

ANÁLISE QUANTITATIVA DOS NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS DA CURVATURA GÁSTRICA MENOR DO ESTÔMAGO GLANDULAR DE RATOS INDUZIDOS À CARÊNCIA PROTEICA

Marcelo Sardeto Alves¹
Fernanda Karoline de Souza Gomes²
Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana³
Eduardo Jose de Almeida Araújo³
Sonia Aparecida de Mello⁴
Fabio José Bianchi⁴
Larissa Renata de Oliveira Bianchi⁵

ALVES, M. S.; GOMES, F. K. S.; SANT'ANA, D. M. G.; ARAÚJO, E. J. A.; MELLO, S. A.; BIANCHI, F. J.; OLIVEIRA-BIANCHI, L. R. Análise quantitativa dos neurônios mioentéricos da curvatura gástrica menor do estômago glandular de ratos induzidos à carência proteica. *Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR*, Umuarama, v. 13, n. 2, p. 139-145, maio/ago. 2009.

RESUMO: A deficiência nutricional pode causar nas células a perda de sua capacidade de absorção, de gerar energia, bem como de mediar o transporte de pequenas moléculas e de sintetizar macromoléculas. Objetivou-se quantificar os neurônios mioentéricos da curvatura gástrica menor do estômago glandular de ratos controle e de ratos submetidos a carência proteica. Foram utilizados 10 ratos machos, com 90 dias de idade, divididos em grupos controle (GC) e experimental (GE). O GC recebeu, durante 120 dias, ração com 22% de proteína e água, enquanto GE recebeu ração com teor proteico de 4% e água. Após os experimentos os animais foram submetidos à eutanásia, laparotomia vertical e retirada do estômago. Realizou-se a microdissecação sob estereomicroscópico dos segmentos, com a retirada da túnica mucosa e da tela submucosa. Foi utilizada a técnica de coloração de Giemsa para evidenciar os neurônios mioentéricos. Os neurônios foram contados com auxílio de um microscópio de luz com aumento de 400 x, com 40 campos de cada animal. Os cálculos estatísticos foram realizados por meio do teste "t" de Student, na forma média \pm erro padrão da média, com nível de significância de 5%. No grupo controle foram encontrados $23,51 \pm 2,7$ neurônios e no grupo experimental $21,38 \pm 1,7$. Verificou-se que as diferenças não são estatisticamente significativas. Podemos verificar que a dieta imposta ocasionou um quadro de desnutrição que não provocou alterações quantitativas nos neurônios mioentéricos da curvatura gástrica menor do estômago glandular.

PALAVRAS-CHAVE: Plexo mioentérico; Carência proteica; Estômago glandular; Técnica de Giemsa.

QUANTITATIVE ANALYSIS OF THE MYENTERIC NEURONS OF THE SMALLER GASTRIC CURVATURE OF THE GLANDULAR STOMACH IN RATS SUBMITTED TO PROTEIN DEFICIENCY

ABSTRACT: nutritional deficiency creates conditions in which the cells lose their capability of absorption and energy generation, as well as their capability to mediate the transport of small molecules and digest macromolecules. The objective of this study was to quantify the myenteric neurons of the smaller gastric curvature of the glandular stomach of control rats and rats submitted to protein deficiency. Ten 90-day-old male rat were divided into control group (CG) and experimental group (EG). The CG received ration with 22% of protein and water during 120 days, while the EG received ration with the protein percentage at 4% and water. After the experiment, the animals were submitted to euthanasia, vertical laparotomy and each animal had its stomach removed. Micro-dissection was performed under stereomicroscopic of the segments with the removal of the mucosa and the tela submucosa. The Giemsa staining technique was used to evidence the myenteric neurons. The neurons were counted, with the aid of a 400X optical microscope – 40 fields from each animal. The statistical calculations were performed through the T-test, mean \pm standard deviation, with a 5% significance level. In the GC, 23.51 ± 2.7 neurons were found, and 21.38 ± 1.7 in the EG. Differences were not verified to be statistically significant. We can verify that the imposed diet resulted in malnutrition which did not induce quantitative changes in the myenteric neurons of the smaller gastric curvature of the glandular stomach.

KEYWORDS: Myenteric plexus; Malnutrition; Glandular stomach; Giemsa technique.

Introdução

Segundo Nóbrega et al. (1996), a desnutrição atinge, tanto países subdesenvolvidos, quanto em desenvolvimento e isto tende a piorar cada vez mais, pelas desigualdades sociais. A substituição de uma dieta balanceada por uma alimentação rica em amido é uma realidade nos países em desenvolvimento, já que os alimentos protéicos são normalmente os mais caros e, portanto, inacessíveis para grande parte da população.

A quantidade de proteína para um organismo deve ser sanada pela alimentação diária, visto que es-

tas apresentam inúmeras funções no organismo, como, por exemplo; formação de elementos estruturais e anticorpos. Para Oliveira (1999), a carência nutricional de proteínas é um tópico de relevância científica, por comprometer importantes funções dos organismos.

As células do nosso organismo possuem uma organização para utilização de nutrientes, assim como a eliminação de excretas em condições nutricionais normais. As células se encontram em equilíbrio dinâmico, sendo que algumas substâncias são continuamente sintetizadas. Entre os nutrientes necessários à manutenção deste equilíbrio dinâmico destacam-se as proteínas,

¹Biólogo pela Unipar- Cascavel e aluno do mestrado em Ciência Animal na Unipar- Umuarama

²Bióloga formada pela Unipar- Cascavel

³Docentes da Unipar- Umuarama

⁴Docentes da Unipar- Cascavel

⁵Docente e orientadora do PIC da Unipar- Cascavel

que constituem cerca de 50% do peso celular (GIACOMELLI; MARÇAL-NATALI, 1999).

O sistema nervoso é constituído por tecido de baixo índice de renovação celular. Portanto, uma redução no número ou função de suas células pode levar a alterações drásticas no organismo (DEO, 1978), justificando o estudo da deficiência de proteínas sobre a morfologia e fisiologia do sistema nervoso. A resposta celular à desnutrição é dependente do tempo, pois deve ser determinado quando esta se iniciou e por quanto tempo (WINICK; NOBLE, 1966).

Na divisão própria do sistema nervoso autônomo, além do sistema simpático e parassimpático, atualmente é reconhecido o Sistema Nervoso Entérico (SNE) (STERNINI, 1988), como uma complexa rede de fibras nervosas e corpos celulares neuronais, que se localiza na parede gastrointestinal e é diretamente responsável pelo controle das funções do tubo digestório, incluindo motilidade, secreção e absorção (SOUZA; FURLAN, 2001).

O estômago do rato é um tubo dilatado, modificado, dividido em região glandular e região aglandular. A região aglandular possui epitélio de revestimento do tipo escamoso queratinizado (LUCIANO; REALE, 1992). Sua importância funcional não está totalmente elucidada, sendo atribuída às funções de digestão inicial dos alimentos, de armazenamento e de absorção de íons por meio de atividade mecânica (BROWNING et al., 1983; MARTENS et al., 1991). Em relação à região glandular do estômago, sua parede muscular induz a mistura mecânica e a quebra dos alimentos. Devido às ondas de contração peristáltica, a ingestão alimentar, misturada e parcialmente digerida para o duodeno é impedida (OLIVEIRA, 1999).

A curvatura gástrica menor da região glandular estende-se da cárdia ao piloro e apresenta uma incisura angular na sua parte inferior. Esta curvatura é mais espessa que a curvatura gástrica maior (LATARJET et al., 1993; SAFFREY; BURNSTOCK, 1994; MOLINARI, et al., 2002).

Os neurônios do SNE são sustentados por células denominadas glias entéricas e estão agrupados em complexos microcircuitos (GERSHON et al., 1993). O tubo digestivo é inervado por fibras nervosas e neurônios agrupados em plexos com localização intramural (GABELLA, 1979). As fibras musculares estão organizadas, tanto circularmente, quanto longitudinalmente. As células ganglionares e as fibras nervosas formam o plexo mientérico localizado entre a camada interna e externa do músculo liso (OLIVEIRA, 1999).

No estômago de ratos, a densidade de neurônios mientéricos é muito superior na curvatura gástrica menor, em relação à curvatura gástrica maior (FRECONESI et al., 1998; MOLINARI et al., 2002; CLEBIS et al., 2004).

Desta forma, as análises quantitativas dos neurônios mioentéricos servem de ferramentas para a análise das alterações neuronais no organismo devido a

carência proteica estabelecida. O corante Giemsa, têm afinidade pelas organelas ácidas presentes no citoplasma e têm se revelado eficiente para (NATALI; MIRANDA-NETO, 1996; SCHÄFER et al., 1999; NATALI et al., 2003; MARESE, 2006).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo quantificar os neurônios mioentéricos da curvatura gástrica menor do estômago glandular de ratos submetidos à carência proteica, corados pela técnica de Giemsa e analisar os possíveis efeitos da desnutrição protéica em relação à distribuição dos neurônios mioentéricos neste órgão.

Material e Método

Os procedimentos realizados neste estudo envolvendo o uso de animais estão de acordo com os princípios éticos adotados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPE-EA) da Universidade Paranaense – UNIPAR, protocolo 10699/2007. Para a execução deste trabalho foram utilizados 10 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus*), procedentes do Biotério da Universidade Paranaense, campus Umuarama. Cada animal foi mantido em gaiola individual sob temperatura constante e alternância de ciclos de claro e escuro de 12/12 horas. Após 90 dias, o grupo controle (n=5) recebeu ração NUVILAB (recomendada pela National Research Council & National Health Institute – USA), com teor proteico de 22% e água “*ad libitum*”, o grupo experimental (n=5), recebeu ração com nível proteico reduzido a 4% (desnutrição protéica severa) e água “*ad libitum*”, conforme protocolo de ARAÚJO et al. (2005).

O sacrifício dos animais ocorreu aos 210 dias de idade. Todos os ratos ficaram 12 horas de jejum e foram submetidos à eutanásia segundo protocolo de Pachaly et al., 2003: Acepromazina 2% (1,26 ml/kg) + Cetamina 10% (1,2 ml/kg) + Cloridrato de xilazina 2,5% (0,42 ml/kg) e sulfato de atropina 1% (0,22 ml/kg), por via intramuscular. Retirou-se o estômago de cada animal, pesou-se em balança de precisão e mediram-se a largura e o comprimento com auxílio de paquímetro. Após, foi preenchido com solução fixadora contendo formaldeído, ácido acético glacial, cloreto de sódio e água destilada, (Fixador de Giemsa) durante 24 horas.

O estômago glandular foi dividido em regiões: curvatura gástrica maior, curvatura gástrica menor e região central, conforme demonstrado na FIGURA 1.

Na sequência, houve a retirada da porção de interesse (estômago glandular curvatura gástrica menor). Microdissecação sob estereomicroscópico, retirando-se a túnica mucosa e submucosa e preservando-se a muscular e serosa para elaboração do preparado de membrana.

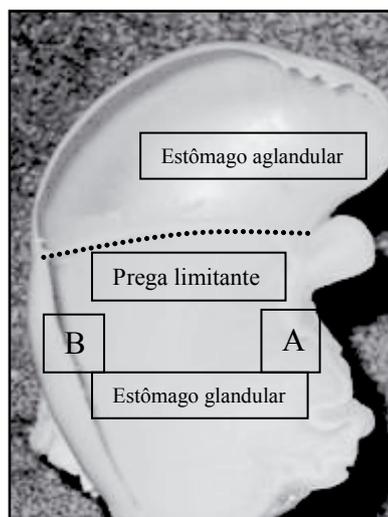


Figura 1: Foto ilustrativa da anatomia interna de umas das faces do estômago de ratos, evidenciando o estômago aglandular e o estômago glandular, onde a) curvatura gástrica menor, b) curvatura gástrica maior.

Os preparados de membrana foram deixados imersos em solução corante de Giemsa com tampão fosfato de Sorensen (PBS) 0,1N, pH 6,9, durante 24 horas à temperatura ambiente. Em seguida, os preparados de

membrana foram desidratados em concentrações crescentes de etanol, diafanizados em xilol e montados entre lâmina e lamínula com resina Sintética Permount.

Os neurônios da curvatura gástrica menor da região glandular do estômago foram quantificados em 40 campos microscópicos, equivalentes a uma área de 8,4 mm², com auxílio de um microscópio de luz (MOTIC) com aumento de 400 x e com a utilização de filtro azul.

Os cálculos estatísticos foram realizados utilizando o software Prisma, por meio do teste t de Student, com nível de significância de 5% e expressos como média ± erro padrão da média.

A documentação fotográfica foi realizada com auxílio de máquina digital SONY 7.2 mega pixels e microscópio de luz MOTIC com aumento de 400 x.

Resultados

No final do experimento, os animais do grupo controle pesavam 378, 22±25,22 g e os animais do grupo experimental 215,03 ±25,99g (p< 0,001).

Na tabela 1, são apresentados o peso, a largura e o comprimento do estômago dos animais.

Tabela 1: Peso (g), largura (cm) e comprimento (cm) do estômago de ratos (*Rattus norvegicus*) do grupo controle (GC) e experimental (GE).

	<i>Peso médio (g)</i>	<i>Largura média (cm)</i>	<i>Comprimento médio (cm)</i>	<i>Área do órgão (cm²)</i>
GC	1,91 ± 0,05	1,93 ± 0,02	3,7 ± 0,06	7,09± 0,03
GE	1,40 ± 0,04 *	2,17 ± 0,03 *	3,8 ± 0,2	8,31± 0,17*

O peso estomacal médio dos ratos controles foram estatisticamente maiores que o do grupo experimental. Os animais do grupo experimental tiveram a largura estomacal maior que os do grupo controle. Com relação à área do órgão, observou-se que o experimental apresentou estatisticamente medidas maiores, quan-

do comparados ao grupo controle.

Através dos cálculos estatísticos realizados, foram encontrados no grupo controle 23,51±2,7 neurônios/8,4mm² e no grupo experimental 21,38±1,7 neurônios/8,4mm², sem diferença estatística. Conforme ilustra a Figura 02.

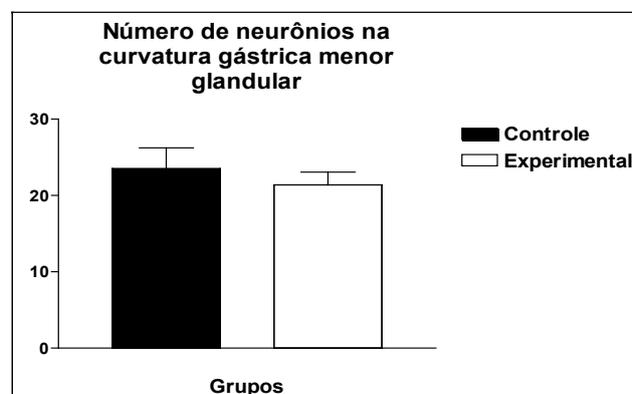


Figura 02- Demonstrativo da número médio de neurônios do estômago glandular da região da curvatura gástrica menor de ratos controle e desnutridos.

Discussão

O estômago do rato apresenta semelhança morfológica externa, quando comparado com o estômago do homem, porém internamente, na superfície da mucosa de ambas as faces do estômago do rato, evidencia-se uma prega, que é denominada de “prega limitante”. Esta prega separa o estômago em duas regiões distintas: estômago aglandular e estômago glandular (LUCIANO; REALE, 1992). A região aglandular, característica do estômago do rato, representa 1/3 do órgão (KUNSTYR et al., 1976), os restantes 2/3 do órgão representam o estômago glandular.

Os animais do grupo experimental, que receberam dieta com teor de 4% de proteína, apresentaram um redução de 43,14% de peso corporal em rela-

ção ao grupo controle, que recebeu dieta com 22% de proteína, isso sugere que o excesso de amido na dieta interferiu no desenvolvimento normal destes animais. Estudos com teor de proteína a 8% demonstraram um menor comprometimento do peso, 35,1% (SANT'ANA et al., 1997), 37,9 % (FIORINI et al., 1999) e 35% (BRANDÃO et al., 2003).

Através dos dados obtidos verificamos que não houve diferenças significativas na densidade de neurônios mioentéricos da curvatura gástrica menor. Este fato pode estar associado a uma possível relação entre a área do estômago estudado e sua atividade metabólica ou até mesmo a dieta imposta para indução da carência proteica não tenha sido suficiente para alterar os neurônios mioentéricos da curvatura gástrica menor, uma vez que, de acordo ARAUJO et al. (2003); ARAUJO et al. (2006), os efeitos da desnutrição proteica na população de neurônios podem ser proporcionais ao déficit de proteína na dieta.

Demais autores, como Mello et al. (2004), que pesquisaram duodeno de ratos com carência proteica, Clebis et al. (2004), com estômago aglandular de ratos diabéticos, e Braga et al. (2007), com colo descendente de ratos submetidos à desnutrição proteica, também não encontraram diferenças significativas quanto à densidade neuronal.

Dados relacionados a um possível delgamento da parede estomacal são também evidenciados nas pesquisas com duodeno de ratos com desnutrição proteica, em que houve redução do peso do órgão sem alteração do comprimento do duodeno de ratos submetidos à desnutrição proteica-energética. Isto pode ser indicativo de que provavelmente houve uma redução da espessura da parede do órgão.

Gabella (1979) relata uma possível relação entre a densidade neuronal e espessura das camadas musculares. Essas afirmações confirmam a necessidade de se avaliar cada região do trato digestório, individualmente, para não ocorrer erro interpretativo (MIRANDA-NETO et al., 2001). No estômago de ratos, a densidade neuronal é muito superior na curvatura gástrica menor em relação à curvatura gástrica maior (FREGONESI et al., 1998).

Diversos autores têm relatado uma maior densidade de neurônios mioentéricos em áreas onde as camadas de músculo liso são mais espessas (SAFFREY; BURNSTOCK, 1994; FREGONESI et al., 2004).

Nos resultados, entretanto, verificamos um aumento total da largura e comprimento do estômago, não podendo inferir que a região da curvatura menor tenha sofrido este delgamento.

As diversas pesquisas relatam que, no estômago, a densidade neuronal está diretamente relacionada à espessura da camada gástrica. Fregonesi et al. (2004) relatam que, no corpo do estômago de ratos diabéticos, o aumento de neurônios na região da curvatura menor, quando comparada com a maior, pode estar relacionada à menor densidade de fibras musculares lisas nessa re-

gião. O mesmo relatam Saffrey; Burnstock (1994).

Neurônios mioentéricos, geralmente agrupados, formando gânglios, corroboram a localização dos neurônios entéricos estudados no estômago em diferentes espécies de animais (MATSUO, 1934; GABELLA; HALASY, 1987; FREGONESI et al., 1998).

O arranjo dos neurônios analisados através do preparado de membrana, evidenciados pela técnica de Giemsa, mostraram que a distribuição dos mesmos é heterogênea. Descrição semelhante foi encontrada no corpo do estômago glandular do rato (FREGONESI et al., 1998).

Analisando a região glandular do estômago observa-se que a túnica muscular da região próxima à curvatura gástrica menor é mais espessa em relação à túnica muscular próxima à região da curvatura gástrica maior (OLIVEIRA et al., 2000).

Quando comparamos o número estimado total de neurônios dos animais controles e desnutridos, verificamos que as diferenças não são estatisticamente significantes, pois as proteínas devem ter permanecido em concentrações suficientes, com a finalidade de proporcionar condições estáveis de funcionamento para essas subpopulações de neurônios (MELLO et al., 2004). Como a área média dos animais experimentais se apresentou maior que a dos controles, possivelmente a curvatura gástrica menor do estômago glandular tenha se adaptado com a carência proteica, distendendo sua parede, na tentativa de não sofrer alterações fisiológicas.

Entretanto, em outros experimentos, foram encontradas reduções significantes no número de neurônios mioentéricos de ratos do grupo experimental (TORREJAIS et al., 1995; MEILUS et al., 1998; GOMES, 1999; BRANDÃO et al., 2003), podendo esta diferença estar relacionada ao tipo de desnutrição empregado, ao período de vida do animal que foi submetido ao processo de desnutrição (MELLO et al., 2004) e até mesmo à técnica utilizada (MARESE, 2006).

Segundo Giacomelli; Marçal (1999) há uma grande variabilidade nas condições experimentais no período em que foi provocada a condição de carência e, principalmente, o tempo de duração desta condição.

A célula adapta o seu metabolismo em função da redução de nutrientes ou de estímulos necessários para o seu funcionamento, que pode levar à redução na síntese necessária à renovação das próprias estruturas, provocando, com isso, redução no volume celular (BOGLIOLO et al., 1981).

Oliveira (2002) analisou o estômago de ratos adultos desnutridos com marcação neuronal NADH-diaforase (sub-população) e verificou que os neurônios se distribuem de forma heterogênea na parede do fundo do estômago e que a dieta hipoproteica levou a uma diminuição do peso corporal e estomacal, influenciando uma maior densidade dos neurônios por mm².

Além das variações numéricas, de acordo com a região do estômago da qual se obteve a amostra, tam-

bém são relatadas variações na densidade neuronal, decorrentes das técnicas empregadas. Os métodos de coloração por Giemsa (população total) e a técnica de evidênciação de células nervosas através da atividade da enzima NADH-diaforase (atividade do neurônio) estão entre as mais empregadas para a análise quantitativa dos neurônios.

Pode ser que esta diferença quanto à técnica a se utilizar decorra do fato de que as estruturas celulares ácidas, encontradas em grande quantidade no corpo celular neuronal, como o retículo endoplasmático rugoso e ribossomos livres, apresentam afinidade pelo azul de metileno empregado na técnica de Giemsa (BORSENG-SHU et al., 1994; LIBERTI et al., 1994; NATALI; MIRANDA-NETO, 1996; BUTTOW et al., 1997; NATALI et al., 2003; MARESE, 2006).

Críticas a esta técnica são feitas no sentido de que poderia haver uma dificuldade do observador em quantificar apenas neurônios, e que possíveis células gliais poderiam ser somadas, comprometendo o resultado (HEINICKE et al., 1987; YOUNG et al., 1993).

De modo geral, verifica-se que, independentemente da região considerada, o número de neurônios encontrados com técnica de Giemsa, em pesquisas com intestino, é maior que o encontrado com a técnica da NADH-diaforase (SOUZA et al., 2001). Sant'Ana et al. (1997), trabalhando com o colo ascendente de ratos, também verificaram que o número de neurônios encontrados com a técnica de Giemsa foi maior do que o encontrado com a técnica da NADH-diaforase. Entretanto não verificamos nenhum trabalho na literatura com estômago corados pela técnica de Giemsa, provavelmente em função da dificuldade de dissecação do órgão quando corado pela técnica.

Conclusão

Através do experimento, verificamos que a dieta imposta ocasionou um quadro de desnutrição que não provocou alterações quantitativas significantes nos neurônios mioentéricos da curvatura gástrica menor do estômago glandular de ratos.

Referências

ARAÚJO, E. J. A. et al. Effect of protein and vitamin B deficiency on the morpho-quantitative aspects of the myenteric plexus of the descending colon of adult rats. **Arq. Neuropsiquiatr.** v. 61, p. 226-233, 2003.

_____. et al. Biometric and food consumption parameters of rats subjected to hypoproteic and hiper-caloric diet. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar**, Umuarama, v. 8, n. 2, p. 131-138, jul./dez. 2005.

_____. et al. Quantitative study of the myenteric plexus of the descending colon of young rats subjected to intense protein deficiency. **Int. J. Morphol.** v. 24, n.

4, p. 591-597, 2006.

BIANCHI, L. R. O. et al. NADH-diaforase positive myenteric neurons of the aglandular region of the stomach of rats (*Rattus norvegicus*) subjected to desnutrition. **Revista Chilena Anatomia**, v. 20, n. 1, p. 19-23, 2002.

BOGLIOLO, L. **Patologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1981. p. 396-417.

BRAGA, C. F. et al. Análise quantitativa de neurônios mioentéricos NADH-diaforase positivos do colo descendente de ratos adultos submetidos à desnutrição proteica. **Anais Unipar**, p. 119, 2007.

BRANDÃO, M. C. S. et al. Effects of pré-and postnatal protein energy deprivation on the myenteric plexus of the small intestine: a morphometric study in weanling rats. **Nutr. Res.** New York, v. 23, p. 215-223, 2003.

BROWNING, J.; GANNON, B. J.; O'BRIEN, P. The microvascular and gastric luminal pH of the forestomach of the rat: a comparison with the glandular stomach. **Int. J. Microcirc. Clin. Exp.** v. 2, p. 109-118, 1983.

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.** v. 34, p. 34-41, 1997.

CLEBIS, N. K. et al. Avaliação quantitativa e morfométrica dos neurônios mioentéricos da região aglandular do estômago de ratos com Diabetes mellitus induzido por estreptozotocina e suplementados com ácido ascórbico. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, Umuarama, v. 8, n. 2, p. 87-93, maio/ago. 2004.

COSTA, M. et al. Neurochemical classification of myenteric neurons in the guinea-pig ileum. **Neuroscience**, v. 75, p. 949-967, 1996.

DEO, M. G. et al. Cell biology of protein-calorie malnutrition. **Wdf. Rev. Nutr. Diet.** v. 32, p. 49-95, 1978.

FIORINI, et al. Quantitative morphological analysis of the myenteric neurons of the ileum in rats under experimental desnutrition. **Acta Scientiarum**, Maringá, n. 21, p. 409-413, 1999.

FIRMANSYAH, A.; SUNOTO, S. Effect of malnutrition during different periods on the small intestine of the rat. **J. Exp. Med.** Japan, v. 59, n. 1, p.

1-7, 1989.

FREGONESI, C. E. P. T.; MIRANDA NETO, M. H.; MOLINARI, S. L. Estudo morfológico e quantitativo dos neurônios do plexo mioentérico do corpo e do estômago de *Rattus norvegicus*. **Acta Scientiarum**, v. 20, n. 2, p. 221-224, 1998.

_____. Avaliação da população de neurônios mioentéricos NADPH-diaforase positivo do corpo do estômago de ratos com diabetes crônico induzido pela estrepto-zootocina. **Acta Scie. Biol.** v. 26, n. 1. p. 107-112, 2004.

GABELLA, G.; HALASY, K. On the nerve plexus of the chicken gizzard. **Anat. Embiol.** v. 177, p. 97-103, 1987.

GABELLA, G. Innervation of the gastrointestinal tract. **Int. Rev.** v. 59, p. 129-193, 1979.

GERSHON, M. D.; CHALAZONITIS, A.; ROTHMAN, T. P. From neural crest to bowel: development of the enteric nervous system. **J. Neurobiol.** v. 24, n. 2, p. 199-214, 1993.

GIACOMELLI, F. R. B.; NATALI, M. R.M. A utilização de ratos em modelos experimentais de carências nutricionais. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 3, n. 3, set./dez. 1999.

GOMES, O. A. **Repercussões morfológicas da desnutrição proteica pré e pós-natal e da renutrição pós-natal no plexo mioentérico do intestino delgado de ratos**. 1999. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

HEINICKE, E. A.; KIERNAN, J. A.; WIJSMAN, J. Specific selective and complete staining of neurons of the myenteric plexus, using Cuprolinic blue. **Journal of Neuroscience Methods**. v. 21, p. 45-54, 1987.

IRWIN, D. A. The anatomy of Auerbach's plexus. **Am. J. Anat.** v. 49, p. 141-166, 1931.

KARAOSMANOGLU, T. et al. Regional differences in the number of neurons in the myenteric plexus of the guinea pig small intestine and colon: an evaluation of markers used to count neurons. **Anat. Rec.** v. 244, p. 470-480, 1996.

KUNSTYR, I. et al. Investigations on the function of the rat forestomach. **Laboratory animal science**, v. 26, n. 2, p. 166-170, 1976.

LATARJET, M. et al. **Anatomia humana**. 2. ed. São Paulo: Panamericana, 1993. v. 2, p. 1450-1451.

LIBERTI, E. A. et al. A quantitative and comparative study of the ganglionic neurons in the myenteric and submucous plexuses of the small intestine and the intramural plexus of the gall bladder of the guinea-pig. **Rev. Bras. Cienc. Morfol.** v. 11, p. 106-114, 1994.

LUCIANO, L.; REALE, E. The "limiting ridge" of the rat stomach. **Arch. Histol. Cytol.** v. 55, p. 131-138, 1992.

MARESE, A. C. M.; FREITAS, P.; NATALI, M. R. M. Imunohistoquímica e não-histoquímica de neurônios mioentéricos do duodeno de ratos em diferentes idades: população neuronal total? In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANATOMIA, CONGRESSO CHILENO DE ANATOMÍA e CONGRESSO DE ANATOMÍA DEL CONO SUR, 22., 27., 8., 2006, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2006. p. 390-390.

MARTENS, H.; GÄBEL, G.; STROZYK, B. Mechanism of electrically silent Na and Cl transport across the rumen epithelium of sheep. **Exp. Physiol.** v. 76, p. 103-114, 1991.

MATSUO, H. A contribution on the anatomy of Auerbach's plexus. **Jap. J. Med. Sci. Anat.**, v.4, p. 417-128, 1934.

MEILUS, M. et al. Study of the myenteric plexus of the ileum of rats subjected to protein undernutrition. **Rev. Chil. Anat.** Santiago, v. 16, p. 9-14, 1998.

MELLO, S. T. et al. Estudo morfoquantitativo do plexo mioentérico do duodeno de ratos submetidos a carência de proteínas e vitaminas do complexo B. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 251-256, 2004.

MIRANDA NETO, M. H. et al. Regional differences in the number and type of myenteric neurons of the ileum of rats: a comparison of techniques of neuronal evidentiatio. **Arq. Neuropsiquiatr.** v. 59, n. 1, p. 54-59, 2001.

MITCHELL, H. S. et al. **Nutrição**. 7. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1978. p. 282-283.

MOLINARI, S. L. et al. NADH-diaforase positive myenteric neurons of the aglandular region of the stomach of rats (*Rattus Norvegicus*) subjected to desnutrition. **Rev. Chil. Anat.** Santiago, v. 20, n. 1, p.19-23, 2002.

MUNIZ, E.; SANT'ANA, D. M. G.; ARAÚJO, E. J. A. Análise quantitativa dos neurônios mientéricos do ceco de ratos submetidos à desnutrição proteica severa. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO

CIENTÍFICA, FÓRUM DE PESQUISA, ENCONTRO CIENTÍFICO DO MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL e MOSTRA DE TRABALHOS CIENTÍFICOS DO MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA APLICADA À AGRICULTURA, 6., 6., 2., 2., 2007, Umuarama. **Anais...**Umuarama: CEDIC - UNIPAR, 2007. p. 119-120.

NATALI, M. R. M.; MIRANDA NETO, M. H. Effect of maternal proteic undernutrition on the neurons of the myenteric plexus of the duodenum of rats. **Arq. Neuropsiquiatr.** v. 54, p. 273-279, 1996.

NATALI, M. R. M.; MIRANDA NETO, M. H.; ORSI, A. M. Morphometry and quantifications of the myenteric neurons of the duodenum of adult rats fed with hypoproteic chow. **Int. J. Morphol.** v. 21, n. 4, p. 273-277, 2003.

NÓBREGA, F. J.; CAMPOS, D. **Distúrbios nutricionais e fraco vínculo mãe-filho.** Rio de Janeiro: Revinter; 1996.

OLIVEIRA, L. R. et al. Localização dos neurônios mientéricos no estômago aglandular e glandular de ratos (*Rattus norvegicus*). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 4, n. 3, 2000.

SAFFREY, M. J.; BURNSTOCK, G. Growth factors and the development and plasticity of the enteric nervous system. **J. Autom. Ner. Syst.** v. 49, p. 183-196, 1994.

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. **J. Neuropsiquiatr.** v. 55, p. 460-466, 1997.

_____. et al. Morphological and quantitative study of the myenteric plexus of the ascending colon of rats subjected to proteic desnutrition. **Arq. Neuropsiquiatr.** v. 55, n. 4, p. 687-695, 1997.

SCHAFER, K. H.; HANGSEN, A.; MESTRES, P. Morphological changes of the myenteric plexus during early postnatal development of the rat. **The Anatomical Record.** v. 256, p. 20-28, 1999.

SOUZA, J. A.; FURLAN, M. M. D. P. Avaliação morfológica de neurônios mioentéricos do duodeno de ratos (*Rattus norvegicus*) adultos normais e com diabetes experimental. **Arq. Cienc. Saúde Unipar**, v. 5, n. 2. p.141-147, maio/ago. 2001.

SOARES, J. et al. Análise morfológica dos neurônios mientéricos do íleo de ratos submetidos à infecção crônica por taquizoítos de *T. gondii* (genótipo III). In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA,

FÓRUM DE PESQUISA, ENCONTRO CIENTÍFICO DO MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL e MOSTRA DE TRABALHOS CIENTÍFICOS DO MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA APLICADA À AGRICULTURA, 6., 6., 2., 2., 2007, Umuarama. **Anais...**Umuarama: CEDIC - UNIPAR, 2007. p. 119-120.

STERNINI, C. Structural and chemical organization of the myenteric plexus. **Ann. Rev. Physiologi.** v. 50, p. 81-93, 1988.

SHU, E. B. S. et al. Myenteric neurons of the mouse small intestine. Morphometry and acetylcholinesterase activity. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 27, p. 101-108, 1994.

TORREJAIS, M. M. et al. Effects of protein malnutrition after breast-feeding on the morphology of the intestinal wall and myenteric neurons of the ileum rats. **Revista Unimar**, Maringá, v. 17, n. 2, p. 315-327, 1995.

WINICK, M.; NOBLE, A. Cellular response in rats during malnutrition at various age. **J. Nutrition**, v. 89, p. 300-306, 1966.

YOUNG, H. M. et al. Total numbers of neurons in myenteric ganglia of the guinea-pig small intestine. **Cell Tissue Res.** v. 272, p. 197-200, 1993.

Recebido em: 12/06/2008

Aceito em: 27/09/2009

Received on: 12/06/2008

Accepted on: 27/09/2009