

Alterações morfométricas no plexo mioentérico do cólon menor equino distendido experimentalmente¹

Heloisa Maria F. Mendes², André Escobar³, Anilton C. Vasconcelos⁴, Sérgio Zucoloto⁵, Geraldo Eleno S. Alves⁶ e Rafael R. Faleiros^{6*}

ABSTRACT.- Mendes H.M.F., Escobar A., Vasconcelos A.C., Zucoloto S., Alves G.E.S. & Faleiros R.R. 2009. [Morphometrical alterations in myoenteric plexus of experimentally distended equine small colon.] Alterações morfométricas no plexo mioentérico do cólon menor equino distendido experimentalmente. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29(7):557-562. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG 30161-970, Brazil. E-mail: faleiros@ufmg.br

The equine small colon is frequently affected by obstruction, and intestinal motility dysfunction is a common complication after its surgical treatment. This fact may be related to myoenteric plexus lesion caused by distention; however, little is known about the pathophysiology of this condition. The objective of this study was to evaluate the morphological alterations in the myoenteric innervation of segments of small colon of horses subjected to intraluminal distension with reduction of the microvascular perfusion (partial ischemia) of the intestinal wall. Nine horses were used to promote distension of one segment of small colon for 4 hours. Samples of intestinal wall were collected before and at the end of the distension, after 1.5 and 12 hours of reperfusion in the experimental segment and at the end of the procedure in a different distant segment. Samples were processed and histological sections were stained with cresyl violet for the morphometric studies. An image analyzer software was used to measure perimeter, diameter, and area of the neuronal body, nucleus and nucleolus of the neurons and the areas of the cytoplasm and nucleoplasm. Significant reductions ($P < 0.05$) in the areas of the neuronal body and cytoplasm were detected at the end of intestinal distension, returning to the basal values during the reperfusion. In conclusion, intraluminal distension promoted changes in the morphology of the neurons of myoenteric plexus. These morphological modifications may be associated to the motility dysfunction frequently observed in clinical cases.

INDEX TERMS: Small colon, distension, myoenteric plexus, horse.

¹ Recebido em 15 de dezembro de 2008.

Aceito para publicação em 10 de março de 2009.

² Mestranda em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil.

³ Doutorando em Anestesiologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Unesp-Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, SP 14884-900, Brasil.

⁴ Departamento de Patologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, Av. Antônio Carlos 6627, Pampulha, Belo Horizonte, MG 31270-901.

⁵ Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), Av. Bandeirantes 3900 e Laboratório de Proliferação Celular, Monte Alegre, Ribeirão Preto, SP 14049-900, Brasil.

⁶ Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Veterinária, UFMG, Av. Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG, 30161-970. *Autor para correspondência: faleiros@ufmg.br

RESUMO.- O cólon menor dos equinos é frequentemente acometido por afecções obstrutivas, sendo a disfunção da motilidade uma complicação comum após o tratamento cirúrgico. Este transtorno pode estar relacionado com lesões no plexo mioentérico ocorridas durante a distensão intestinal, contudo pouco se sabe sobre sua fisiopatologia. O objetivo deste estudo foi avaliar as alterações morfológicas na inervação mioentérica em segmentos de cólon menor de equinos submetidos à distensão intraluminal com pressão suficiente para promover redução da perfusão microvascular (isquemia parcial) da parede intestinal. Nove equinos foram submetidos à distensão do cólon menor por 4h. Fragmentos da parede intestinal foram colhidos antes e ao final da distensão, após 1,5 e 12 horas de reperusão no segmento experimental e ao final do procedimento em

segmento distante. As amostras foram fixadas e processadas rotineiramente e secções histológicas foram coradas com cresil violeta para a morfometria. Por meio de um software de análise de imagens, obtiveram-se a área, o perímetro e os diâmetros mínimo e máximo do corpo neuronal, do núcleo e do nucléolo dos neurônios e as áreas do citoplasma e do nucleoplasma. Verificou-se redução significativa ($P < 0,05$) das áreas do corpo neuronal e do citoplasma ao final da distensão, retomando aos valores equivalentes aos iniciais durante a reperusão. Conclui-se que a distensão intraluminal alterou morfologicamente os neurônios do plexo mioentérico. Essas modificações morfológicas podem estar associadas e contribuir para explicar a disfunção da motilidade freqüentemente observada em casos clínicos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Equino, cólon menor, distensão, plexo mioentérico.

INTRODUÇÃO

As disfunções de peristaltismo, que resultam em íleo adinâmico, são uma complicação frequente em casos de obstrução e distensão intestinais e uma importante causa de óbito em eqüinos e humanos. O íleo adinâmico é resultante da inibição da atividade propulsiva do intestino ocasionando a estase do conteúdo intestinal. A regulação da motilidade gastrointestinal depende de uma complexa interação entre elementos neurais, hormonais, vasculares e neuromusculares (Koenig & Cote 2006). O sistema entérico intrínseco, o sistema nervoso autônomo, através das fibras simpáticas e parassimpáticas, e os sistemas endócrino e imunológico gastrointestinais estão intimamente relacionados ao processo regulador da motilidade gastrointestinal (Cunningham 2004).

Em humanos e equinos submetidos a cirurgias intestinais, a probabilidade de desenvolver íleo adinâmico durante o período pós-operatório é alta e nos equinos, quanto maior essa probabilidade maior a taxa de óbito (Matos et al. 2000, 2004, Cerqueira et al. 2005, Faleiros et al. 2008). Sua fisiopatologia é, ainda, pouco elucidada e vários agentes etiológicos têm sido implicados, tais como distensão, isquemia, desequilíbrio entre os componentes simpático e parassimpático, dor após procedimentos cirúrgicos, endotoxemia, peritonite, distúrbios hidroeletrólíticos, hipoalbuminemia e inflamação (Koenig & Cote 2006).

Dentre os fatores etiológicos, as lesões de isquemia e reperusão têm sido bastante citadas (Matos et al. 2004, Cerqueira et al. 2005). O intestino é um dos órgãos mais susceptíveis à isquemia (Ikeda et al. 1998) e as lesões de isquemia e reperusão são apontadas como as principais causas de alteração da motilidade intestinal em ratos, devido às alterações causadas nos neurônios mioentéricos (Shimajima et al. 2006). Nesse caso, a redução na freqüência de contrações intestinais ocorre concomitantemente a uma redução da imunomarcagem da proteína c-kit nas células intersticiais de Cajal (Shimajima et al. 2006), mostrando uma estreita relação entre a expressão dessas células intersticiais e a motilidade gastrointestinal.

Além disso, vários estudos demonstraram a relação entre a redução da motilidade intestinal e as alterações nos neurônios mioentéricos (Evangelista et al. 2004), sejam estas por modificações morfológicas (Batista 2003), pela própria depleção das células intersticiais de Cajal em virtude de isquemia e reperusão (Shimajima et al. 2006, Silva et al. 2007), pela disautonomia ou "grass sickness" (Hudson et al. 2001, 2002) ou, ainda, pela obstrução simples ou estrangulada no intestino (Schusser & White 1997) e megacólon (Murray et al. 1988).

O cólon menor eqüino é um segmento intestinal freqüentemente sujeito a obstruções completas por conteúdo intestinal ressecado, corpos estranhos e enterólitos entre outros, que normalmente cursam com distensões que podem se complicar com íleo adinâmico e até rupturas (Snyder & Speir 1996). Estudos demonstrando a ação da distensão intraluminal em modelo experimental cólon menor eqüino ainda são escassos. Entretanto, estudos utilizando um modelo de distensão intraluminal por 40 mm de Hg mostraram que essa foi suficiente para reduzir em média 73,6% da perfusão microvascular nas camadas muscular e serosa (Faleiros et al. 2002), promovendo intensa inflamação dessa camada (Faleiros et al. 2008), contudo sem promover alterações significativas na mucosa (Faleiros et al. 2007).

O presente trabalho enfoca os efeitos da distensão intraluminal na inervação mioentérica e sua relação na patogênese do íleo adinâmico, verificando-se possíveis alterações morfológicas nos neurônios da camada muscular. A hipótese foi que a distensão do cólon menor e consequente isquemia parcial, promovem alterações morfológicas nos neurônios do plexo mioentérico em equinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o presente trabalho foram utilizadas amostras de intestino (cólon menor) oriundas de experimento anteriormente realizado, no qual foram utilizados nove equinos sem raça definida, com idades entre 3-12 anos, e escore corporal 3-3,5 em uma escala crescente de 1 a 5, que foram submetidos a distensão intestinal. Previamente ao experimento, todos os animais foram considerados hígidos por meio de exame físico completo e exames hematológicos, incluindo hemograma completo e concentração plasmática de fibrinogênio. Para fins de padronização, duas semanas antes do experimento os animais foram tratados com ivermectina (200mg/kg, PO) e mantidos em dieta padronizada à base de feno de gramínea e ração comercial (Faleiros 2003, Faleiros et al. 2007).

Após jejum de sólidos por 12 horas, os animais foram sedados com xilazina (2%, 0,5mg/kg IV) e tiveram o flanco esquerdo anestesiado por meio da técnica de "L" invertido utilizando-se associação de lidocaína 2% e bupivacaína 0,5%. Foi realizada laparotomia com o animal em estação e o cólon menor foi exposto. A distensão intestinal foi realizada com o auxílio de um balão inserido no interior do lúmen intestinal e inflado a uma pressão de 40mmHg, capaz de promover uma redução média de 73,6% (isquemia parcial) na perfusão microvascular da camada seromuscular (Faleiros et al. 2002). Após três horas de distensão, os animais foram submetidos à anestesia geral

por duas horas para remoção do balão e colheita de amostras. Doze horas após a remoção do balão (descompressão intestinal), os animais foram novamente sedados, e a anestesia geral foi induzida por tiopental (10mg/kg, IV) e eutanásia imediatamente induzida por infusão intravenosa contínua de solução saturada de sulfato de magnésio (Faleiros 2003, Faleiros et al. 2007).

As amostras intestinais alvo do presente trabalho foram colhidas imediatamente antes da introdução do balão, ao final da distensão (imediatamente após a remoção do balão) e 1,5 e 12 horas após a descompressão intestinal. Após fixação em formalina 10% tamponada neutra, tais amostras foram processadas rotineiramente para inclusão em parafina e estocadas. Por ocasião do presente experimento, cortes histológicos (7mm) foram obtidos, desparafinizados e hidratados de forma rotineira e corados por imersão em solução de cresil violeta (1:400) durante 3 minutos.

Para a morfometria, procedeu-se a captura de imagens de campos histológicos que continham neurônios situados no plexo mioentérico. Considerou-se a região compreendida entre as camadas muscular transversal e muscular longitudinal do cólon menor. A leitura da lâmina foi realizada em toda a sua extensão de maneira que todos os neurônios existentes pudessem ser avaliados. Neurônios que não possuíam os limites de corpo neuronal, núcleo ou nucléolo bem definidos foram desconsiderados. As imagens foram capturadas no aumento de 1000X através de microcâmara (Color Video Camera, JVC, Tailândia). Em seguida, procedeu-se à análise morfométrica das imagens obtidas. Utilizou-se software de análise de imagens (Kontron KS300, v.2.0, Carl Zeiss, Alemanha) para mensurar a área, o perímetro, os diâmetros mínimo e máximo do corpo neuronal, núcleo e nucléolo dos neurônios. Para isso, os limites do corpo neuronal, núcleo e nucléolo foram delimitados manualmente usando o mouse de computador pessoal (Fig.1). Também foram avaliadas as áreas do citoplasma (área de corpo neuronal menos a área do núcleo) e do nucleoplasma (área de núcleo menos a área do nucléolo). Foram mensurados 248 neurônios, o que representa uma média de 4,96 neurônios

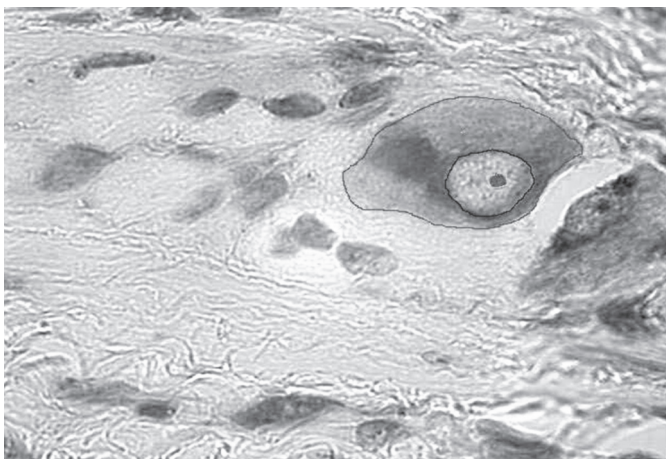


Fig.1. Neurônio do plexo mioentérico do cólon menor equino. Linha vermelha delimita o corpo neuronal, linha azul delimita o núcleo e linha verde delimita o nucléolo da célula. O citoplasma foi considerado como a área entre as linhas vermelha e azul e o nucleoplasma como a área entre as linhas azul e verde. Cresil violeta, 1000x.

por corte histológico analisado. A análise estatística foi realizada por meio de análise de variância em blocos ao acaso seguida do teste de Student-Newman-Keuls, considerando-se $P < 0,05$.

RESULTADOS

Não houve alteração significativa do perímetro, diâmetro mínimo e diâmetro máximo dos neurônios mensurados nos diferentes tempos avaliados ($P > 0,05$). Na análise das áreas, verificou-se, ao final de 4 horas de distensão, uma redução significativa ($P < 0,05$) da área de corpo neuronal e da área do citoplasma. Contudo, essas áreas retornaram aos valores semelhantes aos basais após uma hora e meia de reperusão (Fig.2).

Com relação às estruturas nucleares não se observou alteração significativa ($P > 0,05$) em relação aos valores do grupo controle. Contudo, tanto para nucléolo quanto para nucleoplasma, verificou-se que os valores de amostras obtidas ao final da distensão e 1,5 horas após foram significativamente inferiores aos observados ao final do experimento ($P < 0,05$), conforme observado na Fig.3.

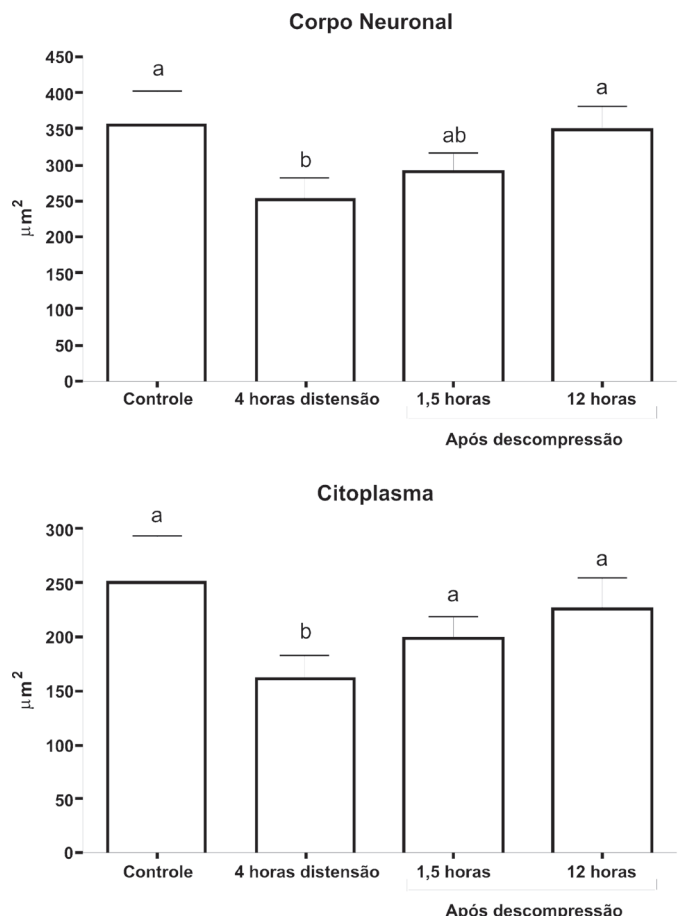


Fig.2. Médias e erros padrão das áreas de corpo neuronal e citoplasma de neurônios mioentéricos do cólon menor equino submetido experimentalmente a distensão intraluminal por quatro horas, seguida de uma hora e meia e doze horas de reperusão. Médias seguidas de pelo menos uma letra igual não diferem entre si ($P < 0,05$).

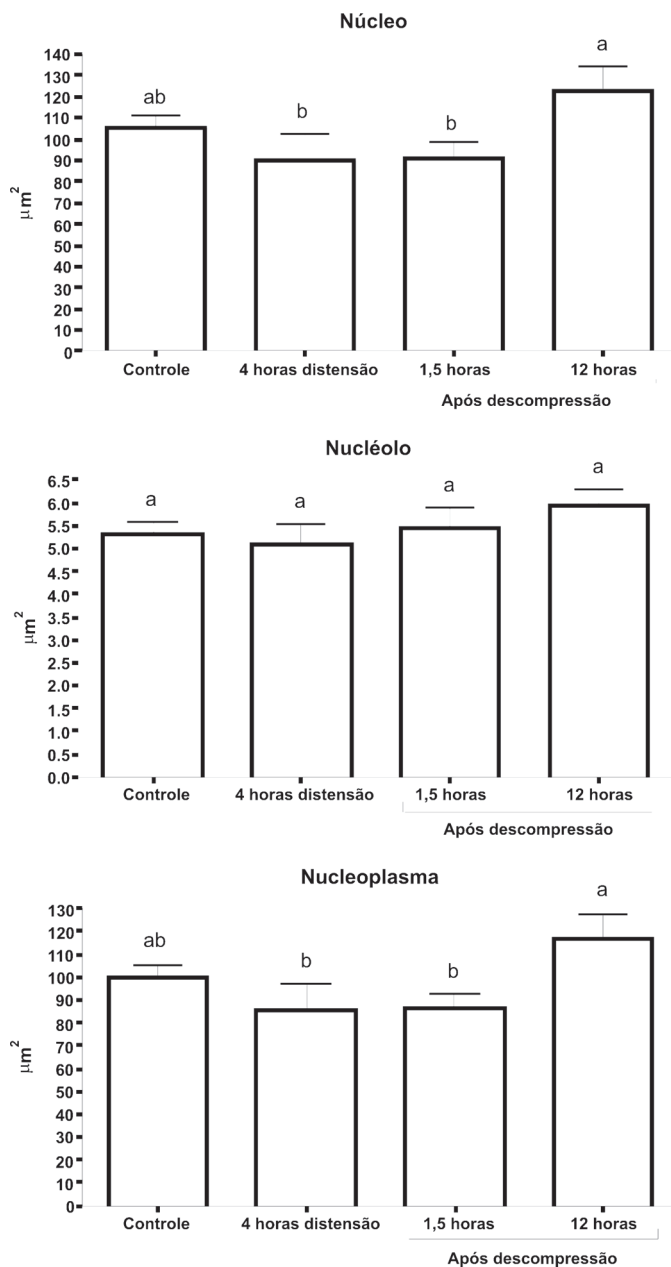


Fig.3. Médias e erros padrão das áreas do núcleo, nucleoplasma e nucléolo de neurônios mioentéricos do cólon menor eqüino submetido experimentalmente a distensão intraluminal por quatro horas, seguida de uma hora e meia e doze horas de reperusão. Médias seguidas de pelo menos uma letra igual não diferem entre si ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

O padrão de coloração obtido com o cresil violeta permitiu a identificação dos neurônios mioentéricos e por isso foi considerado adequado para esse propósito. Além disso, o núcleo e nucléolo também se apresentaram evidenciáveis por esta técnica, o que facilitou a avaliação morfológica. Essa observação está de acordo com Batista et al. (2005) que encontraram mais facilidade de avaliação morfológica de neurônios mioentéricos de eqüinos pela

coloração cresil violeta, quando comparada à técnica modificada de Hematoxilina-Eosina (HE). Os valores médios das áreas de corpo neuronal obtidos no controle e após 4 horas de distensão foram similares aos resultados encontrados por Batista et al. (2005) no cólon menor de eqüinos em segmentos controle e com lesão induzida por cloreto de benzalcônio respectivamente. Esse achado demonstra que a distensão promoveu alteração semelhante à produzida pela exposição ao cloreto de benzalcônio.

A redução da área de corpo neuronal observada após 4 horas de distensão no segmento distendido foi coincidente com a redução da área do citoplasma. Como não houve redução significativa da área do núcleo em relação à área do núcleo do grupo controle, julgou-se que a redução do corpo neuronal ocorreu em função da retração do citoplasma. Sabendo-se que o modelo de distensão utilizado no presente estudo promoveu isquemia parcial da camada seromuscular (Faleiros et al. 2002), esse achado poderia estar associado à hipóxia.

Os processos degenerativos configuram-se como lesões decorrentes de alterações bioquímicas que resultam no acúmulo de substâncias no interior das células. Dentre elas, a degeneração hidrópica é a lesão sub-letal mais comum sendo um de seus estímulos a isquemia tecidual. Esta lesão resulta de transtornos no equilíbrio hidroeletrólítico das células como consequência da ausência de ATP, que irá prejudicar o funcionamento da bomba eletrólítica de Na^+ e K^+ . Ocorre ainda a entrada de sódio e saída de potássio, resultando em aumento da pressão intracelular, ocorrendo entrada de água e expansão da célula (Pereira 2004). Assim, na degeneração hidrópica ocorre aumento do volume celular e consequentemente, da área ocupada pela célula, fenômeno contrário ao observado no presente estudo.

Seguindo ainda a mesma linha de raciocínio sobre metabolismo celular na hipóxia tecidual, outras explicações poderiam ser apontadas. A regulação do volume celular se dá pela saída ou entrada de eletrólitos e osmólitos orgânicos na célula. Quando ocorre o aumento de volume celular, sensores celulares acionam mecanismos para reduzi-lo e vice-versa. Essa regulação é feita através da ativação de canais iônicos. Os canais de transporte associados de K^+ e Cl^- , quando ativados, provocam decréscimo no volume celular (Pereira 2004). Como no presente modelo a isquemia é apenas parcial, a redução da área do citoplasma observada, poderia ter sido o resultado da ativação destes canais.

De forma semelhante ao aqui observado, outros estudos utilizando modelos de isquemia e reperusão têm demonstrado alterações na morfologia dos neurônios do plexo mioentérico e, também, alterações na motilidade intestinal. Silva et al. (2007) também verificaram alterações em neurônios mioentéricos de ratos após isquemia e reperusão. No entanto, foram encontradas características morfológicas de degeneração como a presença de vacuolização em neurônios mioentéricos de ratos subme-

tidos à isquemia e reperfusão. Essas alterações foram observadas no intestino dos animais 21 dias após a indução da injúria de isquemia e reperfusão, sugerindo a ocorrência de alterações tardias no plexo e sua relação com a diminuição da eliminação fecal. Outras alterações como denervação (Shimajima et al. 2006) e apoptose em neurônios mioentéricos (Boyer et al. 2005), nas condições de isquemia e reperfusão, já foram documentadas em ratos, tendo sido estabelecida uma associação entre essas modificações e a redução da motilidade gastrointestinal.

Outro ponto a ser considerado nessa alteração da morfologia neuronal é o fator mecânico da distensão. A distensão poderia causar uma compressão das células provocando assim redução de seu tamanho. Estudos anteriores utilizando o mesmo modelo verificaram que a distensão reduziu a espessura da mucosa (Faleiros et al. 2007). No entanto, os resultados da avaliação do perímetro e dos diâmetros de corpo neuronal não mostraram redução significativa. Além disso, o efeito mecânico da distensão da membrana citoplasmática pode ativar diretamente proteínas dos canais iônicos como também alterar o estado químico de proteínas do citoesqueleto, que por sua vez podem acionar canais iônicos (Pereira 2004). Assim, além da indução dos canais iônicos de K⁺ e Cl⁻ pela isquemia provocando redução do volume celular, poderia hipotetizar-se que o efeito mecânico da distensão luminal possa alterar a estrutura do citoesqueleto dos neurônios mioentéricos resultando na ativação daqueles canais iônicos.

Além da isquemia e reperfusão, outros modelos têm sido utilizados para produzir lesão no plexo mioentérico. Em ratos submetidos à desnutrição proteica e vitamínica, ao contrário dos resultados obtidos no presente estudo, foi encontrada elevação da área de corpo neuronal. Tal elevação foi atribuída a um possível aumento da atividade desses neurônios, como forma de compensação da redução do seu número observada no grupo experimental (Mello et al. 2004). No presente estudo, não foi possível fazer uma associação entre a alteração morfométrica encontrada e o número de neurônios, já que estes não foram sistematicamente quantificados. Evangelista et al. (2004) encontraram maior número de neurônios considerados grandes em ratos com lesão intestinal induzida quimicamente, porém, ainda que a alteração encontrada tenha sido a elevação da área dos neurônios, a lesão não foi associada a processo degenerativo, apontando para a necessidade de mais estudos para definir se o aumento dos neurônios evolui para degeneração.

Outro achado interessante do presente estudo foi uma diferença estatística entre a área de núcleo e nucleoplasma entre os neurônios corados ao final da distensão e 1,5 horas após, quando comparada com as áreas de neurônios obtidos 12 horas após a descompressão (Fig.3). Como não houve diferença significativa entre amostras controles e aquelas colhidos após 12 horas de descompressão, acredita-se que essa diferença seja promovida

por dois efeitos subliminares individualmente, mas significantes ao serem associados. O primeiro seria uma redução da área do núcleo após a distensão e o segundo um aumento ocorrido a partir de 1,5 horas após descompressão. Sabendo-se que as dimensões nucleares podem variar de acordo com a atividade genética da célula (Smolle et al. 1989), é possível formular a hipótese que a distensão e a conseqüente redução de perfusão sanguínea inicialmente inibem a atividade genética, durante e após as primeiras horas de sua ocorrência, e tardiamente a estimulam. Estudos futuros envolvendo biologia molecular poderão ser úteis para testar tal hipótese.

As alterações encontradas neste estudo estão de acordo com os achados da literatura em outras espécies de que o plexo mioentérico se modifica nas condições de isquemia e reperfusão. Tal resultado permite considerar a participação destas lesões na redução da motilidade gastrointestinal observada no período pós-operatório em eqüinos, ainda que não se conheça todos os mecanismos pelos quais essa alteração ocorre. A metodologia utilizada neste estudo permitiu comprovar que a distensão intestinal promove alterações morfológicas nos neurônios responsáveis pelo peristaltismo do cólon menor eqüino. Novos estudos serão necessários para determinar qual a importância clínica dessas alterações e se elas podem estar associadas à ocorrência de íleo adinâmico em eqüinos e outras espécies, até que se possa alcançar um conhecimento mais detalhado que permita abordagens terapêuticas eficazes para essa afecção.

Agradecimentos.- Ao CNPq pela bolsa de iniciação científica destinada ao primeiro autor. Ao Departamento de Patologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG pelo uso do Laboratório de Morfometria onde parte deste estudo foi realizada.

REFERÊNCIAS

- Batista F.A. 2003. Aspectos morfológicos e morfométricos do cólon descendente de eqüinos tratados pelo cloreto de benzalcônio. Tese de doutorado em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal. 59p.
- Batista F.A., Zucoloto S., Alessi A.C., Souza A.I., Nogueira E. & Valadão C.A.A. 2005. Histomorfometria dos neurônios do plexo mioentérico do cólon descendente de eqüinos expostos ao cloreto de benzalcônio. *Ars Vet.* 21:193-198.
- Boyer L., Ghoreishi M., Templeman V., Vallance B.A., Buchan A.M., Jevon G. & Jacobson K. 2005. Myenteric plexus injury and apoptosis in experimental colitis. *Auton. Neurosci.* 117:41-53.
- Cerqueira N.F., Hussni C.A. & Yoshida W.B. 2005. Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: A review. *Acta Cirur. Bras.* 20:336-342.
- Cunningham J.G. 2004. Tratado de Fisiologia Veterinária. 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 579p.
- Evangelista C.C.B., Stabile S.R., Faria H.G., Pereira A.P.C. & Batista M. 2004. Análise morfométrica de neurônios mioentéricos do íleo de ratos após ingestão do ácido 2,4-diclorofenoxiacético. V Congresso de Anatomia del Cono Sur, Temuco. *Int. J. Morphol.* 22. (Resumo)
- Faleiros R.R., Macoris D.G., Alessi A.C., Saquetti C.H. & Rasera L. 2002. Effect of intraluminal distention on microvascular perfusion in the equine small colon. *Am. J. Vet. Res.* 63:1292-1297.
- Faleiros R.R. 2003. Obstrução experimental do cólon menor eqüino:

- aspectos clínicos, patológicos e terapêuticos. Tese de Doutorado em Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp-Jaboticabal, SP. 253p.
- Faleiros R.R., Macoris D.G., Alves G.E.S., Saquetti C.H.C. & Alessi A.C. 2007. Avaliação histomorfométrica e ultra-estrutural da mucosa do cólon menor equino submetido à distensão. *Pesq. Vet. Bras.* 27:383-387.
- Faleiros R.R., Macoris D.G., Alves G.E.S., Souza D.G., Teixeira M.M. & Moore R.M. 2008. Local and remote lesions in horses subjected to small colon distension and decompression. *Can. J. Vet. Res.* 72:68-76.
- Hudson N., Mayhew I. & Pearson G. 2001. A reduction in interstitial cells of Cajal in horses with equine dysautonomia (grass sickness). *Auton. Neurosci.* 92:37-44.
- Hudson N., Mayhew I. & Pearson G. 2002. Presence of in vitro electrical activity in the ileum of horses with enteric nervous system pathology: equine dysautonomia (grass sickness). *Auton. Neurosci.* 99:119-126.
- Ikeda H., Suzuki I., Suzuki M., Koike M., Tamura J., Tong J., Nomura M. & Itoh G. 1998. Apoptosis is a major mode of cell death caused by ischaemia and ischaemia/reperfusion injury to the rat intestinal epithelium. *Gut* 42:530-537.
- Koenig J. & Cote N. 2006. Equine gastrointestinal motility - ileus and pharmacological modification. *Can. Vet. J.* 47:551-559.
- Matos J.J.R.T., Alves G.E.S., Faleiros R.R. & Marques Júnior A.P. 2000. Lesões de isquemia e reperfusão no intestino de eqüinos: fisiopatologia e terapêutica. *Ciência Rural* 30:1083-1093.
- Matos J.J.R.T., Alves G.E.S., Faleiros R.R., Santos R.L., Marques Júnior A.P. & Melo E.G. 2004. Utilização de hidrocortisona em eqüinos submetidos a isquemia e reperfusão no jejuno e suas conseqüências sobre o cório laminar. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 56:292-299.
- Mello S.T., Liberti E.A., Sant'Ana D.M.G., Molinari S.L. & Miranda Neto M.H. 2004. Estudo morfoquantitativo do plexo mioentérico do duodeno de ratos submetidos a carência de proteínas e vitaminas do complexo B. *Acta Scient. Biol. Sci.* 26:251-256.
- Murray M.J., Parker G.A. & White N.A. 1988. Megacolon with myenteric hypoganglionosis in a foal. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192:917-919.
- Pereira F.E.L. 2004. Degenerações. Morte celular. Alterações do interstício, p.38-68. In: Brasileiro Filho G. (Ed.), *Bogliolo Patologia Geral*. 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 367p.
- Shimajima N., Nakaki T., Morikawa Y., Hoshino K., Ozaki H., Hori M. & Kitajima M. 2006. Interstitial cells of Cajal in dysmotility in intestinal ischemia and reperfusion injury in rats. *J. Surg. Res.* 135:255-261.
- Silva M.A.C.P., Meirelles L.R. & Bustorff-Silva J.M. 2007. Changes in intestinal motility and in the myenteric plexus in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion. *J. Ped. Surg.* 42:1062-1065.
- Shusser G.E. & White N.A. 1997. Morphologic and quantitative evaluation of the myenteric plexuses and neurons in the large colon of horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 210:928-934.
- Smolle J., Hofmann-Wellenhof R., Soyer H.P., Stettner H. & Kerl H. 1989. Nuclear size and shape parameters correlate with proliferative activity in cutaneous melanocytic tumors. *J. Invest. Dermatol.* 93:178-182.
- Snyder J.R. & Spier S.J. 1996. Abnormal conditions of the descending (small) colon, p.774-775. In: Smith B.P. (Ed.), *Large Animal Internal Medicine*. Mosby, St Louis.