

ALINE ROSA MAROSTI BOBNA

**EFEITOS DA ISQUEMIA/REPERFUSÃO INTESTINAL
SOBRE O RECEPTOR P2X₂ E NEURÔNIOS ENTÉRICOS
DO ÍLEO DE RATOS**

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

Área de concentração: Ciências Morfofuncionais

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Castelucci

Versão original

São Paulo
2011

RESUMO

BOBNA, A. R. M. **Efeitos da isquemia/reperfusão-intestinal sobre o receptor P2X₂ e neurônios entéricos do íleo de ratos.** 2011. 139 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

A isquemia é definida pelo fluxo arterial insuficiente para manter as funções e necessidades teciduais. As principais condições para a isquemia intestinal incluem transplante, trombose mesentérica aguda venosa ou arterial, embolismo e obstrução intestinal. No trato digestório a Isquemia/Reperfusão-intestinal (I/R-i) acarreta alterações morfológicas nos neurônios entéricos. Este projeto teve por objetivo analisar, no sistema nervoso entérico do íleo, os efeitos da I/R-i sobre a expressão do receptor purinérgico P2X₂ e caracterizar estas alterações sobre as diferentes classes neuronais nos plexos mioentéricos e células gliais entéricas, nos períodos de 24 horas e 1 semana de reperfusão. Foram analisados íleo de ratos dos seguintes grupos (n=5 por período): a) submetidos à cirurgia de isquemia com oclusão da artéria mesentérica superior (AMS) por 45 minutos, com pinça vascular, com reperfusão de 24 horas e 1 semana, b) ratos falsos operados, os ratos foram submetidos aos procedimentos da cirurgia, porém sem o pinçamento da AMS e c) animais controle, sem nenhuma intervenção cirúrgica. Os tecidos foram preparados para métodos imunohistoquímicos de duplas marcações do receptor P2X₂ com a Óxido Nitrico Sintase (NOS), a Acetilcolina transferase (ChAT), a calbindina (Calb), a calretinina (Calr), S100 (pan-glial) e do marcador pan-neuronal (anti-HuC/D). As análises qualitativas e quantitativas das contagens das colocalizações, das densidades neuronais e perfis neuronais foram obtidos dos microscópios da fluorescência e de Confocal de Varredura à Laser. Foram feitas análises estatísticas das colocalizações, densidade e perfil neuronal. O presente estudo demonstrou que os neurônios submetidos I/R-i da AMS e Shams, com períodos de 24 horas e 1 semana, respondem de maneira diferenciada. O receptor P2X₂ foi encontrado em todas as classes de neurônios do plexo mioentérico nos grupos CT, Sham e I/R-i de 24 h e 1 semana. Houve diminuição na colocalização do receptor P2X₂ com a NOS no grupo I/R-i 1 semana e com a ChAT e o anti-HuC/D nos grupos I/R-i 24 h e 1 semana e um aumento com o S100 no Sham e I/R-i 1 semana. A expressão e a densidade do receptor P2X₂ no grupo I/R-i 24 h, estava diminuída, porém aumentada no grupo I/R-i 1 semana. Foi observada uma diminuição da densidade e da estimativa da ChAT e do anti-HuC/D nos grupos I/R-i 24 h e 1 semana. A área do perfil neuronal apresentou um aumento dos neurônios NOS, ChAT, Calb, Dogiel II e Calr no grupo I/R-i 1 semana. Pode-se concluir que a I/R-i induz mudanças na expressão do receptor P2X₂, neurônios entéricos e células gliais entéricas que podem resultar em mudanças na motilidade intestinal.

Palavras-chave: Isquemia/Reperfusão-intestinal. Receptor P2X₂. Plexo Mioentérico. Neurônios entéricos. Código químico.

ABSTRACT

BOBNA, A.R.M. **Effects of intestinal ischemia/reperfusion on P2X₂ receptor and enteric neurons of the rats ileum.** 2011. 139 p. Masters thesis (Mestrado em Ciências Morfofuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

Ischemia is defined by insufficient blood flow to maintain the functions and tissue needs. The main conditions for transplantation include intestinal ischemia, acute mesenteric venous thrombosis or arterial embolism and intestinal obstruction. In the digestive tract Ischemia/Reperfusion-intestinal (I/R-i) causes morphological changes in enteric neurons. This project aimed to analyze in ileum enteric nervous system, the effects of I/R-i on the purinergic P2X₂ receptor expression and characterize these changes on different neuronal classes in the myenteric plexus and enteric glial cells in a 24 hour and 1 week of reperfusion. Rats Ileum were analyzed from the following groups (n = 5 per period): a) ischemic group, the superior mesenteric artery (SMA) was occluded for 45 min with an atraumatic vascular clamp and animals were sacrificed 24 hours and 1 week, b) false-operated rats, subjected to surgery procedures, but without clamping of the SMA and c) control animals without any surgical intervention. Neurons of the myenteric plexus were evaluated for immunoreactivity against the P2X₂ receptor, nitric oxide synthase (NOS), choline acetyl transferase (ChAT), calbindin (Calb), calretinin (Calr), pan-glial (S100) and pan-neuronal (anti-HuC/D). The qualitative and quantitative analysis of the counting of colocalization, neuronal density and the profile area of cell body profile were obtained from fluorescence microscopy and confocal scanning laser. Statistical analysis was made of colocalization, density and neuronal profile. The present study show that neurons of I/R-i and Sham groups of 24 hours and 1 week, respond differently. The P2X₂ receptor was in all classes of neurons in the myenteric plexus in CT, Sham and I/R-i groups of 24 h and 1 week. There was a decrease in colocalization of P2X₂ receptor with NOS in I/R-i 1 week group, the ChAT and the anti-HuC/D in I/R-i 24 hours and one week groups, and an increase in S100 in Sham and I/R-i 1 week groups. The expression and density of P2X₂ receptor was decreased in I/R-i 24 h group, but increased in group I/R-i 1 week. Was a decrease in the density and the estimative of ChAT and anti-HuC/D in I/R-i 24 hours 1 week groups. The neuronal profile area showed an increase in ChAT, Calb, Dogiel Type II and Calr in I/R-i 1 week group, which may be a cell death process. The present study demonstrated that I/R-i induces changes in expression of the P2X₂ receptor, enteric neurons and enteric glial cells that can result in changes in intestinal motility.

Key Words: Intestinal Ischemia/Reperfusion. P2X₂ Receptor. Myenteric Plexus. Enteric Neurons. Chemical Code.

1.1 Isquemia e Reperfusão Intestinal

A isquemia é definida pelo fluxo arterial insuficiente para manter as funções e necessidades teciduais, que pode ser total ou parcial. Quando classificada como total, ocorre uma interrupção no suprimento de oxigênio e nutrientes para uma determinada área, em decorrência de uma deficiência no fornecimento de sangue devido à oclusão arterial, venosa ou da microcirculação intestinal, que pode acarretar em morte tecidual (KEIGHLEY, 1998; SCANNEL et al., 1995). Quando a isquemia é parcial, mantém a viabilidade celular, porém com o risco de evoluir para a morte celular dependendo do tipo de tecido lesado e do tempo da isquemia (D´ALECY; ZELENOCK, 1990).

A isquemia aguda mesentérica é uma condição de grande emergência vascular sendo fatal na população mundial em 60% a 80% dos casos (BRADBURY et al., 1995; HEYS; BRITTENDEN; CROFTS, 1993; LOCK, 2001; SITGES-SERRA et al., 1988; STONEY; CUNNINGHAM, 1993). A isquemia mesentérica compreende um grupo de processos fisiopatológicos que levam à necrose intestinal. No entanto, há dificuldades em reconhecer a condição antes do infarto intestinal ocorrer (CLARK; GERWITZ, 1998; HEYS; BRITTENDEN; CROFTS, 1993; KALEYA; BOLEY, 1992).

As principais condições para a isquemia intestinal incluem: transplante, trombose mesentérica aguda venosa ou arterial, embolismo e obstrução intestinal (HAGLUND; BERGQVIST, 1999; MASSBERG; MESSMER, 1998). Doenças intestinais inflamatórias frequentemente podem levar a episódios de isquemia, como a Doença de Crohn e a colite ulcerativa (HAGLUND; BERGQVIST, 1999; THORNTON; SOLOMON, 2002). Além disso, a isquemia e reperfusão intestinal (I/R-i) de vasos intestinais são comuns em pacientes hospitalizados, especialmente aqueles que estão nas unidades de terapias intensivas (OLDENBURG et al., 2004).

A apresentação clínica é inespecífica na maioria dos casos e pode ser caracterizada por uma discrepância inicial entre dor abdominal intensa e mínimos sintomas clínicos. O exame físico não é uma análise confiável para diferenciar entre isquemia e infarto intestinal, pois outras complicações como obstrução, peritonite, pancreatite e sangramento gastrointestinal também podem mascarar os sinais iniciais e os sintomas da isquemia aguda mesentérica (BERNEY et al., 1998; CLARK; GERWITZ, 1998; KALEYA; BOLEY, 1992; WILCOX et al., 1995).

As artérias mais comprometidas por obstrução são do tronco celíaco, a. mesentérica superior (AMS) e a. mesentérica inferior (AMI) (SIMI, 2002). No entanto, as embolias arteriais são mais comumente localizadas na AMS, devido ao amplo ângulo de sua origem e seu curso paralelo à aorta. Êmbolos maiores geralmente obstruem dentro dos 3-8 cm distal à origem da AMS. Em contraste, a trombose aguda mesentérica geralmente ocorre no primeiro local de ramificação da AMS (ECKSTEIN, 2003).

A etiologia da obstrução arterial na isquemia mesentérica aguda pode ser por embolia, trombose, baixo fluxo sanguíneo, compressão extrínseca, vasoespasmos induzido por drogas vasoativas. Por outro lado, a oclusão venosa pode ser causada, principalmente, por trombose venosa, processos infecciosos e inflamatórios e alteração da coagulação (RIBEIRO; YOSHIDA, 2005).

A isquemia arterial inicia-se com alterações em tecidos por bloqueio do suprimento de oxigênio com alteração no metabolismo energético aeróbico. Estes fatos determinam a depleção de ATP intracelular e aumento do ATP extracelular com distúrbio na homeostase celular. Durante o processo da isquemia, ocorre acúmulo de metabólitos que direta ou indiretamente levam a lesão celular, estes eventos podem resultar em alterações progressivas celulares culminando com a necrose e/ou apoptose (CERQUEIRA; HUSSNI; YOSHIDA, 2005; GRACE, 2004).

Estudos mostram que a lesão tecidual pode ser agravada dependendo do tempo e da intensidade da isquemia e, da reperfusão quando o oxigênio é restabelecido para os tecidos (McCORD, 1985). Essa restauração no fluxo de sangue após a isquemia (reperfusão) pode aumentar as lesões no tecido ao repor esse oxigênio, pois estimula a produção de radicais livres que promove ou acelera a necrose (BODWELL, 1989; SAHNOUN; JAMOUSI; ZEGHAL, 1998; VAJDOVICH, 2008).

Morfologicamente, a necrose diferencia-se da apoptose pois na necrose a célula intumescce e a membrana plasmática colapsa e a célula é lesada. Durante a apoptose a célula encolhe, seu núcleo condensa-se e há uma desintegração e forma-se um “corpo apoptótico”. Na apoptose são observados aspectos bioquímicos como a ativação de proteases (caspases) e a fragmentação oligonucleossomal do DNA, na necrose estes eventos usualmente não estão presentes. Vários agentes podem induzir a necrose, no entanto, uma condição clássica é a isquemia que leva a uma depleção drástica de oxigênio, glicose e outros fatores tróficos e, evoca uma massiva morte de células endoteliais e/ou células não proliferativas, como por

exemplo, em neurônios (HUPPERTZ; FRANK; KAUFMANN, 1999; PROSKURYAKOV; KONOPLYANNIKOV; GABAI, 2003).

Além disso, a isquemia/reperfusão intestinal (I/R-i) no intestino delgado provoca a ruptura da barreira mucosa, translocação bacteriana e ativação de respostas inflamatórias, bem como distúrbios de equilíbrio hidroeletrolítico e ácido-alcalino, que se manifestam em órgãos distantes (JOÃO et al., 2004; TURNAGE; GUICE; OLDHAM, 1994). O processo de translocação envolve o contato inicial da bactéria com a parede do intestino, a única que pode precipitar a produção de citocinas e uma resposta inflamatória subsequente. Estudos com uso de bactérias marcadas mostraram que a translocação em ratos foi mais evidente após 24 horas de reperfusão mesentérica, indicando que o tempo é um fator significativo para translocação (JOÃO et al., 2004; TURNAGE; GUICE; OLDHAM, 1994).

Outros estudos mostram que lesões isquêmicas resultam no edemaciamento de células endoteliais, no fechamento dos capilares e redução prolongada do fluxo sanguíneo intestinal (HAGLUND; BERGQVIST, 1999; TAKADA et al., 1998).

Lindeström e Ekblad (2004) analisaram mudanças estruturais nos neurônios entéricos do íleo de ratos submetidos à I/R-i com reperfusão de 1, 24, e 72 horas e 1, 2, 4, e 10 semanas. Nesse estudo foi observado alterações nos números de neurônios acidófilos, assim como o processo de morte celular nos neurônios dos plexos submucoso e mioentérico, porém não foram estudadas as classes dos neurônios afetados e seu código químico.

Os autores Piao et al. (1999) verificaram pelas microscopia óptica e eletrônica alterações nos neurônios mioentéricos de ratos com isquemia de 4 horas, porém não foi determinada a classe neuronal.

Calcina et al. (2005) verificaram que na reperfusão de 24 horas após isquemia, havia um aumento significativo no número de neurônios mioentéricos imunorreativos ao peptídeo intestinal vasoativo (VIP-ir) e à óxido nítrico sintase (NOS-ir). Rivera et al. (2009), demonstraram em cobaias, que após 24 horas de I/R-i das aa. ileais havia edemaciamento dos neurônios NOS-ir do plexo mioentérico e uma diminuição dos neurônios Calb-ir.

Resultados do nosso laboratório têm demonstrado que a isquemia da AMS com 4 horas de reperfusão acarreta alterações morfológicas nos neurônios do plexo mioentérico que expressam o receptor P2X₂, NOS, ChAT e Calb (PAULINO et al., 2011). Resultados de isquemia de ramos da a. ileal em ratos demonstraram, com diferentes períodos de reperfusão, alterações nos neurônios que expressam receptor P2X₇, NOS e calbindina (PALOMBIT, 2010).

Milano et al. (2008) observaram que a I/R-i aumentava a expressão do mRNA dos receptores purinérgicos P2X₇ e P2Y₂ em diferentes órgãos, como os rins e pulmões. No entanto, este estudo não observou alteração com diferença significativa no intestino. Isto pode ter ocorrido porque os autores utilizaram todo o intestino delgado, sem separá-lo em regiões. Além disso, não foram analisadas a presença dos receptores nas diversas camadas da parede intestinal, como camadas musculares, vilosidades, plexos submucoso e mioentérico.

1.2 Sistema Nervoso Entérico

O sistema nervoso entérico (SNE) está contido nas paredes do trato do tubo digestório, pâncreas e sistema biliar, e consiste de dois plexos ganglionares, o plexo mioentérico e o plexo submucoso (FURNESS; COSTA, 1987; FURNESS et al., 2006). Esses plexos contêm componentes neurais, como neurônios sensoriais, interneurônios e neurônios motores que são responsáveis pelo controle de sistemas motores gastrintestinais. Dentro do plexo mioentérico, o circuito neural é predominantemente envolvido na regulação do reflexo das atividades contráteis da musculatura externa, enquanto os neurônios motores do plexo submucoso regulam a atividades secretomotora e vasomotora da mucosa (LOMAX; FURNESS, 2000).

O plexo mioentérico (de Auerbach) localiza-se entre a camada longitudinal externa e a camada do músculo circular, presente por todo trato digestório do esôfago ao reto (Fig. 1) (AUERBACH, 1864¹ apud FURNESS, 2006; SCHABADASH, 1930a², 1930b³ apud FURNESS, 2006; LI, 1940⁴ apud FURNESS, 2006). No plexo do músculo circular, existem pequenas fibras nervosas encontradas ao longo das fibras musculares. Estes ramos nervosos conectam-se com componentes preliminares e secundários do plexo mioentérico e do plexo muscular profundo no intestino delgado (FURNESS; COSTA, 1987; FURNESS, 2006).

O plexo submucoso é proeminente no intestino delgado e grosso e divide-se em plexo submucoso interno (plexo de Meissner) adjacente à mucosa, plexo submucoso externo (plexo de Schabadash ou de Henle) junto à camada muscular circular e o plexo intermediário posicionado entre os plexos submucosos interno e externo (Fig. 1). Suas malhas são menores que o plexo mioentérico, suas fibras interconectadas são mais finas e o gânglio é menor. Este

¹ AUERBACH, L. Fernere vorlaufige Mitteilung uber den Nervenapparat des Darmes. **Arch. Pathol. Anat. Physiol.**, v. 30, p. 457-460, 1864.

² SCHABADASH, A. Die Nerven des Magens der Katze. **Z. Zellforsch.**, v. 10, p. 254-319, 1930a.

³ SCHABADASH, A. Intramurale Nervengeflechte des Darmrohrs. **Z. Zellforsch.**, v. 10, p. 320-385, 1930b.

⁴ LI, P.L. The intramural nervous system of the small intestine with special reference to the innervation of the inner subdivision of its circular muscle. **J. Anat.**, v. 74, p. 348-359, 1940.

plexo localiza-se ao longo do intestino, sendo que um plexo fica próximo do músculo e o outro próximo da mucosa (HENLE, 1871⁵ apud FURNESS, 2006; GONIAEW, 1875⁶ apud FURNESS, 2006).

Estudos histológicos e fisiológicos do plexo submucoso mostram seu envolvimento no controle da atividade contrátil da musculatura da mucosa e da musculatura lisa dentro das vilosidades, na coordenação da motilidade intestinal e no controle de eletrólitos e íons e no transporte através da barreira epitelial (HOYLE; BURNSTOCK, 1989).

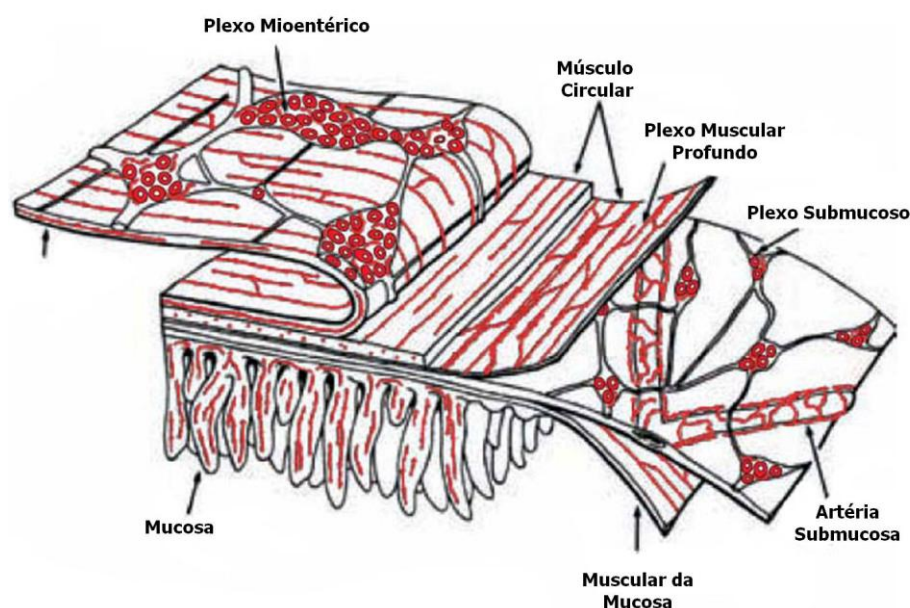


Figura 1 - Representação do sistema nervoso entérico do intestino delgado.
 FONTE: Adaptado de Furness (2006).

Essencialmente, os plexos entéricos seguem um padrão ao longo do trato digestório tubular, porém diferenças quanto à densidade e ao tamanho dos neurônios, bem como a forma dos gânglios, podem ser encontrados no mesmo segmento do trato digestório dos animais de mesma espécie e com diferentes idades (MATINI et al., 1997; MCKEOWN; CHOW; YOUNG, 2001) ou submetidos a condições experimentais, como a inflamação (BOYER et al., 2005; DE GIORGIO et al., 2004), desnutrição (CASTELUCCI et al., 2002a; GOMES et al., 2006; GREGGIO et al., 2010) e a obesidade (MIZUNO, 2010).

⁵ HENLE, J. **Handbuch der systematischen Anatomie des Menschen**. Nervenlehre: F Vieweg und Sohn. Braunschweig, 1871.

⁶ GONIAEW, K. Die Nerven des Nahrungsschlauches. **Arch. Mikr. Anat.**, v. 11, p. 479-496, 1875.

1.2.1 Tipos de neurônios entéricos

Segundo Furness (2000), pode-se identificar dezessete tipos de neurônios entéricos, quatorze destes encontrados no intestino delgado de cobaia (Fig. 2). Esses neurônios são classificados quanto sua forma, suas propriedades fisiológicas e farmacológicas, diferenças quanto ao seu código químico, estruturas que inervam e conexões que recebem (FURNESS, 2006). Dependendo da região do trato gastrintestinal onde se situam, os neurônios entéricos podem controlar a motilidade, o transporte de fluidos da mucosa e do fluxo sanguíneo local (FURNESS, 2000).

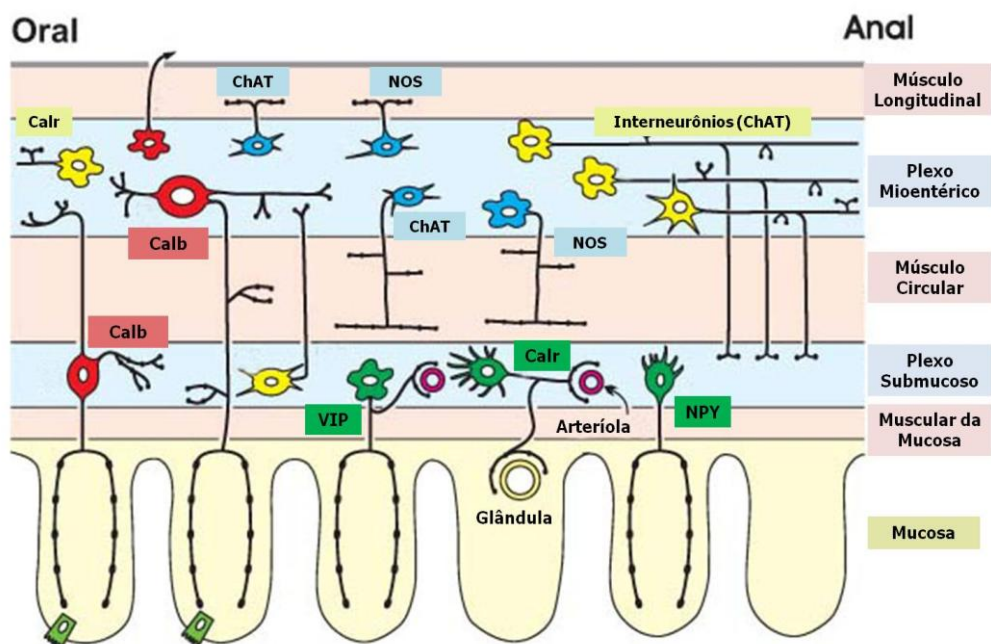


Figura 2 - Tipos de neurônios entéricos do intestino delgado de cobaia. (ChAT) Acetilcolina transferase, (NOS) Óxido Nítrico Sintase, (Calb) Calbindina, (Calr) Calretinina, (VIP) Peptídeo Intestinal Vasoativo, (NPY) Neuropeptídeo Y.
FONTE: Adaptado de Furness (2006).

De acordo com essas propriedades, os neurônios entéricos podem ser classificados em: neurônios motores, interneurônios, neurônios aferentes intrínsecos primários, neurônios secretomotores e vasomotores (Fig. 2). Os neurônios motores são divididos em: *neurônios excitatórios* dos músculos da camada circular e longitudinal, que possuem em seu código químico, entre outras substâncias, ChAT; *neurônios inibitórios*, que possuem em seu código químico a NOS e VIP, e *neurônios secretomotores/vasodilatadores* que são encontrados no plexo submucoso e podem ser colinérgicos ou não colinérgicos, tendo o primeiro em seu código químico a calretinina, e o segundo parece mediar a maioria das respostas reflexas

locais utilizando VIP ou um peptídeo relacionado, como seu transmissor primário (FURNESS, 2006). Os neurônios motores e interneurônios apresentam morfologia de neurônios Dogiel Tipo I, ou seja, apresentam muitos dendritos na sua superfície (FURNESS; COSTA, 1987; FURNESS, 2000).

Os *interneurônios* são colinérgicos e possuem a enzima ChAT, ou o ligante de cálcio, a calretinina. São identificados por neurônios com projeções em direção oral (ascendente) e três tipos de neurônios com direção anal (descendentes) (Fig. 2). Os interneurônios ascendentes possuem em seu código químico, entre outras substâncias a calretinina, e os interneurônios descendentes possuem a NOS, a somatostatina (SOM), o NPY, entre outras (FURNESS, 2006).

Os *neurônios aferentes intrínsecos primários* (IPANs) são neurônios sensoriais, encontrados nos plexos mioentérico e submucoso, possuem morfologia Dogiel tipo II, ou seja, neurônios grandes com superfície lisa. Os IPANs possuem em seu código químico, entre outras substâncias, a ChAT e a Calb (Fig. 2) (FURNESS, 2006).

Estudos demonstram que a acetilcolina é o principal neurotransmissor no trato gastrointestinal, pois está envolvido na regulação neural da motilidade e secreção (AMBACHE, 1951; KOSTERLITZ; LEES, 1964). Apesar de a acetilcolina desempenhar um papel importante como um neurotransmissor dentro do trato gastrointestinal, sua demonstração anatômica em neurônios colinérgicos no sistema nervoso entérico tem sido difícil. A acetilcolina é sintetizada no citoplasma dos neurônios a partir de colina e Acetil CoA pela enzima acetilcolina transferase (ChAT) e é transportada em vesículas de armazenamento por uma proteína chamada transportador de acetilcolina vesicular (VACHT) (ERICKSON; VAROQUI; USDIN et al., 1995). Dessa forma a enzima precursora ChAT tem sido mais utilizada para identificar estes neurônios.

O óxido nítrico (NO) no trato digestório atua como um mediador inibitório não-adrenérgico e não-colinérgico (NANC) para regular a motilidade intestinal, o reflexo peristáltico, eletrólitos da mucosa e secreções hormonais, e a permeabilidade epitelial (DANIEL et al., 1994; FUJIMIYA; YAMAMOTO; KUWAHARA, 1998; GRIDER, 1993; JIN et al., 1996; KUBES, 1992).

A Calb desempenha um papel primordial na regulação da concentração intracelular do Ca^{2+} e é expressa em populações específicas do sistema nervoso central (GOODMAN et al., 1993; YENARI et al., 2001) e SNE (CREMA; FRIGO; LECCHINI, 1970; FURNESS et al., 1995; LANGLEY; MAGNUS, 1905).

A Calr, assim como a Calb, é uma proteína ligante de cálcio, que tem sido utilizada como um marcador de diferentes classes funcionais de neurônios, principalmente nos interneurônios. Essa proteína não é específica de neurônios da mesma classe, está distribuída em neurônios de diferentes regiões e espécies (BELAI; BURNSTOCK, 1999; SANG; YOUNG, 1996).

Estudos demonstraram que a proteína ligante de Ca^{2+} apresenta um efeito de proteção em neurônios em processos de isquemia ou de excitotoxicidade, sendo que durante esses processos a proteína é expressa pelos neurônios e também pelos astrócitos (BAIMBRIDGE; CELIO, 1992; GOODMAN et al., 1993; TOYOSHIMA et al., 1996; YENARI et al., 2001).

Dessa forma, neste trabalho foram utilizados os anticorpos que marcam a ChAT para os neurônios excitatórios; a NOS que marca a enzima precursora do neurotransmissor NO para neurônios inibitórios; a Calr que se encontram nos interneurônios; a Calb que é uma proteína presente em neurônios sensoriais e o anti-HuC/D que é uma proteína presente em todos os neurônios, é utilizado como pan-neuronal.

1.2.2 Células Gliais Entéricas

Nos gânglios nervosos do trato gastrintestinal são encontradas as células gliais entéricas. Estes gânglios aparecem como uma estrutura compacta, circundada por uma membrana e isolada de tecido conjuntivo, onde todos os espaços são ocupados por neurônios e estruturas gliais. Essas células estão conectadas por junções 'gap', que dão a impressão de um entrelaçamento íntimo e complexo de neurônios e células gliais (GABELLA, 1970).

As células gliais, devido a sua proximidade com os neurônios entéricos, tem por função dar suporte a esses neurônios (Fig. 3). Recentes estudos têm demonstrado que as células gliais também tem um importante papel na homeostase neuronal, na função imune e da neurotransmissão, na motilidade gastrintestinal e em processos inflamatórios. Além disso, as células gliais entéricas se distribuem nos gânglios entéricos de maneira que um déficit de sua função poderia afetar o desenvolvimento dessa arquitetura neuronal e a coordenação da sua função (BASSOTTI et al., 2007a; 2007b; RÜHL, 2005).

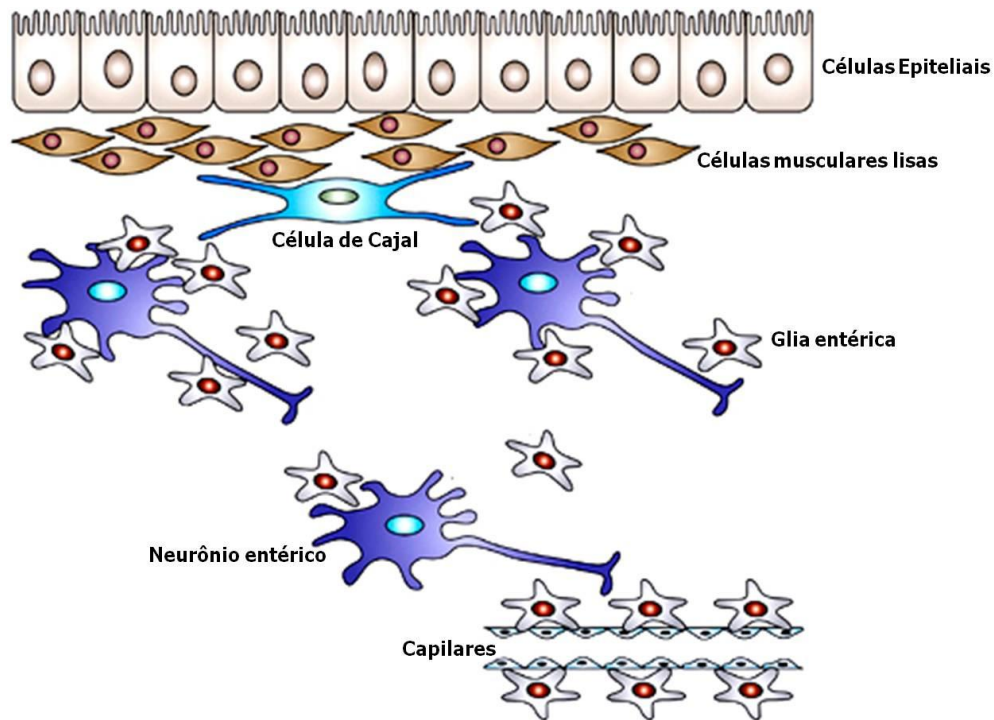


Figura 3 - Distribuição das células gliais entéricas no SNE.
 FONTE: Adaptado de Bassoti (2007).

A resposta do sistema nervoso a várias lesões resulta na ativação das células gliais (ENG, 1988; LOPACHIN; ASCHNER, 1993; O'CALLAGHAN, 1993). Essa ativação tem sido sugerida como um mecanismo de sinalização precoce, responsáveis pela degeneração neuronal subsequente (GIULIAN et al., 1994). Estudos têm demonstrado que as células gliais entéricas podem ter um papel em processos inflamatórios, como na doença de Crohn, pela sua interação com linfócitos que respondem ativamente à inflamação atraindo células do sistema imunológico (CORNET, 2001; GEBOES; COLLINS, 1998; HIRATA, 1986; KORETZ, 1987; RÜHL, 2001).

Estudos destacam também a possibilidade de que assim como os astrócitos do sistema nervoso central, as células gliais, são participantes ativas na fisiologia sináptica, pois expressam receptores para neurotransmissores, enzimas biossintéticas, transportadores de recaptadores e degradação de enzimas de neurotransmissores e liberação *in vitro* de neurotransmissores (AGULHON; PETRAVICZ; MC MULLEN, 2008; BRAUN; SEVIGNY; ROBSON, 2004; JESSEN; MIRSKY, 1983; KIMBALL; MULHOLLAND, 1996; RUHL, 2005; VANDERWINDEN; TIMMERMANS; SCHIFFMANN, 2003; ZHANG; SEGURA; LIN, 2003).

Para a identificação das células gliais utiliza-se frequentemente métodos imunohistoquímicos, como a marcação de células pela expressão da vimentina e GFAP

(JESSEN; MIRSKY, 1980, 1983). Outro marcador, que tem sido utilizado com mais êxito, é a proteína S100, que é encontrada exclusivamente nesse tipo de célula. Essa proteína regula a estrutura e função do citoesqueleto e a homeostase do cálcio no citoplasma das células gliais (FERRI et al., 1982; HEIZMANN, 2002; KRAMMER et al., 1994).

Com relação à marcação de receptores purinérgicos nas células gliais entéricas, foram observadas a presença de receptores purinérgicos P2X₇ e P2Y₄, em condições normais das células gliais entéricas do intestino delgado e grosso de ratos e cobaias (GULBRANSEN; SHARKEY, 2009; VANDERWINDEN; TIMMERMANS; SCHIFFMANN, 2003; VAN NASSAUW et al., 2003).

1.3 Receptores Purinérgicos P2X e Sistema Nervoso Entérico

Indício da existência da sinalização purinérgica foi primeiramente publicada por Drury e Szent-Györgyi (1929)⁷ apud Burnstock (2007), onde foram descritas as ações potentes de compostos adenina. Mais tarde, Burnstock (1972) introduziu o termo purinérgico, quando verificou que o ATP era responsável pela transmissão não-adrenérgica e não-colinérgica no intestino e bexiga. Inicialmente esse conceito de sinalização purinérgica encontrou resistência no meio científico, devido o ATP ser reconhecido primeiramente por seu importante papel intracelular em muitos processos bioquímicos, e a idéia de que um composto simples agindo como um mensageiro extracelular era considerado improvável (BURNSTOCK, 2007).

Baseado nesse conceito de neurotransmissão purinérgica, Burnstock (1976), propôs ações potentes do ATP extracelular sobre os receptores, que chamou de receptores purinérgicos, presentes nas membranas de diferentes tipos de células. Posteriormente, estudos farmacológicos definiram uma primeira divisão dos receptores purinérgicos em P1 e P2 (BURNSTOCK, 1978). Mais tarde, Abbrachio e Burnstock (1998), baseados em estrutura molecular e mecanismos de transdução, propuseram que os receptores purinérgicos deveriam pertencer a duas grandes famílias: a P2X, receptores ligados a canais iônicos; e o P2Y, receptores acoplados à proteína G.

Atualmente essa nomenclatura tem sido amplamente adotada, e sete subtipos de P2X têm sido reconhecidos (P2X₍₁₋₇₎), assim como oito subtipos de P2Y (P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆, P2Y₁₁, P2Y₁₂, P2Y₁₃ e P2Y₁₄) (ABBRACHIO et al., 2009; BURNSTOCK, 2007).

⁷ DRURY, A. N.; SZENT-GYÖRGYI, A. The physiological activity of adenine compounds with special reference to their action upon the mammalian heart. **J. Physiol.**, v. 68, p. 213-237, 1929.

Os receptores P2X estão presentes na maioria dos neurônios do plexo mioentérico de cobaias, onde o ATP despolariza rapidamente cerca de 70 a 90% desses neurônios (BARAJAS-LÓPEZ et al, 1996; ZHOU; GALLIGAN, 1996). Após essa despolarização, os receptores P2X acoplados a canais iônicos medeiam rapidamente (dentro de 10 ms) e seletivamente a permeabilidade para cátions (Na^+ , K^+ e Ca^{2+}) (NORTH; SURPRENANT, 2000).

Por meio de drogas agonistas e antagonistas, aplicadas em partes selecionadas dos circuitos entéricos nervosos, Bian, Bertrand e Bornstein (2000) e Spencer, Walsh e Smith, (2000) demonstraram que os receptores purinérgicos estão envolvidos nas sinapses entre interneurônios descendentes e neurônios motores, e na transmissão de neurônios motores ascendentes (excitatórios). Através de métodos imunohistoquímicos a presença de receptores no SNE foram observados, assim os receptores P2X₁ e P2X₂ foram identificados por Vulchanova et al. (1996) e o receptor P2X₇ por Hu et al. (2001)

Os receptores P2X são encontrados em células musculares lisas, neurônios e células gliais, onde apresentam um papel de mediador na neurotransmissão excitatória rápida no sistema nervoso central e periférico (ABBRACHIO et al., 2009; RALEVIC; BURNSTOCK, 1998).

No SNE, Castelucci et al. (2002b) demonstraram, pela primeira vez, a presença do receptor P2X₂ nos neurônios NOS-ir e Calb-ir. As varicosidades das fibras nervosas com imunorreatividade para o receptor P2X₂ foram encontradas no gânglio mioentérico gástrico. Estas fibras desapareceram após a secção do nervo vago. Desta maneira, concluiu-se que o receptor P2X₂ se expressa em neurônios motores inibitórios, neurônios secretomotores não colinérgicos, em neurônios aferentes intrínsecos primários e em terminações aferentes vagais no estômago.

No plexo submucoso de cobaias o receptor P2X₂ foi identificado em todos os neurônios imunorreativos a VIP e a Calb. No entanto esses animais não apresentaram o receptor P2X₂ nos neurônios NPY e Calr (CASTELUCCI et al., 2002b). Também, foi reportada a imunorreatividade do receptor P2X₂ nas terminações nervosas intra-ganglionares laminares (IGLEs) no trato gastrintestinal de camundongos (CASTELUCCI; ROBBINS; FURNESS, 2003).

Ao analisar outra subunidade dos receptores P2X, Poole et al. (2002) observaram o purinoreceptor P2X₃ nos neurônios motores inibitórios e nos neurônios secretomotores não-colinérgicos.

As mudanças na expressão dos receptores purinérgicos P2X₁₋₇ são frequentemente observados nos diferentes tipos celulares e tecidos, não somente como uma consequência da maturação neuronal e diferenciação, mas também das várias condições patológicas como: lesões agudas no sistema nervoso central, como isquemia, hipóxia, estresse mecânico, axôtiotomia e inflamação. Os mecanismos purinérgicos podem estar envolvidos nas etiopatogênias de muitas condições neurodegenerativas, especialmente por causa da grande liberação extracelular de ATP, adenosina e outros neurotransmissores. A relação entre as mudanças na expressão do receptor P2 e a resposta específica dos diferentes tipos celulares para a injúria é extremamente complexa, e pode ser relativo para efeitos nocivos e/ou benéficos (FRANKE; ILLES, 2006).

Resultados recentes do nosso laboratório têm demonstrado alterações no código químico dos receptores purinérgicos no íleo (MISAWA et al., 2010) e colo distal de animais desnutridos e renutridos (GIROTTI, 2008), no íleo de camundongos obesos (MIZUNO, 2010) e, isquemia com reperfusão intestinal (PALOMBIT, 2010; PAULINO et al., 2011).

A importância deste trabalho está em demonstrar de maneira original, no SNE do íleo os efeitos da I/R-i da AMS sobre a expressão do receptor purinérgico P2X₂ e caracterizar estas alterações sobre as diferentes classes neuronais no plexo mioentérico e células gliais entéricas do íleo de ratos, nos períodos de 24 horas e 1 semana de reperfusão.

Com base nos resultados obtidos conclui-se que:

1. O modelo de isquemia/reperfusão intestinal de oclusão da AMS demonstrou ser um modelo eficiente, pois provoca alterações nos neurônios e células gliais entéricas no SNE;
2. O receptor P2X₂ foi encontrado em todas as classes neuronais e células gliais entéricas dos grupos estudados, porém a I/R-i afetou a colocalização do receptor com os neurônios NOS-ir, ChAT-ir e anti-HuC/D no grupo de 1 semana;
3. A I/R-i afetou a densidade e estimativa dos neurônios ChAT-ir, Calr-ir e Anti-HuC/D nos grupos de 24 horas e 1 semana;
4. A Isquemia/Reperfusão levou a um aumento na quantidade de células gliais entéricas nos grupos I/R-i 24 h e 1 semana, que eram imunorreativas ao receptor P2X₂;
5. Por meio da I/R-i foi constatado o edemaciamento dos neurônios NOS-ir, ChAT-ir, Calb-ir, Dogiel II-ir e Calr-ir no grupo I/R-i 1 semana.
6. O grupo Sham apresentou alterações nas colocalizações, densidades e estimativas, como provável consequência da manipulação visceral;
7. A parede do íleo apresentou poucas alterações qualitativas no grupo I/R-i 24 h, ao ser analisada pelo método H.E.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS*

- ABBRACHIO, M. P.; BURNSTOCK, G. Purinergic signalling: patophysiological roles. **Jpn. J. Pharmacol.**, v. 78, p. 113-143, 1998. doi:10.1254/jjp.78.113.
- ABBRACCHIO, M. P.; BURNSTOCK, G.; VERKHRATSKY, A.; ZIMMERMANN, H. Purinergic signaling in the nervous system: an overview. **Trends of Neuroscience**, v. 32, n. 1, p. 19-29, 2009. doi:10.1016/j.tins.2008.10.001.
- ABBRACCHIO, M. P.; CERUTI, S.; BOLEGO, C.; PUGLISI, L.; BURNSTOCK, G.; CATTABENI, F. Trophic roles of P2-purinoceptors in central nervous system astroglial cells. **Ciba Found Symp.**, v. 198, p. 142-148, 1996.
- AGULHON, C.; PETRAVICZ, J.; MCMULLEN, A. B. What is the role of astrocyte calcium in neurophysiology? **Neuron**, v. 59, p. 932-946, 2008. doi:10.1016/j.neuron.2008.09.004.
- AMBACHE, N. Unmasking, after cholinergic paralysis by botulinum toxin, of a reversed action of nicotine on the mammalian intestine, revealing the probable presence of local inhibitory ganglion cells in the enteric plexuses. **Br. J. Pharmacol.**, v. 6, p. 51-67, 1951.
- AOKI, N.; SIEGFRIED, M.; TSAO, P.; LENTO, P.; LEGER, A. Beneficial mechanisms of action of a prostacyclin enhancing agent in splanchnic artery occlusion shock. **Chem. Pathol. Pharm.**, v. 60, p. 775-789, 1988.
- BAIMBRIDGE, K. G.; CELIO, M. R. Calcium-binding proteins in the nervous system. **Trends Neurosci.**, v. 15, n. 8, p. 303-308, 1992. doi:10.1016/0166-2236(92)90081-I.
- BARAJAS-LÓPEZ, C.; HUIZINGA, J. D.; COLLINS, S. M.; GERZANICH, V.; ESPINOSA, R.; PERES, A. L. P2X- Purinoreceptors of myenteric neurons from the guinea-pig ileum and their unusual pharmacological properties. **Br. J. Pharmacol.**, v. 119, p. 1541-1548, 1996.
- BASSOTTI, G. et al. Enteric glial cells: new players in gastrointestinal motility? **Lab. Invest.**, v. 87, n. 7, p. 628-632, 2007a. doi:10.1038/labinvest.3700564.
- BASSOTTI, G. et al. Enteric neuropathology of the terminal ileum in patients with intractable slow transit constipation. **Hum. Pathol.**, v. 37, p. 1252-1258, 2006b. doi:10.1016/j.humpath.2006.04.027.
- BASSOTTI, G. et al. Enteric glial cells and their role in gastrointestinal motor abnormalities: introducing the neuro-gliopathies. **World J. Gastroenterol.**, v. 13, n. 30, p. 4035-4041, 2007b.
- BASSOTTI, G. et al. The role of glial cells and apoptosis of enteric neurones in the neuropathology of intractable slow transit constipation. **Gut**, v. 55, p. 41-46, 2006a. doi: 10.1136/gut.2005.073197.

*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BECK, M.; SCHLABRAKOWSKI, A.; SCHRÖDL, F.; NEUHUBER, W.; BREHMER, A. ChAT and NOS in human myenteric neurons: co-existence and co-absence. **Cell Tissue Res.**, v. 338, p. 37-51, 2009. doi 10.1007/s00441-009-0852-4.

BELAI, A.; BURNSTOCK, G. Distribution and colocalization of nitric oxide synthase and calretinin in myenteric neurons of developing, aging, and Crohn's disease human small intestine. **Dig. Dis. Sci.**, v. 44, n. 8, p. 1579-1587, 1999.

BERLAND, T.; OLDENBURG, W. A. Acute mesenteric ischemia. **Curr. Gastroenterol. Rep.**, v. 10, p. 341-346, 2008.

BERNEY, T.; MORALES, M.; BROQUET, P. E.; MENTHA, G.; MOREL, P. Risk factors influencing the outcome of portal and mesenteric vein thrombosis. **Hepatogastroenterology**, v. 45, p. 2275-2281, 1998.

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

BODWELL, W. Ischemia, reperfusion, and reperfusion injury: role of oxygen free radicals and oxygen free radical scavengers. **J. Cardiovasc. Nurs.**, v. 4, p. 25-32, 1989.

BOYER, L.; GHOREISHI, M.; TEMPLEMAN, V.; VALLENCE, B. A.; BUCHAN, A. M.; JEVON, G.; JACOBSON, K. Myenteric plexus injury and apoptosis in experimental colitis. **Auton. Neurosc.**, v. 117, p. 41-53, 2005. doi:10.1016/j.autneu.2004.10.006.

BRADBURY, A. W.; BRITTENDEN, J.; MCBRIDE, K.; RUCKLEY, C. V. Mesenteric ischaemia: a multidisciplinary approach. **Br. J. Surg.**, v. 82, p. 1446-1459, 1995. doi: 10.1002/bjs.1800821105.

BRADLEY, J. S.; PARR, E. J.; SHARKEY, K. A. Effects of inflammation on cell proliferation in the myenteric plexus of the guinea-pig ileum. **Cell Tissue Res.**, v. 289, n. 3, p. 455-61, 1997.

BRANDÃO, M. C. S.; DE ANGELIS, R. C.; DE-SOUZA, R. R.; FROES, L. B.; LIBERTI, E. A.; Effects of pre- and postnatal protein energy deprivation on the myenteric plexus of the small intestine: a morphometric study in weanling rats. **Nutrition Research**, v. 23, n. 2, p. 215-223, 2003. doi:10.1016/S0271-5317(02)00459-1.

BRAUN, N.; SEVIGNY, J.; ROBSON, S. C. Association of the ecto-ATPase NTPDase2 with glial cells of the peripheral nervous system. **Glia**, v. 45, p. 124-132, 2004. doi: 10.1002/glia.10309.

BREHMER, A.; SCHRÖDL, F.; NEUHUBER, W. Morphological phenotyping of enteric neurons using neurofilament immunohistochemistry - Cell Tissue Res try renders chemical phenotyping more precise in porcine ileum. **Histochem Cell Biol.**, v. 117, p. 257-263, 2002. doi:10.1007/s00418-001-0373-z.

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

BURNSTOCK, G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission. **Physiol. Rev.**, v. 87, p. 659-797, 2007. doi:10.1152/physrev.00043.2006.

BURNSTOCK, G. Purine and pyrimidine receptors Cell. Mol. **Life Sci**, v. 64, p. 1471-1483, 2007. doi: 10.1007/s00018-007-6497-0.

Burnstock, G. Purinergic nerves. **Pharmacol. Rev.**, v. 24, p. 509–58, 1972.

BURNSTOCK, G. Purinergic receptors. **J. Theor. Biol.**, v. 62, p. 491, 1976. doi:10.1016/0022-5193(76)90133-8.

BURNSTOCK, G. A basis for distinguishing two types of purinergic receptor. In: STRAUB, R. W.; BOLIS, L. (Ed.) **Cell Membrane Receptors for Drugs and Hormones: A Multidisciplinary Approach**. New York: Raven Press, 1978. p. 107–118.

BURRONE, J.; MURTHY, V. N. Synaptic plasticity: rush hour traffic in the AMPA lanes. **Curr. Biol.**, v. 11, n. 7, p. 274-277, 2001. doi:10.1016/S0960-9822(01)00137-3.

CABARROCAS, J.; SAVIDGE, T. C.; LIBLAU, R. S. Role of enteric glial cells in inflammatory bowel disease. **Glia**, v. 41, p. 81-93, 2003.

CALCINA, F.; BAROCELLI, E.; BERTONI, S.; FUROKAWA, O.; KAUNITZ, J.; IMPICCIATORE, M.; STERNINI, C. Effect of *n*-methyl-d-aspartate receptor blockade on neuronal plasticity and gastrointestinal transit delay induced by ischemia/reperfusion in rats. **Neuroscience**, v. 134, p. 39-49, 2005. doi:10.1016/j.neuroscience.2005.03.052.

CASTELUCCI, P.; DE SOUZA, R. R.; DE ANGELIS, R. C.; FURNESS, J. B.; LIBERTI, E. A. Effects of pre- and postnatal protein deprivation and postnatal refeeding on myenteric neurons of the rat large intestine: a quantitative morphological study. **Cell Tissue Res.**, v. 310, n. 1, p. 1-7, 2002a. doi:10.1007/s00441-002-0615-y.

CASTELUCCI, P.; ROBBINS, H. L.; POOLE, D. P.; FURNESS, J. B. The distribution of purine P2X₂ receptors in the guinea pig enteric nervous system. **Histochem. Cell Biol.**, v. 117, p. 415-422, 2002b. doi:10.1007/s00418-002-0404-4.

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

CERQUEIRA, N. F.; HUSSNI, C. A; YOSHIDA, W. B. Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review. **Acta Cir. Bras.**, v. 20, n. 4, p. 336-343, 2005.

CHIOCCHETTI, R.; GRANDIS, A.; BOMBARDI, C.; LUCCHI, M. L.; DAL LARGO, D. T; BORTOLAMI, R.; FURNESS, J. B. Extrinsic and intrinsic sources of calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the lamb ileum: a morphometric and neurochemical investigation. **Cell Tissue Res.**, v. 323, p. 183-196, 2006. doi:10.1007/s00441-005-0075-2.

CLARK, E. T.; GERWITZ, B. L. Mesenteric ischemia. In: HALL, J. B.; SCHMIDT, G. A.; WOOD, L. D. (Ed.). **Principles of Critical Care**. New York: McGraw-Hill Co, 1998. p. 1279-1286.

COLLINS, S. M. The immunomodulation of enteric neuromuscular function: implications for motility and inflammatory disorders. **Gastroenterology**, v. 111, n. 6, p. 1683-99, 1996.

CORNET, A.; SAVIDGE, T. C.; CABARROCAS, J.; DENG, W. L.; COLOMBEL, J. F.; LASSMANN, H.; DESREUMAUX, P.; LIBLAU, R. S. Enterocolitis induced by autoimmune targeting of enteric glial cells: a possible mechanism in Crohn's disease? **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 98, p. 13306-13311, 2001. doi:10.1073/pnas.231474098.

COSTA, M.; FURNESS, J. B.; POMPOLO, S.; BROOKES, S. J. H.; BORNSTEIN, J. C.; BREDT, D. S.; SNYDER, S. H. Projections and chemical coding of neurons with immunoreactivity for nitric oxide synthase in the guinea-pig small intestine. **Neurosci. Lett.**, v. 148, p. 121-125, 1992a.

COSTA, M.; BROOKES, S. J. H.; WATERMAN, S.; MAYO, R. Enteric neuronal circuitry and transmitters controlling intestinal motor function. In: HOLLE, G. E.; WOOD, J. P. (Ed.) **Advances in the innervations of the gastrointestinal tract**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1992b. p. 115-121.

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

CREMA, A.; FRIGO, G. M.; LECCHINI, S. A. Pharmacological analysis of the peristaltic reflex in the isolated colon of the guinea-pig or cat. **Br. J. Pharmacol.**, n. 39, p. 334-345, 1970.

DANIEL, E. E.; HAUGH, C.; WOSKOWSKA, Z.; CIPRIS, S.; JURY, J.; FOX-THRELKELD, J. E. T. Role of nitric oxide-related inhibition in intestinal function: relation to vasoactive intestinal polypeptide. **Am. J. Physiol.**, v. 266, p. 31-39, 1994.

D'ALECY, L. G.; ZELENOCK, G. B. Pathophysiology of ischemia and hypoxia. In: ZELENOCK, G. B.; D'ALECY, L. G.; SHLAFFER, M.; FANTONE, III J. C.; SATANLEY, J. C. (Ed.) **Clinical ischemic syndromes: mechanisms and consequences of tissue injury**. St Louis: The CV Mosby Company, 1990. p. 147-158.

DAVALOS, D.; GRUTZENDLER, J.; YANG, G.; KIM, J. V.; ZUO, Y.; JUNG, S.; LITTMAN, D. R.; DUSTIN, M. L.; GAN, W. B. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. **Nature Neurosci.**, v. 8, p. 752-758, 2005.

DE GIORGIO, R. et al. Inflammatory neuropathies of the enteric nervous system. **Gastroenterology**, v. 126, p. 1872-1883, 2004.

DURAKBASA, C. U.; DAGLI, T. E.; MOUNI, H.; HAKLAR, G.; BILSEL, A. S.; YUKSEL, M.; AKTAN, A. O. Nitric oxide and endothelin relationship in intestinal ischemia/reperfusion injury. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 59, p. 379-383, 1998.

DVORAK, A. M.; ONDERDONK, A. B.; MCLEOD, R. S.; MONAHAN-EARLEY, R. A.; CULLEN, J.; ANTONIOLI, D. A.; BLAIR, J. E.; MORGAN, E. S.; CISNEROS, R. L.; ESTRELLA, P. Axonal necrosis of enteric autonomic nerves in continent ileal pouches. Possible implications for pathogenesis of Crohn's disease. **Ann. Surg.**, v. 217, p. 260- 271, 1993.

ECKSTEIN, H. H. Acute mesenteric ischemia. Resection or reconstruction? **Chirurg.**, v. 74, n. 5, p. 419-431, 2003. doi:10.1007/s00104-003-0630-x.

ENG, L. F. Astrocytic response to injury. In: REIER, R.; BUNGE, R.; SEIL, F. (Ed.) **Current Issues in Neural Regeneration Research**. New York: Alan R Liss, 1988. p. 247-255.

ERICKSON, J. D; VAROQUI, R. T. I.; USDIN, T. B. Functional identification of a vesicular acetylcholine transporter and its expression from a "cholinergic" gene locus. **J. Biol. Chem.**, v. 269, p. 21929-21932, 1994.

FERRI, G. L.; PROBERT, L.; COCCHIA, D.; MICHETTI, F.; MARANGOS, P. J, POLAK, J. M. Evidence for the presence of S-100 protein in the glial component of the human enteric nervous system. **Nature**, v. 297, p. 409-410, 1982. doi:10.1038/297409a0.

FIELDS, R. D.; BURNSTOCK, G. Purinergic signalling in neuron-glia interactions. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 6, p. 423-436, 2006.

FLETCHER, E. L.; CLARK, M. J.; FURNESS, J. B. Neuronal and glial localization of GABA transporter immunoreactivity in the myenteric plexus. **Cell Tissue Res.**, v. 308, n. 3, p. 339-346, 2002.

FRANKE, H.; ILLES, P. Involvement of P2 receptors in the growth and survival of neurons in the CNS. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 109, p. 297-324, 2006. doi:10.1016/j.pharmthera.2005.06.002.

FRANKE, H.; KRÜGEL, U.; ILLES, P. P2 receptors and neuronal injury. **Pflugers Arch.**, v. 452, p. 622-644, 2006. doi:10.1007/s00424-006-0071-8.

FUJIMIYA, M.; YAMAMOTO, H.; KUWAHARA, A. Effect of VIP and PACAP on basal release of serotonin from isolated vascularly and luminally perfused rat duodenum. **Am. J. Physiol.**, v. 275, p. 731-739, 1998.

FUJISE, T.; IWAKIRI, R.; WU, B.; AMEMORI, S.; KAKIMOTO, T.; YOKOYAMA, F.; SAKATA, Y.; TSUNADA, S.; FUJIMOTO, K. Apoptotic pathway in the rat small intestinal mucosa is different between fasting and ischemia-reperfusion. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.**, v. 291, p. G110–G116, 2006.

FURNESS, J. B.; COSTA, M. **The enteric nervous system**. England: Churchill Livingstone, 1987.

FURNESS, J. B.; JONES, C.; NURGALI, K.; CLERC, N. Intrinsic primary afferent neurons and nerve circuits within the intestine. **Progress in Neurobiology**, v. 72, p. 143–164, 2004.

FURNESS, J. B.; JOHNSON, P. J.; POMPOLO, S.; BORNSTEIN, J. C. Evidence that enteric motility reflexes can be initiated through entirely intrinsic mechanisms in the guinea-pig small intestine. **Neurogastroenterol. Mot.**, v. 7, p. 89-96, 1995.

FURNESS, J. B. Types of neurons in the enteric nervous system. **J. Autonom. Nerv. Syst.**, v. 81, p. 87-96, 2000. doi:10.1016/S0165-1838(00)00127-26.

FURNESS, J. B. **The enteric nervous system**. Austrália: Blackwell Publishing, 2006.

GABELLA, G. Neuron size and number in the myenteric plexus of the newborn and adult rat. **J. Anat.**, v. 109, n. 1, p. 81-95, 1971.

GABELLA, G. Glial cells in the Myenteric Plexus. **Z. Naturforsch.**, v. 26b, p. 244-245, 1970.

GEBOES, K.; COLLINS, S. Structural abnormalities of the nervous system in Crohn's disease and ulcerative colitis. **Neurogastroenterol Motil.**, v. 10, p. 189-202, 1998.

GIROTTI P. A. **Análise morfoquantitativa dos neurônios mioentéricos e submucosos imunorreativos aos receptores purinérgicos P2X₂ e P2X₇, ao óxido nítrico sintase, a calretinina, a calbindina e a colina acetil transferase (ChAT) do colo distal de ratos submetidos à desnutrição protéica e à renutrição protéica**. 2008. 145 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

GIARONI, C.; DE PONTI, F.; COSENTINO, M.; LECCHINI, S.; FRIGO, G. Plasticity in the Enteric Nervous System. **Gastroenterology**, v. 117, p. 1438-1458, 1999.

GIULIAN, D.; LI, J.; LEARA, B.; KEENEN, C. Phagocytic microglia release cytokines and cytotoxins that regulate the survival of astrocytes and neurons in culture. **Neurochem. Int.**, v. 25, p. 227-233, 1994.

GOMES, A. O.; CASTELUCCI, P.; DE VASCONCELLOS FONTES, R. B.; LIBERTI, E. A. Effects of pre- and postnatal protein deprivation and postnatal refeeding on myenteric neurons of the rat small intestine: a quantitative morphological study. **Auton. Neurosci.**, v. 126, p. 277-284, 2006. doi:10.1016/j.autneu.2006.03.003.

GORE, R. M.; YAGHMAI, V.; THAKRAR, K. H.; BERLIN, J. W.; MEHTA, U. K.; NEWMARK, G. M.; MILLER, F. H. Imaging in Intestinal Ischemic Disorders. **Radiol. Clin. N. Am.**, v. 46, p. 845-875, 2008. doi:10.1016/j.rcl.2008.05.004 0033-8389/08.

GOODMAN, J. H. et al. Calbindin-D28k immunoreactivity and selective vulnerability to ischemia in the dentate gyrus of the developing rat. **Brain Res.**, v. 606, n. 2, p. 309-314, 1993. doi:10.1016/0006-8993(93)90999-4.

GRACE, P. A. Ischemia-reperfusion injury. **Br. J. Surg.**, v. 81, p. 849-853, 2004.

GREGGIO, F. M.; FONTES, R. B. V.; MAIFRINO, L. B. M.; CASTELUCCI, P.; SOUZA R. R.; LIBERTI, E. A. Effects of perinatal protein deprivation and recovery on esophageal

myenteric plexus. **World J. Gastroenterology**, v. 16, n. 5, p. 563-570, 2010. doi:10.3748/wjg.v16.i5.563.

GREENE, E. C. **Anatomy of the Rat**. New York, London: Hafner, 1963.

GRIDER, J. R. Interplay of VIP and nitric oxide in regulation of the descending relaxation phase of peristalsis. **Am. J. Physiol.**, v. 264, p. 334-340, 1993.

GULBRANSEN, B. D.; SHARKEY, K. A. Purinergic neuron-to-glia signaling in the enteric nervous system. **Gastroenterology**, v. 136, p. 1349-1358, 2009. doi:10.1053/j.gastro.2008.12.058.

GUO, W. H.; CHAN, K. L.; FUNG, P. P.; CHAN, K. W.; TAM, P. K. Nitric oxide protects segmental intestinal grafts from ischemia and reperfusion injury. **Transplant Proc.**, v. 32, p. 1297-1298, 2000.

GUZMÁN-DE LA GARZA, F. J.; CÁMARA-LEMARROY, C. R.; ALARCÓN-GALVÁN, G.; CORDERO-PÉREZ, P.; MUÑOZ-ESPINOSA, L. E.; FERNÁNDEZ-GARZA, N. E. Different patterns of intestinal response to injury after arterial, venous or arteriovenous occlusion in rats. **World J. Gastroenterol.**, v. 15, n. 31, p. 3901-3907, 2009.

HAGLUND, U.; BERGQVIST, D. Intestinal ischemia - the basics. **Langenbeck's Arch Surg.**, v. 384, p. 233-238, 1999: doi:10.1007/s004230050197.

HASSOUN, H. T.; WEISBRODT, N. W.; MERCER, D. W.; KOZAR, R. A, MOODY, F. G, MOORE, F. A. Inducible nitric oxide synthase mediates gut ischemia/reperfusion-induced ileus only after severe insults. **J. Surg. Res.**, n. 97, p. 150-154, 2001.

HEIZMANN, C. W. The multifunctional S100 protein family. **Methods Mol. Biol.**, v. 172, p. 69-80, 2002.

HEYS, S. D.; BRITTENDEN, J.; CROFTS, T. J. Acute mesenteric ischaemia: the continuing difficulty in early diagnosis. **Postgrad. Med. J.**, v. 69, p. 48-51, 1993. doi:10.1136/pgmj.69.807.48.

HINDLEY, S.; HERMAN, M. A.; RATHBONE, M. P. Stimulation of reactive astrogliosis in vivo by extracellular adenosine diphosphate or an adenosine A2 receptor agonist. **J. Neurosci. Res.**, v. 38, p. 399-406, 1994.

HIRATA, I.; AUSTIN, L. L.; BLACKWELL, W. H.; WEBER, J. R.; DOBBINS, W. O. Immunoelectron microscopic localization of HLADR antigen in control small intestine and colon and in inflammatory bowel disease. **Dig. Dis. Sci.**, v. 31, p. 1317-1330, 1986.

HOFF, S.; ZELLER, F.; VON WEYHERN, C. W.; WEGNER, M.; SCHEMANN, M.; MICHEL, K.; RÜHL, A. Quantitative assessment of glial cells in the human and guinea pig enteric nervous system with an anti-Sox8/9/10 antibody. **J. Comp. Neurol.**, v. 509, n. 4, p. 356-371, 2008.

HOYLE, C. H. V.; BURNSTOCK, G. Neuronal populations in the submucous plexus of the human colon. **Journal of Anatomy**, v. 166, p. 22-27, 1989.

HU, H. Z.; GAO, N.; LIN, Z.; GAO, C.; LIU, S.; REN, J.; XIA, Y.; WOOD, J. D. P2X(7) receptors in the enteric nervous system of guinea-pig small intestine. **J. Comp. Neurol.**, v. 440, n. 3, p. 299-310, 2001.

HUPPERTZ, B.; FRANK, H-P.; KAUFMANN, P. The apoptosis cascade-morphological and immunohistochemical methods for its visualization. **Ana. Embriol.**, v. 200, p. 1-18, 1999. doi:10.1007/s004290050254.

IANTORNO, G. et al. The enteric nervous system in chagasic and idiopathic megacolon. **Am. J. Surg. Pathol.**, v. 31, p. 460-468, 2007.

IKEDA, H.; SUZUKI, Y.; SUZUKI, M.; KOIKE, M.; TAMURA, J.; TONG, J.; NOMURA, M.; ITOH, G. Apoptosis is a major mode of cell death caused by ischaemia and ischaemia/reperfusion injury to the rat intestinal epithelium. **Gut**, v. 42, p. 530-537, 1998.

JESSEN, K. R.; MIRSKY, R. Astrocyte-like glia in the peripheral nervous system: an immunohistochemical study of enteric glia. **J. Neurosci.**, v. 3, p. 2206-2218, 1983.

JIN, J. G.; MURPHY, K. S.; GRIDER, J. R.; MAKHLOUF, G. M. Stoichiometry of neurally induced VIP release, NO formation, and relaxation in rabbit and rat gastric mucosa. **Am. J. Physiol.**, v. 271, p. 357-369, 1996.

JOÃO, A. S.; ALENCAR, S. S. S.; MEDEIROS, A. C.; DINIZ, S. O. F.; CARDOSO, V. N.; BRANDT, C. T. Translocation of 99mTc labelled bacteria after intestinal ischemia and reperfusion. **Acta Cir. Bras.**, v. 19, p. 328-333, 2004. doi: 10.1590/S0102-86502004000400002.

KALEYA, R. N.; BOLEY, S. J. Acute mesenteric ischemia: an aggressive diagnostic and therapeutic approach: Roussel Lecture. **Can. J. Surg.**, v. 35, p. 613-623, 1992.

KANWAR, S.; TEPPERMAN, B. L.; PAYNE, D.; SUTHERLAND, L. R.; KUBES, P. Time course of nitric oxide production and epithelial dysfunction during ischemia/reperfusion of the feline small intestine. **Circ. Shock.**, v. 42, p. 135-140, 1994.

KAWATA, K.; TAKEYOSHI, I.; IWANAMI, K.; SUNOSE, Y.; AIBA, M.; OHWADA, S.; MATSUMOTO, K.; MORISHITA, Y. A spontaneous nitric oxide donor ameliorates small bowel ischemia-reperfusion injury in dogs. **Dig. Dis. Sci.**, v. 46, p. 1748-1756, 2001.

KEIGHLEY, M. R. B. Isquemia do colo e colite isquêmica. In: KEIGHLEY, M. R. B.; WILLIAMS, N. S. (Ed.). **Cirurgia do ânus, reto e colo**. São Paulo: Manole, 1998. p. 1846-1866.

KHAKH, B. S.; BAO, X. R.; LABARCA, C.; LESTER, H. A. Neuronal P2X transmitter-gated cation channels change their ion selectivity in seconds. **Nat. Neurosci.**, v. 2, n.4, p. 322-330, 1999. doi:10.1038/7233.

KIMBALL, B. C.; MULHOLLAND, M. W. Enteric glia exhibit P2U receptors that increase cytosolic calcium by a phospholipase C-dependent mechanism. **J. Neurochem.**, v. 66, p. 604-612, 1996.

KIMURA, M.; KATAOKA, M.; KUWABARA, Y.; SATO, A.; SUGIURA, M.; FUJII, Y. Real-time energy metabolism of intestine during arterial versus venous occlusion in the rat. **J. Gastroenterol.**, v. 38, p. 849-853, 2003.

KORETZ, K.; MOMBURG, F.; OTTO, H. F.; MOLLER, P. Sequential induction of MHC antigens on autochthonous cells of ileum affected by Crohn's disease. **Am. J. Pathol.**, v. 129, p. 493-502, 1987.

KOSTERLITZ, H. W.; LEES G. M. Pharmacological analysis of intrinsic intestinal reflexes. **Pharmacol. Rev.**, v. 16, p. 301-339, 1964.

KOTANI, T.; KOMATSU, Y.; NAKAMORI, Y.; TAKEUCHI, K.; A novel model of ischemic enteritis induced in rats by stenosis of the superior mesenteric artery. *Life Sciences*, v. 84, p. 615-621, 2009.

KRAMMER, H. J.; KARAHAN, S. T.; SIGGE, W.; KUHNEL W. Immunohistochemistry of markers of the enteric nervous system in whole-mount preparations of the human colon. **Eur. J. Pediatr. Surg.**, v. 4, p. 274-278, 1994. doi.org/10.1055/s-2008-1066117.

KUBES, P. Ischemia-reperfusion in feline small intestine: a role for nitric oxide. **Am. J. Physiol.**, v. 264, p. G143-G149, 1993.

KUBES P. Nitric oxide modulates epithelial permeability in the feline small intestine. *Gastroenterology*, v. 102, p. A219, 1992.

LANGLEY, J. N.; MAGNUS, R. Some observations of the movements of the intestine before and after degenerative section of the mesenteric nerves. **J. Physiol.**, v. 33, n. 1, p. 34-51, 1905.

LINDESTRÖM, L.; EKBLAD, E. Structural and Neuronal Changes in Rat Ileum After Ischemia with Reperfusion. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 49, n. 7, p. 1212-1222, 2004.

LOCK, G. Acute intestinal ischaemia. **Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, v. 15, p. 83-98, 2001. doi.org/10.1053/bega.2000.0157.

LOMAX, A. E.; FURNESS, J. B. Neurochemical classification of enteric neurons in the guinea-pig distal colon. **Cell Tissue Res.**, v. 302, p. 59-72, 2000. doi: 10.1007/s004410000260.

LOMAX, A. E.; FERNÁNDEZ, E.; SHARKEY, K. A. Plasticity of the enteric nervous system during intestinal inflammation. *Neurogastroenterol. Motil.*, v. 17, p. 4-15, 2005.

LOPACHIN JR, R. M.; ASCHNER, M. Glial-neuronal interactions: relevance to neurotoxic mechanisms. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 118, p. 141-158, 1993.

MANN, P. T.; FURNESS, J. B; SOUTHWELL, B. R. Choline acetyltransferase immunoreactivity of putative intrinsic primary afferent neurons in the rat ileum. **Cell Tissue Res.**, v. 297, p. 241-248, 1999.

MAJNO, G.; JORIS, I. Apoptosis, oncosis, and necrosis: an overview of cell death. **Am. J. Pathol.**, v. 146, p. 13-15, 1995.

MARSHALL, J. C.; CHRISTO, N. V.; MEAKINS, J. L. The gastrointestinal tract. The 'undrained abscess' of multiple-organ failure. **Ann. Surg.**, v. 218, p. 111, 1993.

MASSBERG, S.; MESSMER, K. The nature of ischemia/reperfusion injury. **Transplant. Proc.**, v. 30, p. 4217-4223, 1998. doi.org/10.1016/S0041-1345(98)01397-9.

MATINI, P.; MAYER, B.; FAUSSONE PELLEGRINI, M. S. Neurochemical differentiation of rat enteric neurons during pre- and postnatal life. **Cell Tissue Res.**, v. 288, p. 11-23, 1997.

McCORD, J. M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. **N. Engl. J. Med.**, v. 312, p. 159-163, 1985. doi.org/10.1056/NEJM198501173120305.

MCKEOWN, S. J.; CHOW, C. W.; YOUNG, H. M. Development of the submucous plexus in the large intestine of the mouse. **Cell Tissue Res.**, v. 303, p. 301-305, 2001. doi.org/10.1007/s004410000303.

MELLO, S. T.; LIBERTI, E. A.; SANT'ANA, D. M. G.; MOLINARI, S. L.; MIRANDA NETO, M. H. Estudo morfoquantitativo do plexo mioentérico do duodeno de ratos submetidos a carência de proteínas e vitaminas do complexo B. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 251-256, 2004.

MENDES, C. E.; PALOMBIT, K.; TAVARES DE LIMA, W.; CASTELUCCI, P. Study of P2X₂ receptor in enteric neurons and enteric glial cell of the ileum rats subjected of ischemia and reperfusion. In: 1st Joing Meeting of the international Society for autonomic Neuroscience and the American Autonomic Society (ISAN/ASS), 2011, Búzios **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical, 163. Resumos...** Búzios: Elsevier, 2011. p. 62.

MENON, N. J.; AMIN, A. M.; MOHAMMED, A.; HAMILTON, G. Acute mesenteric ischaemia. **Acta Chir. Belg.**, v. 105, p. 344-354, 2005.

MISAWA, R.; GIROTTI, P. A.; MIZUNO, M. S.; LIBERTI, E. A.; CASTELUCCI, P. Effects of protein deprivation and re-feeding on P2X₂ receptors in enteric neurons. **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, n. 29, p. 3651-3663, 2010.

MILANO, P. M.; DOUILETT, C. D.; RIESENMAN, P. J.; ROBINSON, W. P.; BEIDLER, S. K.; ZARZAUR, B. L.; RICH, P. B. Intestinal ischemia-reperfusion injury alters purinergic receptor expression in clinically relevant extraintestinal organs. **J Surgical Res.**, v. 145, n. 2, p. 272-278, 2008.

MIZUNO, M. S. **Análises morfoquantitativa e do código químico do receptor purinérgico P2X₂ no plexo mioentérico de camundongos obesos fêmeas e machos (ob/ob)**. Tese (Doutorado em Ciências Morfofuncionais), 2010. 142 f. - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

MURPHY, E. M.; DEFONTGALLAND, D.; COSTA, M.; BROOKES, S. J.; WATTCHOW, D. A. Quantification of subclasses of human colonic myenteric neurons by immunoreactivity

to Hu, choline acetyltransferase and nitric oxide synthase. **Neurogastroenterol Motil.**, v. 19, p. 126-134, 2007. doi:10.1111/j.1365-2982.2006.00843.x.

MYERS, S. L.; HERNANDEZ, R. Oxygen free radical regulation of rat splanchnic blood flow. **Surgery**, v. 112, n. 347-354, 1992.

NEARY, J. T.; KANG, Y.; BU, Y.; YU, E.; AKONG, K.; PETERS, C. M.. Mitogenic signaling by ATP/P2Y purinergic receptors in astrocytes: involvement of a calcium-independent protein kinase C, extracellular signal-regulated protein kinase pathway distinct from the phosphatidylinositol-specific phospholipase C/calcium pathway. **J. Neurosci.**, v. 19, p. 4211-4220, 1999.

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

OLDENBURG, A.; LAU, L. L.; RODENBERG, T. J.; EDMONDS, H. J.; BURGER, C. D. Acute mesenteric ischemia. A clinical review. **Arc. Inter. Med.**, v. 164, p. 1054-1061, 2004.

O'CALLAGHAN, J. P. Quantitative features of reactive gliosis following toxicant-induced damage of the CNS. **Acad. Sci.**, v. 679, p. 195-210, 1993. doi: 10.1111/j.1749-6632.1993.tb18299.x.

PALOMBIT, K. **Estudo do receptor P2X₇ nas classes neuronais do íleo de ratos submetidos à isquemia intestinal com reperfusão**. 2010. 130 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

PAULINO, A. S.; PALOMBIT, K.; CAVRIANI, G.; DE LIMA, W.; MIZUNO, M. S.; MAROSTI, A. M. B.; DA SILVA, M.; LIBERTI, E.; CASTELUCCI, P. Effects of ischemia and reperfusion on P2X₂ receptor expressing neurons of the rat ileum enteric nervous system. **Dig. Dis. Sci.**, v. 56, n. 8, p. 2262-2275, 2011. doi 10.1007/s10620-011-1588-z.

POOLE, D. P.; CASTELUCCI, P.; ROBBINS, H. L.; CHIOCCHETTI, R.; FURNESS J. B. The distribution of P2X₃ purine receptor subunits in the guinea-pig enteric nervous system. **Autonom. Neurosc.**, v. 101, p. 39-47, 2002. doi:10.1016/S1566-0702(02)00179-0.

PHILLIPS, R. J.; HARGRAVE, S. L.; RHODES, B. S.; ZOPF, D. A.; POWLEY, T. L. Quantification of neurons in the myenteric plexus: an evaluation of putative pan-neuronal markers. **J. Neurosci. Methods.**, v. 133, n. 1, p. 99-107, 2004.

PIAO, D. X.; JIANG, H. C.; KOSAKA, M.; SHIBATA, T.; OHTSUKA, A.; MURAKAMI, T. Cytoplasmic delayed neuronal death in the myenteric plexus of the rat small intestine after ischemia. **Arc. Histol. Cytol.**, v. 62, n. 4, p. 383-393, 1999. doi: 10.1679/aohc.62.383.

PONTELL, L.; SHARMA, P.; RIVERA, L. R.; THACKER, M.; TAN, Y. H.; BROCK, J. A.; FURNESS, J. B. Damaging effects of ischemia/reperfusion on intestinal muscle. **Cell Tissue Res.**, v. 343, n. 2, p. 411-419, 2011.

PROSKURYAKOV, S. Y.; KONOPLYANNIKOV, A. G.; GABAI, V. L. Necrosis: a specific form of programmed cell death? **Exper. Cell Res.**, v. 283, p. 1-16, 2003. doi: 10.1016/S0014-4827(02)00027-7.

QU, Z.; THACKER, M.; CASTELUCCI, P.; BAGYÁNSZKI, M.; EPSTEIN, M. L.; FURNESS, J.B. Immunohistochemical analysis of neuron types in the mouse small intestine. **Cell Tissue Res.**, v. 334, p. 147-161, 2008. doi:10.1007/s00441-008-0684-7.

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

RIBEIRO, M. E.; YOSHIDA, B. Lesões intestinais decorrentes de isquemia e reperfusão: fisiopatologia e modelos experimentais. **Vasc. Br.**, v. 4, n. 2, p. 183-194, 2005.

RIVERA, L. R.; THACKER, M.; CASTELUCCI, P.; BRON, R.; FURNESS, J. B. The reactions of specific neuron types to intestinal ischemia in the guinea-pig enteric nervous. **Acta Neuropathologica**, v. 24, p. 1-10, 2009. doi: 10.1007/s00401-009-0549-5.

RODRIGUEZ, R.; VENTURA-MARTINEZ, R.; SANTIAGO-MEJIA, J.; AVILA-COSTA, M. R.; FORTOUL, T. I. Altered responsiveness of the guinea-pig isolated ileum to smooth muscle stimulants and to electrical stimulation after in situ ischemia. **British Journal of Pharmacology**, v. 147, p. 371-378, 2006. doi: 10.1038/sj.bjp.0706618.

RUHL, A. Glial cells in the gut. **Neurogastroenterol Motil.**, v. 17, n. 6, p. 777-790, 2005. doi:10.1111/j.1365-2982.2005.00687.x.

RÜHL, A.; COLLINS, S. M. Enteroglial cells (EGC) are an integral part of the neuroimmune axis in the enteric nervous system (ENS). **Gastroenterology**, v. 108, p. 860, 1995.

RUHL, A.; FRANZKE, S.; COLLINS, S. M.; STREMMEL, W. Interleukin-6 expression and regulation in rat enteric glial cells. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 280, p. G1163-G1171, 2001.

SAHNOUN, Z.; JAMOSSI, K.; ZEGHAL, K. M. Free radicals and antioxidants: physiology, human pathology and therapeutic aspects (part II). **Therapie.**, v. 3, p. 315-339, 1998.

SANG, Q.; YOUNG, H. M. Chemical coding of neurons in the myenteric plexus and external muscle of the small and large intestine of the mouse. **Cell Tissue Res.**, v. 284, p. 39-53, 1996. doi: 10.1007/s004410050565.

SANT'ANA, M.; MIRANDA NETO, M. H.; DE SOUZA, R. R.; MOLINARI, S. L. 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. 687-95, 1997. doi:10.1590/S0004-282X1997000500003.

SAVIDGE, T. C.; NEWMAN, P.; POTHOUKAKIS, C.; RUHL, A.; NEUNLIST, M.; BOURREILLE, A.; HURST, R.; SOFRONIEW, M. V. Enteric glia regulate intestinal barrier function and inflammation via release of S-nitrosoglutathione. **Gastroenterology**, v. 132, p. 1344-1358, 2007.

SAYEGH, A.; RITTER, R. C. Morphology and Distribution of Nitric Oxide Synthase-, Neurokinin-1 Receptor-, Calretinin-, Calbindin-, and Neurofilament-MImmunoreactive Neurons in the Myenteric and Submucosal Plexuses of the Rat Small Intestine. **The Anatomical Record Part.**, v. 271, p. 209–216, 2003. doi:10.1002/ar.a.10024.

SCANNEL, G.; WAXMAN, K.; VAZIRI, N. D.; ZHANG, J.; KAUPKE, C. J.; JALALI, M.; HECHT, C. C; Hypoxia-induced alterations of neutrophil membrane receptors. **J. Surg. Res.**, v. 59, p. 141-145, 1995. doi:10.1006/jsre.1995.1145.

SCHEMANN, M.; SCHAAF, C.; MÄDER, M. Neutransmitter coding of enteric neurones in the guinea pig stomach. **J. Comp. Neurol.**, v. 353, p. 161-178, 1995.

SCHOENBERG, M. H.; BERGER, H. G. Reperfusion injury after intestinal ischemia. **Crit. Care Med.**, v. 21, p. 1376-86, 1993. doi:10.1097/00003246-199309000-00023.

SILVA, M. A. C. P.; MEIRELLES, L. R.; BUSTORFF-SILVA, J. M. Changes in intestinal motility and in the myenteric plexus in a rat model of intestinal ischemia–reperfusion. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 42, p. 1062– 1065, 2007.

SIMI, A. C. Isquemia intestinal. In: MAFFEI, F. H. A. (Ed.) **Doenças vasculares periféricas**. Rio de Janeiro: Medsi, 2002. p. 1239-1257.

SIMMY, T.; ANUP, R.; PRABHU, R.; BALASUBRAMANIAN, K. A. Effect of surgical manipulation of the rat intestine on enterocyte populations. **Surgery**, v. 130, n. 3, p. 479-488, 2001.

SITGES-SERRA, A.; MAS, X.; ROQUETA, F.; FIGUERAS, J.; SANZ, F. Mesenteric infarction: an analysis of 83 patients with prognostic studies in 44 cases undergoing a massive small-bowel resection. **Br. J. Surg.**, v. 75, p. 544-548, 1988. doi: 10.1002/bjs.1800750614.

SPENCER, N. J.; WALSH, M.; SMITH, T. K. Purinergic and cholinergic neuro-neuronal transmission underlying reflexes activated by mucosal stimulation in the isolated guinea-pig ileum. **J. Physiol.**, v. 522, n. 2, p. 321-31, 2000.

SREENARASIMHAIHAH, J. Diagnosis and management of intestinal ischaemic disorders. **B. M. J.**; v. 326, p. 1372-1376, 2003. doi: 10.1136/bmj.326.7403.1372.

STONEY, R. J.; CUNNINGHAM, C. G. Acute mesenteric ischemia. **Surgery**, v. 114, p. 489-490, 1993.

SURPRENANT, A.; RASSENDREN, F.; KAWASHIMA, E.; NORTH, R. A.; BUELL, G. The cytosolic P2Z receptor for extracellular ATP identified as a P2X receptor (P2X₇). **Science**, v. 272, n. 5262, p. 735-738, 1996.

SUZUKI, Y.; DEITCH, E. A.; MISHIMA, S.; LU, Q.; XU, D. Inducible nitric oxide synthase gene knockout mice have increased resistance to gut injury and bacterial translocation after an intestinal ischemiareperfusion injury. **Crit. Care Med.**, v. 28, p. 3692-3696, 2000.

THACKER, M.; RIVERA, L. R.; CHO, H. J.; FURNESS, J. B. The relationship between glial distortion and neuronal changes following intestinal ischemia and reperfusion. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 1, p. 1-10, 2011.

TAKADA, K.; YAMASHITA, K.; SAKURAI-YAMASHITA, Y.; SHIGEMATSU, K.; HAMADA, Y.; HIOKI, K.; TANIYAMA, K. Participation of nitric oxide in the mucosal unjury of rat intestina induced by ischemia-reperfusion. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 287, n. 1, p. 403-407, 1998.

THORNTON, M.; SOLOMON, M. J. Crohn's disease: in defense of microvascular aetiology. **Int. J. Colorectal Dis.**, v. 17, p. 287-297, 2002. doi:10.1007/s00384-002-0408-5.

TOYOSHIMA, T. et al. Expression of calbindin-D28K by reactive astrocytes in gerbil hippocampus after ischaemia. **Neuroreport**, v. 7, n. 13, p. 2087-91. 1996. doi:10.1097/00001756-199609020-00006.

TURNAGE, R. H.; GUICE, K. S.; OLDHAM, K. T. Endotoxemia and remote organ injury following intestinal reperfusion. **J. Surg. Res.**, v. 56, p. 571-8, 1994. doi: 10.1006/jsre.1994.1091.

VAJDOVICH, P. Free radicals and antioxidants in inflammatory processes and ischemia-reperfusion injury. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v. 38, p. 31-123, 2008.

VANDERWINDEN, J. M.; TIMMERMANS, J. P.; SCHIFFMANN, S. N. Glial cells, but not interstitial cells, express P2X7, an ionotropic purinergic receptor, in rat gastrointestinal musculature. **Cell Tissue Res.**, v. 312, p. 149-154, 2003.

VAN NASSAUW, L.; BROUNS, I.; ADRAENSEN, D.; BURNSTOCK, G.;TIMMERMANS, J. P. Neurochemical identification of enteric neurons expressing P2X (3) receptors in the guinea-pig ileum. **Histochem. J.**, v. 118, n. 3, p. 193-203, 2003. doi: 10.1007/s00418-002-0447-6.

VASINA, V.; BARBARA, B. G.; TALAMONTI, B. L.; STANGHELLINI, B.V.; CORINALDESI, R.B.; TONINI, C.M.; DE PONTI, A.F.; DE GIORGIO, R.; Enteric neuroplasticity evoked by inflammation. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 126, p. 264-272, 2006. doi:10.1016/j.autneu.2006.02.025.

VENTURA-MARTINEZ, R.; SANTIAGO-MEJIA, J.; GOMEZ, C.; RODRIGUEZA, R.; FORTOUL, T. I - Acute morphological changes in guinea-pig ileum myenteric neurons after ischemia in situ with superfusion in vitro. **Pathology Research and Practice**, v. 204, p. 121-127, 2008. doi:10.1016/j.prp.2007.10.011.

VIRGINIO, C.; MACKENZIE, A.; RASSENDREN, F. A.; NORTH, R. A.; SURPRENANT, A. Pore dilation of neuronal P2X receptor channels. **Nat. Neurosci.**, v. 2, n. 4, p. 315-321, 1999. doi:10.1038/7225.

VON BOYEN, G. B.; SCHULTE, N.; PFLÜGER, C.; SPANIOL, U.; HARTMANN, C.; STEINKAMP, M. Distribution of enteric glia and GDNF during gut inflammation. **BMC Gastroenterol.**, v. 14; p. 3-8, 2011.

VULCHANOVA, L.; ARVIDSSON, U.; RIEDL, M.; WANG, J.; BUELL, G.; SURPRENANT, A.; NORTH, R.A.; ELDE, R. Differential distribution of two ATP-gated channels (P2X receptors) determined by immunocytochemistry. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 93, n. 15, p. 8063-8067, 1996.

UEMURA, S.; POMPOLO, S.; FURNESS, J. B. Colocalization of neuropeptide Y with other neurochemical markers in the guinea pig small intestine. **Arch. Histol. Cytol.**, v. 58, n. 5, p. 523-536, 1995.

USDIN, T. B.; EIDEN, L. E.; BONNER, T. I.; ERICKSON, J. D. Molecular biology of the vesicular ACh transporter. **Trends Neurosci.**, v. 18, p. 218-224, 1995. doi:10.1016/0166-2236(95)93906-E.

WEIDMANN, S.; SCHRÖDL, F.; NEUHUBER, W.; BREHMER, A. Quantitative estimation of putative primary afferent neurons in the myenteric plexus of human small intestine. **Histochem. Cell Biol.**, v. 128, p. 399-407, 2007. doi: 10.1007/s00418-007-0335-1.

WILCOX, M. G.; HOWARD, T. J.; PLASKON, L. A.; UNTHANK, J. L.; MADURA, J.A. Current theories of pathogenesis and treatment of nonocclusive mesenteric ischemia. **Dig. Dis. Sci.**, v. 40, p. 709-716, 1995. doi:10.1007/BF02064966.

XIA, G.; LARA-MARQUEZ, M.; LUQUETTE, M. H.; GLENN, S.; HAQUE, A.; BESNER, G. E. Heparin-binding EGF-like growth factor decreases inducible nitric oxide synthase and nitric oxide production after intestinal ischemia/reperfusion injury. **Antioxid. Redox. Signal.**, v. 3, p. 919-930, 2001. doi:10.1089/15230860152665073.

XIANG, Z.; BURNSTOCK, G. Distribution of P2Y₂ receptors in the guinea pig enteric nervous system and its coexistence with P2X₂ and P2X₃ receptors, neuropeptide Y, nitric oxide synthase and calretinin. **Histochem. Cell Biol.**, v. 124, p. 379-390, 2005. doi 10.1007/s00418-005-0043-7.

YANO, K.; HOSOKAWA, K.; HATA, Y. Quantitative morphology of Auerbach's plexus in rat intestinal wall undergoing ischemia. **J. Reconstr. Microsurg.**, v. 13, n. 4, p. 297-301, 1997. doi:10.1055/s-2007-1000239.

YENARI, M. A. et al. Calbindin d28k overexpression protects striatal neurons from transient focal cerebral ischemia. **Stroke**, v. 32, n. 4, p. 1028-1035, 2001. doi:10.1161/01.STR.32.4.1028.

YIANGOU, Y.; FACER, P.; BAECKER, P. A.; FORD, A. P.; KNOWLES, C. H.; CHAN, C. L.; WILLIAMS, N. S.; ANAND, P. ATP-gated ion channel P2X(3) is increased in human inflammatory bowel disease. **Neurogastroenterol Motil.**, v. 4, p. 365-369, 2001.

ZHANG, W.; SEGURA, B. J.; LIN, T. R. Intercellular calcium waves in cultured enteric glia from neonatal guinea pig. **Glia**, v. 42, p. 252-262, 2003. doi:10.1002/glia.10215.

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

ZIMMERMANN, H. Signalling via ATP in the nervous system. **Trends Neurosci.**, v. 17, p. 420–426, 1994.