

Estudo morfológico e quantitativo dos neurônios do plexo mientérico do corpo do estômago de *Rattus norvegicus*

Cristina Elena Prado Teles Fregonesi^{1*}, Marcílio Hubner de Miranda Neto² e Sonia Lucy Molinary²

¹ Departamento de Fisioterapia, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista. Rua Roberto Simonsen 305, 19060-900, Presidente Prudente-São Paulo, Brazil. ² Departamento de Ciências Morfofisiológicas, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá-Paraná, Brazil. *Author for correspondence.

RESUMO. O presente estudo teve por objetivo analisar as características morfológicas e quantitativas dos neurônios do plexo mientérico do estômago de ratos. Amostras do corpo do estômago foram submetidas a preparados de membrana corados pelo método da NADH-diaforase e a cortes histológicos corados com Hematoxilina-Eosina. Verificou-se que, no corpo do estômago de ratos, a túnica muscular apresenta dois estratos bem definidos, o circular e o longitudinal, sendo raras as fibras com disposição oblíqua. Os neurônios do plexo mientérico localizam-se entre esses dois estratos, o que facilita a sua evidencição, em preparados de membrana dessa região. Quanto à densidade neuronal, verificou-se que próximo à curvatura gástrica menor é significativamente maior que próximo à curvatura gástrica maior.

Palavras-chave: estômago, plexo mientérico, *Rattus norvegicus*.

ABSTRACT. **Morphological and quantitative study of the neurons of the myenteric plexus of the corpus of the stomach of *Rattus norvegicus*.** The present study had the purpose of analysing the morphological and quantitative characteristics of the neurons of the myenteric plexus of the stomach of rats. Samples of the stomach corpus were subjected to whole-mount preparations stained with NADH-diaphorase and to histological sections stained with Hematoxilin-Eosin. It was verified that, on the corpus of the stomach of rats, the muscular tunica shows two well defined layers, the circular and the longitudinal, while oblique fibers are rare. The neurons of the myenteric plexus are located between these two layers, which makes their evidencing easier in whole-mount preparations of this region. It was observed that near the small gastric curvature neuronal density is significantly larger than that near the large gastric curvature.

Key words: stomach, *Rattus norvegicus*, myenteric plexus.

O conhecimento dos plexos entéricos é fundamental para a compreensão dos mecanismos fisiológicos do sistema digestório. A principal característica da inervação do canal alimentar é o alto desenvolvimento do sistema intramural. O sistema nervoso entérico é constituído por dois grandes plexos: o mientérico e o submucoso. Estes são formados por gânglios, que apresentam um número variado de células nervosas e células de sustentação (Gabella, 1979), interconectadas por feixes nervosos. Embora os gânglios, neurônios e fibras nervosas, nas diferentes regiões do sistema digestório, apresentem semelhanças, existem também diferenças entre essas regiões, especialmente quanto ao tamanho, forma, disposição e número de neurônios (Furness e Costa, 1980). Com o objetivo de estudar as características morfológicas e quantitativas do plexo mientérico do

corpo do estômago de ratos, foi realizado o presente trabalho.

Material e métodos

Foram selecionados para este estudo os estômagos de 7 ratos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, machos, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, com 135 dias de idade, pesando em média 370g cada um e sem sinais evidentes de patologias no sistema digestório.

Após sacrifício por inalação com éter etílico, as cavidades abdominais dos animais foram abertas e os estômagos retirados. Os estômagos de 5 animais foram lavados com solução de Krebs e corados pelo método da NADH-diaforase (Gabella, 1969). Os estômagos de 2 animais foram lavados com solução

fisiológica, fixados em formol a 10% e utilizados para preparação de cortes histológicos, corados com Hematoxilina-Eosina, para evidenciar a posição do plexo. A seguir, foram identificadas, nas peças coradas pelo método da NADH-diaforase, as diferentes regiões do estômago (fundo, corpo e antro pilórico) e as curvaturas gástricas menor e maior. Foram retirados segmentos do corpo do estômago, medindo cerca de 1cm de largura, estendendo-se desde a curvatura gástrica menor até a maior. Esses segmentos foram microdissecados sob estereomicroscópio, desidratados em álcool, diafanizados em xilol e montados entre lâmina e lamínula.

Para quantificar os neurônios, cada segmento foi dividido em 3 regiões, representadas pelo terço próximo à curvatura gástrica menor, terço intermediário e terço próximo à curvatura gástrica maior. Foram contados todos os neurônios de 20 campos microscópicos dos terços localizados próximos às curvaturas gástricas menor e maior, utilizando-se um microscópio equipado com lente objetiva de 20X, desprezando-se os meios neurônios de um campo e considerando-se os do campo seguinte. Os neurônios do terço intermediário não foram contados. A área de cada campo microscópico foi de $0,58\text{mm}^2$, perfazendo uma área total de $11,6\text{mm}^2$ por região. Foram calculados a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação do número de neurônios encontrados nos 100 campos microscópicos de cada região analisada. O teste "t" de Student foi aplicado para comparar as diferenças encontradas nas variáveis estudadas. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados

Os neurônios do plexo mientérico do corpo do estômago de ratos estavam arranjados predominantemente entre os estratos longitudinal e circular da túnica muscular (Figura 1).

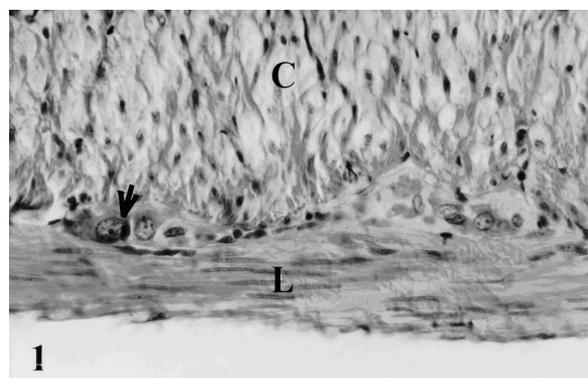


Figura 1. Corte longitudinal de $6\mu\text{m}$ de espessura do corpo do estômago de rato, evidenciando neurônio do plexo mientérico (seta) em gânglio localizado entre os estratos circular (C) e longitudinal (L) da túnica muscular. H.E. 481X.

Foram encontrados gânglios alongados, triangulares e poligonais (Figuras 2, 3 e 4), que se intercomunicam, formando redes (Figura 2). Os neurônios diferiam entre si quanto ao tamanho e forma do corpo celular, predominando neurônios ovais. O núcleo era geralmente excêntrico, estando deslocado para um dos pólos do corpo celular, no caso dos neurônios alongados, ou situado perifericamente nos neurônios ovais (Figuras 3 e 4). O nucléolo era bastante evidente e, ao redor deste, observou-se cromatina disposta em rede (Figura 1).



Figura 2. Preparado de membrana corado pelo método da NADH-diaforase, evidenciando a organização em rede do plexo mientérico. 91X

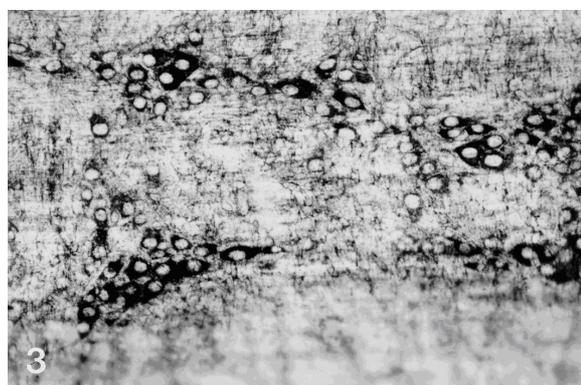


Figura 3. Preparado de membrana corado pelo método da NADH-diaforase, evidenciando a organização dos gânglios do plexo mientérico, próximo à curvatura menor do corpo do estômago de rato. 184X

Comparando as observações encontradas na curvatura gástrica menor (Figura 3) com as da curvatura gástrica maior (Figura 4), verificou-se que, na menor, os gânglios e a densidade neuronal eram maiores, sendo raros os neurônios isolados, enquanto na maior os neurônios isolados eram mais frequentes.

Encontraram-se, próximo à curvatura gástrica menor, 7854 ± 917 neurônios/ $11,6\text{mm}^2$ e, próximo à curvatura gástrica maior, 1664 ± 358 neurônios/ $11,6\text{mm}^2$ (Tabela 1).

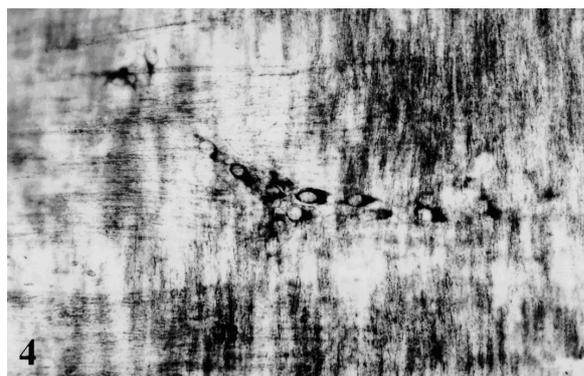


Figura 4. Preparado de membrana corado pelo método da NADH-diaforase, evidenciando a organização dos gânglios do plexo mientérico, próximo à curvatura maior do corpo do estômago de rato. 184X

Tabela 1. Frequência de neurônios encontrada no corpo do estômago de ratos em uma área de 11,6mm² das curvaturas gástricas menor e maior

Nº	Curvatura menor	Curvatura maior
1	7743	1331
2	6495	1661
3	8127	2269
4	9050	1524
5	7854	1535
Total	39269	8320
Média	7854	1664
C.V.	11,68	21,51
S	917	358

C.V.: Coeficiente de variação; S.: Desvio padrão

Aplicou-se o teste "t" de Student, verificando-se diferença significativa entre a média de neurônios da curvatura menor e a da curvatura maior, $T=14,05$ (valor crítico = 2,31).

Discussão

Optou-se por realizar este estudo no corpo do estômago de ratos pelo fato de, em estudo piloto, as regiões do antro pilórico e fundo apresentarem dificuldade para a elaboração dos preparados de membrana. Com frequência, pela complexa disposição das fibras musculares, ao removê-las, parte do plexo mientérico era arrancado.

Molinari *et al.* (1994) argumentam que as diferentes localizações dos neurônios do plexo mientérico existentes nos diferentes segmentos do sistema digestório de um mesmo animal e em diferentes espécies de animais constituem-se em obstáculo para a elaboração de preparados de membrana. Isso porque, durante a realização dos mesmos, pode-se remover justamente a camada em que o plexo estava presente, retirando-se parte ou mesmo todo o plexo mientérico. Os autores argumentam que, para evitar a remoção do plexo, é de suma importância o conhecimento preciso da localização dos gânglios na parede do órgão. Assim,

ao se iniciar o estudo de um segmento do sistema digestório em uma espécime não estudada, é necessário que sejam realizados, numa primeira fase, cortes histológicos corados pela Hematoxilina-Eosina, para averiguação da localização dos neurônios do plexo mientérico, estabelecendo-se quais camadas de tecido podem ser removidas e quais deverão permanecer, evitando-se dessa forma a remoção parcial ou total do plexo.

No presente estudo verificou-se que, no corpo do estômago, a túnica muscular apresentava dois estratos bem definidos, o circular e o longitudinal, sendo raras as fibras com disposição oblíqua, o que facilita a microdissecação. Os gânglios do plexo mientérico, por sua vez, localizavam-se entre esses dois estratos. Essa localização é classicamente descrita para diferentes segmentos do sistema digestório por Matsuo (1934), Gershon (1981), Sternini (1988), Junqueira e Carneiro (1990), Ham e Cormack (1991), Romano *et al.* (1996), Buttow *et al.* (1997) e Zanoni *et al.* (1997). Neste estudo foram encontrados gânglios alongados, triangulares e poligonais. Gânglios com formas semelhantes foram encontrados no plexo mientérico do ceco e do duodeno de ratos por Zanoni *et al.* (1997) e Buttow *et al.* (1997) respectivamente. No estômago glandular do pato (*Anas sp*), Molinari *et al.* (1994) descreveram gânglios alongados, estrelados e triangulares.

Notou-se que os gânglios do plexo mientérico e a densidade neuronal, no corpo do estômago, são maiores próximo à curvatura gástrica menor. Resultados semelhantes foram encontrados em estômagos de ratos e cobaias por Gabela (1979). Furness e Costa (1980) chamam a atenção para diferenças quanto ao tamanho, forma, disposição e número de neurônios nas diferentes regiões do sistema digestório. Essa afirmação está em concordância com os achados desta pesquisa e com os de Souza *et al.* (1988), que observaram, em humanos, menor número de neurônios nos níveis mais altos do esôfago, se comparado com os níveis mais baixos.

Segundo dados da literatura, a diferença na densidade neuronal pode estar relacionada à espessura da túnica muscular. Nesse sentido, Saffrey e Burnstock (1994) mencionam que o número de neurônios do plexo mientérico é maior em área onde as camadas de músculo liso são mais espessas. Embora não se tenha mensurado, durante a elaboração dos preparados de membrana evidenciou-se que a túnica muscular tornava-se gradativamente mais delgada ao aproximar-se da curvatura gástrica maior. No estômago de ratos, predominou a posição excêntrica do núcleo dos neurônios do plexo mientérico, o que é uma característica morfológica também descrita por Romano *et al.* (1996), e em humanos por Souza *et al.* (1993); portanto, essa

observação não deve ser confundida com sinais de degeneração neuronal, embora, no sistema nervoso central, o deslocamento dos núcleos dos neurônios para a posição periférica se constitua, segundo Ross et al. (1993), num indicativo de degeneração neuronal.

Conclui-se que:

1. No corpo do estômago de ratos, os neurônios do plexo mientérico estão localizados predominantemente entre os estratos longitudinal e circular da túnica muscular.
2. A densidade neuronal próxima à curvatura gástrica menor do corpo do estômago é significativamente maior que na região próxima à curvatura gástrica maior.
3. No corpo do estômago de ratos, a túnica muscular apresenta dois estratos bem definidos, o circular e o longitudinal, sendo raras as fibras com disposição oblíqua, o que facilita a evidênciação do plexo mientérico do estômago em preparados de membrana dessa região. Portanto, esse seria o local ideal para se realizarem estudos experimentais comparativos, por reduzir a possibilidade de erros relacionados a dificuldades técnicas.

Referências bibliográficas

- Buttow N.C.; Miranda-Neto M.H.; Bazotte R.B. Morphological and quantitative study of the myenteric plexus of the duodenum of streptozotocin-induced diabetic rats. *Arq. Gastroenterol.*, 34:34-42, 1997.
- Furness, J.B.; Costa, M. Types of nerves in the enteric nervous system. *Neuroscience*, 5:1-20, 1980.
- Gabella, G. Detection of nerve cells by a histochemical technique. *Experientia*, 25:218-219, 1969.
- Gabella, G. Inervation of the gastrointestinal tract. *Internat. Rev. Citol.*, 59:129-191, 1979.
- Gershon, M.D. The enteric nervous system. *Ann. Rev. Neurosci.*, 4:227-72, 1981.
- Ham, A.W.; Cormack, D.H. *Histologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991 p.273, 384-386.
- Junqueira, L.C.V.; Carneiro, J. *Histologia básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990.p.221-224.
- Matsuo, H. A contribution on the anatomy of Auerbach's plexus. *Jap. J. Med. Sci. Anat.*, 4:417-428, 1934.
- Molinari, S.L.; Pereira, M.S.; Souza, R.R.; Miranda-Neto, M.H. Estudo morfológico do plexo mientérico do estômago glandular do pato (*Anas sp.*). *Rev. Unimar*, 16(2):419-426, 1994.
- Romano, E.B.; Miranda-Neto, M.H.; Cardoso, R.C.S. Preliminary investigation about the effects of streptozotocin-induced chronic diabetes on the nerve cell number and size of myenteric ganglia in rat colon. *Rev. Chil. Anat.*, 14:139-145,1996.
- Ross, M.H.; Reith, E.J.; Lynn, J.R. *Histologia*. São Paulo: Panamericana, 1993. p.462.
- Saffrey, M.J.; Burnstock, G. Growth factors and the development and plasticity of the enteric nervous system. *J. Aut. Nervous System*, 49:183-196, 1994.
- Souza, R.R.; Carvalho, C.A.F.; Fujimura, I. Plexo mientérico do esôfago humano em preparados de membrana. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Univ. São Paulo*, 43(1):81-3, 1988.
- Souza, R.R.; Moratelli, H.B.; Borges, N.; Liberti, E.A. Age-induced nerve cell loss in the plexus of the small intestine in man. *Internat. J. Experim. Clin. Gerontol.*, 39:183-188, 1993.
- Sternini, C. Strutural and chemical organization of the myenteric plexus. *Ann. Rev. Physiol.*, 50:81-93, 1988.
- Zanoni, J.N.; Miranda-Neto, M.H.; Bazotte, R.B.; Souza, R.R. Morphological and quantitative analysis of the neurons of the myenteric plexus of the cecum of streptozotocin-induced diabetics rats. *Arq. Neuropsiquiatr.*, 55:696-702, 1997.

Received 01 December 1997.

Accepted 19 February 1998.

