

ROBERTA FIGUEIROA DE SOUZA

**ESTUDO DO EFEITO DO ANTI-TNF α NOS NEURÔNIO ENTÉRICOS E
CÉLULAS GLIAIS ENTÉRICAS DE CAMUNDONGOS NA COLITE
ULCERATIVA EXPERIMENTAL**

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

São Paulo

2021

ROBERTA FIGUEIROA DE SOUZA

**ESTUDO DO EFEITO DO ANTI-TNF α NOS NEURÔNIOS ENTÉRICOS E
CÉLULAS GLIAIS ENTÉRICAS DE CAMUNDONGOS NA COLITE
ULCERATIVA EXPERIMENTAL**

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

Área de concentração: Biologia Morfofuncional.

Orientador (a): Prof^ª. Dr^ª. Patrícia Castelucci.

Versão Original

São Paulo

2021

RESUMO

SOUZA, RF. **Estudo do efeito do anti-TNF α nos neurônios entéricos e células glias entéricas de camundongos na colite ulcerativa experimental.** 2021. 79 p. Dissertação de Mestrado do Programa de Biologia de Sistemas – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

A colite ulcerativa e a Doença de Crohn fazem parte das doenças inflamatórias intestinais (DII) e apresentam processos patofisiológicos como a necrose do intestino e dos neurônios entéricos e glias entéricas. As DII tem como o principal mediador inflamatório o fator de necrose tumoral alfa (TNF α). Este projeto tem como objetivo estudar os efeitos do anti-TNF α , o Adalimumabe (ADA), no plexo mioentérico na colite ulcerativa experimental. Para isto, os animais C57BL/6 receberam 3% de sulfato de sódio dextran (DSS) dissolvido em água potável por 7 dias até que todos os camundongos dos grupos administrados (grupos DSS e DSS+ADA) desenvolvessem inflamação intestinal equivalente à de humanos. O grupo Sham recebeu água pelo mesmo período. O grupo (DSS+ADA) recebeu o anti-TNF α no 2º dia de ingestão do DSS. O grupo ADA recebeu água por todo o período e injeção de anti-TNF α no 2º dia. Foi avaliado o código químico, o número de neurônios por gânglio e a área dos neurônios entéricos imunorreativos a óxido nítrico sintase neuronal (NOSn), colina acetil transferase (ChAT), pan neuronal PGP9.5 e o receptor TNFR2. Também foi feita dupla marcação do pan neuronal PGP9.5 com marcador glial (GFAP). Além disso, foi obtida a análise do perfil neuronal (μm^2) dos neurônios NOSn-ir, ChAT-ir e PGP9.5 -ir. As análises qualitativas e quantitativas foram obtidas no microscópio de fluorescência Nikon 80i. Os resultados quantitativos mostram que a) o DSS foi um protocolo que induziu a colite ulcerativa, uma vez que os animais apresentaram alterações no peso com diarreia e sangramento; b) o receptor TNFR2 foi encontrado nos neurônios do plexo mioentérico nos grupos Sham, ADA, DSS e DSS+ADA; c) a colite ulcerativa experimental afetou os neurônios entéricos, pois houve diminuição dos neurônios imunorreativos a TNFR2, ChAT, NOSn e PGP9.5; d) a colite ulcerativa experimental afetou de maneira diferenciada as células glias entéricas, com aumento nos grupos DSS e DSS+ADA; e) o grupo DSS+ADA dos neurônios NOSn-ir e ChAT-ir apresentaram recuperação do número de neurônios por gânglio; f) a colite ulcerativa experimental afetou o perfil neuronal com redução da área nos grupos DSS e DSS+ADA. Conclui-se que os neurônios do plexo mioentérico são imunorreativos ao receptor TNFR2, a inflamação pelo DSS causou alterações no plexo mioentérico e o tratamento com o anti-TNF α pareceu ser efetivo no tratamento da colite ulcerativa experimental.

Palavras chaves: Neurônio Entérico, Célula Glial Entérica, Colite Ulcerativa, Anti-TNF α Adalimumabe.

ABSTRACT

SOUZA, RF. **Effect of anti-TNF α on enteric neurons and enteric glial cells in experimental ulcerative colitis.** 2021. 79 p. Master's thesis of Systems Biology Program – Biomedical Sciences Institute, São Paulo University, São Paulo, 2021.

Ulcerative colitis and Crohn's disease are part of inflammatory bowel diseases (IBD) and have pathophysiological processes such as bowel necrosis and enteric neurons and enteric glia. Also, the main inflammatory mediator is tumor necrosis factor alpha (TNF α). This project aims to study the effects of anti-TNF α , Adalimumab (ADA), on the myenteric plexus in experimental ulcerative colitis. For this, C57BL / 6 animals received 3% dextran sodium sulfate (DSS) dissolved in drinking water for 7 days until all mice in the administered groups (DSS and DSS + ADA groups) developed intestinal inflammation equivalent to humans. The Sham group received water for the same period. The group (DSS + ADA) received anti-TNF α on the 2nd day of DSS intake. The ADA group received water for the entire period and anti-TNF α injection on the 2nd day. The chemical code, the number of neurons per ganglion, and the area of the neuronal nitric oxide synthase (nNOS), choline acetyl transferase (ChAT), PGP9.5 neuronal pan and TNFR2 receptor immunoreactive enteric neurons were evaluated. Double labeling of PGP9.5 neuronal pan with glial marker (GFAP) was also performed. In addition, the neuronal profile analysis (μm^2) of nNOS-ir, ChAT-ir and PGP9.5-ir neurons was performed. Qualitative and quantitative analyzes were obtained using the Nikon 80i fluorescence microscope. Quantitative results show that a) DSS was a protocol that induced ulcerative colitis, since the animals presented weight changes with diarrhea and bleeding; b) TNFR2 receptor was found in the myenteric plexus neurons in the Sham, ADA, DSS and DSS + ADA groups; c) Experimental ulcerative colitis affected the enteric neurons, as there was a decrease in the TNFR2, ChAT, nNOS and PGP9.5 immunoreactive neurons; d) experimental ulcerative colitis affected differently the enteric glial cells, with increase in the DSS and DSS + ADA groups; e) the DSS + ADA group of nNOS-ir and ChAT-ir neurons showed recovery of neurons per ganglia; f) experimental ulcerative colitis affected the neuronal profile with reduced area in the DSS and DSS + ADA groups. It is concluded that myenteric plexus neurons are immunoreactive to the TNFR2 receptor, DSS inflammation caused changes in the myenteric plexus and anti-TNF α treatment appeared to be effective in the treatment of experimental ulcerative colitis.

Keywords: Enteric Neuron, Enteric Glial Cell, Ulcerative Colitis, anti-TNF α Adalimumab.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Sistema Nervoso Entérico

O Sistema Nervoso Entérico (SNE) é encontrado na parede intestinal com considerável complexidade estrutural e integridade funcional (FURNESS, 2006). O SNE está organizado em uma complexa estrutura que exerce a motilidade do trato gastrointestinal, controle da secreção de ácido gástrico, regulação do movimento de fluido através do epitélio, mudanças no fluxo sanguíneo local e interações com o sistema endócrino e imune do intestino (FURNESS, 2006, 2012). Esse sistema possui dois plexos ganglionares, o plexo mioentérico e o plexo submucoso (FURNESS, 2000, 2006) (Figura 1).

O plexo mioentérico (plexo de Auerbach) encontra-se entre a camada muscular longitudinal externa e a camada do músculo circular, localizado por todo trato digestório, do esôfago ao reto. O plexo mioentérico apresenta três componentes: um plexo primário, um plexo secundário e um plexo terciário. Este plexo está envolvido na regulação reflexa das atividades contráteis do músculo circular e longitudinal, justamente por estar mais próxima ao músculo (FURNESS, 2000, 2006; LOMAX et al., 2005).

O plexo submucoso (de Meissner) é encontrado predominante no intestino delgado e grosso, apresenta um gânglio menor e suas fibras interconectadas são mais finas quando comparadas ao plexo mioentérico (FURNESS, 2006, 2012). Tem papel direto no controle da secreção e absorção, através de neurônios motores que regulam a atividade secretomotora e vasomotora da mucosa (FURNESS, 2000; LOMAX et al., 2005).

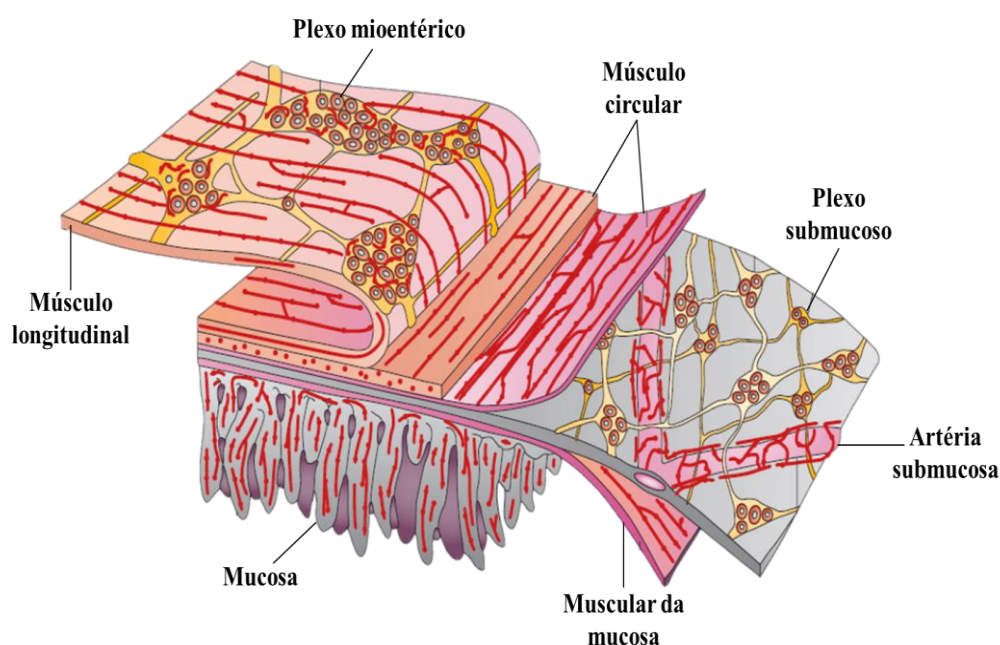
Os plexos entéricos seguem um padrão ao longo do trato digestório, todavia, diferenças quanto à densidade e o tamanho dos neurônios, bem como a forma dos gânglios, podem localizar-se no mesmo segmento do trato digestório dos animais da mesma espécie e com idades diferentes (MATINI et al., 1997; MCKEOWN et al., 2001; QU et al., 2008), ou expostos a condições experimentais como: desnutrição/renutrição (CASTELUCCI et al., 2002; GIROTTI et al., 2013; MISAWA et al., 2010), obesidade (MIZUNO et al., 2012; 2014) e isquemia/reperfusão (MAROSTI et al., 2015; MENDES et al., 2015; PALOMBIT et al., 2013, 2019; PAULINO et al., 2011) e inflamação intestinal (DA SILVA et al., 2015, 2017).

Os neurônios entéricos podem ser reunidos em neurônios motores, interneurônios e intrínsecos aferentes primários (IPANs) (FURNESS, 2006). Os neurônios motores são divididos em neurônios excitatórios e neurônios inibitórios da musculatura lisa do intestino, e neurônios secretomotores/vasodilatadores. Os dois primeiros encontram-se no plexo mioentérico e estão implicados no controle da motilidade, já os neurônios secretomotores/vasodilatadores são

encontrados no plexo submucoso e são responsáveis pela inervação da mucosa e pela regulação da secreção, absorção e do fluxo sanguíneo (FURNESS, 2000, 2006, 2012).

Para estudar o código químico dos neurônios do plexo mioentérico, são usados para identificar os neurônios motores inibitórios, à enzima óxido nítrico sintase neuronal (NOSn); para os IPANs a Calbindina (Calb); para neurônios motores colinérgicos a enzima acetil colina transferase (ChAT) e/ou Calretinina (Carl); o pan-neuronal é utilizado o marcador anti-HuC/D e/ou PGP 9.5 (FURNESS 2006, 2012).

Figura 1. Representação esquemática do SNE. Adaptado de FURNESS, 2012.



1.2 Células Gliais Entéricas

As células gliais entéricas são pequenas, com numerosos processos que não sintetizam mielina; assim, essas células apresentam semelhanças com os astrócitos do Sistema Nervoso Central (SNC) (MENDES et al., 2019). No SNE as células gliais são essenciais para a organização e funcionamento do SNE (GABELLA, 1970; KABOURIDIS et al., 2015; VERKHRATSHY; BUTT, 2007) (Figura 2). As gliais entéricas apresentam um formato de estrela, com numerosas ramificações

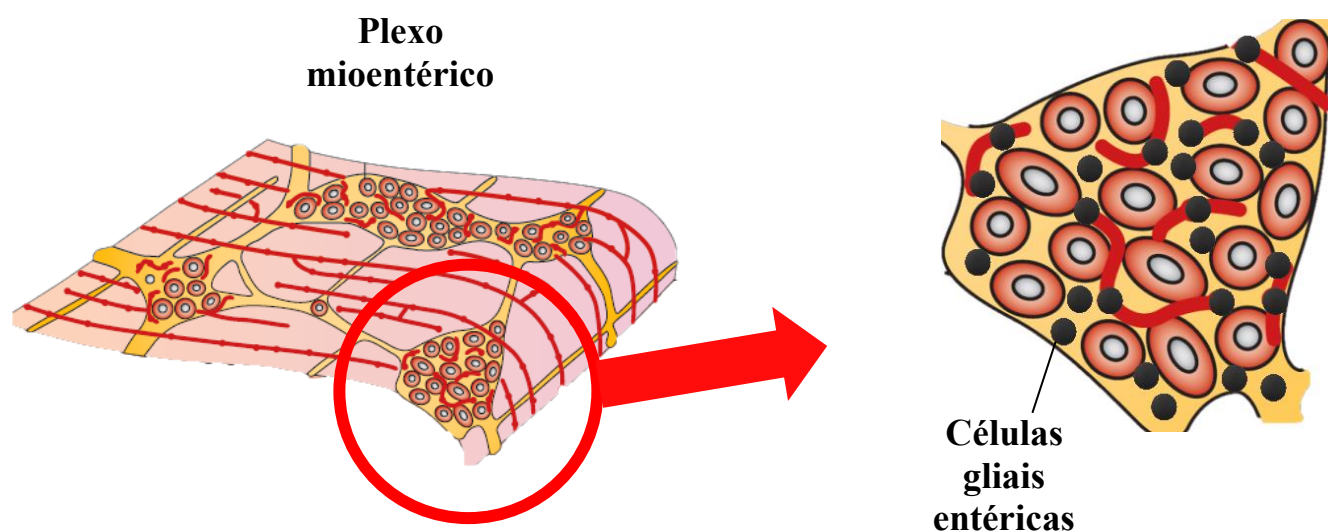
e processos que se misturam aos neurônios. Também, apresentam série de canais iônicos dependente de voltagem e são conectadas por junções “gap”, dando a impressão de um entrelaçamento íntimo e complexo de neurônios e células gliais. Além de seu papel de suporte aos neurônios, as células gliais entéricas regulam a transmissão sináptica, liberam citocinas e, também medeia à comunicação entre o sistema nervoso e o imunológico (BASSOTTI et al., 2007; CLARKE; BARRES, 2013; GABELLA, 1971; JENSEN; MASSIE; DE KEYSER, 2013).

Para a identificação de células gliais entéricas utilizam-se métodos imuno-histoquímicos como a marcação de células que expressam proteína fibrilar ácida glial (GFAP) e/ou proteína ligante de cálcio S100/S100β. As células gliais entéricas maduras expressam esses tipos de proteína (HAGSTROM; OLSSON, 2010; RUHL et al., 2004).

A expressão de GFAP é modulada por proliferação de células gliais entéricas, diferenciação e inflamação (CIRILLO et al., 2011). A S100 é uma proteína ligante de cálcio que pode ser encontrada no núcleo/citoplasma e têm funções, como a regulação da estrutura e função do citoesqueleto e a homeostase de cálcio no citoplasma das gliais entéricas (GONZALEZ-MARTINEZ et al., 2003; HSIEH et al., 2004; RÜHL, 2004).

Em condições inflamatórias, as células gliais entéricas podem adquirir novas propriedades funcionais, como os astrócitos no SNC, o que pode induzir mudanças na expressão de marcadores gliais. Estudos realizados com amostras de pacientes com colite ulcerativa e doença de Crohn, mostraram que áreas inflamadas da mucosa exibiram um aumento da expressão de GFAP em comparação com áreas não inflamadas (POCHARD et al., 2018).

Figura 2. Representação das células gliais entéricas no plexo mioentérico. Adaptado por FURNESS, 2012.



1.3 Inflamação intestinal e efeitos no SNE

As doenças inflamatórias intestinais (DII) são distúrbios que afetam o trato digestório, dentre estes problemas temos: a colite ulcerativa e a doença de Crohn (KAWADA et al., 2007). As reações inflamatórias na mucosa intestinal causam danos epiteliais, resultando no comprometimento da barreira intestinal (BEGUE et al., 2006). De origens desconhecidas, geralmente as DII são caracterizadas por uma complexa relação entre fatores genéticos, imunológicos, ambientais e da própria microbiota intestinal, resultam em um desequilíbrio entre citocinas anti e pró-inflamatórias levando a uma resposta imune exagerada e inadequada (ARGOLLO et al., 2017; AHMAD et al., 2001; FIOCCHI, 1997; POLI et al., 2001; TATIYA-APHIRADEE et al., 2018). Enfatiza-se que na colite, há alterações na população neuronal (LINDEN et al., 2005; NEUNLIST et al., 2003; POLI et al., 2001), já que na inflamação intestinal tem sido possível constatar desequilíbrios nas funções contráteis e secretoras do colo distal associado com diarreia (COLLINS et al., 1996; DA SILVA et al., 2015, 2017; GALEAZZI et al., 2000; 1995; POLI et al., 2001).

A doença de Crohn é caracterizada por um distúrbio segmentar e transmural que pode afetar todo o trato gastrointestinal, e há o envolvimento de células T-auxiliares (TCD4) na patogênese da doença (UENO et al., 2015). Em contraste, a colite ulcerativa, é caracterizada por inflamação contínua do colo distal e uma modificação do perfil de citocinas proveniente de células Th2, envolvidas em padrões de resposta imunológica humoral (HELLER et al., 2005).

No Brasil, principalmente no Estado de São Paulo, as pesquisas demonstram que 91% dos casos de DII estão associados a pessoas de etnia branca e 90% dos casos aconteceram em áreas urbanas, mostrando que as incidências da doença podem estar relacionadas a mudanças no padrão de vida sofrida pelo homem nas últimas décadas (VICTORIA et al., 2009). O levantamento de dados sobre a ocorrência de DII aponta que no Brasil não se pode mais considerar essas doenças como raras, levando em conta o aumento gradual das suas frequências nos últimos anos, onde é chamada a atenção para os estados de São Paulo e Minas Gerais (SOUZA et al., 2002).

A literatura tem demonstrado que o SNE é acometido nas doenças inflamatórias intestinais, com necrose, apoptose e degeneração dos gânglios entéricos (GEBOES; COLLINS, 1998; LOMAX et al., 2005). Similarmente foram notadas alterações nos neurotransmissores e neuropeptídeos dos neurônios entéricos nestas patologias (BOYER et al., 2005; GULBRANSEN et al., 2012; SHARKEY; KROESE, 2001). Além disso, lesões no SNE resultam em ativação das células gliais entéricas (ENG et al., 1992; O'CALLAGHAN, 1993) e que o início e/ou progressão da DII (especialmente na doença de Crohn) pode ser atribuído a um dano imunomediado pela glia entérica

(BASSOTI et al., 2007). Essa ativação é apontada como um mecanismo de sinalização, resultando em morte neuronal subsequente (GIULIAN et al., 1994).

A diversidade de neurotransmissores e receptores encontrados no SNE possibilitou que o intestino se tornasse umas das principais escolhas de tecido para estudos de receptores de neurotransmissores em testes farmacológicos. Por sua vez, várias estratégias de tratamento relacionadas ao SNE foram exploradas para alterar a função intestinal em um esforço para melhorar os sintomas, que incluem medicamentos direcionados a receptores opióides, serotoninérgicos, dopaminérgicos e colinérgicos (SPEAR & MAWE, 2019).

A indução de um modelo de colite experimental induzida por sulfato de sódio dextran (DSS) é amplamente utilizada na inflamação intestinal, resultando no desenvolvimento de pancolite em camundongos que é bem estudada em modelos de DII (KIESLER et al., 2015). Os sintomas iniciais se agravam em sintomas cada vez mais drásticos, incluindo o aumento da permeabilidade intestinal, sangramento grave e por fim, mortalidade (CHASSAING et al., 2011). Embora o mecanismo exato da colite induzida por DSS não seja bem compreendida, é amplamente aceito que a ruptura da monocamada epitelial resultando na exposição do sistema imunológico subjacente aos conteúdos intestinais contendo a microbiota e seus produtos metabólicos (PERSE & CERAR, 2012). A inflamação do colo distal induzida por DSS pode ser adaptada como modelo agudo, crônico ou recidivante de inflamação intestinal alterando a concentração, duração e ciclos de administração de DSS na água potável (DAS et al., 2015).

1.4 Receptores do Fator de Necrose Tumoral (TNFR)

No trato gastrointestinal, enzimas e citocinas específicas foram identificadas quando os tecidos são acometidos por lesões ou doenças e estão em desequilíbrio na DII, servindo como sinais significativos no aumento e perpetuação da colite ulcerativa. Elas são diretamente responsáveis pela lesão da mucosa e dano tecidual e, conseqüentemente, desencadeiam respostas imunológicas específicas à doença na colite ulcerativa (TATIYA-APHIRADEE et al., 2018). As citocinas incluem o fator de necrose tumoral alfa ($TNF\alpha$), o óxido nítrico sintase induzível (iNOS), várias interleucinas e citocinas, heme oxigenase 1 (HO-1), arginase-1 ou CD206, que estão elevadas e conduzem o enorme dano tecidual no intestino (CIPRIANI et al., 2016; FUSS et al., 1996; HOLTSMANN et al., 2002; UENO et al., 2015).

O $TNF\alpha$ é um mediador em processos inflamatórios intestinais, sendo uma das principais citocinas envolvidas na patogênese de DII, os seus níveis quando dosados, estão presentes no soro de pacientes com DII (BILLMEIER et al., 2016; HOLTSMANN et al., 2002). Desse modo, o $TNF\alpha$

desempenha papéis na promoção da inflamação, como por exemplo, a produção de interleucinas (IL) tais como IL-1 β e IL-6 (TATIYA-APHIRADEE et al., 2018; OSAWA et al., 2001; BOSANI et al., 2014).

No SNC, o TNF α exerce papéis homeostáticos regulando processos fisiológicos cruciais, como a plasticidade sináptica, aprendizado e memória, sono e ingestão de comida e água (OLMOS; LLADÓ, 2014). Além disso, pode estar envolvido na gliose e na remodelação de tecidos (RICHTER et al., 2014). Em condições patológicas, astrócitos e principalmente as micróglia liberam grande quantidade de TNF α , a produção desta citocina é um componente importante da resposta neuroinflamatória que está associada com vários distúrbios neurológicos como Alzheimer, Parkinson, esclerose múltipla e esclerose lateral amiotrófica (OLMOS; LLADÓ, 2014).

O TNF α opera significativamente na fase apoptótica, aumentando a expressão do ligante indutor de apoptose relacionado ao TNF, o TRAF2 (BEGUE et al., 2006). Além do mais, o TNF α ativa a proteína quinase ativada por mitógenos e fator nuclear NF- κ B, que contribuem para a diferenciação e proliferação celular e aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias (TATIYA-APHIRADEE et al., 2018) (Figura 3).

O TNF apresenta-se em 2 formas: a forma precursora transmembranar (mTNF) homotrimérica com 26Kda, é clivada pela enzima conversora de TNF α , a matrixmetallo proteinase (TACE/Adam17) até sua próxima forma solúvel (sTNF) homotrimérica de 17Kda de monômeros (BRADLEY, 2008; SLEVIN; EGAN, 2015; TRACEY et al., 2008).

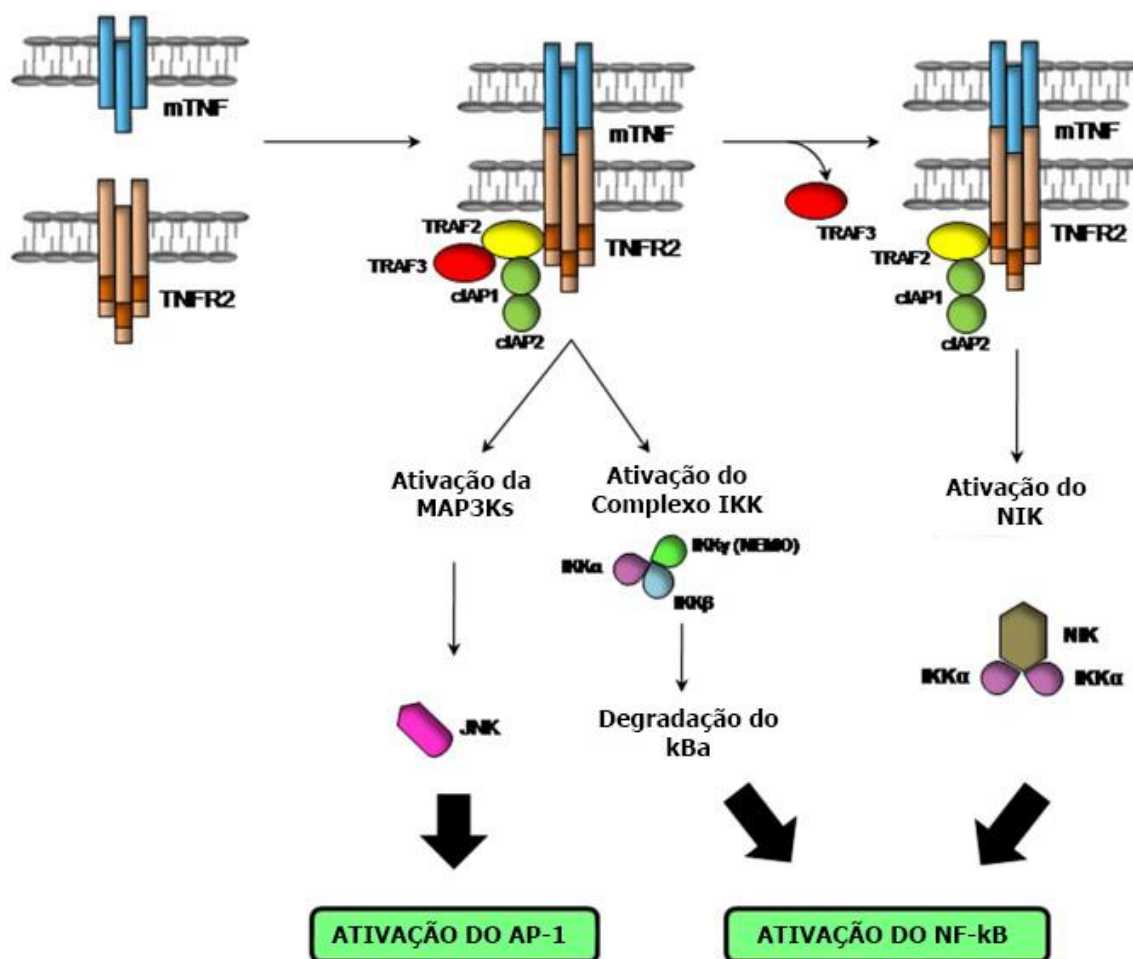
Ambas as formas de TNF são biologicamente ativas e são sinalizadas através de dois receptores distintos discutidos a seguir.

Há dois receptores para TNF sendo: o receptor do fator de necrose tumoral 1 (TNFR1), com 75 Kda, expresso ubiquamente e possui domínio celular de morte e o receptor do fator de necrose tumoral 2 (TNFR2), com 55 Kda, tem sido encontrado em linfócitos e células endoteliais. Estão envolvidos na patogênese das DII e os seus receptores têm sido detectados nas DII e sua expressão está correlacionada com a atividade da doença (HADZISELIMOVIC et al., 1995; LOETSCHER et al., 1990; WALCZAK, 2011). A forma sTNF preferencialmente se liga ao receptor TNFR1 com maior afinidade, e sua ativação resulta em uma cascata de sinalização com efeitos como a apoptose, proliferação celular e secreção de citocinas (BILLMEIER et al., 2016; GRELL et al., 1998). Em contraste a forma mTNF se liga ao receptor TNFR2.

A via do TNFR2 não contém domínios de morte e sua estimulação pode resultar em proliferação, migração e produção de citocinas como IL-1 e IL-6. Este receptor, não ativa apenas uma via de sinalização intracelular, mas também pode resultar em sinalização inversa dentro da célula que expressa TNF α (EISSNER et al., 2004).

O TNFR2 também está envolvido em várias doenças autoimunes, desempenhando um papel protetor ou estando envolvido em seu desenvolvimento. Assim, sabe-se que o TNFR2 está envolvido em artrite reumatoide, doença de Crohn, lúpus sistêmico eritematoso, colite ulcerativa, esclerodermia entre outras (TATIYA-APHIRADEE et al., 2018). Desse modo, um aumento na expressão de TNF α pode causar defeitos na barreira da mucosa em pacientes com DII, exacerbando a inflamação (TATIYA-APHIRADEE et al., 2018). Contudo, somente uma parte do papel dos receptores de TNF α na patogênese de DII está compreendida.

Figura 3. Esquema de Sinalização do receptor TNFR2. Adaptado de CABAL-HIERRO, 2012.



1.5 Tratamento com anti-TNF α

A resposta imunológica tem um papel importante no início e durante a manutenção da colite ulcerativa. Citocinas desempenham papéis principais em processos inflamatórios, como direcionar moléculas de sinalização celular durante a inflamação e a patogênese da colite ulcerativa através de diferentes papéis, como a produção de mediadores inflamatórios e ativação de vias inflamatórias (AHMAD et al., 2001; HEAD; JURENKA, 2003; KAPLAN et al., 2017; SHOUVAL; RUFO, 2017; ZHANG et al., 2014).

Devido às citocinas estarem envolvidas em vários processos biológicos, como ativação celular, diferenciação e fatores centrais no processo de desenvolvimento da resposta inflamatória e imune, as citocinas são responsáveis pela lesão epitelial, e por consequência, lesão da barreira intestinal e dano tecidual (AHMAD et al., 2001; MOLDOVEANU et al., 2015).

A abordagem de tratamento no controle do tecido gastrintestinal inflamado na DII, incluindo condições clínicas, laboratoriais, remissão endoscópica e histológica por um período prolongado, desempenham um papel salutar em sua evolução e possivelmente alterando o decorrer natural da doença (ARGOLLO et al., 2017).

Estudos recentes sugeriram que o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF α) é uma das principais citocinas pró-inflamatórias envolvidas na patogênese das DII, já que os níveis de TNF estão presentes no soro de ambos pacientes com colite ulcerativa e doença de Crohn (HOLTMANN et al., 2002).

Produtos biológicos intravenosos e subcutâneos direcionados ao TNF α revolucionaram o tratamento das DIIs, se tornando os melhores agentes disponíveis para induzir e manter a remissão das DIIs (GRIFFITHS et al., 2020).

A aplicação de anticorpos visando à neutralização do TNF α em pacientes com DII induzem resposta clínica satisfatória em até 60% dos pacientes, e induziu a manutenção a longo prazo da remissão da doença em grande parte dos pacientes (BILLMEIER et al, 2016; PANACCIONE et al., 2013; SCHREIBER et al., 2005; TARGAN et al., 1997).

Foi sugerido que os agentes anti-TNF α inativam a citocina pró-inflamatória TNF α por neutralização direta, resultando na supressão da inflamação. Porém, anticorpos anti-TNF α exercem funções mais complexas que um simples bloqueio (BILLMEIER et al., 2016).

O Adalimumabe (ADA) é um anticorpo monoclonal recombinante da imunoglobulina humana (IgG1), contendo apenas sequências humanas de peptídeos, e liga-se especificamente ao TNF α , neutralizando sua função biológica através do bloqueio de sua interação com os receptores de superfície de TNF α presentes na superfície celular (HUMIRA®). Foi o principal medicamento vendido em 2017, atingindo US\$ 18,4 bilhões de dólares em vendas (GRIFFITHS et al., 2020).

O ADA foi aprovado no tratamento de colite ulcerativa e doença de Crohn. O ADA é um medicamento de uso crônico e, portanto, o tempo estimado para início da ação terapêutica não é relevante. Ele é administrado subcutaneamente e pode ser injetado pelo próprio paciente. No início da terapia, o ADA é administrado em doses de 160-80mg 2 vezes por semana. Para manutenção da remissão da doença, o ADA é administrado a cada duas semanas em uma dose de 40mg (BILLMEIER et al., 2016; HUMIRA®). O ADA também demonstrou eficácia e segurança no tratamento da colite ulcerativa moderada à grave e a remissão clínica foi observada em aproximadamente 40% dos pacientes na 8ª e 26ª semana, e em quase ¼ dos pacientes após um ano de acompanhamento (ZACHARIAS et al., 2017).

Tem sido demonstrado que colite ulcerativa experimental afeta neurônios entéricos (DA SILVA et al., 2015, 2017). A literatura demonstra que o uso do anticorpo monoclonal anti-TNF α em pacientes com colite ulcerativa leva a remissão da doença no mesmo (BILLMEIER et al., 2016). O presente trabalho analisou os efeitos da colite ulcerativa experimental em camundongos e o tratamento com anti-TNF α sobre as classes neuronais do plexo mioentérico que expressam o receptor TNFR2 e as células gliais entéricas.

2. CONCLUSÃO

1. O DSS foi um protocolo eficaz para induzir a colite ulcerativa, uma vez que os animais apresentaram alterações no peso com diarreia e sangramento.
2. O uso do tratamento com anti-TNF α , adalimumabe, pareceu ser eficaz, pois houve recuperação do IAD dos animais assim como dos neurônios entéricos.
3. O receptor TNFR2 estava presente nos neurônios do plexo mioentérico e houve colocalização com os neurônios imunorreativos a NOSn, ChAT, PGP9.5.
4. A colite ulcerativa experimental afetou os neurônios entéricos, pois houve diminuição diferenciada dos neurônios imunorreativos a TNFR2, ChAT, NOSn e PGP9.5 e houve recuperação destes neurônios nos grupos ADA.
5. A colite ulcerativa experimental afetou de maneira diferenciada as células gliais entéricas, com aumento no grupo DSS, houve recuperação das gliais entéricas no grupo ADA.
6. A colite ulcerativa experimental afetou o perfil neuronal com redução da área nos grupos DSS e DSS+ADA.
7. A morfologia do colo distal foi afetada no grupo DSS e houve recuperação no grupo ADA.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, T.; SATSANGI, J.; MCGOVERN, D.; BUNCE, M., JEWELL, D.P. The genetics of inflammatory bowel disease. **Alimentary pharmacology & therapeutics.**, v. 15, n. 6, p. 731-748, 2001.
- ARGOLLO, M.; FIORINO, G.; HINDRYCKX, P.; PEYRIN-BIROULET, L.; DANESE, S. Novel therapeutic targets for inflammatory bowel disease. **Journal of Autoimmunity**, v.85, p. 103-116, 2017.
- BASSOTI, G.; VILLANACCI, V.; FISOGNI, S.; ROSSI, E.; BARONIO, P.; CLERICI, C.; MAURER, C.A.; CATHOMAS, G.; ANTONELLI, E. Enteric glial cells and their role in gastrointestinal motor abnormalities: Introducing the neuro-gliopathies. **World J. Gastroenterol.**, v.13, n. 30, p. 4035-4041, 2007.
- BEGUE, B.; WAJANT, H.; BAMBOU, J.C.; DUBUQUOY, L.; SIEGMUND, D.; BEAULIEU, J.F.; SCHMITZ, J. Implication of TNF-related apoptosis-inducing ligand in inflammatory intestinal epithelial lesions. **Gastroenterology.**, v.130, n.7, p.1962-1974, 2006.
- BILLMEIER, U.; DIETERICH, W.; NEURATH, M.F.; ATREYA, R. Molecular mechanism of action of anti-tumor necrosis factor antibodies in inflammatory bowel diseases. **World J Gastroenterol.**, v. 22, n. 42, p. 9300-9313, 2016.
- BOSANI, M.; ARDIZZONE, S.; PORRO, G. B. Biologic targeting in the treatment of inflammatory bowel diseases [Retraction]. **Biologics: Targets and Therapy.**, v. 8, p. 39, 2014.
- BOYER, L.; GHOREISHI, M.; TEMPLEMAN, V.; VALLANCE, B.A.; JEVON, G.; JACOBSON, K. Myenteric plexus injury and apoptosis in experimental colitis. **Auton. Neurosc.**, v.117, p.41-53, 2005.
- BRADLEY, S.M. TNF-mediated inflammatory disease. **J Pathol.**, v. 214, p. 149-160, 2008.
- CABAL-HIERRO, L.; LAZO, P. S. Signal transduction by tumor necrosis factor receptors. **Cellular signalling**, v. 24(6), p. 1297-1305, 2012.
- 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, 2002.
- CIPRIANI, G.; GIBBONS, S.J.; KASHYAP, P.C.; FARRUGIA, G. Intrinsic gastrointestinal macrophages: their phenotype and role in gastrointestinal motility. **Cell Mol Gastroenterol Hepatol.**, v. 2, n.2, p. 120-130, 2016.

- CIRILLO, C.; SARNELLI, G.; TURCO, F.; MANGO, A.; GROSSO, M.; APREA, G.; MASONE, S.; CUOMO, R. Proinflammatory stimuli activates human-derived enterogial cells and induces autocrine nitric oxide production. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 23, p. 372-382, 2011.
- CLARKE, L.E.; BARRES, B.A. Glia keep synapse distribution under wraps. **Cell.**, v. 152, n. 2, p. 267, 2013.
- COLLINS, S.M. The immunomodulation of enteric neuromuscular function: Implications of motility and inflammatory disorders. **Gastroenterology.**, v.111, p.1683-1699, 1996.
- CHASSAING, B.; AITKEN, J. D.; MALLESHAPPA, M.; VIJAY-KUMAR, M. Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. **Current protocols in immunology.**, v. 104, n. 1, p. 15-25, 2015.
- DA SILVA, M.V.; MAROSTI A.R.; MENDES, C.E. Differential effects of experimental ulcerative colitis on P2X7 receptor expression in enteric neurons. **Histochem. Cell Biology.**, v.143, p.171-184, 2015.
- DA SILVA, M.V.; MAROSTI A.R.; MENDES, C.E.; PALOMBIT, K.; CASTELUCCI, P. Submucosal neurons and enteric glial cells expressing the P2X7 receptor in rat experimental colitis. **Acta Histochemica.**, v.119, p, 481-494, 2017.
- DAS, S., RACHAGANI, S., SHEININ, Y., SMITH, L. M., GURUMURTHY, C. B., ROY, H. K. AND BATRA, S. K. Mice lacking Muc4 are more resistant to experimental colitis and colitis-associated colorectal cancer. **Oncogene.**, v. 35, n. 20, p. 2645-2654, 2015.
- EISSNER, G.; KOLCH, W.; SCHEURICH, P. Ligands working as receptors: reverse signaling by member of the TNF superfamily enhance the plasticity of the immune system. **Cytokine Growth Factor Rev.**, v. 15, p. 352-366, 2004.
- ENG, L.F.; YU, A.C.; LEE, Y.L. Astrocytic response to injury. **Prog. Brain Res.**, v. 94, p. 353-365, 1992.
- FIOCCHI, C. Intestinal inflammation: A complex interplay of imune and nonimmune cell interactions. **Am. J. Physiol.** v.36, p.G769-G775, 1997.
- FURNESS, J.B. The enteric nervous system and neurogastroenterology. **Anat. Ver. Gastroenterol. Hepatol.**, v.9, n.5, p.286-294, 2012.
- FURNESS, J.B. The enteric nervous system. Australia: **Blackwell Publishing.** USA, 2006.
- FURNESS, J.B. Types of neurons in the enteric nervous system. **J. Auton. Nerv. Syst.**, v.81, p.87-86, 2000.
- FUSS, IJ.; NEURATH, M.; BOIRIVANT, M.; KLEIN, J.S.; DE LA MOTTE, C.; STRONG, S.A.; FIOCCHI, C.; STROBER, W. Disparate CD4+ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease. Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of IFN-gamma, whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5. **Immunol.** v. 157, p. 1261-1270, 1996.

- GABELLA, G. Glial cells in the Myenteric Plexus. *Z. Naturforsch.*, v. 26b, p. 244-245, 1970.
- GABELLA, G. Neuron size and number in the myenteric plexus of newborn and adult rat. *J. Anat.*, v. 109, p. 81-95, 1971. PMID: 5556678.
- GALEAZZI, F.; HAAPALA, E.M.; VAN ROOJEN, N.; VALLANCE, B.; COLLINS, S.M. Inflammation-induced impairment of nerve function in nematode-infected mice is macrophage dependent. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology.*, v. 78, n.2, p. 259-265, 2000.
- GEBOES, K., COLLINS, S.M. Structural abnormalities of the nervous system in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Neurogastroenterol. Mol.*, v.10, p.189-202, 1998.
- GIROTTI, A.P.; MISAWA, R.; PALOMBITI, K.; MENDES, C.E.; BITTENCOURT, C.J.; CASTELUCCI, P. Differential effects of undernourishment on the differentiation and maturation of rat enteric neurons. *Cell Tissue Res.*, v.353 n. 8, p. 367-380, 2013.
- GIULIAN, D.; LI, J.; LEARA, B.; KEENEN, C. Phagocytic microglia release cytotoxic cytokines that regulate the survival of astrocytes neurons in culture. *Neurochem Int.*, v. 25, n. 3, p. 227-233, 1994.
- GONZALES-MARTINEZ, P.; PEREZ-PIÑERA, P.; DÍAZ-ESNAL, B.; VEJA, J.A. S100 proteins in the human peripheral nervous system. *Microscopy Research and Technique.*, v.60, p. 633-638, 2003.
- GRELL, M.; WAJANT, H.; ZIMMERMANN, G.; SCHEURICH, P. The type 1 receptor (CD120a) is the high-affinity receptor for soluble tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci USA.*, v. 95, p. 570-575, 1998.
- GULBRANSEN, B.D.; SHARKEY, K.A. Novel functional roles of enteric glia in the gastrointestinal tract. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, v.9, n.11, p.625-632, 2012.
- GRIFFITHS, O. R.; LANDONA, J.; COXONA, R. E.; MORRIS, K.; JAMES, P.; ADAMS, R. Inflammatory bowel disease and targeted oral anti-TNF α therapy. *Inflammatory Disorders*, p. 157, 2020.
- HADZISELIMOVIC, F.; EMMONS, L.R.; GALLATI, H. Soluble tumor necrosis factor receptors p55 and p75 in the urine monitor disease activity and the efficacy of treatment of inflammatory bowel disease. *Gut.*, v. 37, p. 260-263, 1995.
- HAGSTROM, C.; OLSSON, C. Glial cells revealed by GFAP immunoreactivity in fish gut. *Cell Tissue Res.*, v.341, p. 73-81, 2010.
- HEAD, K.A.; JURENKA, J.S. Inflammatory bowel disease part I: ulcerative colitis—pathophysiology and conventional and alternative treatment options. *Alter med rev*, v. 8, n. 3, p. 247-283, 2003.

- HELLER, F.; FLORIAN, P.; BOJARSKI, C.; RICHTER, J.; CHRIST, M.; HILLENBRAND, B.; MANKERTZ, J., GITTER, A.H.; BURGEL, N.; FROMM, M.; ZEITZ, M.; FUSS, I., STROBER, W., SCHULZKE, J.D. Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. **Gastroenterology**, v. 129, p. 550-564, 2005.
- HOLTMANN, M.H.; SCHÜTZ, M.; GALLE, P.R.; NEURATH, M.F. Functional relevance of soluble TNF- α , transmembrane TNF- α and TNF-signal transduction in gastrointestinal diseases with special reference to inflammatory bowel diseases. **Z Gastroenterol.**, v. 40, p. 587-600, 2002.
- HSIEH, H.L.; SCHÄFER, B.W.; WEIGLER, B.; HEIZMANN, C.W. S100 protein translocation in response to extracellular S100 is mediated by receptor for advanced glycation endproducts in human endothelial cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 316, p. 949-959, 2004.
- HUMIRA®: ADALIMUMABE. **Abbvie Farmacêutica LTDA**. Farm. Resp.: Carlos E.A. Thomazini – CRF-SP 24762. Bula de remédio.jurjus
- JENSEN, C.J.; MASSIE, A.; DE KEYSER, J. Immune players in the CNS: the astrocyte. **J. Neuroimmune Pharmacol.**, v.8, n. 4, p. 824-839, 2013.
- KABOURIDIS, P.S.; LASRADO, R.; MCCALLUM, S.; CHNG, S.H.; SNIPPERT, H.J.; CLEVERS, H.; PETERSSON, S.; PACHNIS, V. Microbiota controls the homeostasis of glial cells in the gut lamina propria. **Neuron**, v.85, n.2, p. 289 – 295, 2015.
- KAPLAN, G.G.; NG, S.C. Understanding and preventing the global increase of inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 152, n. 2, p. 313-321. e2, 2017.
- KAWADA, M.; ARIHIRO, A.; MIZOGUCHI, E. Insights from advances in research of chemically induced experimental models of human inflammatory bowel disease. **World j. Gastroenterol.**, v.13, n.42, p. 558-5593, 2007.
- KIESLER, P.; FUSS, I.J.; STROBER, W. Experimental models of inflammatory bowel diseases. **Cellular and molecular gastroenterology and hepatology**, v. 1, n. 2, p. 154-170, 2015.
- LINDEN, D.R.; COUVERTTTE, J.M.; CIOLINO, A.; MCQUOID, C.; BLASZYK, H.; SHARKEY, K.A.; MAWE, G.M. Indiscriminate loss of myenteric neurons in the TNBS-inflamed guinea-pig distal colon. **Neurogastroenterol Motil.**, v.17, p.751-760, 2005.
- LOETSCHER, H.; SCHLAEGER, E.J.; LAHM, H.W.; PAN, Y.C.; LESSLAUER, W.; BROCKHAUS, M. Purification and partial amino acid sequence analysis of two distinct tumor necrosis factor receptors from HL60 cells. **J Biol Chem.**, v. 265, p. 20131-20138, 1990.
- LOMAX, A.E.; FERNANDEZ, E.; SHARKEY, K.A. Plasticity of the enteric nervous system during intestinal inflammation. **Neurogastroenterol. Motil.**, v.17, p.4-15, 2005.

- MAROSTI, A.R.; DA SILVA, M.V.; PALOMBIT, K.; MENDES, C.E.; TAVARES DA SILVA, W.; CASTELUCCI, P. Differential effects of intestinal ischemia and reperfusion in rat enteric neurons and glial cells expressing P2X2 receptors. **Histology and Histopathol.**, v. 30, n. 4, p. 489-501, 2015.
- MATINI, P.; MAYER, B.; PELLEGRINI, M.S.F. Neurochemical differentiation of rat enteric neurons during pre and post natal life. **Cell Tissue Res.**, v.288, p. 11-23, 1997.
- MCKEOWN, S.I.; 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.
- MENDES, C. E., PALOMBIT, K., TAVARES-DE-LIMA, W., CASTELUCCI, P. Enteric glial cells immunoreactive for P2X7 receptor are affected in the ileum following ischemia and reperfusion. **Acta histochemical.**, v. 161, p. 667-679, 2019.
- MENDES, C.E.; PALOMBIT, K.; VIEIRA, C. The effect of ischemia and Reperfusion on Enteric Glia Cells and Contractile Activity in the Ileum. **Dig. DisSci.**, v.60, p.2677-2689, 2015.
- 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 J. of Gastroenterol.**, v. 16, n. 29, p. 3651- 3663, 2010.
- MIZUNO, M.S.; CRISMA, A.R.; BORELLI, P.; CASTELUCCI, P. Expression of the P2X(2) receptor in diferent classes of ileum myenteric neurons in the female obese ob/ob mouse. **World J. Gastroenterol.**, v.18, p. 4693-703, 2012.
- MOLDOVEANU, A.C.; DICULESCU, M.; BRATICEVICI, C.F. Cytokines in inflammatory bowel disease. **Rom J Intern Med.**, v. 53, p. 118-127, 2015.
- NEUNLIST, M.; AUBERT, D.; TOQUET, C.; ORESHKOVA, T.; BAROUK, J.; SHEMANN, M. Changes in chemical coding of myenteric neurons in ulcerative colitis. **Gut.**, v.52, p.84-90, 2002.
- O'CALLAGHAN, J.P. Quantitative features of reactive gliosis following toxicant-induced damage of the CNS. **Ann N Y Acad Sci.**, v.679, p. 195-210, 1993.
- OLMOS, G.; LLADÓ, J. Tumor necrosis factor alpha: a link between neuroinflammation and excitotoxicity. **Mediators of inflammation.**, v. 2014, 2014.
- OSAWA, Y.; BANNO, Y.; NAGAKI, M.; BRENNER, D.A.; NAIKI, T.; NOZAWA, Y.; MORIWAKI, H. TNF- α -induced sphingosine 1-phosphate inhibits apoptosis through a phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in human hepatocytes. **The Journal of Immunology.**, v.167, n.1, p.173-180, 2001.
- PALOMBIT, K.; MENDES, C.E.; TAVARES DE LIMA, W.; BARRETO CHAVES, M.L.; CASTELUCCI, P. Blockage of the P2X7 receptor attenuates harmful changes produced by ischemia and reperfusion in the myenteric plexus. **Digestive Diseases and Sciences.**, v.64, p. 1-15, 2019.

- PALOMBIT, K.; MENDES, C.E.; TAVARES DE LIMA, W.; CASTELUCCI, P. Effects of ischemia and reperfusion on subpopulations of rat enteric neurons expressing the P2X7 receptor. **Digestive Diseases and Sciences.**, v.58, p. 3429-3439, 2013.
- PANACCIONE, R.; COLOMBEL, J.F.; SANDBORN, W.J.; D'HAENS, G.; ZHOU, Q.; POLLACK, P.F.; THAKKAR, R.B.; ROBINSON, A.M. Adalimumab maintains remission of Crohn's disease after up to 4 years of treatment: data from CHARM and ADHERE. **Aliment Pharmacol Ther.**, v. 38, p. 1236-1247, 2013.
- 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.
- PERSE, M. AND CERAR, A. Dextran sodium sulphate colitis mouse model: traps and tricks. **J Biomed Biotechnol.**, 718617, 2012.
- POCHARD, C.; COQUENLORGE, S.; FREYSSINET, M.; NAVEILHAN, P.; BOURREILLE, A.; NEUNLIST, M.; ROLLI-DERKINDEREN, M. The multiple faces of inflammatory enteric glial cells: is Crohn's disease a gliopathy?. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.315(1), p. G1-G11, 2018.
- POLI, E.; LAZZARETTI, M.; GRANDI, D.; AND CORUZZI, G. Morphological and functional alterations of the myenteric plexus in rats with TNBS-induced colitis. **Neurochemical Research.**, v.26, n.8-9, p.1085-1093, 2001.
- QU, Z.D.; 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.
- RICHTER, F.; LÜTZ, W.; EITNER, A.; LEUCHTWEIS, J.; LEHMENKÜHLER, A.; SCHAIBLE, H. G. Tumor necrosis factor reduces the amplitude of rat cortical spreading depression in vivo. **Annals of neurology.**, v. 76, n.1, p. 43-53, 2014.
- RÜHL, A.; NASSER, Y.; SHARKEY, K.A. Enteric glia. **Neurogastroenterology.**, v.16, p. 44-49, 2004.
- SCHREIBER, S.; RUTGEERTS, P.; FEDORAK, R.N.; KHALIQ-KAREEMI, M.; KAMM, M.A.; BOIVIN, M.; BERNSTEIN, C.N.; STAUN, M.; THOMSEM, O.O.; INNES, A. A randomized, placebo-controlled trial of certolizumab pegol (CDP870) for treatment of Crohn's disease. **Gastroenterology.**, v.129, p. 807-818, 2005.
- SHARKEY, K.A.; KROESE A, B, A. Consequences of intestinal inflammation on the enteric nervous system: neuronal activation induced by inflammatory mediators. **Anat. Rec.**, v.262, p.79-90, 2001.
- SHOUVAL, D.S.; RUFO, P.A. The Role of Environmental Factors in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases: A Review. **JAMA pediatrics.**, v. 171, n. 10, p. 999-1005, 2017.

- SOUZA, M.H.L.P.; TRONCON, L.E.A.; RODRIGUES, C.M.; VIANA, C.F.G.; ONOFRE, P.H.C.; MONTEIRO, R.A.; PASSOS, A.D.C.; MARTINELLI, A.L.C.; MENEGHELLI, U.G. Evolução Da Ocorrência (1980-1999) Da Doença De Crohn E Da Retocolite Ulcerativa Idiopática E Análise Das Suas Características Clínicas Em Um Hospital Universitário Do Sudeste Do Brasil. **Arq Gastroenterol.** v. 39 n. 2. 2002.
- SLEVIN, S.M.; EGAN, L.J. New insights into the mechanisms of action of anti-tumor necrosis factor α monoclonal antibodies in inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis.**, v. 21, p. 2909-2920, 2015.
- SPEAR, E. T.; MAWE, G. M. Enteric neuroplasticity and dysmotility in inflammatory disease: key players and possible therapeutic targets. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology.**, v. 317, n 6, p. 853-861, 2019.
- TARGAN, S.R.; HANAUER, S.B.; VAN DEVENTER, S.J.; MAYER, L.; PRESENT, D.H.; BRAAKMAN, T.; DEWOODY, K.L.; SCHAIBLE, T.F.; RUTGEERTS, P.J. A shortterm study of chimeric monoclonal antibody Ca2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. **N Engl J Med.**, v. 337, p. 1029-1035, 1997.
- TATIYA-APHIRADEE, N.; CHATUPHONPRASERT, W.; JARUKAMJORN, K. Immune response and inflammatory pathway of ulcerative colitis. **Journal of basic and clinical physiology and pharmacology.**, v.30, n.1, p. 1-10, 2018.
- TRACEY, D.; KLARESGOG, L.; SASSO, E.H.; SALFELD, J.G.; TAK, P.P. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. **Pharmacol Ther.**, v. 117, p. 244-279, 2008.
- UENO, A.; GHOSH, A.; HUNG, D.; LI, J.; JIJON, H. Th17 plasticity and its changes associated with inflammatory bowel disease. **World J Gastroenterol.**, v. 2, p. 12283-12295, 2015.
- VERKHRATSKY A.; BUTT A.M. Glial Neurobiology: a textbook. **John Wiley & Sons; Chichester, UK.**, 214p, 2007.
- VICTORIA, C. A.; SASSAKI, L.Y.; NUNES, H.R.C. Incidence And Prevalence Rates Of Inflammatory Bowel Diseases, In Midwestern Of São Paulo State. **Arq Gastroenterol.** v. 46 n.1. 2009.
- WALCZAK, H. TNF and ubiquitin at the crossroads of gene activation, cell death, inflammation, and cancer. **Immunol Rev.**, v. 244, p. 9-28, 2011.
- ZACHARIAS, P.; DAMIÃO, A.O.M.C.; MORAES, A.C.; TEIXEIRA, F.V.; LUDVIG, J.C.; NONES, R. B.; OLANDOSKI, M. Adalimumab for ulcerative colitis: results of a Brazilian multicenter observational study. **Arquivos de gastroenterologia.**, v.54, n.4, p.321-327, 2017.
- ZHANG, S.; ZHAO, X.; ZHANG, D. Cellular and molecular immunopathogenesis of ulcerative colitis. **Cell Mol Immunol.**, v.30, n. 1, p. 35-40, 2014.

