RÚBIA MISAWA

**ESTUDO MORFOQUANTITATIVO DE NEURÔNIOS ENTÉRICOS DO
ÍLEO IMUNORREATIVOS AO RECEPTOR P2X₂, A CALBINDINA,
A CALRETININA, A COLINA ACETIL TRANSFERASE E AO ÓXIDO
NÍTRICO SINTASE DE ANIMAIS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO E A
RENUTRIÇÃO PROTÉICA**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós Graduação em Ciências
Morfofuncionais do Departamento de
Anatomia do Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São
Paulo, para obtenção do Título de Mestre
em Ciências.**

São Paulo

2007

RESUMO

MISAWA R. **Estudo morfoquantitativo de neurônios entéricos imunorreativos ao receptor P2X₂, a calbindina, a calretinina, a colina acetil transferase e ao óxido nítrico sintase do íleo de animais submetidos à desnutrição e a renutrição protéica.** 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfocelulares)-Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

Foi descrita a presença do receptor P2X no sistema nervoso entérico e foi constatado que a desnutrição afeta os neurônios mioentéricos. Este projeto analisou os neurônios dos plexos mioentérico (PM) e submucoso (PS) imunorreativos ao receptor P2X₂(ir), calbindina (Calb-ir), calretinina (Calr-ir), colina acetil transferase (ChAT-ir) e ao óxido nítrico sintase (NOS-ir) do íleo de ratos submetidos à desnutrição protéica pré e pós-natal e a renutrição pós-natal. Foram utilizados íleos de animais nutridos (N42), desnutridos (D42) e renutridos (RN42). Os resultados do PM e PS demonstraram 100% de neurônios Calb-ir, Calr-ir, ChAT-ir e NOS-ir expressavam o receptor P2X₂-ir nos grupos. As densidades neuronais do PM e PS demonstraram aumento de 30% e 25% respectivamente, dos neurônios receptor P2X₂-ir, Calr-ir, ChAT-ir e NOS-ir no grupo D42 e, recuperação no grupo RN42, os neurônios Calb-ir aumentaram 60% no PS. O perfil neuronal do PM mostrou diminuição de 26% nos neurônios receptor P2X₂-ir e Calr-ir no grupo D42 e, no PS houve diminuição nos neurônios receptor P2X₂-ir. Concluiu que a desnutrição afetou os neurônios entéricos e houve recuperação na renutrição, isto pode influenciar as funções do trato gastrointestinal.

Palavras-chave: desnutrição, renutrição, receptor P2X₂, plexo mioentérico, plexo submucoso

ABSTRACT

MISAWA, R. **Morphoquantitative study of the ileum immunoreactive neurons for P2X₂ receptor, calbindin, calretinin, choline acetyltransferase and nitric oxide synthase of the animals submitted to undernutrition and refeeding.** Master Thesis (Ciências Morfoclonais)-Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

It is showed the expression of the P2X receptor in the enteric nervous system; it was observed that undernutrition affect the myenteric neurons. The aim of this project is the analysis the ileum myenteric (MN) and submucous (SN) neurons immunoreactive for P2X₂ receptor, calbindin (Calb-ir), calretinin (Calr-ir), choline acetyltransferase (ChAT) and nitric oxide synthase (NOS) of the animals submitted to pre- and postnatal protein deprivation and postnatal refeeding. Ileum was used from nourished (N42), undernourished (D42) and Refeeding (RN42) animals. The results have shown 100% coexpression of the myenteric and submucous Calb-ir, Calr-ir, ChAT-ir e NOS-ir neurons with P2X₂-ir receptor. The myenteric and submucous neuronal density have shown increase of the 30% and 25% respectively, of the P2X₂-ir, Calr-ir, ChAT-ir e NOS-ir neurons of the D42 group, the Calb-ir neurons increase 60% in the SN. In the MN neuronal profile have shown decrease of the 26% of the P2X₂-ir and Calr-ir in the RN42 group and recover in the RN42, there was decrease of the P2X₂-ir receptor neurons in the submucous plexus. The conclusion demonstrated that undernutrition affects the enteric neurons and there was recuperation in the refeeding, this can influence the gastrointestinal functions.

Key words: undernourished, refeeding, P2X₂-ir receptor, myenteric plexus, submucous plexus.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Sistema Nervoso Entérico e seu código químico

O Sistema Nervoso Entérico (SNE) consiste de numerosas redes interconectadas por feixes de fibras nervosas, formando as malhas interganglionares. Dentro de algumas partes destes plexos temos os gânglios entéricos, composto por neurônios. As primeiras descrições dos plexos ganglionares foram feitas por Meissner (1857), Billroth (1858), e Auerbach (1864).

O SNE é regulado por uma inervação extrínseca oriunda do Sistema Nervoso Autônomo Simpático e Parassimpático. As células nervosas entéricas são estruturas plásticas e dinâmicas que podem sofrer alterações oriundas do envelhecimento, desnutrição e algumas condições patológicas (FURNESS e COSTA, 1987).

O SNE está contido nas paredes do trato do tubo digestório, pâncreas e sistema biliar, controlando as funções gastrintestinais. As técnicas atuais permitem a caracterização das propriedades eletrofisiológicas e neuroquímicas do SNE humano, de animais e as suas funções. O SNE possui dois plexos ganglionares no intestino, o plexo mioentérico e o plexo submucoso (FURNESS et al., 1987, 1995, 1999).

O plexo mioentérico (ou Auerbach) situa-se entre camada muscular longitudinal externa e as camadas musculares circular, presentes por toda extensão do trato gastrintestinal, desde o esôfago ao reto (FURNESS e COSTA, 1987). O gânglio mioentérico varia em tamanho, forma e orientação de acordo com cada espécie. No plexo mioentérico são descritos três componentes: o plexo primário, plexo secundário e plexo terciário (AUERBACH, 1864; SCHABADASH, 1930a, 1930b; STOHR, 1930; LI, 1940).

O plexo submucoso é formado por pequenos gânglios, menores que os gânglios mioentérico, que se caracterizam por interconexões delgadas encontradas somente no intestino delgado e intestino grosso (FURNESS, 2000). O plexo submucoso interno (plexo de Meissner), localiza-se abaixo da mucosa. O plexo submucoso externo (plexo de

Schabadash ou de Henle) e o plexo intermediário, estão posicionados entre o plexo submucoso interno e o externo (HENLE, 1871; GONIAEW, 1875).

Segundo Furness (2000), pode-se identificar dezessete tipos de neurônios entéricos, quatorze destes encontrados no intestino delgado de cobaia. Há diferenças quanto ao código químico destes neurônios, morfologia, projeções e identificações fisiológicas. Dependendo da região do trato gastrintestinal onde se situam, os neurônios podem controlar a motilidade, o transporte de fluidos da mucosa e do fluxo sanguíneo local (FURNESS, 2000; FURNESS et al., 2000; FURNESS, 2003).

Os neurônios entéricos podem ser classificados em: neurônios motores, interneurônios, neurônios aferentes intrínsecos primários, neurônios secretomotores e vasomotores. Os neurônios motores são divididos em: neurônios excitatórios dos músculos intestinais, neurônios inibitórios e neurônios secretomotores/vasodilatadores. Os interneurônios são identificados por neurônios, com direção oral (ascendente), que são neurônios colinérgicos e três tipos de neurônios com direção anal (descendentes), não colinérgicos. Neurônios aferentes intrínsecos primários (IPANs) são neurônios sensoriais, com morfologia Dogiel tipo II (neurônios grandes e superfície lisa), com propriedades eletrofisiológicas de neurônios AH, enquanto os neurônios motores e interneurônios apresentam a morfologia de neurônios Dogiel Tipo I (neurônios com superfície e muitos dendritos) e com padrão eletrofisiológico de neurônios S (FURNESS e COSTA, 1987; FURNESS, 2000).

Muitos dos nossos conhecimentos sobre as características funcionais dos neurônios entéricos como, por exemplo, o código químico, conectividade neuronal e comportamento eletrofisiológico foram derivados de estudos realizados no intestino delgado de cobaia (BREHMER et al., 1999).

Todas as regiões do intestino recebem uma inervação excitatória. Esta excitação é predominante da liberação dos neurônios imunorreativos para ambas as enzimas que sintetizam a colina acetil transferase (ChAT) e taquininas (LIPPI et al., 1998). O papel é relativamente desigual do ChAT e taquininas, as substâncias muscarínicas antagonistas acabam inibindo a motilidade gastrointestinal (BORODY et al., 1985; GALLIGAN et al., 1986). A acetilcolina é o transmissor primário dos neurônios motores excitatórios.

O neurônio motor inibitório contém a enzima óxido nítrico sintase (NOS) que libera óxido nítrico com efeito relaxante. Embora existam evidências que o óxido nítrico seja um transmissor desses neurônios, está igualmente claro que ele não é o único transmissor (MAKHLOUF e GRIDER, 1993; FURNESS et al., 1995).

Nos interneurônios, existe um tipo de neurônio ascendente e seus axônios correm para o sentido oral e três tipos de neurônios descendentes direcionados ao sentido anal que são identificados no intestino delgado da cobaia. Os neurônios ascendentes são colinérgicos e como os neurônios descendentes, eles se estendem ao longo do intestino (KUNZE e FURNESS, 1999). Os três tipos de interneurônios descendentes têm os seguintes códigos químicos: ChAT/NOS/VIP que estão envolvidos na motilidade reflexa local enquanto os neurônios (ChAT/SOM) estão envolvidos na condução dos complexos mioelétricos no intestino delgado e não são encontrados no intestino grosso. Os neurônios imunorreativos ao ChAT-5-Hidroxitriptamina (ChAT/5HT) estão envolvidos nos reflexos secretomotores e não diretamente na motilidade reflexa (FURNESS, 2000).

O neurônio aferente primário intrínseco (IPANs) tem sido registrado por reflexos isolados no intestino e, após a secção do nervo extrínseco, ocorre sua degeneração (FURNESS et al., 1995). Evidências de sua identidade foram obtidas no intestino delgado da cobaia, com propriedades eletrofisiológicas, que o distingue dos interneurônios e dos neurônios motores e tem morfologia do neurônio Dogiel tipo II (KIRCHGESSNER et al.,

1992; KUNZE et al., 1995, 1998, 1999; BERTRAND et al., 1997). Pelo método da imunohistoquímica, os IPANs são identificados com a calbindina, ligante de cálcio, na cobaia (QUINSON et al., 2001a,b).

Os quimiosensores da mucosa e seus reflexos são iniciados através da aplicação química em partes isoladas ao lúmen e à mucosa do íleo, onde ocorrem propagações do potencial de ação nos corpos celulares do neurônio Dogiel tipo II e no plexo mioentérico, os IPANS mantêm atividade por um longo período, e se a mucosa for removida, sua atividade desaparece (KUNZE et al., 1995; BERTRAND et al., 1997).

Nos mecanoreceptores da mucosa os reflexos entéricos são mediados por estímulos mecânicos aplicados à mucosa (SMITH e FURNESS, 1995; SIDHU e COOKE, 1995). Os reflexos são iniciados pela distorção da mucosa e são conduzidos ao longo do intestino através do plexo mioentérico (SMITH e FURNESS, 1995).

Os IPANS são afetados pelo estiramento, promovem a motilidade e os reflexos entéricos pela distensão. Estes IPANS respondem ao estiramento, tonicamente à tensão gerada pela contração do músculo e fisicamente ao início da tensão, ou à distorção direta de seus processos (KUNZE et al., 1998, 1999).

O neurônio secretomotor do plexo submucoso e o neurônio vasomotor controlam diretamente o circuito reflexo local. Os dois tipos de neurônios secretomotores intestinais são os neurônios colinérgicos e os não-colinérgicos (FURNESS et al., 2000). Os neurônios não-colinérgicos parecem mediar a maioria das respostas reflexas locais, utilizando o VIP ou um peptídeo relacionado, como seu transmissor primário (COOKE e REDDIX, 1994).

O neurônio motor das células endócrinas reside na mucosa do trato gastrintestinal. Evidências funcionais da inervação do neurônio motor por células endócrinas entéricas participam do controle da secreção gástrica (FURNES, 2000).

O neurônio neuro-imune do intestino afeta os neurônios dentro da parede do intestino, excitando-os diretamente, sendo sensíveis aos estímulos fisiológicos e patológicos (FURNESS et al., 1999).

Os autores SAYEGH e RITTER (2003) em experimentos com ratos demonstraram que neurônios imunorreativos ao NOS possuem morfologia de neurônios Dogiel tipo I, abundantes no plexo mioentérico em comparação com o plexo submucoso; e não expressa imunorreatividade ao receptor neuroquinina-1(NK-1R). Neurônios imunorreativos NK-1R e calretinina possuem morfologia de neurônios Dogiel tipo II e são distribuídos igualmente em ambos os plexos. Neurônios calbindina positivos em ratos possuem quatro distintas morfologias: neurônios Dogiel tipo II pequenos e grandes; neurônios Dogiel I e pequenos neurônios alongados.

1.2 Receptores purinérgicos no sistema nervoso entérico

A primeira vez que 5-adenosina trifosfato (ATP) foi mencionado como um provável neurotransmissor foi a quatro décadas, quando foi demonstrado ser liberado dos nervos sensoriais que supria a artéria do ouvido de coelho durante uma estimulação antidrômica (HOLTON, 1959). No início de 1960, Burnstock et al. (1963) propuseram a existência de nervos autonômicos que não eram nem adrenérgicos nem colinérgicos e que supriam o trato gastrointestinal. A substância que mais satisfazia o critério foi o ATP (BURNSTOCK et al., 1963) porque no conceito de transmissão purinérgica havia a presença de receptores pós-juncionais, chamados receptores purinérgicos (BURNSTOCK et al., 1970).

Estudos farmacológicos subseqüentes, comparando os perfis de agonistas em diferentes tecidos, levaram a primeira divisão dos receptores purinérgicos em P1 e P2 (BURNSTOCK et al., 1970, BURNSTOCK,1978) e, após a subdivisão de P2 em P2X e P2Y (BURNSTOCK e KING, 1996). A revisão da nomenclatura dos receptores P2 se deu, pela

evidência de que o ATP extracelular agia através de dois mecanismos distintos de transdução: os receptores ligados a canais iônicos (receptores P2X) e os receptores acoplados a proteína G (receptor P2Y) (ABBRACCHIO e BURNSTOCK, 1998; ABBRACCHIO e BURNSTOCK, 1999). Atualmente tem sido clonados, caracterizados farmacologicamente e aceitos como válidos membros da família de receptores P2X: P2X₁, P2X₂, P2X₃, P2X₄, P2X₅, P2X₆ e P2X₇ (P2X₁₋₇) e P2Y: P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆, P2Y₁₂, P2Y₁₃, P2Y₁₄ (BURNSTOCK, 2004).

Os receptores P2X são “portões”, cujos canais iônicos mediam rapidamente (dentro 10ms) e seletivamente a permeabilidade para cátions (Na⁺, K⁺ e Ca²⁺) (NORTH e SUPRENANT, 2000). Os receptores são encontrados em células musculares lisas, neurônios e células gliais e, desempenham um papel de mediador na neurotransmissão excitatória rápida nos sistemas nervoso central (SNC) e sistema nervoso periférico (SNP) (RALEVIC e BURNSTOCK, 1998; KHAKH et al., 2001).

O ATP tem sido conhecido como um proeminente neurotransmissor no sistema nervoso central e nas sinapses (NÖRENBERG e ILLES, 2000). Também, seus receptores têm sido alvos no tratamento de doenças (BURNSTOCK, 1998). O ATP pode ser armazenado como um co-transmissor no SNC e SNP, embora o papel relativo do ATP varie consideravelmente nas diferentes espécies e condições patológicas (BURNSTOCK, 1998). Muitos neurônios contêm e liberam ATP como um rápido co-transmissor juntamente com transmissores como ACh, Noradrenalina, glutamato, GABA e outros peptídeos (BURNSTOCK, 1998).

O ATP atua através de receptores P2X da mesma maneira como a acetilcolina atua nos receptores nicotínicos para se obter um papel substancial na transmissão excitatória rápida nos neurônios entéricos (KIRKUP et al., 1999; GALLIGAN et al., 2000). Segundo os autores Galligan et al. (2000) os receptores purinérgicos estão presentes nos neurônios

entéricos e há envolvimento do ATP, como um transmissor nas sinapses entéricas neuro-neuronal. A identificação farmacológica dos receptores purinérgicos foi obtida com o uso de antagonistas específicos: o suramin e o PPADS (ácido disulfônico piridoxal fosfato-6-azophenil-2,4).

Os dados farmacológicos demonstram que o ATP despolariza neurônios mioentéricos S (excitatórios) no intestino delgado de cobaia (KATAYAMA e MORITA, 1989; BARAJAS-LÓPEZ et al., 1996; CHRISTOFI et al., 1997) mas, as respostas dos neurônios AH (sensitivos) dependem do tipo de método utilizado. No entanto os autores Katayama e Morita (1989) e Barajás-López et al. (1996) concordaram que ATP afeta o potencial de membrana de 80-90% dos neurônios mioentéricos, da maioria dos neurônios AH e S, e do gânglio submucoso (BARAJAS-LÓPEZ et al., 1994; GLUSHAKOV et al., 1998). O efeito da rápida despolarização do ATP parece ser através da abertura de canais de cátions não específicos em neurônios mioentéricos (ZHOU e GALLIGAN, 1996) e submucosos. Estes dados sugerem a participação dos receptores P2X (BARAJAS-LÓPEZ et al., 1994). Além disso, a comparação entre a potencialidade dos agonistas e a susceptibilidade para com os antagonistas confirmou que os efeitos sobre os neurônios mioentéricos e submucosos são via receptores P2X (BARAJAS-LÓPEZ et al., 1996; 2000). No entanto, os dados farmacológicos nos neurônios entéricos e submucosos não identificam qual dos sete subtipos dos receptores P2X são ativados (GLUSHAKOV et al., 1998; BARAJAS-LÓPEZ et al., 2000; NORTH e SURPRENANT, 2000). Em conclusão, os estudos eletrofisiológicos indicam que vários subtipos de receptores ocorrem em diferentes neurônios.

Os autores Bian et al. (2000) e Spencer et al. (2000) demonstraram que os receptores purinérgicos estão envolvidos nas sinapses neuro-neuronal de trajetos ascendentes e descendentes, para isto utilizaram drogas agonistas e antagonistas que foram aplicadas em

partes selecionadas dos circuitos entéricos nervosos. Além disso, Bian et al. (2000) concluíram que os receptores P2X estavam envolvidos na transmissão entre interneurônios descendentes e neurônios motores. Os autores Spencer et al. (2000) concluíram que purinas estão envolvidas na transmissão de neurônios motores ascendentes (excitatórios).

Os autores Vulchanova et al. (1996) e Hu et al. (2001) verificaram a presença, por métodos imunohistoquímicos, dos receptores purinérgicos no sistema nervoso entérico, porém não avaliaram qual o tipo de neurônio entérico presentes nos receptores. No entanto, ainda havia a falta de conhecimentos sobre a distribuição dos receptores purinérgicos nas diferentes classes de neurônios entéricos

Os resultados dos autores Castelucci et al. (2002a) demonstraram, pela primeira vez, no gânglio entérico que a imunorreatividade do receptor P2X₂ ocorria em neurônios imunorreativos ao óxido nítrico sintase (NOS) e nos neurônios imunorreativos à calbindina. As varicosidades das fibras nervosas com imunorreatividade para o receptor P2X₂ foram encontradas no gânglio mioentérico gástrico. Estas fibras desapareceram após a secção do nervo vago. Desta maneira, concluiu-se que a subunidade do receptor P2X₂ se expressa em subtipos dos neurônios entéricos, incluindo neurônios motores inibitórios, neurônios secretomotores não colinérgicos, em neurônios aferentes intrínsecos primários e em terminações aferentes vagais no estômago.

Também, foi reportada a imunorreatividade do receptor P2X₂ nas terminações nervosas intra-ganglionares laminares (IGLES) no trato gastrintestinal de camundongos (CASTELUCCI et al., 2003) e em esôfagos de ratos (WANG et al., 2003).

Ao analisar outra subunidade dos receptores P2X, os autores Poole et al. (2002) e Van Nassauw et al., 2002 observaram o purinoceptor P2X₃ nos neurônios motores inibitórios e nos neurônios secretomotores não-colinérgicos. Um tipo possível da subunidade P2X₃ foi relatada nos neurônios mioentéricos no colon de humanos (YANGOU et al., 2001)

e ocorre na associação com subunidades P2X₂ na raiz dorsal, trigeminal e no gânglio nodoso, respectivamente (CHEN et al., 1995; LEWIS et al., 1995; COLLO et al., 1996).

Recentemente, os autores Xiang e Burnstock (2004), ao utilizar métodos imunohistoquímicos e de hibridização *in situ*, relataram a presença do receptor P2X₂ largamente distribuído no plexo mioentérico e submucoso do trato gastrointestinal de ratos. O receptor P2X₂ coexpressa-se com neurônios calbindina e calretinina nos plexos submucosos e mioentéricos.

1.3 A desnutrição e a renutrição: seus efeitos no sistema nervoso entérico

A desnutrição calórico-protéica (CHANDRA, 1991; RANA et al., 1991) é um dos principais, senão, o maior dos problemas que afetam crianças dos países em desenvolvimento. Devido à importância desse fato, pesquisadores têm se preocupado em reproduzir em animais de laboratório, as diferentes formas de desnutrição, a fim de avaliar seus efeitos em vários níveis. Diversos estudos experimentais demonstraram que o processo de desnutrição foi obtido através de métodos baseados na limitação de oferta de alimento (FIRMANSYAH et al., 1989 a,b), na elaboração de uma dieta hipoprotéica (BECK et al., 1989), pela diminuição do número de filhotes da prole, criando-se um grupo controle com populações maiores (PATHAK et al., 1981) ou, ainda, utilizando-se dois fatores como a limitação de oferta e expansão da ninhada (WINICK e NOBLE, 1966). No sistema nervoso autônomo, Schafer e Friede (1998) observaram a diminuição do número de lamelas das fibras nervosas mielínicas em ratos submetidos à desnutrição pré-natal.

Os efeitos da desnutrição, no sistema nervoso central e periférico têm sido extensivamente estudado (BEDI, 1994; RUSHMORE et al., 1998). No sistema nervoso central, a severa desnutrição causa diminuição da célula nervosa em algumas regiões (BEDI, 1991), enquanto em outra, como no córtex cerebral, parece protegido de perdas celulares

(BEDI, 1991). No caso dos neurônios periféricos, a desnutrição causa uma diminuição significativa no conteúdo de proteínas no gânglio cervical superior de ratos jovens (GAETANI et al., 1977) e, um período de desnutrição materna, durante a gravidez, causa redução no tamanho dos neurônios e na noradrenalina no gânglio mesentérico superior (CONBOY et al., 1987), estes efeitos foram observados, cedo, na prole e persistem na vida adulta.

No sistema nervoso entérico, foi relatada uma diminuição de 27% no número de neurônios entéricos no jejuno de ratos submetidos a uma severa desnutrição pré-natal (SANTER e CONBOY, 1990). Similarmente, SANTANA et al., (1997) descreveram uma diminuição de 13% da forma neuronal no plexo mioentérico do colo ascendente de ratos adultos submetidos à desnutrição protéica.

Os efeitos da renutrição, em neurônios do sistema nervoso central, foram investigados e os dados indicaram que se os neurônios forem perdidos, eles não são substituídos quando os animais retornam à uma dieta normal (RANA et al., 1991; ANDRADE et al., 1995). O efeito da renutrição nos neurônios entéricos ainda não foi totalmente avaliado. Em um estudo prévio, mães foram desprovidas de alimentos, e então, a prole foi examinada depois de fazerem uma dieta normal (SANTER e CONBOY, 1990). Os animais não foram examinados antes da restauração da dieta normal, embora o estudo feito sugere que o número de neurônios esteja reduzido pela desnutrição, eles não se recuperam (SANTER e CONBOY, 1990).

Os autores Castelucci et al. (2002b) observaram uma redução de 50% do peso e de 40%, no tamanho do intestino grosso de filhotes das mães que foram submetidas à desnutrição protéica pré e pós-natal. Houve uma diminuição de 15% da área do perfil neuronal, porém não houve redução no número total de neurônios. Após, feita a renutrição, foram restaurados: o peso corporal, a área do intestino grosso e do neurônio mioentérico.

Em conclusão, os mesmos autores afirmaram que os neurônios entéricos poderiam estar protegidos de perdas, mesmo na redução do peso e tamanho dos órgãos, causados na desnutrição protéica e, embora os neurônios tornam-se pequenos, eles retornam ao tamanho normal, após a renutrição.

Os autores Gomes et al. (2006) investigaram o peso, a área do intestino delgado e o perfil neuronal dos neurônios mioentéricos, nos ratos, cujas mães tinham sido privadas de proteína durante a gravidez e pós-parto. A renutrição protéica foi realizada a partir do desmame (21 dias de vida) até completarem 42 dias. Houve uma diminuição no peso dos ratos desnutridos, sendo restaurado na renutrição. A área do intestino delgado do grupo desnutrido diminuiu cerca de 45% na área dos neurônios mioentéricos dos grupos nutridos e renutridos, porém não houve alteração do perfil neuronal dos animais nutridos, desnutridos e renutridos.

A importância deste projeto está em analisar, de maneira original, os efeitos da desnutrição protéica pré e pós-natal e a renutrição pós-natal sobre a expressão do receptor $P2X_2$, nos neurônios entéricos do íleo e, além disso, caracterizar os efeitos da desnutrição e renutrição sobre os neurônios motores inibitórios e excitatórios, sensoriais, vasodiladores e secretomotores, contribuindo para desenvolvimento dos conhecimentos sobre as alterações ocorridas no organismo na desnutrição e possível recuperação, na renutrição.

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados do presente trabalho, pode-se concluir que:

1. A dieta utilizada de 5% de caseína, foi eficiente, pois houve diminuição de peso dos animais desnutridos quando comparados aos nutridos de 42 dias e aos renutridos. Além disso, a renutrição foi eficiente pois houve recuperação dos pesos dos animais.
2. A desnutrição alterou a expressão do receptor P2X₂ em alguns neurônios do plexo mioentérico e submucoso dos animais desnutridos e houve recuperação nos animais renutridos.
3. O receptor P2X₂ foi observado nos neurônios inibitórios, motores excitatórios e aferentes primários, secretomotores e vasodilatadores nos três grupos.
4. A desnutrição ocasionou aumento da densidade neuronal de neurônios motores inibitórios, motores excitatórios do plexo mioentérico em animais desnutridos e recuperação nos renutridos.
5. Não houve alteração na densidade neuronal dos neurônios intrínsecos aferentes primários do plexo mioentérico nos três grupos.
6. A desnutrição ocasionou aumento na densidade neuronal nos neurônios do plexo submucoso: vasodilatadores, secremotores e intrínsecos aferentes primários no grupo desnutrido e recuperação na renutrição.

7. A desnutrição contribuiu para alteração do perfil neuronal dos neurônios mioentéricos receptor P2X₂-ir, motores excitatórios e intrínsecos aferentes primários.
8. A desnutrição não afetou o perfil neuronal dos neurônios mioentéricos intrínsecos aferentes primários e motores excitatórios.
9. A desnutrição não afetou os perfis neuronais dos neurônios do plexo submucoso, no entanto, houve alteração no diâmetro maior dos neurônios secretomotores.
10. A desnutrição afetou de maneira diferenciada o plexo mioentérico e submucoso.
11. A técnica de imunohistoquímica utilizada foi importante pois permitiu observar de maneira específica qual a classe neuronal afetada na desnutrição e renutrição.

7 BIBLIOGRAFIA

ABBACHIO, M.; BURNSTOCK, G. Purinoceptors: are there families of P2X and P2Y purinoceptors? **Pharmacol. Therapeut.**, v.64, p.445-475, 1994.

ABBACHIO, M.; BURNSTOCK, G. Purinergic Signalling: pathological roles. **Jpn J. Pharmacol.**, v.78, p.113-145, 1998.

ADLARD, B. P.; DOBBING, J. Vulnerability of devoping brain. V Effects of total and post-natal undernutrition on regional brain enzyme activities in three-week-old rats. **Pediat. Res.**, v.6, p.38-42, 1972.

ANDRADE, J.P.; MADEIRA, M.D.; PAULA-BABOSA, M.M. Effects of long-term malnutrition and rehabilitation on the hippocampal formation of the adult rat. A morphometric study. **J. Anat.**, v.187, p.379-393, 1995.

AUERBACH L. Fernere vorlaufige Mitteilung uber den Nervenapparat des Darmes. **Arch Pathol Anat Physiol.** 30:457-460,1864.

BARAJÁS-LÓPEZ, C.; ESPINOSA LUNA, R.; GERZANICH, V. ATP closes a potassium and opens a cationic conductance through different receptors in neurons of guinea pig submucous plexus. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.268, p.1396-1402, 1994.

BARAJÁS-LÓPEZ, C.; HUIZINGA, J.D.; COLLINS, S.M.; GERZANICH, V.; ESPINOSA-LUNA, R.; PEREZ, A.L. P2x-purinoceptors of myenteric neurones from the guinea-pig ileum and their unusual pharmacological properties. **Br. J. Pharmacol.**, v.119, p.1541-1548, 1996.

BARAJÁS-LÓPEZ, C.; ESPINOSA-LUNA, R.; CHISTOFI, F.L. Changes in intracellular Ca²⁺ by activation of P2 receptors in submucosal neurons in short-term cultures. **Eur. J. Pharmacol.**, v.409, p.243-257, 2000.

BECK, B.; DOLLET, M.J.; MAX, P.J. Refeeding after various times of ingestion of a low protein diet: Effects on food intake and body weight in rats. **Physiol. & Behav.**, v.5, p.761-765, 1989.

BEDI, K.S. Effects of undernutrition during early life on granule cell numbers in the rat dentate gyrus. **J. Comp. Neurol.**, v.311, p.425-433, 1991.

BEDI, K.S. Undernutrition of rats during early life does not affect the total number of cortical neurons. **J. Comp. Neurol.** V.342, p.596-602, 1994.

BERTRAND, P.P.; KUNZE, W.A.A.; BORNSTEIN, J.C.; FURNESS, J.B.; SMITH, M.L. Analysis of the responses of myenteric neurons in the small intestine to chemical stimulation of the mucosa. **Am. J. Physiol.**, v.273, p.G422-G435, 1997.

BIAN, X.; BERTRAND, P.P.; BORNSTEIN, J.C. Descending inhibitory reflexes involve P2X receptor-mediated transmission from interneurons to motor neurons in guinea-pig ileum. **J. Physiol.**, v.528, p.551-560, 2000.

BILLROTH, T. Einige beobachtungen uber das ausgedehnte vorkommen von nervenanastomosen im tractus intestinale. **Arch Anat Physiol.**, (Leipzig) v.148, p.158, 1858.

BOBANOVIC, L.; ROYLE, S.J.; MURREL-LAGNADO, R.D. P2X receptor trafficking in neurons is subunit specific. **Journ. Neurosci.**, v.22(12), p.4814-4824, 2002.

BORODY, T.J.; QUILEY, E.M.M.; PHILLIPS, S.F.; WEINBECK, M.; TUCKER, R.L.; HADDAD, A.; ZINSMEISTER, A.R. Effects of morphine and atrophine on motility and transit in the human ileum. **Gastroenterology.**, v.89, p.562-570, 1985.

BORELLI, P.; MARIANO, M.; BOROJEVIC, R. Protein malnutrition: effect on myeloid cell production and mobilization into inflammatory reactions in mice. **Nutr. Res.**, v.15, p.1477-85, 1995.

BRANDÃO, M.C.S.; DE ANGELIS, R.C.; DE SOUZA, R.R.; LIBERTI, E.A. Effects of pre- and postnatal protein deprivation on the myenteric plexus of the small intestine: a morphometric study in wealing rats. **Nutr. Res.**, v.23, p.215-223, 2003.

BREHMER, A.; SCHRODL, F.; NEUHUBER, W. 1999 Morphological classifications of enteric neurons – 100 years after Dogiel. **Anat. Embryolo.**, v.200, p.125-135, 1999.

BURNSTOCK, G. A basis for distinguishing two types of purinergic receptor. In: CELL membrane Receptors for Drugs and Hormones: A Multidisciplinary Approach. Ed. R.W. Straub and L. Bolis., pp 107-118. Raven Press, New York, 1978.

BURNSTOCK, G. Purinergic signalling: Therapeutic potential. **Drug Development Research.**, v.45, p.86-92, 1998.

BURNSTOCK, G.; CAMPBELL, G.; BENNETT, M.; HOLMAN, M.E. Inhibition of the smoth muscle of the taenia coli. **Nature.**, v.200, p.581-582, 1963.

BURNSTOCK, G.; CAMPBELL, G.; SATCHELL, D.; SMYTHE, A. Evidence that adenosine triphosphate or a related nucleotide is the transmitter substance released by non-adrenergic inhibitory nerves in the gut. **Brith J. Pharmacol.**, v.40, p.668-688, 1970.

BURNSTOCK, G.; KING, B.F. Numering of cloned P2 purinoceptors. **Drug Dev. Res.**, v.38, p.67-71, 1996.

BURNSTOCK, G. **Cotransmission Neuroscience.**, v.4, p.47-52, 2004.

CASTELUCCI, P.; ROBBINS, H.L.; POOLE, D.P.; FURNESS, J.B. The distribution of purine P2X2 receptors in the guinea pig enteric nervous system. **Histochem. Cell Biol.**, v.117, p.415-422, 2002a.

CASTELUCCI, P.; DE SOUZA, R.R.; DE ANGELIS, R.C.; FURNESS, J.B.; LIBERTI, E.A. Effects of pre-and postanal protein deprivation and postanal refeeding on myenteric neurons of the rat large intestine: a quantitative morphological study. **Cell Tissue Res.**, v.310, p.1-7, 2002b.

CASTELUCCI, P.; ROBBINS, H.L.; FURNESS, J.B. P2X2 purine receptor immnuoreactivity of intraganglionic laminar endings in the mouse gastrointestinal. **Cell Tissue Res.**, v.312(2), p.167-174, 2003.

CHA, C.J.M.; GELARDI, N.L.; OH, W. Growth and cellular composition in rats with intrauterine growth retardation: effects of postnatal nutrition. **J. Nutrition** 117:1463-1468, 1987.

CHANDRA, R.K. Nutrition & immunity: lessons from the past and new insights into the future. **American J. Clin. Nutrit.**, v.53, p.397-402, 1973.

CHEN, C.C.; AKOPIAN, A.N.; SIVILOTTI, D.; BURNSTOCK, G.; WOOD, J.N. A P2X purinoceptor expressed by a subset of sensory neurons. **Nature.**, v.377, p.428-431, 1995.

CHIOCHETTI, R.; POOLE, D.P.; KIMURA, H.; AIMI, Y.; ROBBINS, H.L.; CASTELUCCI, P.; FURNESS, J.B. Evidence that two forms of choline acetyltransferase are differentially expressed in subclasses of enteric neurons. **Cell Tissue Res.**, v.311(1), p.11-22, 2003.

CHRISTOFI, F.L.; GUAN, Z; WOOD, J.D; BAIDAN, L.V; STOKES, B.T. Purinergic Ca²⁺ signaling in myenteric neurons via P2 purinoceptors. **Am. J. Physiol.**, v.272, p.G463-G473, 1997.

CHU, Y.; MOUAT, M.F.; COFFIELD, J.A.; ORLANDO, R.; GRIDER, A. expression of P2X₆, a purinergic receptor subunit, is affected by dietary zinc deficiency in rat hippocampus. **Biol Trace Elem Res** 91 (1): 77-87, 2003.

CONBOY, V.B.; SANTER, R.M.; SWIFT, G.L. Effects of prenatal undernutrition on prevertebral sympathetic neurons in the rat: a morphological and fluorescence histochemical study. **J. Anat.**, v.154, p. 47-53, 1987.

COOKE, H.J.; REDDIX, A. Neural regulation of intestinal electrolyte transport. In: Johnson, L.R. Physiology of the gastrointestinal. **Tract Raven Press.**, New York. p.2083-2132, 1994.

COLLO, G.; NORTH, R.A.; KAWASHIMA, E.; MERLO-PICH, E.; NEIDHART, S.; BUELL, G. Cloning of P2X₅ and P2X₆ receptors and the distribution and properties of an extended family of ATP-gated ion channels. **J. Neurosci.**, v.16, p.2495-2507, 1996.

CORDERO, M.E.; TREJO, M.; GARCÍA, E.; BARROS, T.; ROJAS, A.M.; COLOMBO, M. Dendritic development in the neocortex of adult rats following a maintained early prenatal and/or postnatal life undernutrition. **Early Hum. Dev.** 14: 245-258, 1986.

COWEN, T.; JOHNSON, R.J.R.; SOUBEYERE, V.; SANTER, R.M. Restricted diet rescues rat enteric motor neurons from age related cell death. **Gut** 47: 653-660, 2000.

FIRMANSYAH, A.; SUNOTO, S.; SUHARYONO, S. Effect of malnutrition during different periods on the small intestine of the rat. **Japan J. Exp. Med.**, v.59(1), p.1-7, 1989.

FIRMANSYAH, A.; SUWANDITO, L.; PENN, D.; LEBENTHAL, E. Biochemical and morphological changes in the digestive tract of rats after prenatal and postnatal malnutrition. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.50, p.2761- 268, 1989.

FRANKE, H.; ILLES, P. Involvement of P2 receptors in the growth and survival of neurons in the CNS. **Pharmacology and Therapeutics.**, v.109, p.297-324, 2006.

FRANKE, H.; KRÜGEL, U.; ILLES, P. P2 receptors and neuronal injury **Euro. Jour. Physiol.** 452:622-644, 2006.

FURNESS, J.B.; COSTA, M. The Enteric Nervous System. **England:Churchill Livingstone.**, 1987.

FURNESS J.B.; YOUNG H.M.; POMPOLO S.; BORNSTEIN J.C.; KUNZE W.A.A.; MC CONALOUGH, K. Plurichemical transmission and chemical coding of neurons in the digestive tract. **Gastroenterology.**, v.108, p.554-563, 1995.

FURNESS J.B.; BORNSTEIN J.C.; KUNZE W.A.A.; CLERC N. The enteric nervous system and its extrinsic connections. In: Yamada T, Alpers DH, Laine L, Owyang C, Powell DW. (Eds). **Textbook of Gastroenterology.**, vol.1, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia. PA. p.11-35, 1999.

FURNESS, J.B. Types of neurons in the enteric nervous system. **J. Autonom. Nerv. Syst.**, v.81: 87-96, 2000.

FURNESS, J.B.; KOOPMANS, H.S.; WOODMAN, H.L.; LIN, C. Identification of intestinofugal neurons projecting to the coeliac and superior mesenteric ganglia in the rat. **Auton. Neurosc.**, v.83, p. 81-85, 2000.

FURNESS, J.B. Intestinofugal neurons and sympathetic reflexes that bypass the central nervous system. **J. Comp. Neurol.**, v.455, p.281-284, 2003.

GABELLA, G. The number of the neurons in the small intestine of mice, guinea-pig and sheep. **Neuroscience**, 22(2):737-752, 1987.

GAETANI, S.; MENGHERI, E.; ROSSI, A.; SPADONI, M.A.; TOCCHI, G. Long term protein deficiency in adult rats. Effects on different proteins of a sympathetic ganglion. **Neurochem Res.**, v.2: 439-448, 1997.

GALLIGAN, J.J.; FURNESS, J.B.; COSTA, M. Effects of cholinergic blockade and sympathetic denervation on gastrointestinal myoelectric activity in guinea-pig. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.238, p.1114-1125, 1986.

GALLIGAN, J.J.; LEPARD, K.J.; SCHNEIDER, D.A.; ZHOU, X. Multiple mechanisms of fast excitatory synaptic transmission in the enteric nervous system. **J. Autonom. Nerv. Syst.**, v.81, p.97-103, 2000.

GIROTTI, P.; MISAWA, R.; LIBERTI, E.A.; CASTELUCCI, P. Alteração na colocalização do receptor P2X₂ no plexo mioentérico e submucoso do colo distal de animais submetidos a desnutrição e a renutrição protéica. **FESBE** 2006.

GLUSHAKOV, A.V.; GLUSHAKOV, H.Y.; SKOK, V.I. Two types of P2X-purinoreceptors in neurons of the guinea pig ileum submucous plexus. **Neurophysiology.**, v.30, p.301-304, 1998.

GOMES, O.A.; CASTELUCCI, P.; FONTES, R.B.V.; LIBERTI E.A. Effects of pré- and postnatal protein deprivation and postnatal refeeding on myenteric neurons of the rat small intestine: A quantitative morphological study. **Autonomic Neurosc.**, v.126-127, p.277-284, 2006.

GONIAEW, K. Die nerven des nahrungsschlauches. **Arch Mikrosk Anat.**, v.11, p.479-496, 1875.

HENLE, J. Handbuch der systematischen Anatomie des Menschen. **Band III.**, Abt 2 Nervenlehre, F Vieweg und Sohn, Braunschweig, 1871.

HOLTON, P. The liberation of adenosine triphosphate on antidromic stimulation of sensory nerves. **J. Physiol.**, (London) v.145, p.494-504, 1959.

HU, H.-Z.; GAO, N.; LIN, Z.; GAO, C.; LIU, S.; REN, J.; XIA, Y.; WOOD, J.D. P2X7 receptors in the enteric nervous system of guinea-pig small intestine. **J. Comp. Neurol.**, v.440, p.299-310, 2001.

KATAYAMA, Y.; MORITA, K. Adenosine 5'-triphosphate modulates membrane potassium conductance in guinea-pig myenteric neurones. **J. Physiol.**, (Lond). v.408, p.373-390, 1989.

KHAKH, B.S.; BURNSTOCK, G.; KENNEDY, C.; KING, B.F.; NORTH, R.A.; SEGULA, P.; VOIGT, M.; HUMPHREY, P.P.A. International union of pharmacology. XXIV. Current status of the nomenclature and properties of P2X receptors and their subunits. **Pharmacol. Rev.**, v.53, p.107-118, 2001.

KIRCHGESSNER A.L.; TAMIR H.; GERSHON M.D. Identification and stimulation by serotonin of intrinsic sensory neurons of the submucous plexus of the guinea-pig gut: activity-induced expression of Fos immunoreactivity. **J. Neurosci.**, v.12, p.235-248, 1992.

KIRKUP, A.J.; BOOTH, C.E.; CHESSELL, I.P.; HUMPHREY, P.P.A.; GRUNDY, D. Excitatory effect of P2X receptor activation on mesenteric afferent nerves in the anaesthetised rat. **J. Physiol.**, (Lond). v.520, p.551-563, 1999.

KUNZE, W.A.A.; BORNSTEIN, J.C.; FURNESS, J.B. Identification of sensory nerve cells in a peripheral organ the intestine of a mammal. **Neuroscience**, v.66, p.1-4, 1995.

KUNZE, W.A.A.; FURNESS, J.B.; BERTRAND, P.P.; BORNSTEIN, J.C. Intracellular recording from myenteric neurons of the guinea-pig ileum that respond to stretch. **J. Physiol.**, v.506, p.827-842, 1998.

KUNZE, W.A.A.; FURNESS, J.B. The enteric nervous system and regulation of intestinal motility. **Annu. Rev. Physiol.**, v.61, p.117-142, 1999.

KUNZE, W.A.A.; CLERC, N.; BERTRAND, P.P.; FURNESS, J.B. Contractile activity in intestinal muscle evokes action potential discharge in guinea-pig myenteric neurons. **J. Physiol.**, v.517, p.547-561, 1999.

LI, P-L. The intramural nervous system of the small intestine with special reference to the innervation of the inner subdivision of its circular muscle. **J Anat.**, v.74, p.348-359, 1940.

LIPPI, A.; SANTICIOLI, P.; CRISCUOLI, M.; MAGGI, C.A. Despolarization evoked co-release of tachykinins from enteric nerves in the guinea-pig proximal colon. **Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, v.375, p. 245-251, 1998.

LEWIS, C.; NEIDHART, S.; NORTH, R.A.; BUELL, G.; SURPRENANT, A. Coexpression of P2X₂ e P2X₃ receptor subunits can account for ATP-gated currents in sensory neurons. **Nature**, v.377, p.432-435, 1995.

MAKHLOUF, G.M.; GRIDER, J.R. Nonadrenergic noncholinergic transmitters of the gut. **News Physiol. Sci.**, v.8, p.196-199, 1993.

MEISSNER, G. Ueber die nerven der darmwand. **Z Ration Méd N F.**, v.8, p.364-366, 1857.

NATALI, M.R.M.; MOLINARI, S.L.; VALENTINI, L.C.; MIRANDA, NETO, H.M. Morphoquantitative evaluation of the duodenal myenteric neuronal population in rats fed with hypoproteic ration. **Biocell** 29(1): 39-46, 2005.

NÖRENBERG, G.W.; Illes, P. Neuronal P2X receptors: localisation and functional properties. **Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, v.362, p.324-339, 2000.

NORTH, R.A.; SURPRENANT, A. Pharmacology of cloned P2X receptors. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v.40, p.563-580, 2000.

PATHAK, R.M.; MAHMOOD, A.; DUDEJA, P.K.; SUBRAHMANYAM, D. Intestinal brush border membrane structure and function: Effect of early postnatal undernutrition. **Pediatrics Res.**, v.15, p.112-114, 1981.

POOLE, D.P.; CASTELUCCI, P.; ROBBINS, H.L.; CHIOCCHETTI, R.; FURNESS, J.B. The distribution of P2X₃ purine receptor subunits in the guinea-pig enteric nervous system. **Autonom. Neurosc.**, v.101, p.39-47, 2002.

QUINSON, N.; ROBBINS, H.L.; CLARK, M.J.; FURNESS, J.B. Calbindin immunoreactivity of enteric neurons in the guinea-pig ileum. **Cell Tissue Res.**, v.305, p.3-9, 2001a.

QUINSON, N.; ROBBINS, H.L.; CLARK, M.J.; FURNESS, J.B. Locations and innervation of cell bodies of sympathetic neurons projecting to the gastrointestinal tract in the rat. **Arch. Histol. Cytol.**, v.64(3), p.281-294, 2001b.

RALEVIC, V.; BURNSTOCK, G. Receptors for purines and pyrimidines. **Pharmacol. Rev.**, v.50, p.413-492, 1998.

RANA, S.V.; CHOPRA, J.S.; MEHTA, S.; CHAND, U.K.; SHARMA, U. Electrophysiological and histopathological changes in peripheral nerves of postnatally undernourished and rehabilitated Young rhesus monkeys. **Indian J. Exp. Biol.**, v.29, p.385-390, 1991.

ROBBINS, H.L.; CASTELUCCI, P.; FURNESS, J.B. The distribution of P2X₇ receptor subunits in the guinea-pig enteric nervous system. **Proceedings Australian Neuroscience Society**, p.14, 2003.

RUSHMORE, J.; LUEBKE, J.; GALLER, J.R. Electrophysiological properties of rat hippocampal principal cells are unaltered by prenatal protein malnutrition. **Hippocampus**, v.8, p.380-389, 1998.

SANT'ANA, D.M.; MIRANDA, NETO, M.H.; DE SOUZA, R.R.; MOLINARI, S.L. Morphological and quantitative study of the meyerenteric plexus of the ascending colon of rats subjected to proteic desnutrition. **Arq. Neuropsiquiatr.** 55: 687-695, 1997.

SANTER, R.M.; CONBOY, V.B. Prenatal undernutrition permanently decreases enteric euron number and sympathetic innervation of Auerbach's plexus in the rat. **J. Anat.**, v.168, p.57-62, 1990.

SAYEGH, A.I.; RITTER, R.C. Morphology and distribution of nitric oxide synthase, neurokinin-1 receptor-, calretinin-, calbindin-, and neurofilament-M- immunoreactive neurons in the myenteric and submucosal plexuses of the rat small intestine. **The Anat Record.**, part A v.271A, p.209-216, 2003.

SCHABADASH, A. Die nerven des magens der katze. **Z Zellforsch.**, v.10, p.324-319, 1930a.

SCHABADASH, A. Intramurale nervengeflechte des darmrohrs. **Z Zellforsch.**, v.10, p.320-385, 1930b.

SCHAFER, K; FRIEDE, R.L. The onset and rate of myelination in six peripheral and autonomic nerves of the rat. **J. Anat.**, v.159, p.181-195, 1998.

SEIDEL, B.; BIGL, M.; FRANKE, H.; KITTER, H.; KIESS, W.; ILLES, P.; KRÜGEL, U. Expression of purinergic receptors in the hypothalamus of the rat is modified by reduced food availability. **Brain Res.** 1089: 143-152, 2006.

SGARBIERI, V.C. Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento. Campinas, **Ed. Unicamp**, p.213-228, 1987.

SIDHU, M.; COOKE, H.J. Role for 5H-T and Ach in submucosal reflexes mediating colonic secretion. **Am J. Physiol.**, v.269, p.G346-G35, 1995.

SMITH, TK; FURNESS, J.B. Reflex changes in circular muscle activity elicited by stroking the mucosa: an electrophysiological analysis in the isolated guinea-pig ileum. **J. Auton. Nerv.**, v.25, p.205-218, 1995.

SPENCER, N.J.; WALSH, M.; SMITH, T.K. Purinergic and cholinergic neuro-neuronal transmission underlying reflexes activated by mucosal stimulation in the isolated guinea-pig ileum. **J. Physiol.**, (Lond). v.522, p.321-331, 2000.

STOHR, P. Mikroskopische Studien zur Innervation des Magen-Darmkanals. **Z Zellforsch Mikrosk Anat.**, v.12, p.66-154, 1930.

TORREJAIS, M.M.; NATALI, M.R.M.; CONEGERO, C.I.; MIRANDA, NETO, M.H. Effects of proteic malnutrition after breast-feeding on the morphology of the intestinal wall and myenteric neurons of the ileum in rats. **Rev. Universidade de Maringá** 17: 315-327, 1995.

VAN NASSAUW, L.; BROUNS, I.; ADRAENSEN, D.; BURNSTOCK, G.; TIMMERMANS, J.P. Neurochemical identification of enteric neurons expressing P2X (3) receptors in the guinea-pig ileum. **Histochem. Cell Biol.**, v.118(3), p.193-203, 2002.

VULCHANOVA, L.; ARVIDSSON, U.; RIEDHL, M.; WANG, J.; BUELL, G.; SUPRENT, A.; NORTH, R.A. Differential distribution of two ATP-gated ion channels P2x receptors determined by immunohistochemistry. **Proc. Natl. Acad. Sci., USA.** v.93, p.8063-8067, 1996.

WANG, Z.-J.; NEUHUBER, W.L. Intraganglionic laminar endings in the rat esophagus contain purinergic P2X(2) and P2X(3) receptor immunoreactivity. **Anat. Embryol.**, v.207(4-5), p.363-71, 2003.

WINICK, M.; NOBLE, A. Cellular response in rats during malnutrition at various ages. **J. Nutr.**, v.89, p.300-306, 1996.

ZHOU, X.; GALLIGAN, J.J. P2X purinoceptors in cultured myenteric neurons of guinea-pig small intestine. **J. Physiol.**, v.496, p.719-729, 1996.

XIANG, Z.; BURNSTOCK, G. P2X2 and P2X3 purinoceptors in the rat enteric nervous system. **Histochem Cell Biol.**, v.121, p. 169-179, 2004.

YANGOU, Y.; FACER, P.; BAECKER, P.A.; FORD, A.P.; KNOWLES, C.H.; CHAN, C.L.H.; WILLIAMS, N.S.; ANAND, P. ATP-gated ion channel P2X₃ is increased in human inflammatory bowel disease. **Neurogastroent. Mot.**, 13:365-369, 2001.