

## O ÓXIDO NÍTRICO COMO NEUROTRANSMISSOR NO SISTEMA NERVOSO ENTÉRICO: FISIOPATOLOGIA E IMPLICAÇÕES NO ÍLEO ADINÂMICO

### NITRIC OXIDE AS NEUROTRANSMITTER OF NERVOUS SYSTEM: IMPLICATIONS AND PATHOPHYSIOLOGY OF ADINAMIC ILEUS

Rowilson Flora Filho, TCBC-MG<sup>1</sup>  
Bruno Zilberstein, TCBC-SP<sup>2</sup>

**RESUMO:** Nesta revisão do sistema nervoso entérico, enfatiza-se o mecanismo da inibição não-adrenérgica e não-colinérgica na contratilidade do sistema digestório. Introduce-se a síntese e metabolismo do óxido nítrico com apresentação das sintases do óxido nítrico. Atualiza-se mostrando o óxido nítrico como neurotransmissor do mecanismo inibitório não-adrenérgico e não-colinérgico, demonstrando sua atividade na musculatura lisa gastrointestinal e possível mecanismo intracelular através da cGMP. Após atualização do mecanismo do peristaltismo e do complexo motor migratório, faz-se uma descrição do íleo adinâmico. Por fim, todo raciocínio apresentado condensa-se na fisiopatologia do íleo adinâmico.

**Unitermos:** Óxido nítrico; Íleo adinâmico; Íleo paraltico; Sintases do óxido nítrico; Complexo motor migratório; Peristaltismo; Sistema nervoso entérico; Neurotransmissores.

#### SISTEMA NERVOSO ENTÉRICO (SNE)

O peristaltismo intestinal é um movimento reflexo no qual um determinado estímulo leva à contração proximal da camada muscular e ao simultâneo relaxamento da vizinha porção distal no sentido oral-anal. O peristaltismo é um dos mais importantes reflexos do sistema digestório, sendo coordenado a partir do sistema nervoso entérico (SNE). Vários estímulos, como distensão gasosa ou mecânica, assim como estímulos químicos, iniciam o reflexo tanto *in vivo* como *in vitro*, demonstrando que este sistema é independente do sistema nervoso central.

Anatomicamente, o SNE é constituído pelos neurônios do plexo submucoso (plexo de Meissner) e neurônios do plexo mioentérico (plexo de Auerbach), o último localizado entre a camada muscular intrínseca circular e longitudinal (Figura 1). Estes neurônios estão agrupados em gânglios que se comunicam entre si por um plexo chamado primário, que está distribuído em todo aparelho gastrointestinal. No plexo submucoso

existe somente o plexo primário, entretanto, no plexo mioentérico existem ramificações menores chamadas de plexo secundário e outras ainda mais finas, o plexo terciário, que, em conjunto, formam uma ampla rede atingindo todas as camadas parietais. Em termos quantitativos, pode-se calcular que mais de 10 milhões de células neurais constituem o SNE, sendo, por esta e outras razões funcionais, também chamado "cérebro gastrointestinal".

O SNE está topograficamente distribuído de modo diverso. No esôfago, o plexo mioentérico tem relativamente poucos gânglios predominando redes de neurônios, sendo também o plexo submucoso pobre em gânglios. Supõe-se que as fibras neuronais submucosas venham do plexo mioentérico. O fundo gástrico também exibe um plexo mioentérico escasso com poucas fibras secundárias ou terciárias; já no antro gástrico, observam-se gânglios mioentéricos grandes, com ampla comunicação neuronal. O estômago também apresenta o plexo submucoso em pequena quantidade. Na vesícula biliar encontram-se ambos, os plexos submucoso e mioentérico, que são

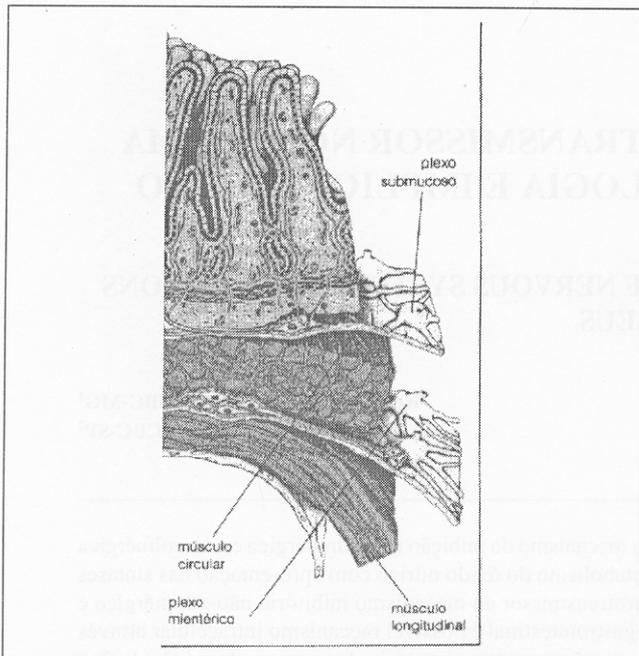
1. Graduado em Gastroenterologia – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.

2. Professor Assistente do Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.

Recebido em 14/11/97

Aceito para publicação em 16/7/98

Trabalho realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – USP.



**Figura 1** – Localização anatômica do plexo mioentérico e do plexo submucoso do Sistema Nervoso Entérico. Desenho esquemático adaptado de Smooth AJPM et al

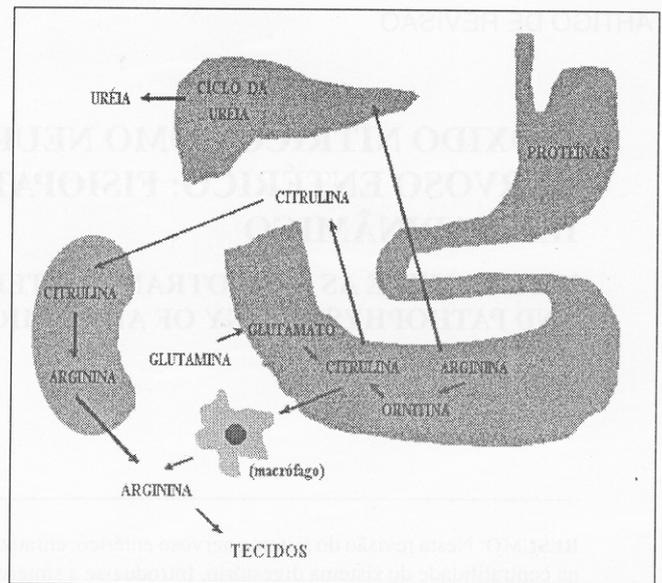
pouco desenvolvidos notando-se neurônios esparsos nas vias biliares que, entretanto, vêm a se concentrar no esfíncter de Oddi. Nos intestinos delgado e grosso observa-se o maior desenvolvimento do SNE com distribuição uniforme dos plexos neurais e ampla comunicação pelos plexos secundários e terciários. No reto existe diminuição dos gânglios e dos plexos neuronais.

O SNE recebe estímulos extrínsecos colinérgicos pela via vagal e adrenérgicos pelos nervos simpáticos, que não serão abordados nesta revisão.

### INIBIÇÃO NÃO ADRENÉRGICA E NÃO COLINÉRGICA (NANC) DO SNE

Como citado acima, a atividade motora gastrointestinal independente de estímulos extrínsecos é conhecida desde o final do século XIX, descrita nos trabalhos pioneiros dos fisiologistas Starling e Bayliss.<sup>4</sup> Como esta atividade é intrínseca, a mesma permanece presente mesmo em experimentos em que segmentos intestinais são totalmente desnervados. O controle desta atividade exerce-se por inibição da motilidade e consiste em um relaxamento muscular mediado por atividade neuronal com hiperpolarização das membranas dos miócitos.<sup>5</sup> Este sistema é chamado de potencial inibitório juncional (*Inhibitory Junction Potentials – IJP*), sendo, porém, mais conhecido como inibição não adrenérgica e não colinérgica (*Inhibition Non Adrenergic and NonCholinergic – NANC*).<sup>5</sup>

Como neurotransmissores do sistema inibidor NANC, existem múltiplos estudos considerando o VIP (*Vasoactive*



**Figura 2** – Esquema de absorção intestinal da arginina. A arginina é absorvida diretamente ou pode ser transformada em ornitina e citrulina. A citrulina é transportada para os rins onde é substrato da neo-síntese de arginina. Em algumas células, como macrófagos, a citrulina é transformada em arginina

*Intestinal Polypeptide*) e ATP (*Adenosine Triphosphate*) como substâncias ativas.<sup>6,7,8</sup> Entretanto, em alguns músculos lisos do sistema digestório, nenhum destes dois neurotransmissores puderam ser demonstrados.<sup>8,9</sup> Trabalhos recentes demonstraram que o óxido nítrico (*Nitric Oxide – NO*) pode ser neurotransmissor do sistema inibidor NANC.

### CARACTERÍSTICAS, SÍNTESE E METABOLISMO DO ÓXIDO NÍTRICO (NITRIC OXIDE - “NO”)

No início dos anos 80, Furchgott investigava um fator vasodilatador associado ao endotélio vascular (*Endothelium-Derived Relaxing Factor – EDRF*), que poucos anos mais tarde confirmou-se ser o próprio óxido nítrico (*nitric oxide – NO*).<sup>10,11</sup> Independentemente e na mesma época, Marletta identificou o NO como produto da reação da L-arginina, que era oxidado a nitrito e nitrato.<sup>1,12</sup>

O NO é uma molécula gasosa simples altamente tóxica devido à presença de radical livre (elétron extra) que a torna um agente químico altamente reativo. Quando diluído, o NO tem uma meia vida de menos de dez segundos devido à sua rápida oxidação a nitrito e nitrato. O NO liga-se à hemoglobina e outras proteínas que contêm o núcleo heme levando ao término de sua atividade biológica.<sup>13</sup>

O substrato para a reação química que origina o NO é a L-arginina, a qual leva à formação de L-citrulina na presença de nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fostato-hidrogênio (NADPH), Ca<sup>2+</sup> e O<sub>2</sub>. Esta síntese enzimática pode ser inibida por análogos da L-arginina tais como N<sup>G</sup>-monometil-L-arginina (L-NMMA), N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina (L-NNA) e N<sup>G</sup>-nitro-L-

arginina-metil-éster (L-NAME).<sup>13</sup> A L-arginina é um amino-ácido semi-essencial produzido no organismo em quantidades insuficientes. Além do ciclo da uréia, a arginina está envolvida na síntese de creatinina e poliaminas onde fornece a ornitina. Como há solicitação metabólica continuada, a L-arginina é sintetizada nos túbulos proximais renais a partir de um de seus produtos de degradação, a citrulina, constituindo o ciclo renal. A citrulina também pode ser convertida diretamente em L-arginina no citoplasma das células endoteliais e dos macrófagos<sup>14</sup> (Figura 2).

### AS SINTASES DO "NO" (NOS)

Muitas células são capazes de sintetizar o NO através de hemoproteínas da família citocromo P450-like chamadas NO synthases (NOS). As NOS são dependentes de O<sub>2</sub>, NADPH, flavinas e bipterinas para exercer atividade. Até o momento foram isoladas três isoenzimas, sendo duas constitutivas e uma induzível, recebendo as siglas respectivas de cNOS e iNOS.<sup>15</sup>

A cNOS (*constitutive NO synthase*) ou bNOS (*brain NO synthase*) ou nNOS (*neuronal NO synthase*) ou Isoforma I está presente no cérebro e foi purificada inicialmente no cérebro do camundongo e do porco.<sup>16</sup> Esta proteína, atualmente clonada de cérebros humanos, também é encontrada em todos os neurônios distribuídos pelo organismo.<sup>14</sup>

A iNOS (*inducible NO synthase*) ou Isoforma II, habitualmente não é expressa fisiologicamente, sendo induzida nos macrófagos e outras células por lipossacárides bacterianos e/ou citocinas (Interleucina-1 $\beta$ , Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  - TNF  $\alpha$  e Interferon  $\gamma$  - INF  $\gamma$ ).<sup>17</sup> Vários grupos clonaram a iNOS também em músculo liso, hepatócitos de camundongo e humanos.<sup>18</sup> Considera-se que qualquer célula do organismo tem a capacidade de produzir iNOS sob estímulos apropriados. Uma vez induzida, a iNOS leva à produção de NO por longo tempo. O alto nível de NO produzido por macrófagos ou por neutrófilos ou outras células ativadas, é tóxico para micróbios, parasitas ou células tumorais, porém pode também lesar células saudáveis vizinhas, sendo este mecanismo responsável pela maioria de processos inflamatórios e autoimunes.

A cNOS (*constitutive NO synthase*) ou eNOS (*endothelium NO synthase*) ou Isoforma III é expressa constitutivamente nas células endoteliais. O cDNA, responsável pela eNOS, foi clonado de células endoteliais de bovinos e humanos.<sup>19</sup>

As isoenzimas NOS podem ser, sob ponto de vista prático, caracterizadas como de baixo ou alto débito, conforme a duração da atividade da NOS. As isoformas I e III (nNOS e eNOS) são de baixo débito, estando envolvidas em processos homeostáticos como neurotransmissão, peristaltismo, controle imediato da pressão arterial, etc., considerando-se a eNOS de menor débito do que nNOS. Já a isozima II ou iNOS, quando estimulada, permanece em atividade por horas, com mecanismos de sinergismo de indução, inclusive pelo próprio NO produzido.<sup>18</sup> Esta importante característica é que pode levar à morte da célula em determinadas circunstâncias.<sup>20,21</sup>

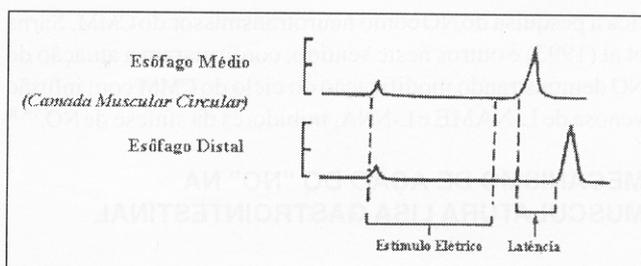


Figura 3 – Estímulo elétrico da camada circular esofageana. Contração muscular após latência, mediada pelo sistema inibitório NANC

### "NO" COMO NEUROTRANSMISSOR DA INIBIÇÃO NANC DO SNE

As evidências de que o NO atuava como neurotransmissor no SNE iniciaram-se em 1990 com os experimentos de Bult et al<sup>22</sup> em musculatura lisa intestinal. A partir de estimulação elétrica de segmentos íleo-colônicos de cães, coletava-se a substância liberada pelo sistema NANC que, colocada em contato com musculatura lisa vascular, resultava também em dilatação da última.<sup>22</sup> Posteriormente, o mesmo grupo realizou experimento similar com fundo gástrico de camundongos, também demonstrando que a substância liberada era inativada pela oxihemoglobina e sua produção era interrompida por um análogo da L-arginina.<sup>23</sup>

Na musculatura esofageana sabe-se que a peristalse é devida a uma diferença de pressões luminares determinadas por latências nas contrações a partir da deglutição, que aumentam em duração no sentido distal. Esta latência ocorre porque o estímulo neural primário é, na verdade, inibitório, atingindo a camada muscular circular. Esta inibição é mediada pelo sistema NANC<sup>24</sup> (Figura 3). A partir de 1991, vários estudos foram realizados utilizando-se musculatura circular do marsupial opossum, cães e humanos, demonstrando ser o NO o principal neurotransmissor envolvido na inibição NANC da peristalse esofageana.<sup>25,26,27</sup>

Quanto à motilidade da musculatura intestinal, esta é bem definida a partir dos complexos mioelétricos migratórios (*Migrating Myoelectrical Complexes – MMC*) que são mediados pelo sistema inibitório NANC. De acordo com convenção internacional passou-se a chamar este complexo de Complexo Motor Migratório (CMM).

O CMM é um padrão contrátil que atinge a totalidade do trato gastrointestinal na fase interdigestiva ocorrendo ciclicamente com duração total aproximada de 90 minutos. No intestino delgado, o CMM inicia-se do duodeno proximal ao duodeno distal com uma velocidade de 5 a 10cm/min. O CMM segue por todo o intestino delgado atingindo o íleo terminal entre 90 e 120 minutos.<sup>3</sup>

Estudos recentes de transplantes de intestino delgado voltam a confirmar a característica intrínseca do NANC, observando-se retorno do CMM no segmento transplantado.<sup>28</sup> Significando que o NANC está envolvido, tornou-se automá-

tica a pesquisa do NO como neurotransmissor do CMM. Sarna et al (1993) e outros neste sentido, confirmaram a atuação do NO demonstrando modificação do ciclo do CMM com infusão venosa de L-NAME e L-NNA, inibidores da síntese de NO.<sup>29,30</sup>

### MECANISMO DE AÇÃO DO “NO” NA MUSCULATURA LISA GASTROINTESTINAL

O NO é um importante mensageiro intercelular nos mamíferos superiores.<sup>2</sup> O mecanismo de sinalização intercelular é, em geral, realizado através de receptores de membrana celular na célula alvo; estes receptores são, habitualmente, transmembranosos, tendo contato com citoplasma e desencadeando uma “cascata” de sinais intracelulares que finalizarão em uma mudança da célula. Pelas suas características químicas de alta difusibilidade, a sinalização do NO é exercida diretamente a nível intracelular, sem receptores transmembranosos.

Na musculatura lisa gastrointestinal, o NO reage com ferro estimulando a guanilato ciclase (*Guanylate cyclase*) a produzir, a nível intracelular, a guanosina-mono-fosfato cíclica (*Cyclic Guanosine MonoPhosphate - cGMP*).<sup>31</sup> A produção de guanilil ciclase é rápida e a sua meia-vida também é tênue, devido à sua rápida degradação, determinando e complementando um sistema de resposta celular bastante ágil.

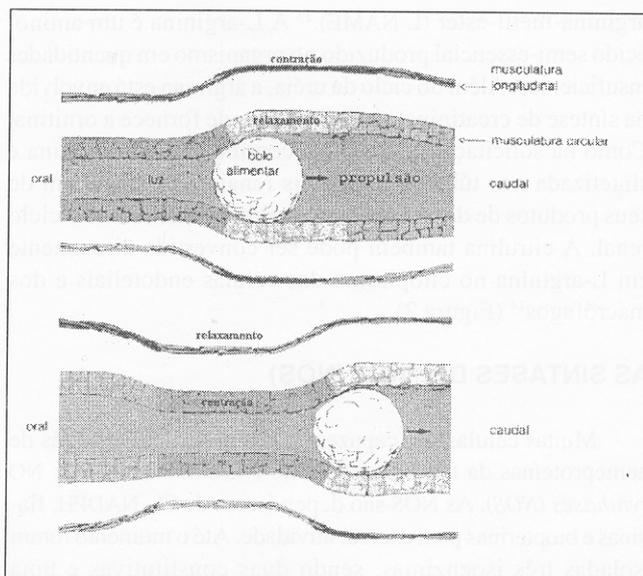
O mecanismo de degradação da cGMP é realizado, a nível intracelular, pela GMP fosfodiesterase cíclica (*Cyclic GMP Phosphodiesterase*).

O mecanismo pelo qual a cGMP leva ao relaxamento da musculatura lisa gastrointestinal não está totalmente definido. Provavelmente está ligado à queda de concentração intracelular de  $Ca^{2+}$ . Em indução de relaxamento da musculatura lisa fica demonstrada a queda citoplasmática do cálcio após estimulação elétrica de musculatura anocócígena de ratos e em liberação de NO pelo nitroprussiato sódico aplicado em antro gástrico canino.<sup>31</sup>

### O PERISTALTISMO E O COMPLEXO MOTOR MIGRATÓRIO CÍCLICO

Ainda define-se, erroneamente, o peristaltismo como qualquer movimentação gastrointestinal. Considera-se peristaltismo como contrações musculares fásicas da musculatura intrínseca circular que se propagam em direção distal. O SNE é essencial na coordenação descendente destas contrações.<sup>3</sup> Um exemplo de contração peristáltica é o estímulo intraluminal do bolo alimentar, em que ocorre uma dilatação da musculatura circular juntamente com uma contração da musculatura longitudinal, seguido de uma contração da musculatura circular e dilatação da musculatura longitudinal, ocorrendo propulsão do bolo alimentar (Figura 4).

O complexo motor migratório (CMM) é outro exemplo de contrações peristálticas mediadas pelo NANC. Como o CMM ocorre nos períodos interdigestivos ou de jejum, tem uma importante função fisiológica. Assim, o CMM limpa



**Figura 4** – Propagação da onda peristáltica pelo intestino delgado. Acima: relaxamento da musculatura circular e contração da musculatura longitudinal. Abaixo: contração da musculatura circular e relaxamento da musculatura longitudinal

restos alimentares do estômago e intestino delgado, ajudando a manter a flora intestinal equilibrada; havendo secreção de suco gástrico, bile e secreção pancreática, o CMM funciona como uma “escova” físico-química.<sup>3</sup>

### ÍLEO ADINÂMICO E “NO”

Define-se íleo adinâmico como um estado de doença aguda e potencialmente reversível em que ocorre disfunção motora gastrointestinal parcial ou completa. Clinicamente é caracterizado por distensão abdominal, náuseas, vômitos, anorexia, seqüestro de líquidos, hipotensão arterial, etc. É observado em qualquer situação inflamatória peritoneal. Entre as substâncias mais irritantes para o peritônio estão o ácido clorídrico, conteúdo fecal e enzimas pancreáticas. Sangue e urina, embora menos irritantes, também podem levar ao íleo adinâmico. Entre outras causas significativas, destaca-se a isquemia intestinal, que pode levar ao íleo adinâmico ou perpetuar o mesmo, devido à distensão abdominal e diminuição de fluxo sanguíneo intestinal. Como causas extra-abdominais comuns incluem-se a pneumonia de lobo inferior pulmonar, infarto do miocárdio e distúrbios eletrolíticos, particularmente a hipopotassemia. O íleo adinâmico é, entretanto, mais freqüente no pós-operatório de cirurgias abdominais. Na sepse, tanto com foco infeccioso intra como extra-abdominal, observa-se também o íleo adinâmico.<sup>35,36</sup>

Fisiopatologicamente considera-se que no íleo adinâmico ocorre uma incoordenação dos movimentos peristálticos habituais juntamente com desaparecimento do CMM, estado este que dura ou persiste de acordo com o estímulo desencadeante.

O NO faz parte do arsenal de primeira defesa do organismo com poder microbicida. Assim, está demonstrado sua ação antibactericida, anti-rickettsial, antiparasítica e antiviral.<sup>37,38,39</sup> Nestes casos, o NO atua em concentrações maiores do que as de mensageiro, sendo tóxico aos microorganismos invasores.

Existe um tênue limite de concentração tecidual entre a não toxicidade às células do hospedeiro e a toxicidade necessária para ação antimicrobicida. No caso de situações de sobrecarga exageradas do organismo, como na sepse, o NO encontra-se em concentrações tóxicas. A atuação do NO como toxina varia conforme a concentração e o tecido em questão, devendo ainda ser considerada a capacidade de depuração tecidual. A determinação destas concentrações teciduais relativas no intestino delgado permanece um segredo da natureza.

Na sepse, quase sempre, existe um estímulo tríplice para expressão da iNOS (lipopolissacarídeos bacterianos, interleucina-1 $\beta$  e fator de necrose tumoral- $\alpha$ ), levando a uma grande produção de NO que atinge concentrações tóxicas.<sup>2</sup> Como o NO leva à distensão da musculatura lisa gastrointestinal via sistema inibitório NANC,<sup>25,26,27</sup> seria lógico determinar a ação do NO no íleo adinâmico. Os estudos iniciaram-se com a confirmação da indução da iNOS no íleo de cães a partir de injeção de endotoxinas.<sup>33</sup> Também Cullen et al demonstraram aumento da iNOS e eNOS em musculatura de fundo gástrico e de íleo

em ratos após indução de endotoxemia, com melhora do trânsito intestinal após administração de inibidores da iNOS.<sup>34</sup>

Em um interessante trabalho, recentemente apresentado, o mesmo grupo de pesquisadores induziu o íleo adinâmico em cães a partir de injeção venosa de lipopolissacarídeos bacterianos em dose cinquenta vezes menor do que a do estudo em ratos. Demonstrou-se aumento de nitratos e nitritos no sangue portal (produtos de oxidação do NO) e desaparecimento do CMM, com retorno após três dias, coincidente com depuração da endotoxina.<sup>35</sup>

O sistema de inibição NANC do SNE tem uma importante função fisiológica na homeostase do sistema digestório principalmente através do peristaltismo e da coordenação do CMM.

A demonstração de um novo personagem neste “mini-cérebro”, o NO como mensageiro, ajuda a entender vários mecanismos de funcionamento da musculatura lisa gastrointestinal. O NO é produzido através das sintases do NO (NOS) em condições fisiológicas e em condições fisiopatológicas.

Uma das aplicações práticas destes novos conhecimentos é o melhor entendimento da duração e persistência do íleo adinâmico, em que se observa atuação significativa do NO. O íleo adinâmico é bastante freqüente na prática clínica, principalmente para os cirurgiões. Com a aquisição de novos dados sobre a fisiopatologia desta afecção, além da prevenção do estado do íleo adinâmico, abrem-se perspectivas para pesquisa de novos tratamentos.

## ABSTRACT

*The non-adrenergic and non-cholinergic (NANC) inhibition has an important role in the intrinsic control of enteric nervous system (ENS). The ENS is poor in the upper digestive tract (esophagus and stomach) and totally present in the intestine. Starling and Bayliss experiments demonstrated the intrinsic activity of ENS in 1899. Since then there are searching for neurotransmitters of NANC like VIP (Vasoactive Intestinal Polypeptide) and ATP (Adenosine Triphosphate). Recent works demonstrate nitric oxide as a neurotransmitter of NANC. The nitric oxide (NO) is a gaseous molecule produced from L-arginine, with less than ten seconds half-life. The enzymes involved in the synthesis of NO are the NO synthases (NOS): neuronal NOS or isoform I, inducible NOS or isoform II, and endothelial NOS or isoform III. The isoform I and III are constitutive, and the isoform II is inducible. The mechanisms involved in the induction of isoform III are TNF $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor), IL-1 $\beta$  (Interleukin 1- $\beta$ ), and bacteria lipopolysaccharides stimulus. The intestinal smooth muscle motility is mediated by NANC and one example of this is the migratory motor complex (MMC). The MMC can be modified by infusion of NO-like drugs and this modification is reversed by infusion of L-NAME (L-arginine analog) in experimental trials with animals. The NO causes relaxation and inhibition of peristalsis in the small intestine. The adynamic ileum is a very common situation for surgeons. In the adynamic ileum is observed the dysfunction of MMC. The adynamic ileum induced by infusion of endotoxins is reverted by use of NOS inhibitors.*

**Key Words:** Nitric oxide; Nitric oxide synthesis; Nitric oxide synthases; Adynamic ileus; Paralytic ileus; Migratory Motor Complex; Peristalsism; Enteric nervous system; Neurotransmitters.

## REFERÊNCIAS

1. Green LC, Tannenbaum SR, Goldmann P – Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. *Science* 1981; 212: 56-58.
2. Flora-Filho R, Zylberstein B – Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. *Rev Ass Med Bras* 1997 (Em impressão).

3. Smout AJPM, Akkermans LMA – *Fisiologia y Patologia de la Motilidad Gastrointestinal*. Hampshire, United Kingdom: Wrightson Biochemical Publishing Ltd. 1992.
4. Bayliss WM, Starling EH – The movement and innervation of the small intestine. *J Phys (London)* 1899; 24: 99-143.
5. Hoyle CHV, Burnstock G – Neuromuscular transmission in gastrointestinal tract. In: *Handbook of Physiology: The Gastrointestinal System. Motility and Circulation*. Bethesda, USA: American Physiology Society, 1989, pp.435-464.
6. Burnstock G, Satchell DG, Smythe A – A comparison of the excitatory and inhibitory effects of non-adrenergic, non-cholinergic nerve stimulation and exogenously applied ATP on a variety of smooth muscle preparations from different vertebrate species. *Brit J Pharm* 1972;46:234-242.
7. Biancani P, Walch JH, Behar J – Vasoactive intestinal polypeptide: a neurotransmitter for lower esophageal sphincter relaxation. *J Clin Invest* 1984;73:963-967.
8. Behar J, Guenard V, Walsh JF, et al: VIP and acetylcholine: neurotransmitters in esophageal circular smooth muscle. *American J Phys* 1989;257:G380-G385.
9. De Beurme FA, Lefebvre RA – Vasoactive intestinal polypeptide as possible mediator of relaxation in the rat gastric fundus. *Brit J Pharm* 1988;40:711-715.
10. Furchgott RF, Cherry PD, Zawadzki JV, et al – Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. *J Cardiovasc Pharm* 1984; 53:557-573.
11. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, et al – Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:9265-9269.
12. Marletta MA, Yoon PS, Iyengar R, et al – Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: Nitric oxide is an intermediate. *Biochem* 1988;27:8706-8711.
13. Snyder SH, Brecht DS – Biological role of nitric oxide. *Science Am* 1992;266:68-77.
14. Konturek SK, Konturek PC – Role of nitric oxid in the digestive system. *Digestion* 1995;56:1-13.
15. Wang Y, Mardsen PA – Nitric oxide synthases: Biochemical and molecular regulation. *Cur Opin Nephrol Hypert* 1995;4:12-22.
16. Schmidt HHHW, Pollock JS, Nakana M, et al – Purification of a soluble isoform of guanylyl cyclase-activating-factor synthase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:365-369.
17. Stuehr DJ, Cho HJ, Kwon NS, et al – Purification and characterization of the cytokine-induced macrophage nitric oxide synthase: an FAD- and FMN-containing flavoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:7773-7777.
18. Geller DA, Lowenstein CJ, Shapiro RA, et al – Molecular cloning and expression of inducible nitric oxide synthase from human hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:3.491-3.495.
19. Pollock JS, Förstermann U, Mitchell JA, et al – Purification and characterization of particulate endothelium-derived relaxing factor synthase from cultured and natedived bovine aortic endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:10.480-10.484.
20. Nathan C, Xie QW – Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem* 1994;269:13.725-13.728.
21. Schmidt HHHW, Walter U – NO at work. *Cell* 1994;78:919-925.
22. Bult H, Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, et al – Nitric oxide as a inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitter. *Nature* 1990;345:346-347.
23. Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Bult H, et al – Release of nitric oxide upon stimulation of non-adrenergic non-cholinergic nerves in the rat gastric fundus. *J Pharm Exp Therap* 1991;256:441-447.
24. Meyer GW, Gerhardt DC, Castell DO – Human esophageal response to rapid swallowing: Muscle refractory period or neural inhibition? *American J Physiol* 1981;241:G1329-G1366.
25. Tottrup A, Svane D, Forman A – Nitric oxide mediating NANC inhibition in opossum lower esophageal sphincter. *American J Phys* 1991; 260:G385-G389.
26. Yamato S, Spechler SJ, Goyal RK – Role of nitric oxide in esophageal peristalsis in the opossum. *Gastroenterology* 1992;103:197-204.
27. Preiksaitis HG, Tremblay L, Diamant NE – Nitric oxide mediates inhibitory nerve effects in human esophagus and lower esophageal sphincter. *Digest Dis Sci* 1994;39: 770-775.
28. Hamada N, Hutson WR, Nakada K, et al – Intestinal neuromuscular function after preservation and transplantation. *J Surg Res* 1996; 63:460-466.
29. Sarna SK, Otterson MF, Ryan RP, et al – Nitric oxide regulates migrating motor complexes cycling and its postprandial disruption. *American J Phys* 1993;265:G749-G766.
30. Rodriguez-Membrilla A, Martinez V, Jimenez M, et al – Is nitric oxide the final mediator regulating the migrating myoelectric complex cycle? *American J Phys* 1995;268:G207-G214.
31. Grous M, Joslyn AF, Thompson W, et al – Change in intracellular cyclic nucleotide content accompanies relaxation of the isolated canine internal anal sphincter. *J Gastroint Motil* 1991; 3:46-52.
32. Ozaki H, Blondfield DP, Hori M, et al – Spontaneous release of nitric oxide inhibits electrical Ca<sup>2+</sup> and mechanical transients in canine gastric smooth muscle. *J Phys (London)* 1991;445:231-247.
33. Watson EG, Kostka P, Daniel EE – Effects of endotoxin and time on the induction of nitric oxide synthase in the canine ileum. *Gastroenterology* 1993;104:A1066.
34. Wirthlin DJ, Cullen JJ, Spates ST, et al – Gastrointestinal transit during endotoxemia: Role of nitric oxide. *J Surg Reserc* 1996; 60:307-311.
35. Cullen JJ, Caropreso DK, Hemann LL, et al – Pathophysiology of adynamic ileum. *Digest Dis Sci* 1997;42:731-37.
36. Zilberstein B, Cecconello I – Choque séptico. In: *Infeção em Cirurgia do Aparelho Digestivo*. São Paulo: Robe, 1994.
37. Drapier JC, Weizesbin J, Hibbs JB – Interferon g and tumor necrosis factor induce the L-arginine cytotoxic effects or mechanism in murine macrophages. *European J Immun* 1988;18:1.587-1.592.
38. Oswald IP, Eltoun I, Wynn TA, et al – Endothelial cells are activated by cytokine treatment to kill an intravascular parasite, *Schistosoma mansoni*. *Proc Nat Acad Sci USA* 1994;91: 999-1003.
39. Gazzinelli RT, Oswald IP, Hieny S, et al – The microbicidal activity of interferon-gamma-treated macrophages against *Trypanosoma cruzi* involves an L-arginine-dependent, nitrogen oxide-mediated mechanism inhibitable by interleukin-10 and transforming growth factor-beta. *European J Immun* 1992;22:2.501-2.506.

## ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Dr. Rowilson Flora Filho  
 Rua Dr. Mário Mourão, 54  
 37701-019 – Poços de Caldas-MG