densidade neuronal é maior no duodeno do que no íleo, e maior no colo do que no intestino delgado.

É interessante observar que na truta marrom, o número de neurônios aumenta do esôfago para o duodeno e em seguida diminui progressivamente ao longo do íleo (BURNSTOCK, 1959); também, é no duodeno de sapo que aparecem os primeiros arranjos ganglionares (GABRIEL *et al.*, 1992a), e em quelônios, o tubo digestório médio apresenta a maior densidade de inervação (TIMMERMANS *et al.*, 1991). Se o segmento intestinal terminal da carpa corresponde ao colo dos vertebrados superiores, então os dados encontrados neste peixe por STABILLE e colaboradores (1998, 1999) também correspondem ao padrão relatado por GABELLA

(1979): o número de neurônios nesta região é duas vezes maior que aquele do segmento intestinal anterior. Em invertebrados e vertebrados não-mamíferos, as contagens neuronais revelam que o número total de neurônios é de 3 a 20 vezes menor, e a densidade de 10 a 30% menor, que em mamíferos (GABRIEL *et al.*, 1988).

São também encontrados relatos de variações quantitativas dos neurônios mientéricos em torno da circunferência intestinal e em diferentes porções do estômago. Por exemplo, no estômago, a densidade neuronal é muito superior na curvatura gástrica menor em relação à curvatura gástrica maior (FREGONESI *et al.*, 1998). No colo, os neurônios mientéricos predominam nas regiões intermediárias, em relação às antimesocólicas (SANT'ANA *et al.*, 1997).

Tamanho dos Neurônios Mientéricos

As comparações dos resultados referentes às contagens neuronais em diferentes espécies, obviamente, estão sujeitas a variações decorrentes das técnicas de coloração e de contagem empregadas. As mais comuns são aquelas que usam como corantes neuronais o azul de metileno e a técnica histoenzimológica da NADH-diaforase, de forma que as contagens podem ser comparadas com relativa fidelidade. Por outro lado, várias são as formas usadas pelos autores para expressar os tamanhos neuronais encontrados. Isso dificulta comparações, uma vez que neurônios considerados "grandes" ou "pequenos" com o uso de um dado parâmetro poderiam ser categorizados de um modo diferente por outro parâmetro. Por exemplo, BURNSTOCK (1959) categoriza como células nervosas pequenas aquelas com 10-15 µm de diâmetro; GABRIEL *et al.* (1988) multiplicam os eixos longitudinal e transversal do corpo celular dos neurônios; outros autores (por ex., STABILLE *et al.*, 1998; FREGONESI *et al.*, 1998) determinam os tamanhos neuronais de acordo com a soma desses eixos; e ainda outros (por ex., GABELLA, 1971; GABELLA & TRIGG, 1984; SANTER & BAKER, 1988; GABRIEL *et al.*, 1989) avaliam a área dos perfis dos corpos celulares neuronais. Apesar dessa variabilidade na expressão dos resultados, os neurônios tendem a ser menores e a variação de tamanhos mais estreita, em invertebrados e vertebrados inferiores (BURNSTOCK, 1959; GABRIEL *et al.*, 1988). Com base em suas observações com impregnação por prata, GUNN (1951, 1968) propõe que os neurônios pequenos

representam o sistema nervoso entérico intrínseco original, uma vez que sua proporção é grande no duodeno (o que também é observado em outros grupos), uma região de grande atividade intrínseca. GABELLA (1987) sugere que há uma relação entre densidade neuronal, tamanho neuronal, e volume de tecido inervado, de tal forma que a inervação de uma dada quantidade de tecido gastrointestinal é conseguida por uma alta densidade de inervação por neurônios pequenos (como no camundongo) ou por uma baixa densidade de inervação suprida por neurônios de maior tamanho (como na ovelha).

O Plexo Submucoso

As investigações sobre a organização do plexo submucoso são mais escassas do que aquelas sobre o plexo mientérico. Em peixes, corpos celulares neuronais submucosos foram relatados apenas no intestino grosso de uma espécie (EZEASOR, 1979). Outros autores relatam a ausência de neurônios submucosos nas espécies de peixe estudadas (BURNSTOCK, 1959; WONG & TAN, 1978). Nos anfíbios, embora haja fibras nervosas submucosas, não foram encontrados corpos celulares neuronais nessa camada do tubo digestório (GUNN, 1951). Entre os répteis, a presença de neurônios submucosos foi relatada em quelônios (TIMMERMANS *et al.*, 1991), enquanto os lagartos parecem ser desprovidos desse tipo neuronal (READ & BURNSTOCK, 1968). Em mamíferos, via de regra, os neurônios submucosos estão todos organizados em gânglios, mas a organização ganglionar não é a mesma em todas as espécies, e no porco dois plexos ganglionados, de organização distinta, são visíveis na submucosa (GUNN, 1968). De um modo geral, o plexo submucoso de uma espécie, incluindo gânglios e fibras nervosas interconectadas, tem uma organização mais difusa do que o plexo mientérico, sendo comparado a uma malha ou tela: seus neurônios são menores e mais dispersos e os conectivos são mais delgados.

Considerações Finais

Embora os neurônios e fibras nervosas que compõem o sistema nervoso entérico dos vertebrados sofram alterações significativas desde sua origem na crista neural até a maturidade do animal, a dinâmica morfofuncional dos neurônios entéricos não cessa, mesmo em condições de saúde. O envelhecimento, enquanto processo fisiológico, é responsável por um grau considerável de redução

numérica e reorganização dos neurônios entéricos. Até certo ponto, isso resulta simplesmente de uma eliminação de neurônios redundantes e uma redistribuição de tarefas entre os neurônios remanescentes. Porém, está também relacionado a diversas anomalias gastrointestinais comuns em indivíduos senis. Dados morfológicos e quantitativos dos neurônios entéricos relativos ao envelhecimento em animais e humanos são encontrados na literatura (SANTER & BAKER, 1988; GABELLA, 1989; DE SOUZA *et al.*, 1993; MECIANO FILHO *et al.*, 1995).

Algumas linhas gerais são evidentes na análise do progresso filogenético do sistema nervoso entérico. Primeiro, os neurônios, inicialmente isolados, passam a formar agrupamentos progressivamente mais conspícuos e adquirem um revestimento conjuntivo mais evidente, cujas prováveis funções são o isolamento e a proteção mecânica dos neurônios, localizados em um órgão que sofre ciclos repetitivos de movimento. Segundo, os neurônios assumem, gradativamente, maiores tamanhos e mais projeções citoplasmáticas, o que pode ser vantajoso do ponto de vista das conexões neuronais: mais projeções, tanto de recepção quanto de retransmissão de sinais, permitem maior grau de modulação entre neurônios e entre esses e seus efetores. Terceiro, o surgimento aparentemente tardio do plexo submucoso ganglionado na escala filogenética provavelmente implica que as funções das camadas mais internas do tubo digestório eram, inicialmente, controladas neuralmente por fibras provenientes do plexo entérico das camadas musculares e de neurônios extrínsecos, e só depois esse plexo ganglionado intrínseco se subdividiu em dois conjuntos ganglionados, de forma a regular e acoplar com mais precisão as funções motoras, secretoras/absortivas e vasculares do tubo digestório.

É preciso lembrar que o processo digestório é muito peculiar, e depende não somente do grupo animal considerado, mas também do nicho ecológico e do hábito alimentar de cada espécie. Por isso, é razoável sugerir que as investigações sobre o sistema nervoso entérico, especialmente sobre aspectos mais sutis de sua organização e funcionamento, podem desvendar adaptações neuronais específicas intimamente relacionadas à biologia de cada espécie animal.

Referências

- ANDREW, A. A study of the developmental relationship between enterochromaffin cells and the neural crest. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 11: 307-324, 1963.
- ANDREW, A. The origin of intramural ganglia. I. The early arrival of precursor cells in the presumptive gut of chick embryos. *J. Anat.*, 98: 421-428, 1964.
- ANDREW, A. The origin of intramural ganglia. II. The trunk neural crest as a source of enteric ganglion cells. *J. Anat.*, 105: 89-101, 1969.
- ANDREW, A. The origin of intramural ganglia. III. The 'vagal' source of enteric ganglion cells. *J. Anat.*, 107: 327-336, 1970.
- ANDREW, A. The origin of intramural ganglia. IV. The origin of enteric ganglia: a critical review and discussion of the present state of the problem. *J. Anat.*, 108: 169-184, 1971.
- BAROFFIO, A.; DUPIN, E.; LE DOUARIN, N.M. Cloning ability and differentiation potential of migratory neural crest cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85: 5325-5329, 1988.
- BURNSTOCK, G. The innervation of the gut of the brown trout (*Salmo trutta*). *Quart. J. Microsc. Sci.*, 100(2): 199-220, 1959.
- CANTINO, D. An histochemical study of the nerve supply to the developing alimentary tract. *Experientia*, 26: 766-767, 1970.
- COPENHAVER, P.F.; TAGHERT, P.H. Development of the enteric nervous system in the moth. I. Diversity of cell types and the embryonic expression of FMRFamide-related neuropeptides. *Dev. Biol.*, 131(1): 70-84, 1989a.
- COPENHAVER, P.F.; TAGHERT, P.H. Development of the enteric nervous system in the moth. II. Stereotyped cell migration precedes the differentiation of embryonic neurons. *Dev. Biol.*, 131(1): 85-101, 1989b.
- COPENHAVER, P.F.; TAGHERT, P.H. Origins of the insect enteric nervous system; differentiation on the enteric ganglia from a neurogenic epithelium. *Development*, 113(4): 1115-1132, 1991.
- COPENHAVER, P.F.; HORGAN, A.M.; COMBES, S. An identified set of visceral muscle bands is essential for the guidance of migratory neurons in the enteric nervous system of *Manduca sexta*. *Dev. Biol.*, 179(2): 412-426, 1996.
- CSOKNYA, M. *et al.* Immunohistochemical and ultrastructural study of the enteric nervous system of earthworm, *Lumbricus terrestris* L. *Acta Biol. Hung.*, 43(1-4): 241-251, 1992.
- DE SOUZA, R.R. *et al.* Myenteric plexus in a freshwater teleost intestine. *Anat. Anz. Jena.*, 152: 359-362, 1982.
- DE SOUZA, R.R. *et al.* Age-induced nerve cell loss in the myenteric plexus of the small intestine in man. *Gerontology*, 39: 183-188, 1993.
- EZEASOR, D.N. Ultrastructural observations on the submucous plexus of the large intestine of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Rich). *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.*, 93(5): 803-812, 1979.
- FEKETE, E.; RESCH, B.A.; BENEDECZKY, I. Histochemical and ultrastructural features of the developing enteric nervous system of the human foetal small intestine. *Histol. Histopathol.*, 10(1): 127-134, 1995.
- FREGONESI, C.E.P.T.; MIRANDA-NETO, M.H.; MOLINARI, S.L. Estudo morfológico e quantitativo dos neurônios do plexo mientérico do corpo do estômago de *Rattus norvegicus*. *Acta Scientiarum*, 20(2): 221-224, 1998.
- GABELLA, G. Neuron size and number in the myenteric plexus of the newborn and adult rat. *J. Anat.*, 109: 81-95, 1971.
- GABELLA, G. Innervation of the gastrointestinal tract. *Int. Rev. Cytol.*, 59: 129-193, 1979.
- GABELLA, G. On the ultrastructure of the enteric nerve ganglia. *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.*, 71: 15-25, 1982.

- GABELLA, G.; TRIGG, P. Size of neurons and glial cells in the enteric ganglia of mice, guinea-pigs, rabbits and sheep. *J. Neurocytol.*, 13(1): 49-71, 1984.
- GABELLA, G. The number of neurons in the small intestine of mice, guinea-pigs and sheep. *Neuroscience*, 22(2): 737-752, 1987.
- GABELLA, G.; HALASY, K. On the nerve plexus of the chicken gizzard. *Anat. Embryol.*, 177: 97-103, 1987.
- GABELLA, G. Fall in the number of myenteric neurons in aging guinea pigs. *Gastroenterology*, 96: 1487-1493, 1989.
- GABRIEL, R.; HALASY, K.; CSOKNYA, M. Visualization of neurons by NADH-diaphorase staining in the myenteric plexus of some invertebrate and vertebrate species. *Z. Mikrosk-Anat. Forsch.*, 102(5): 769-784, 1988.
- GABRIEL, R.; BENEDECZKY, I.; CSOKNYA, M. Myenteric plexus of frog large intestine: light and electron microscopy of fiber system and neurons. *Acta Morphol. Hung.*, 37(1-2): 71-84, 1989.
- GABRIEL, R.; FEKETE, E.; CSOKNYA, M. Some morphological and histochemical features of the midgut myenteric plexus of the common European frog, *Rana esculenta*. *Histol. Histopathol.*, 7(1): 83-91, 1992a.
- GABRIEL, R. *et al.* Morphological features of the myenteric plexus of the stomach of the axolotl, *Ambystoma mexicanum*, revealed by immunocytochemistry. *Histochem. J.*, 24: 181-189, 1992b.
- GANFORNINA, M.D.; SANCHEZ, D.; BASTIANI, M.J. Embryonic development of the enteric nervous system of the grasshopper *Schistocerca americana*. *J. Comp. Neurol.*, 972(4): 581-596, 1996.
- GERSHON, M.D.; CHALAZONITIS, A.; ROTHMAN, T.P. From neural crest to bowel: development of the enteric nervous system. *J. Neurobiol.*, 24(2): 199-214, 1993.
- GOMES, O.A.; DE SOUZA, R.R.; LIBERTI, E.A. A preliminary investigation of the effects of aging on the nerve cell number in the myenteric ganglia of the human colon. *Gerontology*, 43: 210-217, 1997.
- GUNN, M. A study of the enteric plexuses in some amphibians. *Quart. J. Microsc. Sci.*, 92(1): 55-79, 1951.
- GUNN, M. Histological and histochemical observations on the myenteric and submucous plexuses of mammals. *J. Anat.*, 102(2): 223-239, 1968.
- HITCHCOCK, R.J. *et al.* Quantitative study of the development and maturation of human oesophageal innervation. *J. Anat.*, 180(Pt 1): 175-183, 1992.
- IRWIN, D.A. The anatomy of Auerbach's plexus. *Am. J. Anat.*, 49(1): 141-166, 1931.
- KELLER, H. The development of the intramural nerve plexus of the gastrointestinal tract. *Anat. Embriol.*, 150: 1-6, 1976.
- LE DOUARIN, N.M. *The neural crest*. Cambridge: Cambridge University Press, 1982.
- LEITE-MELLO, E.V.S.; MIRANDA-NETO, M.H.; NATALI, M.R.M. Morfologia do colo proximal de ratos. *UNIMAR*, 18(2): 369-386, 1996.
- MECIANO FILHO, J.; CARVALHO, V.C.; DE SOUZA, R.R. Nerve cell loss in the myenteric plexus of the human esophagus in relation to age: a preliminary investigation. *Gerontology*, 41: 18-21, 1995.
- MOLINARI, S.L. *et al.* Estudo morfológico do plexo mientérico do estômago glandular do pato (*Anas sp.*). *UNIMAR*, 16(2): 419-426, 1994.
- POMERANZ, H.D.; ROTHMAN, T.P.; GERSHON, M.D. Colonization of the post-umbilical bowel by cells derived from the sacral neural crest: direct tracing of cell migration using an intercalating probe and a replication-deficient retrovirus. *Development*, 111: 647-655, 1991a.
- POMERANZ, H.D. *et al.* Expression of a neurally related laminin binding protein by neural-crest derived cells that colonize the gut: relationship to the formation of enteric ganglia. *J. Comp. Neurol.*, 313: 625-642, 1991b.
- READ, J.B.; BURNSTOCK, G. Comparative histochemical studies of adrenergic nerves in the enteric plexuses of vertebrate large intestine. *Comp. Biochem. Physiol.*, 27: 505-517, 1968.
- SANT'ANA, D.M.G. *et al.* Neuron number in the myenteric plexus of the ascending colon of rats. A comparative study using two staining techniques. *Arq. Neuropsiquiatr.*, 55(3-A): 460-465, 1997.
- SANTER, R.M.; BAKER, D.M. Enteric neuron numbers and sizes in Auerbach's plexus in the small and large intestine of adult and aged rats. *J. Auton. Nerv. Sys.*, 25: 59-67, 1988.
- SCHUSSER, G.F.; WHITE, N.A. Morphologic and quantitative evaluation of the myenteric plexuses and neurons in the large colon of horses. *JAVMA*, 210(7): 928-934, 1997.
- SERBEDZIJA, G.N. *et al.* Vital dye labelling demonstrates a sacral neural crest contribution to the enteric nervous system of chick and mouse embryos. *Development*, 111: 857-866, 1991.
- SEXTIER-SAINTE CLAIRE DEVILLE, F.; ZILLER, C.; LE DOUARIN, N. Developmental potentialities of cells derived from the truncal neural crest in clonal cultures. *Dev. Brain Res.*, 66: 1-10, 1992.
- STABILLE, S.R.; LIMA, M.A.; GERMANO, R.M. Morphoquantitative characteristics of myenteric neurons of the terminal segment of the intestine of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) (Osteichthyes, Cyprinidae). *Acta Scientiarum*, 20(2): 217-220, 1998.
- STABILLE, S.R.; MIZUNO, M.S.; GERMANO, R.M. Morphological and quantitative aspects of the myenteric plexus of the anterior intestinal segment of the carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) (Osteichthyes, Cyprinidae). *Braz. J. Morphol. Sci.*, 16(1): 39-44, 1999.
- TIMMERMANS, J.P. *et al.* The innervation of the gastrointestinal tract of a chelonian reptile, *Pseudemys scripta elegans*. I. Structure and topography of the enteric nerve plexuses using neuron-specific enolase immunohistochemistry. *Histochemistry*, 95(4): 397-402, 1991.
- TORIHASHI, S. Morphological changes of the myenteric plexus in the bullfrog (*Rana catesbeiana*) duodenum during metamorphosis. *J. Comp. Neurol.*, 302(1): 54-65, 1990.
- WESTER, T.; O'BRIAIN, D.S.; PURI, P. Notable postnatal alterations in the myenteric plexus of normal human bowel. *Gut*, 44(5): 666-674, 1999.
- WONG, W.C.; TAN, C.K. Fine structure of the myenteric and submucous plexuses in the stomach of a coral fish, *Chelmon rostratus* Cuvier. *J. Anat.*, 126(2): 291-301, 1978.
- WRIGHT, J.W. *et al.* A delayed role for nitric oxide-sensitive guanylate cyclases in a migratory population of embryonic neurons. *Dev. Biol.*, 204(1): 15-33, 1998.

Recebido em: 22/05/2000

Accepto em: 30/07/2000