

PRISCILA MOREIRA FIGUEIREDO

**PAPEL DA INTERAÇÃO ENTRE PADRÃO ALIMENTAR, CORTICOSTERONA E  
FATORES DE CRESCIMENTO NA REGULAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO CELULAR  
NO EPITÉLIO GÁSTRICO DE RATOS EM DESENVOLVIMENTO PÓS-NATAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Biologia Celular e Tecidual

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Gama

São Paulo  
2010

## RESUMO

Figueiredo PM. Papel da interação entre padrão alimentar, corticosterona e fatores de crescimento na regulação da proliferação celular no epitélio gástrico de ratos em desenvolvimento pós-natal. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2010.

O leite materno constitui uma rica fonte de nutrientes e peptídeos reguladores biologicamente ativos, incluindo hormônios, anticorpos e fatores de crescimento. O desmame precoce (DP), caracterizado pela retirada antecipada do leite materno, leva a alterações no crescimento e desenvolvimento do estômago, como o aumento da proliferação celular no epitélio gástrico. A corticosterona é o hormônio produzido durante o estresse, e pode ter papel no controle dessas mudanças diretamente ou indiretamente, através da modulação da atividade de fatores de crescimento. No presente estudo, investigamos a interação entre o padrão alimentar, a corticosterona e os fatores de crescimento na regulação da proliferação celular na mucosa gástrica durante o desenvolvimento pós-natal. Avaliamos inicialmente as variações diárias dos níveis plasmáticos do hormônio ao longo do desmame precoce por RIA, e então analisamos o papel da corticosterona sobre a proliferação celular e a expressão de  $TGF\alpha$ /EGFR,  $TGF\beta 1$  e  $TGF\beta 3$ . Para tanto, utilizamos o antagonista do receptor de glicocorticoides RU486, e após tratamento examinamos a imunomarcagem para BrdU, o índice mitótico e os níveis proteicos dos fatores de crescimento por “*Western blot*”. Por último, estudamos a influência da corticosterona sobre a ativação da sinalização intracelular de  $TGF\alpha$  e  $TGF\beta$ . Ratos da linhagem Wistar foram separados em 4 grupos experimentais no 15º dia de vida pós-natal: amamentados (A), amamentados tratados com RU486 (ARU), desmame precoce (DP) e desmame precoce tratado com RU486 (DPRU). O desmame precoce elevou os níveis de corticosterona nos dias 16, 17 e 18, aumentou a concentração de  $TGF\alpha$  e reduziu a de  $TGF\beta 1$  no epitélio gástrico ( $p < 0,05$ ). O tratamento com RU486 estimulou a proliferação celular gástrica em animais amamentados e submetidos ao desmame precoce ( $p < 0,05$ ), no entanto não alterou os níveis proteicos de  $TGF\alpha$ /EGFR,  $TGF\beta 1$  e  $TGF\beta 3$ . Com relação à sinalização dos fatores de crescimento, observamos que a administração de RU486 reduziu a fosforilação de ERK1/2 nos animais desmamados precocemente ( $p < 0,05$ ), sugerindo a participação da corticosterona

liberada durante o estresse do desmame precoce na ativação dessa via. No entanto, o tratamento não modificou os níveis de Smad2 fosforilada. Concluímos que a corticosterona circulante possui efeito antiproliferativo sobre a mucosa gástrica de ratos, independente do tipo de dieta consumida. Contudo, sua ação parece não ocorrer por meio da regulação dos níveis de TGF $\alpha$  e TGF $\beta$ , que estão subordinados à dieta. Portanto, sugerimos que o efeito da corticosterona sobre a proliferação celular do epitélio gástrico durante o desenvolvimento pós-natal pode estar mais relacionado à sua função direta, dependente de disponibilidade e sensibilidade.

Palavras-chave: Estômago. Corticosterona. Fatores de crescimento. Desenvolvimento pós-natal. Estresse.

## ABSTRACT

Figueiredo PM. Role of the interaction among diet pattern, corticosterone, and growth factors on the regulation of cell proliferation in the gastric epithelium of developing rats. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2010.

Milk is a source of nutrients and biologically active regulatory peptides, including hormones, antibodies and growth factors. Early weaning (EW), characterized by anticipated interruption of suckling, leads to alterations in growth and development of stomach, as increased cell proliferation in gastric mucosa. Corticosterone is the hormone produced during stress and it can have a role in the control of these changes directly or indirectly through the regulation of growth factors. In the present study we investigated the interaction among diet pattern, corticosterone, and growth factors on the regulation of cell proliferation in gastric mucosa. We first evaluated daily variations on hormone levels throughout early weaning by RIA, and then we analyzed corticosterone role on gastric cell proliferation and TGF $\alpha$ /EGFR, TGF $\beta$ 1, and TGF $\beta$ 3 expression. To that we used the antagonist of glucocorticoid receptor RU486, and after treatment we examined BrdU immunolabeling, mitotic index and the transforming growth factors levels by Western blot. At last, we studied corticosterone influence on TGF $\alpha$  and TGF $\beta$  signaling pathways activation. Wistar rats were separated into four groups on the 15th postnatal d: suckling (S), suckling treated with RU486 (SRU), early weaning (EW) and early weaning treated with RU486 (EWRU). Early weaning increased total corticosterone levels at 16, 17 and 18 days, augmented TGF $\alpha$  protein levels and decreased TGF $\beta$ 1 concentration in gastric epithelium ( $P < 0.05$ ). RU486 administration stimulated gastric cell proliferation in suckling and early-weaned animals ( $P < 0.05$ ), but it did not change TGF $\alpha$ /EGFR, TGF $\beta$ 1, and TGF $\beta$ 3 expression. As for growth factors pathways, we observed that RU486 administration reduced ERK1/2 phosphorylation in early-weaned rats ( $P < 0.05$ ), suggesting that corticosterone released during early weaning stress takes part in the activation of this signaling pathway. In contrast, treatment did not modify Smad2P protein levels. We conclude that circulating corticosterone has an antiproliferative effect on gastric mucosa in both dietary patterns. However, its mechanism of action might not involve the regulation of TGF $\alpha$  and TGF $\beta$ , which are subordinated to the diet. Therefore, we suggest that the function of corticosterone in

the gastric epithelium of rats during postnatal development might be more correlated to a direct role, which in turn depends on availability and sensitivity.

Key Words: Stomach. Corticosterone. Growth factors. Postnatal development. Stress.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Estômago

O estômago é uma dilatação do tubo digestório, em forma de saco, situado entre o esôfago e o intestino delgado. Nos ratos, o estômago apresenta-se estruturado em três regiões histologicamente distintas denominadas córnea, corpo e antro. A porção córnea tem epitélio estratificado e queratinizado, enquanto corpo e antro correspondem às duas regiões glandulares da mucosa gástrica (Lee et al., 1982).

O corpo, região mediana do estômago, apresenta uma mucosa espessa formada por longas glândulas tubulares que se abrem em pequenas fossetas, através das quais os produtos de secreção chegam à luz gástrica. Cada unidade glandular pode ser subdividida em três segmentos: istmo, colo e base, os quais são compostos por diferentes populações celulares. O istmo, porção adjacente à fosseta, é formado principalmente por células parietais, responsáveis pela secreção de íons cloro e hidrogênio que, combinados no lúmen gástrico, originam o ácido clorídrico. A região do colo apresenta, além de células parietais, células mucosas do colo que produzem, junto com as células mucosas superficiais que revestem as fossetas e a superfície luminal, muco para a proteção do tecido. Restritas à base glandular, estão as células zimogênicas, secretoras de pepsinogênio, o qual é convertido em pepsina na luz do estômago pela ação do pH ácido (Ekelund et al., 1985; Helander, 1981). Além das células epiteliais supracitadas, ainda estão presentes células enteroendócrinas, produtoras de hormônios como a gastrina, somatostatina, histamina, leptina e ghrelina (Bado et al., 1998; Björkqvist et al., 2002; Date et al., 2000; Johnson, 1985).

Ao contrário do corpo gástrico, a região do antro possui glândulas curtas e enoveladas, com fossetas muito profundas, compostas predominantemente por células mucosas e enteroendócrinas (Helander, 1981).

A formação e a maturação das glândulas gástricas no rato são processos tardios, que ocorrem a partir do final da fase fetal até a terceira semana de vida pós-natal, quando advém o desmame. Fetos de 17 dias ainda apresentam o corpo gástrico formado por um epitélio pseudo-estratificado, constituído por um único tipo celular. Apenas entre o 19º e 20º dia de vida intra-uterina, ocorre a reorganização do

epitélio, que se torna simples e colunar, e tem-se início seu dobramento, o qual culmina com a formação das fossetas e glândulas gástricas (Alvares, 1994).

O completo amadurecimento funcional das células epiteliais gástricas acontece apenas ao longo da terceira semana de vida pós-natal (Zhu et al., 2009), período no qual ocorre o desmame. As células do epitélio gástrico se originam de células-tronco, localizadas na interface istmo-colo da glândula (Brittan e Wright, 2004; Karam e Leblond, 1993). Essas células produzem três outros tipos celulares: células pré-mucosas, pré-parietais e pré-mucosas do colo. As células pré-mucosas migram em direção à fosseta e se diferenciam em células mucosas superficiais, enquanto as células pré-parietais apresentam migração bi-direcional e originam as células parietais, as quais estão dispersas por toda a extensão da glândula gástrica. As células pré-mucosas do colo produzem dois tipos celulares, as células mucosas do colo e as células zimogênicas. Inicialmente, as células progenitoras migram em direção ao colo da glândula, onde se diferenciam em células mucosas do colo, que por sua vez, continuam migrando em direção à base glandular e originam as células pré-zimogênicas e zimogênicas (Ramsey et al., 2007; Zhu et al., 2009).

O desenvolvimento da mucosa gástrica está subordinado à influência de diversos elementos, incluindo o programa genético, o estado nutricional, a dieta, a microbiota luminal, hormônios e fatores de crescimento (De Andrade Sá et al., 2008; Lee e Lebenthal, 1983; Nanthakumar et al., 2005). Tais elementos interagem para controlar a proliferação e a diferenciação celular no epitélio gástrico, e garantir deste modo o crescimento adequado do órgão. Neste contexto, o leite materno possui papel preponderante, uma vez que provê ao filhote recém-nascido nutrientes e peptídeos biologicamente ativos, que incluem prolactina, somatostatina, insulina, hormônio estimulador e de liberação do hormônio tiroideano (TSH e TRH), hormônio de liberação do hormônio luteinizante (LHRH), bombesina, hormônio adrenocorticotrófico (ACTH); fator de crescimento transformante  $\beta$  (TGF $\beta$ ), fator de crescimento epidermal (EGF), entre outros (Baram et al., 1977; Beardmore e Richards, 1983; Chen et al., 1999; Donovan e Odle, 1994; Jahnke e Lazarus, 1984; Koldovský, 1989; Koldovský et al., 1995; Letterio et al., 1994; Xu, 1996; Penttila et al., 1998; Shanks e Lightman, 2001).

## 1.2 Desmame precoce

O desmame representa um processo lento de substituição do aleitamento materno pela ingestão de alimento sólido (Henning, 1981), e ocorre naturalmente da terceira para a quarta semana de vida pós-natal do rato. Entretanto, para fins experimentais, o desmame é normalmente realizado no 21<sup>o</sup> dia de vida pós-natal em biotérios. Em contrapartida, o desmame precoce se caracteriza pela abrupta separação materna e retirada antecipada do leite e de todos os seus fatores no 15<sup>o</sup> dia. Tal condição, além de causar um forte estresse, provoca uma série de alterações nas funções digestivas, como o aumento prematuro da atividade da enzima sacarase-isomaltase no intestino delgado (Boyle e Koldovský, 1980), que reflete a mudança drástica tanto da composição da dieta, quanto da natureza dos carboidratos que constituem a ração (Lin et al., 1998). Outras implicações do desmame precoce sobre o intestino compreendem o aumento da permeabilidade da barreira (Moeser et al., 2007; Smith et al., 2010) e a redução da expressão da fosfatase alcalina, enzima-chave na diferenciação de enterócitos (Lackeyram et al., 2010).

No estômago, o desmame precoce altera a resposta proliferativa do epitélio gástrico ao estímulo do jejum. Filhotes submetidos ao desmame precoce respondem à privação alimentar com a inibição da proliferação celular (Gama e Alvares, 2000), resposta semelhante à de um animal adulto e oposta à de animais amamentados, nos quais ocorre um aumento da proliferação no epitélio gástrico (Alvares, 1992; Alvares e Gama, 1993). Em outras palavras, o desmame precoce promove a antecipação da resposta típica de um animal adulto frente ao jejum. Lin et al. (2001) verificaram que, sob essa condição alimentar, ocorre indução da atividade da enzima ornitina descarboxilase (ODC) no estômago, a qual está envolvida na síntese e acúmulo de poliaminas, necessárias para o rápido crescimento celular. Esses autores sugeriram que o aumento da atividade da enzima ODC está associado ao crescimento da mucosa gástrica promovido pelo desmame precoce. Osaki et al. (2010) observaram ainda que essa condição desencadeia a diferenciação de células mucosas do colo e a síntese de componentes do muco, que asseguram proteção e adequada função do epitélio gástrico. Ademais, esses resultados demonstram que o desmame precoce induz maturação acelerada da mucosa gástrica, além de seus efeitos fisiológicos. Em conjunto, essas informações



evidenciam que a retirada antecipada do leite materno provoca mudanças no desenvolvimento normal do trato gastrintestinal da prole, alterando sua morfologia e função, e sugerem que o leite por meio de suas moléculas possua papel modulador do crescimento e da renovação da mucosa gástrica e intestinal (De Andrade Sá et al., 2008; Osaki et al., 2010).

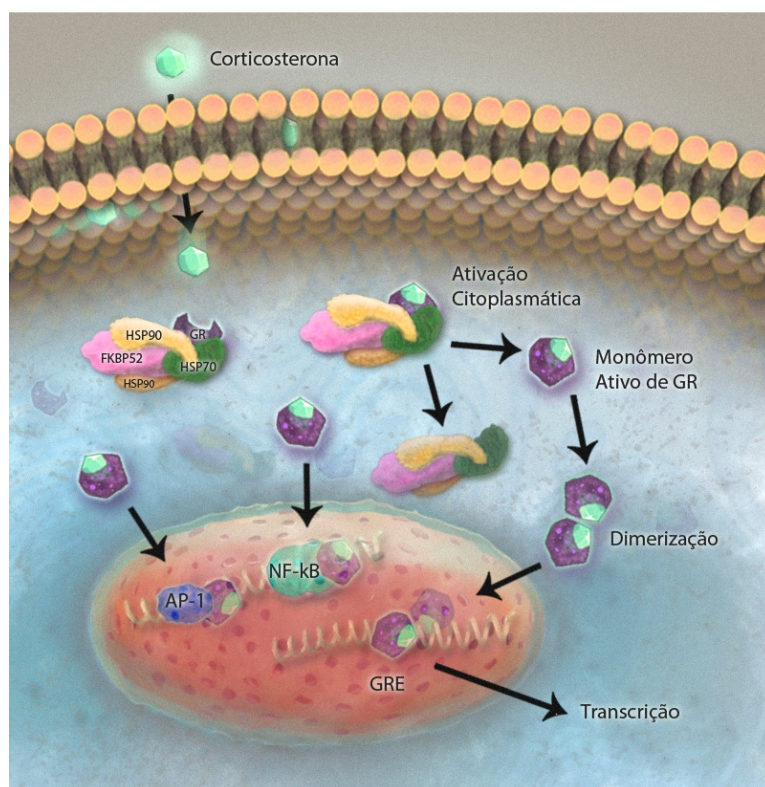
De acordo com alguns grupos, os efeitos desencadeados pelo desmame precoce no trato gastrintestinal podem estar relacionados a um aumento dos níveis plasmáticos de glicocorticoides (Boyle e Koldovský, 1980; Lin et al., 1998; Peitsch et al., 1981; Takeushi et al., 1981; Yeh et al., 1986), sugerindo a existência de um elo entre o tipo de dieta, a condição alimentar, o comportamento e o estresse.

### **1.3 Corticosterona**

Os glicocorticoides são hormônios esteroidais, produzidos e secretados pelo córtex da glândula supra-renal. Suas funções no organismo incluem a mediação de diversos efeitos fisiológicos e a adaptação a situações de estresse. Por sua ação sobre o sistema imunológico, os glicocorticoides são amplamente utilizados como anti-inflamatórios e imunossupressores no tratamento de reações alérgicas e doenças auto-imunes. Endogenamente, os níveis circulantes são regulados por diversos fatores, tais como: a concentração do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que induz a liberação de corticosteróide; a disponibilidade e afinidade por sua proteína carreadora, a globulina ligante de corticosterona (CBG), e a ligação aos receptores de glicocorticoides (GR) (Breuner e Orchinik, 2002; Fleshner et al., 1995; Woodward et al., 1991; Yudt e Cidlowski, 2002).

Nos ratos, o principal glicocorticoide é a corticosterona, cujos níveis plasmáticos sofrem acentuadas alterações ao longo do desenvolvimento. Durante a fase pré-natal, ocorre o primeiro pico de secreção hormonal, entre o 18º e 20º dia de vida fetal, antecedendo o término da gestação (Holt e Oliver, 1968). Após o nascimento, há um aumento gradual da concentração plasmática de corticosterona entre o 14º e 24º dia de vida pós-natal, em paralelo ao complexo quadro de maturação do animal (Henning, 1978). Por seu perfil de secreção, os glicocorticoides são considerados potenciais reguladores do processo de crescimento do animal (Tseng e Johnson, 1986).

Os efeitos biológicos da corticosterona são mediados pelo GR, um membro da superfamília de receptores esteroidais intracelulares que atuam como fatores de transcrição mediados por ligante (Akritopoulou-Zanze, 2004). No estômago, o GR está preferencialmente localizado no istmo e na base das glândulas gástricas, e encontra-se distribuído pelo citoplasma e núcleo das células epiteliais (Ogias et al., 2010b). Na ausência do ligante, o GR encontra-se em estado inativo no citoplasma, associado a um complexo multiproteico formado pelas chaperonas *heat shock* 70 e 90 (Hsp70 e Hsp90). A ligação do glicocorticoide ao GR promove dissociação do complexo e ativação do receptor, que se transloca para o núcleo, onde regula a transcrição de genes-alvo. O GR é capaz de modular a expressão gênica por pelo menos dois mecanismos distintos. A via clássica envolve a dimerização de dois receptores ativos, que após translocação para o núcleo, se associam a sequências específicas de DNA, denominadas GREs (elementos responsivos aos glicocorticoides), e que estão presentes na região promotora dos genes-alvo (Figura 1). O outro mecanismo de ação do GR é independente de GRE. Nesse caso, o receptor sob a forma de um monômero interage com outros fatores de transcrição ligados ao DNA, como AP-1 e NFκB, regulando a transcrição gênica indiretamente (Akritopoulou-Zanze et al., 2004; Li et al., 2003) (Figura 1).



**Figura 1.** Esquema ilustrando os mecanismos de ação do GR  
Fonte: Daniel H. Bittencourt

No estômago, a administração de glicocorticoides induz a diferenciação de células zimogênicas, levando à síntese precoce de pepsinogênio (Kumegawa et al., 1978; Tseng e Johnson, 1986; Tsukada et al., 1998). A ação hormonal também promove alterações morfológicas nas células parietais e o estímulo à atividade da bomba  $H^+K^+/ATPase$ , aumentando a secreção ácida (Tseng et al., 1987 ; Wang et al., 1996). Em ratos adultos, foi observado que os glicocorticoides reduzem a migração celular e retardam a regeneração da mucosa gástrica após lesão (Eastwood et al., 1981; Kuwayama e Eastwood, 1988).

Gunin e Nikolaev (1999) demonstraram que o tratamento crônico com glicocorticoides induz aumento na proliferação celular no esôfago e intestino delgado. Miyata et al. (2008) confirmaram esse efeito no epitélio intestinal ao mostrarem que a adrenalectomia provoca diminuição na proliferação celular nas criptas e retardo do crescimento intestinal. Não obstante, Gama e Alvares (1998) e Gama et al. (2000) observaram que os glicocorticoides tem efeito contrário sobre a proliferação celular no estômago, e demonstraram que a administração de hidrocortisona a animais em fase de amamentação reduz a taxa proliferativa e induz a apoptose na mucosa gástrica. No entanto, o jejum, condição que representa a privação de alimento e promove aumento dos níveis plasmáticos de corticosterona, desencadeia efeito estimulatório sobre a proliferação celular do epitélio gástrico somente durante o período de amamentação (Alvares e Gama, 1993). Essa aparente contradição da ação dos glicocorticoides sobre a cinética celular na mucosa gástrica traz à luz as diferenças entre a administração hormonal e o aumento dos níveis endógenos de corticosterona desencadeado pelo estresse.

A atividade da corticosterona é modulada pela CBG, uma glicoproteína carreadora de 52 kDa. A CBG se liga à corticosterona com alta afinidade e regula a sua disponibilidade aos tecidos, comportando-se como um agente tamponador, uma vez que apenas a fração livre de corticosterona, não-ligada à CBG, é biologicamente ativa. Por outro lado, a CBG pode também atuar como um reservatório de corticosterona no plasma, e ainda direcionar a ação hormonal a um tipo celular específico por meio dos receptores de CBG (Breuner e Orchinik, 2002; Lewis et al., 2005). Entretanto, após a administração, os glicocorticoides esquivam-se dessa modulação e devido à alta concentração de hormônio livre no plasma, eles podem ser mais eficazes, quando se considera o tratamento de doenças inflamatórias, porém se tornam potencialmente deletérios para muitos tecidos.

Ogias et al. (2010b) demonstraram que o estresse induzido pelo jejum ativa diferentes mecanismos de ação da corticosterona em filhotes e ratos adultos. Embora ocorra aumento dos níveis plasmáticos de corticosterona em ambas as idades, apenas nos filhotes esse efeito é acompanhado por uma elevação da capacidade de ligação da CBG e, conseqüente redução da disponibilidade de corticosterona aos tecidos. Além disso, ocorre também menor translocação de GR ao núcleo, levando a uma redução da resposta ao hormônio. Por outro lado, nos adultos, a maior disponibilidade e atividade da corticosterona levam à inibição da proliferação celular no epitélio gástrico. Esse mecanismo de controle da disponibilidade da corticosterona contribui para a elucidação da razão pela qual o jejum promove efeitos opostos sobre a proliferação celular na mucosa gástrica de acordo com a fase de desenvolvimento do animal. Assim, pode-se dizer que nos filhotes, a ação da corticosterona induzida pelo estresse fica “bloqueada”, o que permite o crescimento do estômago mesmo durante condições nutricionais adversas.

A adrenalectomia, por sua vez, leva tanto ao estímulo da proliferação celular na mucosa gástrica em ratos adultos, quanto à supressão da expressão de catepsina E e mucina, consideradas marcadoras da diferenciação do estômago. Entretanto, a administração de hidrocortisona é capaz de restaurar esses dois parâmetros, reforçando o papel dos glicocorticoides como reguladores morfofuncionais do estômago (Tsukada et al., 1994).

Filaretova et al. (2007) observaram que o aumento plasmático de glicocorticoides induzido pelo estresse promove ação protetora sobre o epitélio gástrico, contrariamente ao que era proposto. Tais efeitos são mediados por múltiplas ações, incluindo a manutenção do fluxo sangüíneo, produção de muco e atenuação da motilidade e permeabilidade da mucosa gástrica. Em contrapartida, os glicocorticoides de origem exógena, administrados em doses farmacológicas, apresentam um alto potencial ulcerativo.

Desse modo, diferentes estudos discutem o papel dos glicocorticoides e sua função em relação à sua origem, se exógena ou endógena. Quanto à sua ação, a corticosterona pode atuar sobre a mucosa gástrica de forma direta, por meio do GR, como mencionado, ou indiretamente, via fatores de crescimento.

## 1.4 Mifepristona

A mifepristona (RU486) é um esteroide análogo, desenvolvido pela companhia farmacêutica francesa Roussel-Uclaf (Romainville, França), em meados de 1980, como parte de um projeto de pesquisa para a concepção de compostos antiglicocorticoides (Johanssen e Allolio, 2007; Mahajan e London, 1997). Secundariamente, descobriu-se que o RU486 também possuía uma ação antiprogestágena, e sua combinação com prostaglandina, como o sintético misoprostol, resulta em aborto a uma taxa de sucesso próxima a 100%. A mifepristona apresenta três principais efeitos farmacológicos: o endometrial, o gonadotrófico e o adrenocortical. Por seu amplo potencial, pesquisadores têm testado a aplicação do RU486 no tratamento de outros casos clínicos, como o câncer de mama e próstata, endometriose, leiomiomatose e a síndrome de Cushing (Goldberg et al., 1998).

A ação antiglicocorticoide da mifepristona é assegurada por três mecanismos distintos. No meio extracelular, o RU486 compete com a corticosterona pela ligação ao GR, com uma afinidade de três a quatro vezes superior a da dexametasona. Ao ligar-se ao GR, a mifepristona estabiliza a interação entre o receptor e o complexo multiproteico, impedindo sua dissociação, e assim evitando a translocação do GR para o núcleo. Alguns receptores mesmo complexados ainda são capazes de se translocar para o núcleo da célula, no entanto, apresentam uma atividade transcricional significativamente reduzida devido a uma baixa afinidade pelo DNA (Beck, 1993; Mahajan e London, 1997). O RU486 desencadeia seu efeito antiglicocorticoide de modo dose-dependente, e sua meia-vida plasmática é longa, podendo atingir 90 horas (Johanssen e Allolio, 2007). Apesar de esse composto possuir afinidade aos receptores de progesterona, a sua reduzida distribuição no epitélio gástrico assegura que os efeitos desencadeados pela mifepristona no estômago são majoritariamente devido à sua ação antiglicocorticoide (Mahajan e London, 1997; Saqui-Salces et al., 2008).

A mifepristona possui ação central e periférica. No sistema nervoso central, o RU486 bloqueia os receptores de glicocorticoides presentes no hipotálamo, interferindo no mecanismo de *feedback* negativo que regula a secreção hormonal. Como consequência, ocorre um aumento dos níveis plasmáticos tanto de ACTH quanto de corticosterona (Goldberg et al., 1998). No estômago, a ação da

mifepristona é específica, uma vez que o antagonista não se liga aos receptores de mineralocorticóides (Cadepond et al., 1997; Pecci et al., 2009), e os GRs são preferencialmente ocupados pelo RU486 (Filaretova et al., 2002).

### **1.5 Fator de crescimento transformante $\alpha$ (TGF $\alpha$ ) e receptor do fator de crescimento epidermal (EGFR)**

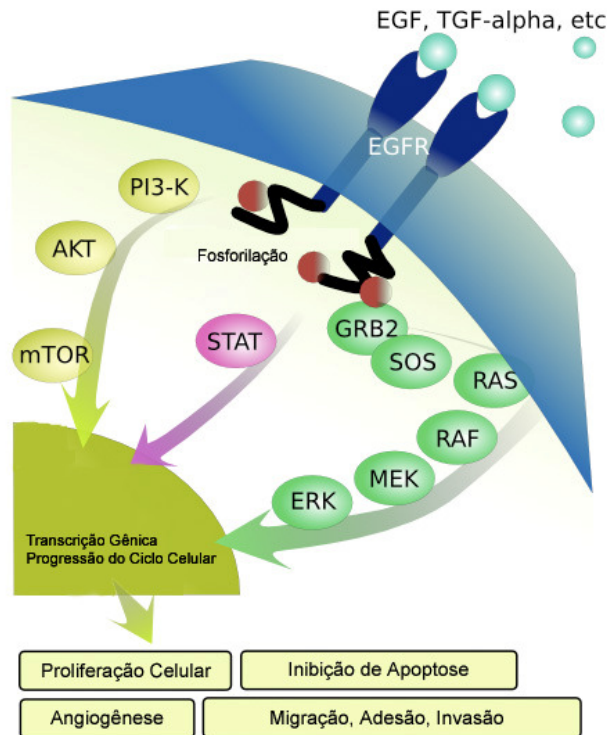
O fator de crescimento transformante  $\alpha$  (TGF $\alpha$ ) é membro da família do EGF, com o qual compartilha, além do receptor, 35% de homologia (Hormi et al., 1995). Esse fator de crescimento é sintetizado sob a forma de uma molécula precursora ligada à membrana plasmática, na qual estão presentes: um peptídeo sinal, uma seqüência de 50 aminoácidos relativa à molécula madura, uma região transmembrana e uma região intracelular.

O TGF $\alpha$  não está presente no leite materno de ratos (Dvorak e Koldovský, 1994). No entanto, diversos estudos apontam que, após sua síntese no tecido epitelial, sua atividade é regulada pelo EGF proveniente da placenta, saliva e leite (Dvorak et al., 2000; Kelly et al., 1997; Milani e Calabro, 2001). Na mucosa gástrica, a expressão de TGF $\alpha$  ocorre nas células mucosas superficiais, mucosas do colo e células parietais (Hormi et al., 1995; Konturek et al., 1996; Osaki et al., 2010), e inicia-se durante a fase fetal (Hormi et al., 1995; Kelly et al., 1997), aumentando ao longo do desenvolvimento pós-natal do animal. Sua ação pode ocorrer de modo autócrino e/ou parácrino. Todavia, as moléculas precursoras de TGF $\alpha$ , presas à membrana plasmática, também podem desencadear atividade biológica, caracterizando um modo justácrino de ação desse fator de crescimento (Kumar et al., 1995; Massagué, 1990).

Dentre os efeitos fisiológicos mediados pelo TGF $\alpha$  no trato gastrintestinal, destacam-se a inibição da secreção ácida estimulada pela histamina (Rhodes et al., 1986), o retardo do esvaziamento gástrico e do trânsito intestinal (Shinohara et al., 2001), e a proteção e aceleração da regeneração da mucosa gástrica após um processo ulcerativo (Konturek et al., 1996; Milani e Calabro, 2001; Romano et al., 1992). Em termos de regulação de processos celulares, o TGF $\alpha$  estimula a proliferação, migração e diferenciação celular na mucosa gástrica (Bluth et al., 1995; Nakajima e Kuwayama, 1995; Osaki et al., 2010), e é capaz de inibir a apoptose em

células mucosas superficiais através da ativação da família Bcl-2 (Kanai et al., 2001). Sukhotnik et al. (2008) observaram que TGF $\alpha$  estimula de modo dose-dependente a proliferação de enterócitos *in vivo* e *in vitro*, além de promover a regeneração intestinal no quadro de mucosite induzida por agente quimioterápico.

O TGF $\alpha$  desencadeia seus efeitos biológicos por meio do receptor do fator de crescimento epidermal (EGFR), uma glicoproteína transmembrana de aproximadamente 170 kDa com atividade tirosina-quinase. O EGFR é expresso no epitélio gástrico pelas células mucosas superficiais, parietais e zimogênicas (Beauchamp et al., 1989; Osaki et al., 2010), e sua ativação envolve a formação de homodímeros ou heterodímeros com outros receptores de sua família, presentes na membrana plasmática da célula. Após dimerização, os receptores são ativados por autofosforilação em múltiplos resíduos de tirosina, ou por transfosforilação por outras quinases, como Src e JAK-2. A ativação de EGFR pode, direta ou indiretamente, desencadear diversas cascatas de sinalização intracelular, incluindo Ras/MAPK (quinase ativada por mitógeno), via envolvida na proliferação celular em células intestinais e gástricas mantidas em cultura (Citri e Yarden, 2006; Göke et al., 1998; Jorissen et al., 2003; Xiao e Majumdar, 2001). O acionamento de Ras depende da proteína adaptadora Grb2, na qual se liga o fator Sos, que promove a troca de GDP por GTP em Ras, e sua consequente ativação. Ras, por sua vez, ativa Raf, que, por uma série de quinases intermediárias, fosforila e aciona ERK1/2, as quais se translocam para o núcleo e ativam fatores de transcrição (Figura 2). Xiao et al. (2003) observaram que na mucosa gástrica TGF $\alpha$  induz a ativação de AP-1, um fator de transcrição envolvido na regulação da proliferação celular, de maneira dependente de ERK1/2. Outras vias envolvidas na resposta ao EGFR são as STATs, fatores de transcrição inativos que, quando acionados por Src, se translocam para o núcleo, e as vias de fosfolipídios, como a fosfolipase C $\gamma$  e a PI3-K (fosfatidilinositol 3-quinase) (Jorissen et al., 2003).



**Figura 2.** Esquema ilustrando as vias de sinalização intracelular ativadas por EGFR.

Troyer et al. (2001) demonstraram que camundongos triplo *null* para EGF, anfirregulina e TGF $\alpha$  apresentam retardo no crescimento e defeitos na morfologia do íleo durante a terceira semana de vida pós-natal. E embora esses animais não apresentem diferenças fenotípicas no intestino a longo prazo, constatou-se que tanto neonatos quanto adultos apresentam resposta citoprotetora defeituosa e são propensos ao aparecimento espontâneo de úlceras. Esses resultados ratificam a relevância dos ligantes de EGFR, provenientes do leite e endógenos, no desenvolvimento e manutenção da mucosa intestinal.

Osaki et al. (2010) observaram que a alteração do padrão alimentar por meio do desmame precoce leva a um aumento dos níveis de TGF $\alpha$  e EGFR na mucosa gástrica. No entanto, a inibição da fosforilação do EGFR pela administração de AG1478 impede o aumento da proliferação celular e da diferenciação de células mucosas do colo, demonstrando que o EGFR está envolvido no controle da cinética celular na mucosa gástrica (Osaki et al., no prelo). Além disso, o aumento da proliferação desencadeado por EGFR pode estar relacionado à indução da fosforilação das vias de MAPK e Src pelo desmame precoce.



## 1.6 Fator de crescimento transformante $\beta$ (TGF $\beta$ )

O fator de crescimento transformante  $\beta$  (TGF $\beta$ ) é membro de uma superfamília de fatores caracterizada em meados de 1980 (Massagué, 1987; Sporn et al., 1987; Sporn e Roberts, 1992). O TGF $\beta$  é um polipeptídeo pleiotrófico de 25 kDa que atua sobre diversos tipos celulares durante o desenvolvimento e na homeostase tecidual em adultos. Os mamíferos expressam três isoformas de TGF $\beta$  (TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2 e TGF $\beta$ 3), os quais são codificados por diferentes genes e compartilham de 64-85% de homologia (Kingsley, 1994; Koli et al., 2001; Tanigawa et al., 2005).

O TGF $\beta$  também está presente no leite materno de mamíferos (Letterio et al., 1994; Penttila et al., 1998), sugerindo seu papel na manutenção da homeostase intestinal e no desenvolvimento à tolerância oral dos neonatos (Pentilla, 2010). A isoforma de TGF $\beta$  predominante no leite de ratos é a  $\beta$ 2, cujas concentrações decrescem ao longo do período de amamentação, com o concomitante incremento da produção endógena (Penttila et al., 1998). Na mucosa gástrica, a expressão das isoformas de TGF $\beta$  e seus receptores aumentam gradativamente ao longo da terceira semana de vida pós-natal, em paralelo ao processo de dispersão de sua distribuição entre os diversos tipos celulares em diferenciação (De Andrade Sá et al., 2003).

Os efeitos biológicos de TGF $\beta$  incluem a regulação da proliferação celular, diferenciação, migração e apoptose, e a modulação da inflamação e alergia (Booth et al., 2000; Ciacci et al., 1993; Fujisawa et al., 2004; Pentilla, 2010; Rokutan et al., 1998; Tsutsumi et al., 2002). O TGF $\beta$  pode ainda regular o reparo de lesões por meio do recrutamento de fibroblastos e o estímulo à síntese e deposição de matriz extracelular. Playford et al. (1999) demonstraram que a administração de TGF $\beta$ 1 *in vivo* induz a cicatrização de úlceras na mucosa gástrica causada pelo tratamento com indometacina. Entretanto, é fundamental que a expressão de TGF $\beta$  ocorra de forma equilibrada, uma vez que seu excesso pode levar ao surgimento de tecido fibrótico (Wahl, 1994). Por sua ação sobre a proliferação celular, credita-se ao TGF $\beta$  o papel de manter o equilíbrio de crescimento de um tecido, e atuar como um agente supressor de tumores. No entanto, a elevada expressão desse fator de crescimento pelo tecido tumoral contribui para a sua progressão devido à potente ação

imunossupressora e angiogênica do TGF $\beta$  sobre o hospedeiro (Derynck e Zhang, 2003; Hartsough e Mulder, 1997; Parekh et al., 2002).

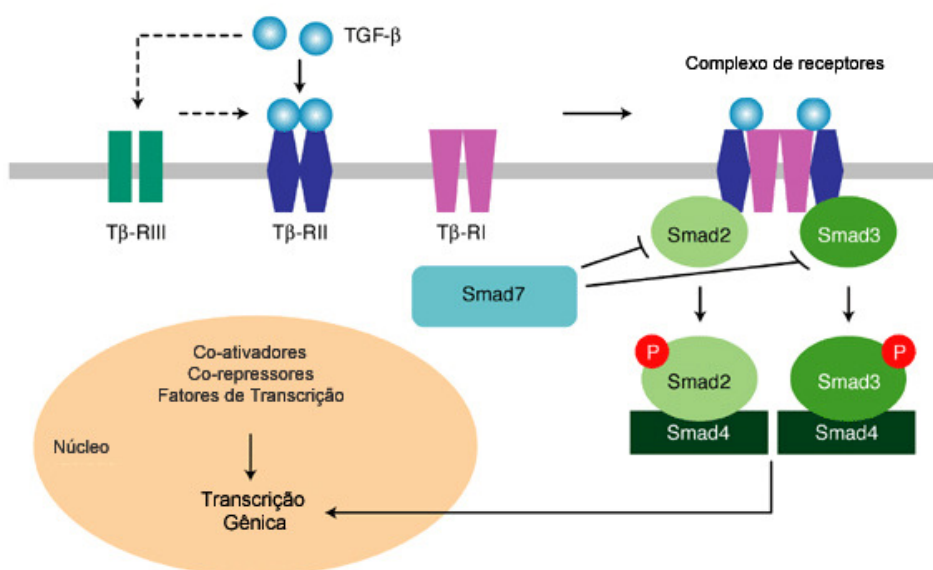
O TGF $\beta$  é secretado sob a forma de uma molécula precursora latente, que pode ser de pelo menos dois tipos. O primeiro deles é o TGF $\beta$ -LAP (*Latency Associated Transforming Growth Factor-Beta*), no qual o homodímero de TGF $\beta$  maduro está ligado a duas sequências associadas à latência. O outro tipo envolve a interação do complexo TGF $\beta$ -LAP à glicoproteína LTBP (*Latent Transforming Growth Factor-Beta Binding Protein*), a qual tem papel relevante na síntese e deposição de matriz extracelular (Gleizes et al., 1997; Lack et al., 2003; Miyazono et al., 1991; Olofsson et al., 1992; Taipale et al., 1994). O TGF $\beta$  desencadeia sua atividade celular por meio de dois receptores de membrana com atividade quinase serina/treonina, conhecidos como T $\beta$ RI e T $\beta$ RII.

Embora o conhecimento dos mecanismos fisiológicos de ativação de TGF $\beta$  seja ainda restrito, sabe-se que tal processo envolve a ação de proteases furina e *like-furina* (Dubois et al., 1995; Leitlein et al., 2001). A furina está presente no epitélio gástrico (Fujisawa et al., 2004; Kamimura et al., 1999) e seus níveis aumentam significativamente em paralelo ao aumento da concentração de TGF $\beta$  (Blanchette et al., 1997). Após ativação, o TGF $\beta$  se liga a T $\beta$ RII, que por sua vez recruta e fosforila o receptor T $\beta$ RI, induzindo a formação de um complexo (Attisano et al., 1993; Kingsley, 1994; Koli et al., 2001; Massagué, 1996). Os mediadores intracelulares da sinalização de TGF $\beta$  são as Smads, que direcionam o sinal de TGF $\beta$  da membrana celular para o núcleo. As Smads são funcionalmente categorizadas em três grupos: as R-Smads, que são reguladas pelo receptor; as mediadoras comuns, Co-Smads, que associadas às primeiras permitem a progressão da sinalização; e, finalmente, as I-Smads, que atuam como proteínas inibitórias da via (Mehra e Wrana, 2002). O receptor T $\beta$ RI ativo reconhece e fosforila as Smad2 e 3, as quais formam com a Smad4, uma Co-Smad, um complexo que se transloca para o núcleo e participa da regulação da transcrição gênica, comumente em associação com outros fatores de transcrição. Embora Smad3 seja capaz de se ligar diretamente ao DNA, contrariamente à Smad2, essa interação é fraca e pouco seletiva, requerendo a intermediação de outros fatores de transcrição, tais como os membros da família AP-1, TFE3 e FoxG1 (Inman, 2005). Existe ainda um terceiro receptor de TGF $\beta$ , o T $\beta$ RIII, formado por uma proteoglicana e uma glicoproteína, conhecidas como

betaglicana e endogлина. No entanto, esse último tipo apenas medeia a ligação entre TGFβ2 e os receptores do tipo I e II, sem uma participação na transdução do sinal (Mehra e Wrana, 2002; Tanigawa et al., 2005).

A I-Smad, Smad7, inibe a sinalização dos membros da família de TGFβ por meio de sua interação com TβRI e evita assim o recrutamento e a ativação de R-Smads. A Smad7 reside no núcleo e se transporta para o citoplasma mediante o estímulo pelo ligante (Itóh et al., 1998). Essa proteína pode ainda interagir com as Smad2 e 3 ativas, impedindo a formação do complexo R-Smad/Smad4 e seu fluxo para o núcleo e, além disso, recrutar Smurfs, proteínas da classe ligases E3 que catalisam a degradação dos receptores TβRI. A expressão de I-Smads é induzida por TGFβ, caracterizando um mecanismo de *feedback* negativo, que permite a regulação tempo-espacial de sua sinalização (Derynck e Zhang, 2003; Itóh et al., 1998; Mehra e Wrana, 2002) (Figura 3). A sinalização de TGFβ é ainda regulada por diferentes modificações traducionais, que incluem ubiquitinização, processo no qual as Smurfs participam, SUMOilação e acetilação (Liu e Feng, 2010).

A intensidade da atividade de TGFβ é determinada pela força do sinal que chega ao núcleo da célula, e não pela concentração extracelular do fator de crescimento, aspecto que reforça o papel dos receptores como mediadores da sinalização de TGFβ (Monteleone et al., 2001). Embora existam outras vias de sinalização para TGFβ, a via das Smads é a mais estudada e melhor caracterizada.



**Figura 3.** Sinalização de TGFβ pela via das Smads.  
Fonte: Adaptado de Pinzani e Marra, 2001

Camundongos *null* para TGF $\beta$ 1 apresentam uma alta taxa de mortalidade intra-uterina. Contudo, nascem e se desenvolvem normalmente até o término da segunda semana de vida pós-natal, quando ocorre o estabelecimento de uma aguda síndrome degenerativa. Esses animais apresentam uma acentuada resposta inflamatória sistêmica, gerando complicações cardiopulmonares que, em última instância, os leva à morte precoce, entre a terceira e quinta semana de vida (Kulkarni e Karlsson, 1993). De Andrade Sá et al. (2008) demonstraram que a administração de TGF $\beta$ 1 a animais em amamentação induz, por meio da ativação da sinalização de Smads, a inibição da proliferação celular e o estímulo à apoptose na mucosa gástrica, sugerindo um potencial papel de TGF $\beta$ 1 na regulação do crescimento pós-natal do estômago.

### **1.7 Interação entre padrão alimentar, glicocorticoides e fatores de crescimento**

A interação entre glicocorticoides e fatores de crescimento tem sido investigada em diversos sistemas biológicos. Raja et al. (1991) demonstraram que a transcrição gênica de TGF $\alpha$  é responsiva aos glicocorticoides e corregulada pela expressão de EGFR. Schaeffer et al. (2006) ratificaram esses resultados usando um modelo *in vitro*, e mostraram que o tratamento com hidrocortisona induz o aumento de RNAm para TGF $\alpha$  em células intestinais da linhagem IEC-18.

Quanto ao TGF $\beta$ , Pierce et al. (1989) demonstraram que ratos tratados com glicocorticoide sintético apresentam menor taxa de cicatrização de feridas dérmicas. No entanto, a administração de TGF $\beta$  é capaz de reverter esse quadro inibitório por meio do aumento do influxo de fibroblastos e síntese de pró-colágeno do tipo I no local da ferida. Em termos imunológicos, o efeito imunossupressor dos glicocorticoides se deve à sua capacidade de evitar a ativação de células T por múltiplos mecanismos, dentre eles o estímulo à expressão de TGF $\beta$  (Almawi e Irani-Hakime, 1998). Entretanto, TGF $\beta$  é igualmente capaz de promover o recrutamento e ativação de leucócitos tendo, portanto, um papel dual sobre as células do sistema imunológico (Wahl, 1994).

Em relação à expressão de fatores de crescimento na mucosa gástrica, Ogias et al. (2006) demonstraram que o tratamento com hidrocortisona administrado a

animais em amamentação aumenta a expressão protéica de TGF $\beta$ 1 e sua sinalização, enquanto reduz TGF $\beta$ 2.

O padrão alimentar é também um regulador da expressão dessas moléculas no estômago. Filhotes submetidos ao jejum têm reduzida distribuição de TGF $\beta$ 3 na mucosa gástrica, enquanto animais adultos apresentam um aumento dessa isoforma (Alvares et al., 2007). No entanto, o desmame precoce é capaz de modificar essa resposta, uma vez que filhotes desmamados precocemente apresentam elevada expressão de TGF $\beta$ 3 e T $\beta$ RI quando sujeitos à privação alimentar (Ogias et al., 2010a), mimetizando o que ocorre na fase adulta. Além da regulação sobre o TGF $\beta$ , o desmame precoce também aumenta a expressão de TGF $\alpha$  e EGFR no epitélio gástrico, e esse efeito está associado ao estímulo à proliferação e diferenciação celular observados nessa condição alimentar.

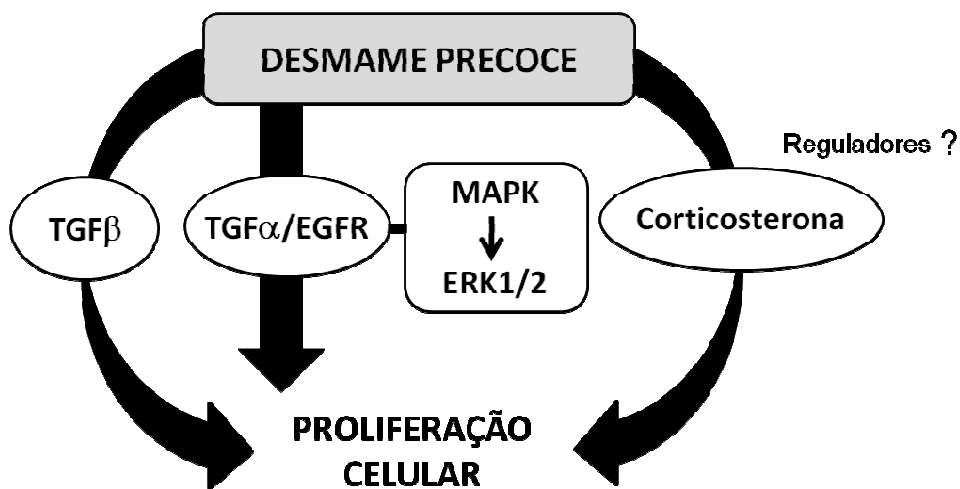
Em conjunto, esses e outros estudos sugerem uma interação entre a presença e o tipo de alimento com a regulação dos níveis circulantes de corticosterona e a expressão de fatores de crescimento.

## 7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, constatamos que:

- 1) O desmame precoce eleva a concentração plasmática de corticosterona;
- 2) A corticosterona circulante tem efeito antiproliferativo sobre a mucosa gástrica;
- 3) O mecanismo de ação da corticosterona sobre a proliferação celular não ocorre por meio da regulação dos níveis proteicos de  $TGF\alpha$  e  $TGF\beta$ ;
- 4) O padrão alimentar modula a concentração tecidual de  $TGF\alpha$  e  $TGF\beta$ 1;
- 5) A corticosterona é capaz de ativar a via de sinalização MAPK/ERK durante o estresse desencadeado pelo desmame precoce.

Estes resultados nos levam a sugerir que a ação supressora da corticosterona sobre a proliferação celular deve ocorrer de forma direta, e ser modulada pelo padrão alimentar.



**Figura 16.** Proposta de vias de regulação da proliferação celular do epitélio gástrico durante o desmame precoce.

## REFERÊNCIAS <sup>1</sup>

Akritopoulou-Zanze I, Patel JR, Hartandi K, Brennehan J, Winn M, Pratt JK, Grynfarb M, Goos-Nisson A, Von Geldern TW, Kym PR. Synthesis and biological evaluation of novel, selective, nonsteroidal glucocorticoid receptor antagonists. *Bioorg Med Chem Lett*. 2004;14(9):2079-82.

Aherne MA, Campelton MR, Wright NR. Introduction to population cell kinetics. London: Edward Arnold; 1977.

Almawi WY, Irani-Hakime N. The antiproliferative effect of glucocorticoids: is it related to induction of TGF-beta? *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13(10):2450-2.

Alvares EP, Gama P. Fasting enhances cell proliferation of gastric epithelium during the suckling period in rats. *Braz J Med Biol Res*. 1993;26(8):869-73.

Alvares EP, Jordão LR, Gama P. Differential distribution of transforming growth factor beta and receptors in the hyper or hypoproliferative gastric mucosa of developing and adult rats. *Histol Histopathol*. 2007;22(2):147-53.

Alvares EP. Extensive networks of TMPase positive basal lysosomes are present in fetal rat gastric epithelium before overt differentiation. *J Submicrosc Cytol Pathol*. 1994;26(4):515-23.

Alvares EP. The effect of fasting on cell proliferation in the gastric mucosa of the 14-day old suckling rat. *Braz J Med Biol Res*. 1992;25(6):641-9.

Attisano L, Cárcamo J, Ventura F, Weis FM, Massagué J, Wrana JL. Identification of human activin and TGF beta type I receptors that form heteromeric kinase complexes with type II receptors. *Cell*. 1993;75(4):671-80.

Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, Moizo L, Lehy T, Guerre-Millo M, Le Marchand-Brustel Y, Lewin MJ. The stomach is a source of leptin. *Nature*. 1998;394(6695):790-3.

Baram T, Koch Y, Hazum E, Fridkin M. Gonadotropin-releasing hormone in milk. *Science*. 1977;198(4314):300-2.

<sup>1</sup> De acordo com: International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. Available from: <http://www.icmje.org> [2010 April].

Beardmore JM, Richards RC. Concentrations of epidermal growth factor in mouse milk throughout lactation. *J Endocrinol.* 1983;96(2):287-92.

Beauchamp RD, Barnard JA, McCutchen CM, Cherner JA, Coffey RJ Jr. Localization of transforming growth factor alpha and its receptor in gastric mucosal cells. Implications for a regulatory role in acid secretion and mucosal renewal. *J Clin Invest.* 1989;84(3):1017-23.

Beck CA, Estes PA, Bona BJ, Muro-Cacho CA, Nordeen SK, Edwards DP. The steroid antagonist RU486 exerts different effects on the glucocorticoid and progesterone receptors. *Endocrinology.* 1993;133(2):728-40.

Björkqvist M, Dornonville de la Cour C, Zhao CM, Gagnemo-Persson R, Håkanson R, Norlén P. Role of gastrin in the development of gastric mucosa, ECL cells and A-like cells in newborn and young rats. *Regul Pept.* 2002;108(2-3):73-82.

Blanchette F, Day R, Dong W, Laprise MH, Dubois CM. TGFbeta1 regulates gene expression of its own converting enzyme furin. *J Clin Invest.* 1997;99(8):1974-83.

Bluth RF, Carpenter HA, Pittelkow MR, Page DL, Coffey RJ. Immunolocalization of transforming growth factor alpha in normal and disease human gastric mucosa. *Human Pathol.* 1995;26(12):1333-40.

Booth D, Haley JD, Bruskin AM, Potten CS. Transforming growth factor-B3 protects murine small intestinal crypt stem cells and animal survival after irradiation, possibly by reducing stem-cell cycling. *Int J Cancer.* 2000;86(1):53-9.

Boyle JT, Koldovský O. Critical role of adrenal glands in precocious increase in jejunal sucrose activity following premature weaning in rats: negligible effect of food intake. *J Nutr.* 1980;110(1):169-77.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72:248-54.

Breuner CW, Orchinik M. Plasma binding proteins as mediators of corticosteroid action in vertebrates. *J Endocrinol.* 2002;175(1):99-112.

Brittan M, Wright NA. The gastrointestinal stem cell. *Cell Prolif.* 2004;37(1):35-53.



Brummelte S, Schmidt KL, Taves MD, Soma KK, Galea LA. Elevated corticosterone levels in stomach milk, serum, and brain of male and female offspring after maternal corticosterone treatment in the rat. *Dev Neurobiol.* 2010;70(10):714-25.

Buts JP, De Meyer R, Kolanowski J. Ontogeny of cell proliferation and DNA synthesis in rat colon: role of glucocorticoids. *Am J Physiol.* 1983;244(5):G469-74.

Cadepond F, Ulmann A, Baulieu EE. RU486 (mifepristone): mechanisms of action and clinical uses. *Annu Rev Med.* 1997;48:129-56.

Chen A, Laskar-Levy O, Koch Y. Selective expression of neuropeptides the rat mammary gland: somatostatin gene is expressed during lactation. *Endocrinology.* 1999;140(12):5915-21.

Ciacci C, Lind SE, Podolsky DK. Transforming growth factor beta regulation of migration in wounded rat intestinal epithelial monolayers. *Gastroenterology.* 1993;105(1):93-101.

Citri A, Yarden Y. EGF-ERBB signalling: towards the systems level. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7(7):505-16.

Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology.* 2000;141(11):4255-61.

De Andrade Sá E, Bitencourt B, Alvares EP, Gama P. In vivo effects of TGFbeta1 on the growth of gastric epithelium in suckling rats. *Regul Pept.* 2008;146(1-3):293-302.

De Andrade Sá ER, Jordão LR, Takahashi CA, Alvares EP, Gama P. Ontogenic expression of TGFbeta 1, 2, and 3 and its receptors in the rat gastric mucosa. *Dev Dyn.* 2003;227(3):450-7.

Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling. *Nature.* 2003;425(6958):577-84.

Donovan SM, Odle J. Growth factors in milk as mediators of infant development. *Annu Ver Nutr.* 1994;14:147-167.

Dubois CM, Laprise MH, Blanchette F, Gentry LE, Leduc R. Processing of transforming growth factor beta 1 precursor by human furin convertase. *J Biol Chem.* 1995;270(18):10618-24.

Dvorák B, Koldovský O. The presence of transforming growth factor-alpha in the suckling rat small intestine and pancreas and the absence in rat milk. *Pediatr Res.* 1994;35(3):348-53.

Dvorak B, Williams CS, McWilliam DL, Shinohara H, Dominguez JA, McCuskey RS, Philipps AF, Koldovsky O. Milk-borne epidermal growth factor modulates intestinal transforming growth factor-alpha levels in neonatal rats. *Pediatr Res.* 2000;47(2):194-200.

Eastwood GL, Quimby GF, Laferriere JR. Effects of chronic steroid ingestion on gastroduodenal epithelial renewal in the rat. *Cell Tissue Kinet.* 1981;14(4):405-11.

Ekelund M, Hakanson R, Hedenbro J, Rehfeld JF, Sundler F. Endocrine cells and parietal cells in the stomach of the developing rat. *Acta Physiol Scand.* 1985;124(4):483-97.

Filaretova L, Bagaeva T, Makara GB. Aggravation of nonsteroidal antiinflammatory drug gastropathy by glucocorticoid deficiency or blockade of glucocorticoid receptor in rats. *Life Sci.* 2002;71(21):2457-68.

Filaretova L, Podvigina T, Bagaeva T, Bobryshev P, Takeuchi K. Gastroprotective role of glucocorticoid hormones. *J Pharmacol Sci.* 2007;104(3):195-201.

Fleshner M, Deak T, Spencer RL, Laudenslanger ML, Watkins LR, Maier SF. A long term increase in basal levels of corticosterone and a decrease in corticosteroid-binding globulin after acute stressor exposure. *Endocrinology.* 1995;136(12):5336-42.

Fujisawa T, Kamimura H, Hosaka M, Torii S, Izumi T, Kuwano H, Takeuchi T. Functional localization of proprotein-convertase furin and its substrate TGFbeta in EGF receptor-expressing gastric chief cells. *Growth Factors.* 2004;22(1):51-9.

Gama P, Alvares EP. Corticosterone treatment inhibits cell proliferation in the gastric epithelium of suckling rats. *J Gastroenterol.* 1998;33(1):32-38.

Gama P, Alvares EP. Early weaning and prolonged nursing induce changes in cell proliferation in the gastric epithelium of developing rats. *J Nutr.* 2000;130(10):2594-8.

Gama P, Goldfeder EM, Moraes JCB, Alvares EP. Cell proliferation and death in the gastric epithelium of developing rats after glucocorticoid treatments. *Anat Rec.* 2000;260(3):213-21.

Gleizes PE, Munger JS, Nunes I, Harpel JG, Mazziere R, Noguera I, Rifkin DB. TGF-beta latency: biological significance and mechanisms of activation. *Stem Cells.* 1997;15(3):190-7.

Göke M, Kanai M, Lynch-Devaney K, Podolsky DK. Rapid mitogen-activated protein kinase activation by transforming growth factor alpha in wounded rat intestinal epithelial cells. *Gastroenterology.* 1998;114(4):697-705.

Goldberg JR, Plescia MG, Anastasio GD. Mifepristone (RU 486): current knowledge and future prospects. *Arch Fam Med.* 1998;7(3):219-22.

Gunin AG, Nikolaev DV. Effect of acute and chronic glucocorticoid treatments on epithelial cell proliferation in the esophagus and small intestine of rats. *J Gastroenterol.* 1999;34(6):661-7.

Hartsough MT, Mulder KM. Transforming growth factor-beta signaling in epithelial cells. *Pharmacol Ther.* 1997;75(1):21-41.

Helander HF. The cells of the gastric mucosa. *Intl Rev Cytol.* 1981;70:217-89.

Henning SJ. Plasma concentrations of total and free corticosterone during development in the rat. *Am J Physiol.* 1978;235(5):E451-6

Henning SJ. Postnatal development coordination of feeding, digestion and metabolism. *Am J Physiol.* 1981;241(3):G199-214.

Holt PG, Oliver IT. Plasma corticosterone concentrations in the perinatal rat. *Biochem J.* 1968;108(2):339-41.

Hormi K, Onolfo JP, Gres L, Lebraud V, Lehy T. Developmental expression of transforming growth factor a in the upper digestive tract and pancreas of the rat. *Regul Pept.* 1995; 55(1):67-77.

Inman GJ. Linking Smads and transcriptional activation. *Biochem J.* 2005;386(Pt 1):e1-e3.

Itóh S, Landström M, Hermansson A, Itoh F, Heldin CH, Heldin NE, ten Dijke P. Transforming growth factor beta1 induces nuclear export of inhibitory Smad7. *J Biol Chem.* 1998;273(44):29195-201.

Jahnke GD, Lazarus LH. A bombesin immunoreactive peptide in milk. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1984;81(2):578-82.

Johanssen S, Allolio B. Mifepristone (RU 486) in Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2007;157(5):561-9.

Johnson LR. Functional development of the stomach. *Ann Rev Physiol.* 1985;47:199-215.

Jorissen RN, Walker F, Pouliot N, Garrett TP, Ward CW, Burgess AW. Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling. *Exp Cell Res.* 2003;284(1):31-53.

Kamimura H, Konda Y, Yokota H, Takenoshita S, Nagamachi Y, Kuwano H, Takeuchi T. Kex2 family endoprotease furin is expressed specifically in pit-region parietal cells of the rat gastric mucosa. *Am J Physiol.* 1999;277(1 Pt 1):G183-90.

Kanai M, Konda Y, Nakajima T, Izumi Y, Takeuchi T, Chiba T. TGF $\alpha$  inhibits apoptosis of murine gastric pit cells through an NF- $\kappa$ B-dependent pathway. *Gastroenterology.* 2001;121(1):56-67.

Karam SM, Leblond CP. Dynamics of epithelial cells in the corpus of the mouse stomach. I. Identification of proliferative cells and pinpointing of the stem cells. *Anat Rec.* 1993;236(2):259-79.

Karam SM. Dynamics of epithelial cells in the corpus of the mouse stomach. IV. Bidirectional migration of parietal cells ending in their gradual degeneration and loss. *Anat Rec.* 1993;236(2):314-32.

Kelly EJ, Newell SJ, Brownice KG, Farmery SM, Cullinane C, Reid WA, Jackson P, Gray SF, Primrose JN, Lagopoulos M. Role of epidermal growth factor and transforming growth factor  $\alpha$  in the developing stomach. *Arch Dis Child.* 1997;76(2):F158-162.

King KL, Cidlowski JA. Cell cycle regulation and apoptosis. *Annu Rev Physiol.* 1998;60:601-17.

Kingsley DM. The TGF-beta superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev.* 1994;8(2):133-46.

Koldovský O. Search for role of milk-borne biologically active peptides for the suckling. *J Nutr.* 1989;119(11):1543-51.

Koldovský O, Illnerova H, Macho L, Strbak V, Stepankova R. Milk-borne hormones: possible tools of communication between mother and suckling. *Physiol Res.* 1995;44(6):349-51.

Koli K, Saharinen J, Hyytiäinen M, Penttinen C, Keski-Oja J. Latency, activation, and binding proteins of TGF-beta. *Microsc Res Tech.* 2001;52(4):354-62.

Konturek PC, Ernst H, Brzozowski T, Ihlm A, Hahn EG, Konturek SJ. Expression of epidermal growth factor and transforming growth factor a after exposure of rat gastric mucosa to stress. *Scand J Gastroenterol.* 1996; 31(3):209-16.

Kuhn CM, Pauk J, Schanberg SM. Endocrine responses to mother-infant separation in developing rats. *Dev Psychobiol.* 1990;23(5):395-410.

Kulkarni AB, Karlsson S. Transforming growth factor-beta 1 knockout mice. A mutation in one cytokine gene causes a dramatic inflammatory disease. *Am J Pathol.* 1993;143(1):3-9.

Kumar V, Bustin SA, McKay IA. Transforming growth factor alpha. *Cell Biol Int.* 1995;19(5):373-388.

Kumegawa M, Takuma T, Hosoda S, Kunii S, Kanda Y. Precocious induction of pepsinogen in the stomach of suckling mice by hormones. *Biochim Biophys Acta.* 1978;543(2):243-50.

Kuwayama H, Eastwood GL. Effects of parenteral hydrocortisone sodium succinate on epithelial renewal in hamster gastric mucosa. *Dig Dis Sci.* 1988;33(9):1064-9.

Lack J, O'Leary JM, Knott V, Yuan X, Rifkin DB, Handford PA, Downing AK. Solution structure of the third TB domain from LTBP1 provides insight into assembly of the

large latent complex that sequesters latent TGF-beta. *J Mol Biol.* 2003;334(2):281-91.

Lackeyram D, Yang C, Archbold T, Swanson KC, Fan MZ. Early weaning reduces small intestinal alkaline phosphatase expression in pigs. *J Nutr.* 2010;140(3):461-8.

Lee ER, Trasler J, Dwivedi S, Leblond CP. Division of the mouse gastric mucosa into zymogenic and mucous regions on the basis of gland features. *Am J Anat.* 1982;164(3):187-207.

Lee PC, Lebenthal E. Early weaning and precocious development of small intestine in rats: genetic, dietary or hormonal control. *Pediatr Res.* 1983;17(8):645-50.

Leitlein J, Aulwurm S, Waltereit R, Naumann U, Wagenknecht B, Garten W, Weller M, Platten M. Processing of immunosuppressive pro-TGF-beta 1,2 by human glioblastoma cells involves cytoplasmic and secreted furin-like proteases. *J Immunol.* 2001;166(12):7238-43.

Letterio JJ, Geiser AG, Kulkarni AB, Roche NS, Sporn MB, Roberts AB. Maternal rescue of transforming growth factor-beta 1 null mice. *Science.* 1994;264(5167):1936-8.

Lewis JG, Bagley CJ, Elder PA, Bachmann AW, Torpy DJ. Plasma free cortisol fraction reflects levels of functioning corticosteroid-binding globulin. *Clin Chim Acta.* 2005;359(1-2):189-94.

Li G, Wang S, Gelehrter TD. Identification of glucocorticoid receptor domains involved in transrepression of transforming growth factor-beta action. *J Biol Chem.* 2003;278(43):41779-88.

Lin CH, Correia L, Tolia K, Gesell MS, Tolia V, Lee P, Luk GD. Early weaning induces jejunal ornithine decarboxylase and cell proliferation in neonatal rats. *J Nutr.* 1998;128(10):1636-42.

Lin CH, Lyons H, Seelbach MS, Tolia V, Vijesurier R. Induction of gastric ornithine decarboxylase in early weaning rats. *Digestion.* 2001;63(4):214-9.

Liu T, Feng XH. Regulation of TGF-beta signalling by protein phosphatases. *Biochem J.* 2010;430(2):191-8.

Luo JC, Chi CW, Lin HY, Chang FY, Lu CL, Chen CY, Lee SD. Dexamethasone inhibits epidermal growth factor-stimulated gastric epithelial cell proliferation. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007;320(2):687-94.

Luo JC, Lin HY, Lu CL, Wang LY, Chang FY, Lin HC, Huang YC, Ng KM, Chi CW, Lee SD. Dexamethasone inhibits basic fibroblast growth factor-stimulated gastric epithelial cell proliferation. *Biochem Pharmacol*. 2008;76(7):841-9.

Mahajan DK, London SN. Mifepristone (RU486): a review. *Fertil Steril*. 1997;68(6):967-76.

Massagué J. Identification of receptors for type-beta transforming growth factor. *Methods Enzymol*. 1987;146:174-95.

Massagué J. TGFbeta signaling: receptors, transducers, and Mad proteins. *Cell*. 1996;85(7):947-50.

Massagué J. Transforming growth factor-alpha. A model for membrane-anchored growth factors. *J Biol Chem*. 1990;265(35):21393-6.

Mehra A, Wrana JL. TGF-beta and the Smad signal transduction pathway. *Biochem Cell Biol*. 2002;80(5):605-22.

Mei J, Xu RJ. Transient changes of transforming growth factor-beta expression in the small intestine of the pig in association with weaning. *Br J Nutr*. 2005;93(1):37-45.

Milani S, Calabró A. Role of growth factors and their receptors in gastric ulcer healing. *Microsc Res Tech*. 2001;53(5):360-71.

Mills JC, Andersson N, Hong CV, Stappenbeck TS, Gordon JI. Molecular characterization of mouse gastric epithelial progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(23):14819-24.

Miyata T, Minai Y, Haga M. Impaired growth of small intestinal epithelium by adrenalectomy in weaning rats. *Acta Histochem Cytochem*. 2008;41(4):83-8.

Miyazono K, Olofsson A, Colosetti P, Heldin CH. A role of the latent TGF-beta 1-binding protein in the assembly and secretion of TGF-beta 1. *EMBO J*. 1991;10(5):1091-101.

Moeser AJ, Ryan KA, Nighot PK, Blikslager AT. Gastrointestinal dysfunction induced by early weaning is attenuated by delayed weaning and mast cell blockade in pigs. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007;293(2):G413-421.

Monteleone G, Kumberova A, Croft NM, McKenzie C, Steer HW, MacDonald TT. Blocking Smad7 restores TGF-beta1 signaling in chronic inflammatory bowel disease. *J Clin Invest*. 2001;108(4):601-9.

Nakajima N, Kuwayama H. Stimulatory effect of transforming growth factor-alpha on gastric epithelial cell migration through proliferation. *J Clin Gastroenterol*. 1995;21 (Suppl 1):S45-9.

Nanthakumar NN, Dai D, Meng D, Chaudry N, Newburg DS, Walker WA. Regulation of intestinal ontogeny: effect of glucocorticoids and luminal microbes on galactosyltransferase trehalase induction in mice. *Glycobiology*. 2005;15(3):221-32.

Ogias D, Bitencourt B, Alvares EP, Gama P. Corticosteroids induce the differential expression of TGFbeta isoforms, receptors and signaling in the gastric mucosa of suckling rats. *Regul Pept*. 2006;135(1-2):17-22.

Ogias D, de Andrade Sá ER, Alvares EP, Gama P. Opposite effects of fasting on TGF-beta3 and TbetaRI distribution in the gastric mucosa of suckling and early weanling rats. *Nutrition*. 2010a;26(2):224-9.

Ogias D, de Andrade Sá ER, Kasai A, Moisan MP, Alvares EP, Gama P. Fasting differentially regulates plasma corticosterone-binding globulin, glucocorticoid receptor and cell cycle in the gastric mucosa of pups and adult rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2010b;298(1):117-25.

Olofsson A, Miyazono K, Kanzaki T, Colosetti P, Engström U, Heldin CH. Transforming growth factor-beta 1, -beta 2, and -beta 3 secreted by a human glioblastoma cell line. Identification of small and different forms of large latent complexes. *J Biol Chem*. 1992;267(27):19482-8.

Osaki LH, Curi MA, Alvares EP, Gama P. Early weaning accelerates the differentiation of mucous neck cells in rat gastric mucosa: possible role of TGFalpha/EGFR. *Differentiation*. 2010;79(1):48-56.

Osaki LH, Figueiredo PM, Alvares EP, Gama P. TGF $\alpha$  and EGFR are involved in the control of gastric cell proliferation through the activation of MAPK and Src signaling pathways in early-weaned rats. *Cell Proliferation*. 2010 In press.



Oursler MJ, Riggs BL, Spelsberg TC. Glucocorticoid-induced activation of latent transforming growth factor-beta by normal human osteoblast-like cells. *Endocrinology*. 1993;133(5):2187-96.

Parekh TV, Gama P, Wen X, Demopoulos R, Munger JS, Carcangiu ML, Reiss M, Gold LI. Transforming growth factor beta signaling is disabled early in human endometrial carcinogenesis concomitant with loss of growth inhibition. *Cancer Res*. 2002;62(10):2778-90.

Pecci A, Alvarez LD, Veleiro AS, Ceballos NR, Lantos CP, Burton G. New lead compounds in the search for pure antiglucocorticoids and the dissociation of antiglucocorticoid effects. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2009;113(3-5):155-62.

Peitsch W, Takeuchi K, Johnson LR. Mucosal gastrin receptor. VI. Induction by corticosterone in newborn rats. *Am J Physiol*. 1981;240(6):G442-9.

Penttila IA, van Spriel AB, Zhang MF, Xian CJ, Steeb CB, Cummins AG, Zola H, Read LC. Transforming growth factor-beta levels in maternal milk and expression in postnatal rat duodenum and ileum. *Pediatr Res*. 1998;44(4):524-31.

Penttila IA. Milk-derived transforming growth factor-beta and the infant immune response. *J Pediatr*. 2010;156(2 Suppl):S21-5.

Pierce GF, Mustoe TA, Lingelbach J, Masakowski VR, Gramates P, Deuel TF. Transforming growth factor beta reverses the glucocorticoid-induced wound-healing deficit in rats: possible regulation in macrophages by platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86(7):2229-33.

Pinzani M, Marra F. Cytokine receptors and signaling in hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis*. 2001;21(3):397-416.

Playford RJ, Floyd DN, Macdonald CE, Calnan DP, Adenekan RO, Johnson W, Goodlad RA, Marchbank T. Bovine colostrum is a health food supplement which prevents NSAID induced gut damage. *Gut*. 1999;44(5):653-8.

Pohorecky LA. Interaction of ethanol and stress: research with experimental animals - an update. *Alcohol Alcohol*. 1990;25(2-3):263-76.

Raja RH, Paterson AJ, Shin TH, Kudlow JE. Transcriptional regulation of the human transforming growth factor-alpha gene. *Mol Endocrinol*. 1991;5(4):514-20.

Ramaley JA. Changes in daily serum corticosterone values in maturing male and female rats. *Steroids*. 1972;20(2):185-97.

Ramsey VG, Doherty JM, Chen CC, Stappenbeck TS, Konieczny SF, Mills JC. The maturation of mucus-secreting gastric epithelial progenitors into digestive-enzymes secreting zymogenic cells requires *Mist1*. *Development*. 2007;134(1):211-22.

Rhodes JA, Tam JP, Finke U, Sauders M, Bernanke J, Silen W, Murphy RA. Transforming growth factor alpha inhibits secretion of gastric acid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(11):3844-46.

Rockman GE, Hall A, Markert L, Glavin GB. Early weaning effects on voluntary ethanol consumption and stress responsivity in rats. *Physiol Behav*. 1987;40(5):673-6.

Rokutan K, Yamada M, Torigoe J, Saito T. Transforming growth factor-beta inhibits proliferation and maturation of cultured guinea pig gastric pit cells. *Am J Physiol*. 1998;275(3 Pt 1):G526-33.

Romano M, Krauss ER, Boland CR, Coffey RJ. Comparison between transforming growth factor alpha and epidermal growth factor in the protection of rat gastric mucosa against drug-induced injury. *Ital J Gastroenterol*. 1992;26(5):223-8.

Sapolsky RM, Meaney MJ. Maturation of the adrenocortical stress response: neuroendocrine control mechanisms and the stress hyporesponsive period. *Brain Res*. 1986;396(1):64-76.

Saqui-Salces M, Neri-Gomez T, Gamboa-Dominguez A, Ruiz-Palacios G, Camacho-Arroyo I. Estrogen and progesterone receptor isoforms expression in the stomach of Mongolian gerbils. *World J Gastroenterol*. 2008;14(37):5701-6.

Schaeffer C, Hibold C, Martin E, Lignot JH, Kedinger M, Foltzer-Jourdainne C. Cytokine expression in rat colon during postnatal development: regulation by glucocorticoids. *Gastroenterology*. 2006;43(4):439-50.

Scheving LA, Buchanan R, Krause MA, Zhang X, Stevenson MC, Russell WE. Dexamethasone modulates ErbB tyrosine kinase expression and signaling through multiple and redundant mechanisms in cultured rat hepatocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007;293(3):G552-9.

Shanks N, Lightman SL. The maternal-neonatal neuro-immune interface: are there long-term implications for inflammatory or stress-related disease? *J Clin Invest.* 2001;108(11):1567-73.

Shinohara H, Williams CS, McWilliams DL, Koldovský O, Phillips AF, Dvorak B. Transforming growth factor-alpha delays gastric emptying and small intestinal transit in suckling rats. *Scand J Gastroenterol.* 2001;36(4):356-60.

Smith F, Clark JE, Overman BL, Tozel CC, Huang JH, Rivier JE, Blikslager AT, Moeser AJ. Early weaning stress impairs development of mucosal barrier function in the porcine intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2010;298(3):G352-63.

Sporn MB, Roberts AB, Wakefield LM, de Crombrughe B. Some recent advances in the chemistry and biology of transforming growth factor-beta. *J Cell Biol.* 1987;105(3):1039-45.

Sporn MB, Roberts AB. Transforming growth factor-beta: recent progress and new challenges. *J Cell Biol.* 1992;119(5):1017-21.

Schmierer B, Hill CS. Kinetic analysis of Smad nucleocytoplasmic shuttling reveals a mechanism for transforming growth factor beta-dependent nuclear accumulation of Smads. *Mol Cell Biol.* 2005 Nov;25(22):9845-58.

Sukhotnik I, Shteinberg D, Ben Lulu S, Bashenko Y, Mogilner JG, Ure BM, Shaoul R, Shamian B, Coran AG. Transforming growth factor-alpha stimulates enterocyte proliferation and accelerates intestinal recovery following methotrexate-induced intestinal mucositis in a rat and a cell culture model. *Pediatr Surg Int.* 2008;24(12):1303-11.

Taipale J, Miyazono K, Heldin CH, Keski-Oja J. Latent transforming growth factor-beta 1 associates to fibroblast extracellular matrix via latent TGF-beta binding protein. *J Cell Biol.* 1994;124(1-2):171-81.

Takeuchi K, Peitsch W, Johnson LR. Mucosal gastrin receptor. V. Development in newborn rats. *Am J Physiol.* 1981;240(2):G163-9.

Tanigawa T, Pai R, Arakawa T, Higuchi K, Tarnawski AS. TGF-beta signaling pathway: its role in gastrointestinal pathophysiology and modulation of ulcer healing. *J Physiol Pharmacol.* 2005;56(1):3-13.

Tinnikov AA. On the role of corticosteroid-binding globulin (CBG) in modulating activity of glucocorticoids: developmental patterns for CBG, corticosterone, and a-fetoprotein levels in the rat serum. *Jpn J Physiol.* 1993;43(2):247-51.

Troyer KL, Luetkeke NC, Saxon ML, Qiu TH, Xian CJ, Lee DC. Growth retardation, duodenal lesions, and aberrant ileum architecture in triple null mice lacking EGF, amphiregulin, and TGF- $\alpha$ . *Gastroenterology.* 2001;121(1):68-78.

Tseng CC, Johnson LR. Does corticosterone affect gastric mucosal cell growth during development? *Am J Physiol.* 1986;250(5 Pt 1):G633-8.

Tseng CC, Schmidt KL, Johnson LR. Hormonal effects on development of the secretory apparatus of chief cells. *Am J Physiol.* 1987;253(3 Pt 1):G274-83.

Tsukada S, Ichinose M, Tatematsu M, Tezuka N, Yonezawa S, Kakei N, Matsushima M, Miki K, Kurokawa K, Kageyama T, et al. Glucocorticoids inhibit the proliferation of mucosal cells and enhance the expression of a gene for pepsinogen and other markers of differentiation in the stomach mucosa of the adult rat. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;202(1):1-9.

Tsukada S, Ichinose M, Yahagi N, Matsubara Y, Yonezawa S, Shiokawa K, Furihata C, Miki K, Fukamachi H. Induction of precocious pepsinogen synthesis by glucocorticoids in fetal rat gastric epithelium in organ culture: importance of mesenchyme for epithelial differentiation. *Differentiation.* 1998;62(5):239-47.

Tsutsumi S, Tomisato W, Hoshino T, Tsuchiya T, Mizushima T. Transforming growth factor- $\beta$ 1 is responsible for maturation-dependent spontaneous apoptosis of cultured gastric pit cells. *Exp Biol Med (Maywood).* 2002;227(6):402-11.

Ueyama E, Morikawa Y, Yasuda T, Senba E. Attenuation of fasting-induced phosphorylation of mitogen-activated protein kinases (ERK/p38) in the mouse hypothalamus in response to refeeding. *Neurosci Lett.* 2004;371(1):40-4.

Wahl SM. Transforming growth factor  $\beta$ : the good, the bad, and the ugly. *J Exp Med.* 1994;180(5):1587-90.

Wang ZM, Aizman R, Grahnquist L, Yasui M, Hemphälä A, Celsi G. Glucocorticoids stimulate the maturation of H,K-ATPase in the infant rat stomach. *Pediatr Res.* 1996;40(5):658-63.

Woodward CJH, Hervey GR, Oakey RE, Whitaker EM. The effects of fasting on plasma corticosterone kinetics in rats. *Br J Nutr.* 1991;66(1):117-27.

Xiao ZQ, Li J, Majumdar AP. Regulation of TGF- $\alpha$ -induced activation of AP-1 in the aging gastric mucosa. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003;285(2):G396-403.

Xiao ZQ, Majumdar AP. Increased in vitro activation of EGFR by membrane-bound TGF- $\alpha$  from gastric and colonic mucosa of aged rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001;281(1):G111-6.

Xu RJ. Development of the newborn GI tract and its relation to colostrum/milk intake: a review. *Reprod Fert Dev.* 1996;8(1):35-48.

Yeh KY, Du FW, Holt PR. Endogenous corticosterone rather than dietary sucrose as a modulator for intestinal sucrase activity in artificially reared rat pups. *J Nutr.* 1986;116(7):1334-42.

Yudt MR, Cidlowski JA. The glucocorticoid receptor: coding a diversity of proteins and responses through a single gene. *Mol Endocrinol.* 2002;16(8):1719-26.

Zahwa H, Yorty JL, Bonneau RH. Elevated maternal corticosterone during lactation hinders the neonatal adaptive immune response to herpes simplex virus (HSV) infection. *Brain Behav Immun.* 2008;22(3):339-53.

Zhu L, Hatakeyama J, Zhang B, Makdisi J, Ender C, Forte JG. Novel insights of the gastric gland organization revealed by chief cell specific expression of moesin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2009;296(2):G185-95.