

FELIPE ALEXANDRE MACHADO

**Papel do receptor P2X7 nos neurônios entéricos e nas células gliais entéricas 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: Programa de Pós-graduação em Biologia de Sistemas com ênfase em Ciências Morfofuncionais

Orientadora: Profa. Dra. Patricia Castelucci

Versão Parcial

São Paulo
2019

RESUMO

MACHADO, F. A. **Papel do receptor P2X7 nos neurônios entéricos e células glias entéricas na colite ulcerativa experimental.** 2019. Dissertação de Mestrado em Biologia de Sistemas com ênfase em Ciências Morfofuncionais. – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

O ATP é conhecido como um neurotransmissor e seus receptores são os da família P2X1-7. Foi demonstrada a presença de receptor purinérgico P2X2, 3, 7 no sistema nervoso entérico. A Colite Ulcerativa e Doença de Crohn apresentam processos patofisiológicos, a necrose do intestino e efeitos nos neurônios entéricos e glias entéricas. Tem sido demonstrada a participação do receptor P2X7 no processo inflamatório e necrose de células. Este projeto visa estudar o efeito da colite ulcerativa no plexo mioentérico e célula glial entérica do intestino grosso de animais deficientes para o receptor P2X7 (P2X7^{-/-}, P2X7KO). Para isto, foi injetado 2, 4, 6, ácido trinitrobenzeno sulfônico (TNBS) no intestino grosso de animais C57BL/6 (WT) e deficientes do gene do receptor P2X7, no grupo sham foi injetado veículo. Foram coletados tecidos para análises 24h 4 dias após a administração. Foi usada técnica de duplas e triplas marcações de imunofluorescência para análises qualitativas e quantitativas que foram obtidas por microscópio de fluorescência Nikon 80i. Para a análise morfológica do intestino grosso foi usado o método de histologia convencional. Os resultados quantitativos demonstraram diminuição significativa de 13,9% e 7,1% de células-ir ao receptor P2X7 nos grupos WT/Colite 24h e WT/Colite 4 dias, respectivamente. Não houve diminuição de neurônios-ir a NOS e ChAT do grupo KO/Colite de 4 dias. Não houve diminuição de neurônios-ir a PGP9.5 dos grupos KO/Colite de 24h e 4 dias. Houve diminuição de 19,3% de glias-ir a GFAP no grupo WT/Colite 24h e aumento de 19% no grupo WT/Colite 4 dias. Não houveram alterações morfológicas nos neurônios dos grupos de 24h. Houve aumento de 29,4% e 40,2% na área do perfil neuronal nos neurônios-ir a ChAT dos grupos WT/Colite 4 dias e KO/Colite 4 dias, respectivamente e aumento de 20,1% na área do perfil neuronal de neurônios-ir a PGP9.5 do grupo KO/Colite 4 dias. Análise histológica apresentou hiperemia e não úlceras, edema e infiltração celular nos grupos WT/Colite de 24h e 4 dias. Os grupos KO/Colite 24h e 4 dias foram menos afetados pela colite na análise histológica.

Palavras chaves: Receptor P2X7, Neurônio Entérico, Célula Glial Entérica, Colite Ulcerativa, camundongo deficiente gene P2X7.

ABSTRACT

MACHADO, F. A. **Role of P2X7 receptor in enteric neurons and enteric glial cells in experimental ulcerative colitis.** 2019 Master Thesis in Systems Biology with emphasis in Morphofunctional Sciences. - Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo, São Paulo, 2019.

ATP is known as a neurotransmitter and its receptors are those of the P2X1-7 family. The presence of purinergic receptor P2X2, 3, 7 has been demonstrated in the enteric nervous system. Ulcerative Colitis and Crohn's Disease presents pathophysiological processes, necrosis and effects on enteric neurons and enteric glia. Has been demonstrated P2X7 receptor in the inflammatory process and cell necrosis. This project aims to study the effect of ulcerative colitis on the myenteric plexus and enteric glial cell of the large intestine of P2X7 receptor (P2X7^{-/-}) deficient animals. For this, 2, 4, 6, trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) was injected into the large intestine of C57BL / 6 (WT) and P2X7 receptor gene deficient animals (P2X7^{-/-}, P2X7KO). Tissues were collected for analysis 24h and 4 days after administration. A double and triple immunofluorescence labeling technique was used for qualitative and quantitative analyzes obtained by a Nikon 80i fluorescence microscope. For the morphological analysis of the large intestine the conventional histology method was used. Quantitative results showed a significant decrease of 13.9% and 7.1% of cells-ir to P2X7 receptor in the WT/Colitis 24h and WT/Colitis 4 days, respectively. There was no decrease in neurons-ir to NOS and ChAT of the 4 day KO/Colitis group. There was no decrease in neurons-ir to PGP9.5 of the 24h and 4 day KO/Colitis groups. There was a 19.3% decrease in GFAP glia-ir in the WT/Colitis 24h group and a 19% increase in the WT/Colitis 4 days group. There were no morphological changes in the neurons of the 24h groups. There was a 29.4% and 40.2% increase in neuronal profile area in the WT/Colitis 4 days groups and KO/Colitis 4 days group ChAT-ir neurons, respectively, and a 20.1% increase in neuronal profile area. of neurons-ir to PGP9.5 from KO/Colitis group 4 days. Histological analysis showed hyperemia and no ulcers, edema and cellular infiltration in the 24h and 4 days WT/Colitis groups. Groups KO/Colitis 24h and 4 days were less affected by colitis on histological analysis.

Keywords: P2X7 receptor, Enteric Neuron, Enteric Glial Cell, Ulcerative Colitis, P2X7 gene deficient.

INTRODUÇÃO

1.1 Considerações sobre o Sistema Nervoso Entérico

O trato gastrointestinal (TG) possui um sistema nervoso intrínseco, denominado sistema nervoso entérico (SNE) que controla as funções como motilidade, absorção de nutrientes e secreções (STERNINI, 1988; FURNESS, 2006). Por muito tempo, o sistema nervoso entérico foi considerado a porção pós-ganglionar do sistema nervoso autônomo (SNA), mas após as pesquisas de John Newport Langley (1882), a autonomia do SNE foi comprovada, realocando esse sistema junto as demais divisões, simpática e parassimpática.

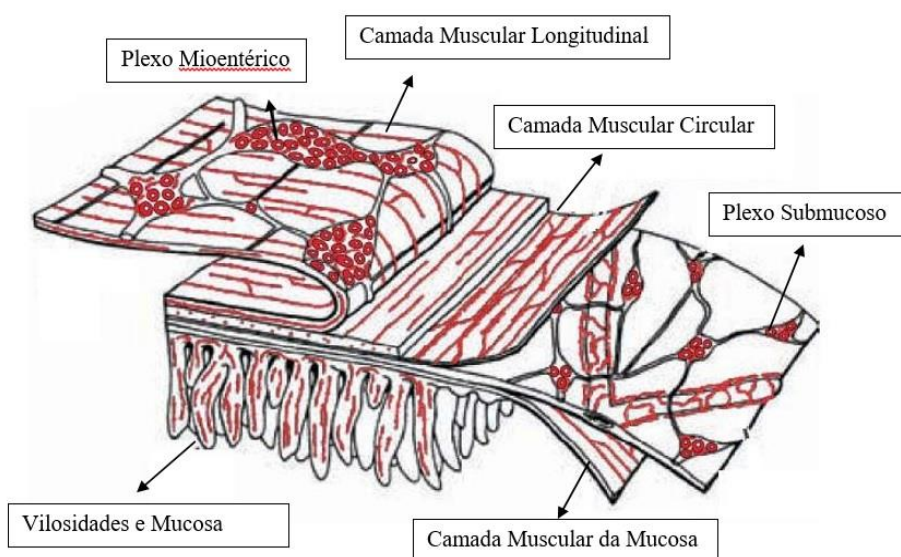
No trato digestório, o SNE compreende dois conjuntos de plexos: plexo mioentérico (plexo de Auerbach) e plexo submucoso (plexo de Meissner) (FURNESS, 2006). O plexo mioentérico consiste de gânglios e fibras que formam redes neuronais situadas entre a camada muscular longitudinal externa e a camada muscular circular (STERNINI, 1988; FURNESS, 2006), e sua função está diretamente relacionada à regulação reflexa da contratilidade muscular, isso se deve à proximidade entre esse plexo e as camadas musculares (LOMAX; FURNESS, 2000) (Figura 1).

O plexo submucoso está situado entre a camada muscular circular e a camada muscular da mucosa. Ao ser comparado com o plexo mioentérico, ele possui uma menor quantidade de corpos neuronais, os gânglios são menores e as fibras mais finas (HOYLE; BURNSTOCK, 1989; FURNESS, 2006). As funções do plexo submucoso estão relacionadas a atividades vasomotoras e secretomotoras da mucosa (FURNESS, 2000; 2006). Existe um padrão de distribuição do SNE ao longo do trato gastrintestinal, que se estende do esôfago até o reto e também possui inervações no pâncreas, no sistema biliar, no esôfago e estômago. Esses padrões sofrem diferenças quanto à densidade neuronal, formato dos gânglios e morfologia dos neurônios (FURNESS, 2006).

Existem diversos fatores que alteram o funcionamento do SNE. A idade é um fator que pode alterar a morfologia e função neuronal (FAUSSONE-PELLEGRINI et al., 1996; MATINI et al., 1997). A exposição a glicocorticóides promove impactos estruturais alterando principalmente a motilidade intestinal (RAMALHOSA et al., 2016). Isquemia/reperfusão causam desordens gastrointestinais relacionadas a mudanças na permeabilidade da parede do intestino, assim como ameaças na viabilidade do trato ocasionados por possíveis necroses e até alterações pulmonares (CAVRIANI et al., 2004; PALOMBIT et al., 2013, 2019; MAROSTI et al., 2015). Inflamação intestinal causa anormalidades contráteis, dor, alterações na velocidade de transmissões sinápticas e alterações no funcionamento de neurônios secretomores resultando em perda excessiva de flúidos (NURGALI et al., 2009; 2011; FURNESS, 2012; DA SILVA et

al., 2015, 2017). Alterações quanto a densidade e morfologia neuronal foram observadas em ratos submetidas a desnutrição e renutrição (SANT'ANA et al., 1997; MISAWA et al., 2010; GIROTTI et al., 2013). A obesidade é outro fator que influencia na densidade neuronal e na morfologia de neurônio entéricos em camundongos ob/ob machos e fêmeas (MIZUNO et al. 2012, 2014).

Figura 1 – Ilustração do íleo com suas respectivas camadas. Fonte: Adaptado de Furness, 2006.



Um dos maiores avanços nas pesquisas sobre SNE foi a classificação dos tipos neuronais pelas suas formas, propriedades fisiológicas, imunohistoquímicas, também propriedades relacionadas às estruturas que eles inervam e neurotransmissores que eles utilizam (FURNESS, 2006). Neurônios entéricos podem ser agrupados de acordo com as suas funções como, neurônios intrínsecos aferentes primários (IPANS), interneurônios e neurônios motores. (FURNESS, 2006).

Os neurônios IPANS são neurônios sensoriais, possuem características que os distinguem dos demais tipos de neurônios, estes neurônios possuem a forma Dogiel tipo II (são grandes quando comparados aos demais neurônios), numerosos nos plexos mioentérico e submucoso, raros no estômago e seu potencial de ação é realizado através de íons Ca^{2+} (FURNESS, 2000; 2006).

Estudos estruturais foram realizados e mostraram a presença de corpos celulares neuronais no plexo mioentérico com direções oral e anal (ascendente e descendente), os

interneurônios. Eles têm a característica de responder a reflexos com rápidos potenciais excitatórios pós-sinápticos (EPSPs), que é a despolarização temporária da membrana causada pela abertura dos canais iônicos, ocasionando a entrada de íons negativos ou a saída de íons positivos (BORNSTEIN et al., 1991; KUNZE; FURNESS, 1999).

Os neurônios motores inervam duplamente as camadas musculares do trato gastrointestinal, uma inervação excitatória e outra inibitória (KUNZE; FURNESS, 1999). Esses neurônios podem ser divididos em 5 grupos, neurônios motores inibitórios, neurônios motores excitatórios, neurônios secretomotores/vasodilatadores, neurônios motores que não são vasodilatadores e neurônios motores que inervam células entero-endócrinas (FURNESS, 2000; 2006).

Proteínas do citoesqueleto, neurotransmissores, hormônios, receptores e enzimas, são fatores característicos e definitivos em estudos farmacológicos, histoquímicos e imunohistoquímicos que visam categorizar os neurônios do sistema nervoso entérico (FURNESS et al., 1989; 1990; 1995b; FREYTAG et al., 2008).

O óxido nítrico tem sido considerado um importante neurotransmissor inibitório no intestino (EKBLAD et al., 1994). Óxido nítrico neuronal é sintetizado pela enzima característica NOS (óxido nítrico sintase), que necessita de Ca^{2+} , calmodulina (proteína que se liga ao cálcio) e NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatase) para ser ativada (BREDT et al., 1991; EKBLAD et al., 1994). Os neurônios imunorreativos a NOS (NOS-ir) são os neurônios motores inibitórios, exercem funções relacionadas ao relaxamento das camadas musculares e não colocalizam-se com acetilcolinesterase, portanto, não são colinérgicos (AIMI et al., 1993).

Nos reflexos contráteis e secretórios do trato gastrointestinal, a acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor que exerce importantes papéis reguladores. A acetilcolina pode ser sintetizada pela enzima catalisadora colina acetil transferase (ChAT), que está presente em neurônios motores excitatórios (ChAT-ir) (BERTRAND, 2003; FURNESS, 2006).

A calretinina (Calr) e a Calbindina (Calb) são proteínas que se ligam ao cálcio, e tem função tamponante, regulando a concentração de cálcio citosólico. Baseados na morfologia e características eletrofisiológicas, os neurônios imunorreativos à calbindina e à calretinina, são considerados neurônios intrínsecos sensoriais (BERTRAND et al., 1997; SAYEGH et al., 2003).

O conhecimento funcional sobre o SNE e a forma com que ele é modulado, seja pela microbiota, seja pelo sistema imune, é de suma importância uma vez que a homeostase do TG está intimamente ligada ao funcionamento do SNE (OBATA; PANCHINS, 2016). A existência

de circuitos especializados dentro do sistema nervoso entérico tem sido observada, baseados na neuroquímica, polaridade e eletrofisiologia dos neurônios. Os estudos principalmente no plexo mioentérico, elucidam relações entre neurônios sensoriais e motores, conectados de várias maneiras muito específicas para fundamentar a função motora do trato gastrointestinal (SMOLILO et al., 2018).

O conhecimento sobre interações neuromusculares entéricas e também imunológicas são de suma importância para auxiliar na exploração de mecanismos fisiopatológicos das doenças inflamatórias intestinais, que são caracterizadas por alterações no quadro neuroimune (ANTONIOLI et al., 2015).

O desvendamento da especialização funcional do sistema nervoso entérico pode ser útil para diversas desordens associadas ao trato gastrointestinal (BESSAC et al., 2018). Os gânglios entéricos são heterogêneos e permanece desconhecido até que ponto pode haver especialização regional ou núcleos funcionais ao longo do TG. Para melhor traduzir resultados de modelos animais para doenças humanas, faz-se necessários estudos futuros para padronizar as diversas classes neuronais, levando em conta sua importância frente a diferentes respostas nas desordens intestinais (CHALAZONITIS; RAO, 2018).

1.2 Considerações sobre as Células Gliais Entéricas

Células satélites nucleadas situadas ao redor dos corpos neuronais foram descritas por Dogiel em 1899, e logo após, outros pesquisadores também apontaram essas células tanto nos gânglios como nas cadeias nervosas dos plexos, as células gliais entéricas (CGE) (FURNESS, 2006). As marcações de células gliais entéricas também podem ser feitas pela proteína S100 β em experimentos imunohistoquímicos, uma proteína ligante de Ca²⁺ que tem como função auxiliar no controle da homeostase intracelular desse íon, através da mediação de ATP extracelular (FERRI et al., 1982b; HANANI et al., 2000; ZHANG et al., 2003; MENDES et al., 2015).

Estudos sobre a marcação de células gliais através da marcação imunohistoquímica da proteína fibrilar glial ácida (GFAP), foram feitos por Jessen e Mirsky (1983). Assim, foi comprovado os efeitos da colite ulcerativa em humanos ou em protocolos de animais nas gliais entéricas imunorreativas ao GFAP e ao S100 β do SNE de pacientes com colite ulcerativa através de testes com o Fator Neutrófico Derivado da Glia (GDNF) em biópsias desses pacientes (VON BOYEN et al., 2011; DA SILVA et al., 2015; 2017).

A literatura sugere que uma das principais funções para as glias entéricas seja o auxílio na sustentação estrutural do sistema nervoso entérico. Entretanto, estudos mais recentes constataram que esta população de células tem importância fisiopatológica em reações inflamatórias, condições de dismotilidade do intestino e são afetadas pela colite (BASSOTTI et al, 2007; DA SILVA et al., 2015; 2017). Além de exercerem atividades imunológicas (como células apresentadoras de antígenos), proteção de neurônios em distúrbios intestinais causados por diabetes, funções homeostáticas, sendo essenciais para a manutenção da vitalidade dos neurônios (BASSOTTI et al., 2007; LUO et al., 2018)

Nas últimas décadas as pesquisas sobre as glias tiveram grande ascensão devido à descoberta de que as células gliais podem ser excitadas, mas excitadas de uma maneira fundamentalmente distinta da excitabilidade dos neurônios. A forma de excitabilidade é codificada em mudanças na concentração intracelular de íons Ca^{2+} , que podem ocorrer espontaneamente, ou são provocados por atividade neuronal (KETTENMANN; VERKHRATSKY, 2008).

Levando em conta fatores relacionados a disposição, morfologia e função das glias entéricas, essas células podem ser divididas em glias intramusculares, conectadas às fibras que inervam a musculatura lisa; intraganglionares, conectadas aos corpos neuronais pertencentes aos gânglios mioentérico e submucoso, sendo participantes ativas das sinapses entéricas; subepiteliais, conectadas aos feixes que inervam a mucosa e localizadas abaixo das células epiteliais, provavelmente contribuindo no controle da barreira intestinal. Além disso, as células gliais entéricas exercem influência na sobrevivência dos neurônios, neurogênese durante o desenvolvimento ou após uma lesão intestinal e também na modulação de processos fisiológicos, o que adiciona uma complexidade substancial num sistema tão heterogêneo como o SNE (GULBRANSEN; SHARKEY, 2012).

As células gliais entéricas foram reconhecidas como uma linhagem celular única a mais de 50 anos atrás, mas só em estudos mais recentes sua complexa função e seu fundamental papel nas distúrbios intestinais tem sido estudado. Novas técnicas e tecnologias de imagem e genéticas tem sido desenvolvidas para avaliar a heterogeneidade das células gliais entéricas, a fim de compreender plenamente seu papel no trato gastrointestinal, assim como no eixo cérebro-intestino (VALÈS et al., 2018).

Alterações que atinjam as glias entéricas podem causar degeneração do epitélio da mucosa, dismotilidade e a má absorção de nutrientes por parte dos segmentos intestinais, demonstrando os diversos papéis e a influência direta da homeostase glial na digestão e na neurotransmissão entérica (OKURA et al., 2019).

1.3 Considerações sobre os Receptores Purinérgicos

Em 1959 avaliou-se que neurônios sensoriais pertencentes à inervação da pele de coelhos, quando submetidos à estimulação antidrômica, liberavam ATP (5' -adenosina trifosfato) (HOLTON, 1959). Estudos posteriores comprovaram a liberação de ATP em neurônios entéricos, desempenhando papéis neurotransmissores não-colinérgicos e não-adrenérgicos relacionados com a motilidade intestinal (BURNSTOCK, 2008; ANTONIOLI et al., 2013). Em 1976, Geoffrey Burnstock introduziu o termo “receptores purinérgicos”, após propor não só a existência de receptores para o ATP nas membranas celulares dos neurônios, mas a liberação de tal molécula pelos terminais pré-sinápticos e posteriormente pós-sinápticos quando estimulados.

Na década de 1970, os estudos eram realizados levando em conta o Princípio de Dale, no qual os neurônios utilizavam apenas um mediador na neurotransmissão (BURNSTOCK, 1976). Entretanto, os estudos comprovaram que esse princípio não estava correto, pois o ATP na neurotransmissão poderia ser co-liberado com vários outros neurotransmissores como, acetilcolina, glutamato, noradrenalina, GABA e serotonina, assim como desempenhar papéis importantes na comunicação glia-glia e neurônio-glia quando liberados por astrócitos (NORTH; VERKHRATSKY, 2006).

Atualmente, após décadas de estudos, é sabido que a sinalização purinérgica não está somente relacionada ao funcionamento do organismo como, funções endócrinas, exócrinas, agregação de plaquetas, vasodilatação, resposta imune, comunicação celular, diferenciação celular e proliferação celular, mas também desenvolve papéis centrais em possíveis desordens como, diabetes, inflamação, dor, doença de Hirschsprung, doença de Chagas, isquemia (BURNSTOCK et al., 2007b; 2008; BATISTA, 2008; ABBRACCHIO et al., 2009; PALOMBIT et al., 2013; DA SILVA et al., 2015, 2017).

Os receptores purinérgicos foram classificados primeiramente pelo seu mecanismo de ativação em P1 e P2, onde os receptores P1 são ativados pelo nucleosídeo adenina (ADO) e os receptores P2 são ativados pelo nucleotídeo ADP (difosfato de adenosina) ou ATP (BURNSTOCK, 1978). Em seus estudos sobre os receptores P1 no sistema nervoso entérico de cobaias, Christofi et al. (2001) categorizaram molecularmente, farmacologicamente e bioquimicamente os receptores P1 em A1, A2A, A2B e A3, salientando a sua importância para atividades secretomotoras e de motilidade intestinal. Diferenças estruturais nos receptores P2 subsidiaram a divisão desses receptores em P2Y e P2X, onde P2X são canais iônicos e P2Y são receptores acoplados a proteína G. Essas diferenças também foram observadas em células de

vários tecidos diferentes, podendo ser usadas na elaboração e síntese de drogas para o tratamento de possíveis desordens na irrigação desses tecidos, no trato gastrointestinal e no sistema urogenital (BURNSTOCK; KENNEDDY, 1985; FREDHOLM et al., 1997; RALEVIC; BURNSTOCK, 1998; ABBRACCHIO et al., 2009).

Os receptores P2X são canais iônicos com permeabilidade seletiva aos cátions Ca^{2+} , K^+ e Na^+ , eles podem ser encontrados em células excitáveis do músculo liso, estriado e cardíaco, células epiteliais, ossos, vários leucócitos e neurônios e células gliais do sistema nervoso central e periférico. O fluxo direto de cálcio através dos canais P2X constitui uma importante fonte de aumento de nível de cálcio intracelular. Entretanto, a despolarização da membrana leva uma ativação secundária dos canais de cálcio dependentes de voltagem o que provavelmente contribui ainda mais para o influxo desse íon. Esse mecanismo não é dependente da produção e difusão de segundos mensageiros dentro do citosol ou da membrana celular, uma vez que a resposta é muito rápida e desempenha um papel importante no desenvolvimento neuronal, sinalização celular e regulação da contratilidade muscular (RALEVIC; BURNSTOCK, 1988; NORTH; SURPRENANT, 2000).

Sete tipos de receptores P2X foram descritos, farmacologicamente testados e aceitos. São eles: P2X1, P2X2, P2X3, P2X4, P2X5, P2X6 e P2X7. Também foram descritas várias variantes, mas não foram funcionalmente expressos, portanto, fazem-se necessários mais estudos nesse sentido, visando principalmente testes com uma gama de agonistas e antagonistas desses receptores (NORTH; SURPRENANT, 2000; ABBRACCHIO et al., 2009).

Sobre a morfologia desses receptores, eles possuem duas porções transmembranais com a maioria localizada extracelularmente e há duas terminações intracelulares, uma amino (N) e outra carboxi (C) (DI VIRGILIO et al., 1998). Existe mais de uma subunidade na proteína oligomérica que compõe a unidade funcional dos receptores P2X. Foi comprovado funcional e bioquimicamente que essas subunidades podem formar complexos monoméricos e heteroméricos, que nada mais são do que combinações dos subtipos de receptores clonados, criados para aumentar a diversidade seletiva relacionada à transmissão de sinalização, propriedades dos canais, dessensibilização e aos possíveis antagonistas e agonistas (NORTH; SURPRENANT, 2000; VOLONTÉ; D'AMBROSI, 2009).

Devido a fundamental importância dos receptores P2X no funcionamento do organismo, os tipos de receptores clonados têm sido estudados sobre suas propriedades (KATAYAMA; MORITA, 1989; BARAJAS-LÓPEZ et al., 1996). A descrição inicial da presença de receptores P2X no intestino foi feita por Vulchanova et al. (1996), após, outros estudos demonstraram o

código químico e a presença de receptores P2X2 nos neurônios entéricos (CASTELUCCI et al., 2002, 2003), P2X3 (POOLE et al., 2002) e P2X7 (HU et al., 2001).

Buisman et al. (1988) mostraram que altos níveis de ATP extracelular induzem uma larga condução não-seletiva de íons para o meio intracelular através de um poro na membrana plasmática, levando a célula à morte. Em 1995, Di Virgilio nomeou os receptores envolvidos na apoptose de macrófagos submetidos à infecção por *Mycobacterium tuberculosis*, de P2Z, afirmando que esse receptor possui papel fundamental nas respostas frente a esse patógeno.

Falzoni et al. (2000) descreveram uma elevada expressão do receptor P2Z em macrófagos, células microgliais e dendríticas, afirmando ser o receptor mais peculiar da família P2X, renomeando-o de P2X7. Este é um receptor bifuncional que, apesar da estimulação transitória com ATP, se comporta como um canal iônico seletivo de cátions, permeável a K⁺, Na⁺ e Ca²⁺. Porém, após estimulação repetitiva ele sofre uma transição para um poro não seletivo que também permite fluxos transmembranares de moléculas de baixo peso molecular, hidrofílicas com massa até 900 Daltons.

Estudos mais recentes comprovaram a ampla distribuição de receptores P2X7 em diversos tipos de células de mamíferos. Ele está presente em no intestino, células epiteliais, fibroblastos, osteoblastos, mastócitos, linfócitos e também células do sistema nervoso periférico, central e entérico (BURNSTOCK; KNIGHT, 2004; SPERLÁGH et al., 2006; CESARO et al., 2010; IDZKO et al., 2014; KUHNY et al., 2014; SHOJI et al., 2014; BARTLETT et al., 2014; HU et al., 2001; PALOMBIT et al., 2013; DA SILVA et al., 2015; 2017).

Palombit et al. (2013, 2017) e Marosti et al. (2015) descreveram os efeitos da isquemia e reperfusão em neurônios entéricos que expressam o receptor P2X7. Girotti et al (2013) e Misawa et al. (2010) avaliaram as respostas dos receptores P2X2 e P2X7 em neurônios entéricos do íleo e colo distal de ratos submetidas à desnutrição e a renutrição. Mizuno et al. (2012, 2014) analisaram o receptor P2X2 em camundongos fêmeas e machos *Ob/Ob*. Mendes et al. (2015) estudaram células gliais que expressam P2X2 e P2X7 no íleo de ratos submetidas ao protocolo de isquemia e reperfusão. Em 2017, Mendes e colaboradores avaliaram os efeitos dos antagonistas do receptor P2X7 e do canal de panexina-1 nas células gliais entéricas de ratos submetidas ao protocolo de isquemia e reperfusão. Silva et al (2015, 2017), avaliaram a expressão de P2X7 em células gliais e neurônios presentes no plexo mioentérico e submucoso de ratos submetidos à colite experimental.

Recentemente, o ATP em particular, seus impactos na resposta imune e sua função neuromuscular frente a desordens tornaram-se o tema de pesquisas de alto interesse

(ANTONIOLI et al., 2014). O ATP demonstrou regular a fagocitose de células imunes, promover a formação de inflamação, estimular a secreção de citocinas, mediar a liberação de oxigênio e modular a proliferação e a morte celular (WAN et al, 2016).

O receptor P2X7 é um receptor com múltiplas funções fisiológicas e patológicas nos muitos sistemas do corpo humano, modula respostas celulares em células imunes e células não-imunes. Já foram descritas diferentes funções, as vezes contrastantes do receptor P2X7, dependendo do seu nível de ativação, do tipo de patógeno e o tipo de célula estudada (SAVIO et al., 2018). Entretanto a literatura elucida que o receptor P2X7 modula proliferação de células epiteliais da mucosa intestinal e diminui apoptose em modelos animais, assim como media a tumorigênese de câncer colorretal precedido de colite ulcerativa experimental (HOFMAN et al., 2015).

Dessa forma, receptores de ATP se mostram importantes alvos terapêuticos na medicina química, que com sua evolução, está possibilitando o desenvolvimento de novos ensaios clínicos que visam o desenvolvimento de novos agentes agonistas e antagonistas, com maior seletividade, potencialidade e segurança na terapia de distúrbios gastrointestinais (BURNSTOCK et al., 2017).

1.4 Considerações sobre Doenças Inflamatórias Intestinais

Doenças inflamatórias intestinais (DII) são distúrbios que podem ser desencadeadas por fatores diversos, são representadas pela Doença de Crohn (DC) e colite ulcerativa. A etiologia dessas distúrbios ainda é mal compreendida, mas há evidências de que as causas estão relacionadas com uma possível susceptibilidade genética, com a resposta imune do corpo e pressões fenotípicas associadas à flora intestinal (ELSON et al., 1995).

A maioria das pessoas acometidas pelas DII possuem entre 20 e 40 anos de idade. Entretanto, a prevalência de DC e colite ulcerativa em pessoas mais novas que 20 anos é de 43 e 28 respectivamente a cada 100,000 pessoas nos Estados Unidos. A cada 100,000 pessoas, 201 e 238 podem ter DC e colite respectivamente, ou seja, estima-se que aproximadamente um milhão de americanos sofrem de distúrbios intestinais (KAPPELMAN et al., 2007).

No Brasil, mais especificamente no estado de São Paulo, as pesquisas comprovaram que 91% dos casos de DII estão relacionadas a pessoas de etnia branca e 90% dos casos ocorrem em áreas urbanas, sugerindo que a incidência das doenças pode estar relacionada com a mudança no padrão de vida sofrida pelo homem nas últimas décadas (VICTORIA et al., 2009). O levantamento de dados sobre a ocorrência de DII indica 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).

Estudos têm mostrado a importância do sistema nervoso entérico na atividade funcional do trato gastrointestinal em modelos experimentais de colite. Alterações na motilidade intestinal, diminuição da densidade neuronal associada a necrose e apoptose, assim como alterações na neurotransmissão, tem sido largamente descritas na literatura (GEBOS; COLLINS, 1998; SANOVIC et al., 1999; POLI et al., 2001; SCHNEIDER et al., 2001; ROBERTS et al., 2001; COOK et al., 2000; DA SILVA et al., 2015, 2017).

Substâncias ácidas como o 2, 4-ácido dinitrobenzeno sulfônico (DNBS), 2,4,6 ácido trinitrobenzeno sulfônico (TNBS) e sulfato de sódio dextran (DSS), além de camundongos knockouts, tem sido utilizados para criar modelos inflamatórios semelhantes aos de humanos em ratos e camundongos em protocolos de colite, possibilitando a análise da inflamação em diferentes abordagens. (ELSON et al., 1995; SANOVIC et al., 1999; POLI et al., 2001; GULBRANSEN et al., 2012; WINSTON; SARNA, 2013; DA SILVA et al., 2015, 2017).

Estudos tem comprovado uma larga expressão de receptores purinérgicos em distúrbios intestinais, principalmente quando relacionados à morte neuronal, ocasionando disfunção intestinal (YIANGOU et al., 2001; ANTONIOLI et al., 2010; REN et al., 2011). Na ativação do receptor P2X7 há entrada exacerbada de íons Ca^{2+} , esse mecanismo leva a ativação da via das caspases que, uma vez ativa, é responsável pela ativação e consequente liberação de mediadores inflamatórios nas suas formas ativas, como IL-1 β (KAHLENBERG; DUBYAK, 2004), IL-10, IL-6 (LI et al., 2015), Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) (WOOLF et al., 1997), e assim contribuindo para uma resposta inflamatória ainda mais severa (MEHTA et al., 2014).

Os autores Da Silva et al. (2017) demonstraram que neurônios secretomotores, vasodilatadores, IPANs e células gliais entéricas que expressam o receptor P2X7 são afetados pela colite ulcerativa. Também foi demonstrado que os neurônios nitrérgicos, colinérgicos, sensoriais que expressam o receptor P2X7 do plexo mioentérico foram afetados na densidade e o perfil neuronal (SILVA et al., 2015).

Distúrbios gastrointestinais causadas pela inflamação estão relacionadas a alterações da motilidade, tipicamente envolvendo comprometimento funcional e dano estrutural do SNE, sendo sua recuperação possível apenas pela restauração da função neural, onde a proliferação axonal pode reestabelecer conexões perdidas (VENKATARAMANA et al., 2015). Os dados de Gulbransen e colaboradores (2012) elucidaram a participação de receptores P2X na morte de

neurônios entéricos, comprovando que a inflamação intestinal pode causar distúrbios na transmissão neuromuscular entérica inibitória no cólon, dessa forma, contribuindo para alterações na motilidade intestinal negativamente a longo prazo. Em suma, devido ao desconhecimento sobre a patogênese das DII, nenhuma estratégia de intervenção completamente eficaz foi desenvolvida, no entanto, recentes avanços na compreensão fisiopatológica forneceram pistas para o desenvolvimento de potenciais ferramentas terapêuticas (KAWADA et al., 2007).

Os modelos animais experimentais são de suma importância porque podem ser controlados para espécies diferentes, idade, antecedentes genéticos, dieta, estresse e variação temporal podendo ser usado para modelo nas DII. No geral, os dados de numerosos laboratórios que utilizam vários modelos experimentais diferentes, indicam que a longo e curto prazo a neuroplasticidade ocorre em todos os níveis do eixo cérebro-intestino (BRIERLEY; LINDEN, 2014).

Sendo assim, a justificativa do trabalho se dá, pois, foi demonstrado que neurônios entéricos que expressam o receptor P2X7 são afetados pela colite ulcerativa experimental (DA ILVA et al., 2015; 2017), no entanto ainda não foi elucidado o papel do receptor P2X7 nestes neurônios na colite ulcerativa experimental. O presente projeto visa estudar os efeitos da colite ulcerativa experimental no plexo miotérico em camundongos deficientes do receptor P2X7 no sentido de elucidar os mecanismos envolvidos na morte neuronal no modelo de inflamação intestinal e verificar os potenciais alvos terapêuticos.

CONCLUSÃO

1. O TNBS foi um protocolo que induziu a colite ulcerativa, uma vez que os animais apresentaram alterações no peso, diarreia e sangramento.
2. Os animais KO/Sham e KO/Colite apresentaram uma tendência de recuperação mais destacada do que os animais dos grupos WT/Sham e WT/Colite no peso, fezes e sangramento.
3. O receptor P2X7 foi encontrado nos neurônios do plexo mioentérico nos grupos WT/Sham e WT/Colite.
4. A colite ulcerativa experimental afetou os neurônios entéricos, pois houve diminuição dos neurônios imunorreativos a P2X7, ChAT, NOS e PGP9.5.
5. A colite ulcerativa experimental afetou de maneira diferenciada as células gliais entéricas dos grupos estudados.
6. Houve diferença no perfil neuronal dos neurônios dos grupos estudados.

REFERÊNCIAS

- ABBRACHIO, M. P.; BURNSTOCK, G.; VERKHRATSKY, A.; ZIMMERMANN, H. Purinergic signaling in the nervous system: an overview. **Trends Neuroscience**. v.32 n.1 p. 19-29, 2009.
- AIMI, Y.; KIMURA, H.; KINOSHITA, T.; MINAMI, Y.; FUJIMURA, M.; VINCENT, S. R. Histochemical localization of nitric oxide synthase in rat enteric nervous system. **Neuroscience**, v. 53, p. 553-560, 1993.
- ALABI, Q.K.; AKOMOLAFE, R.O.; OMOLE, J.G.; ADEFISAYO, M.A.; OGUNDIPE, O.L.; ATURAMU, A.; SANYA, J.O. Polyphenol-rich extract of *Ocimum gratissimum* leaves ameliorates colitis via attenuating colonic mucosa injury and regulating pro-inflammatory cytokines production and oxidative stress. **Biomed Pharmacother**. Apr 20;103:812-822, 2018.
- ANTONIOLI, L.; BLANDIZZI, C.; GIRON, M. Enteric purinergic signaling: Shaping the “brain in the gut”. **Neuropharmacology**, v. 95, p. 477-478, 2015.
- ANTONIOLI, L.; GIRON, M. C.; COLUCCI, R.; PELLEGRINI, C.; SACCO, D.; CAPUTI, V.; FORNAI, M. Involvement of the P2X7 purinergic receptor in colonic motor dysfunction associated with bowel inflammation in rats. **PLoS one**, v. 9, n. 12, p. e116253, 2014.
- ANTONIOLI, L.; COLUCCI, R.; PELLEGRINI, C.; GIUSTARINI, G.; TUCCORI, M.; BLANDIZZI, C.; FORNAI, M. The role of purinergic pathways in the pathophysiology of gut diseases: pharmacological modulation and potential therapeutic applications. **Pharmacol Ther**. v.139 n.2 p. 157-188, 2013.
- ANTONIOLI, L.; FORNAI, M.; COLUCCI, R.; GHISU, N.; TUCCORI, M.; AWWAD, O.; BIN, A.; ZOPPELLARO, C.; CASTAGLIUOLO, I.; GAION, R.M.; GIRON, M.C.; BLANDIZZI, C. Control of enteric neuromuscular functions by purinergic A(3) receptors in normal rat distal colon and experimental bowel inflammation. **Br J Pharmacol**. v.161 n.4 p.856-871, 2010.
- BARAJAS-LOPEZ, C.; HUIZINGA, J. D.; COLLINS, S. M.; GERZANICH, V.; ESPINOSA-LUNA, R.; PERES, A. L. P2-purinoceptors of myenteric neurones from the guinea-pig ileum and their unusual pharmacological properties. **British Journal of Pharmacology**. v. 119 p. 1541-1548, 1996.
- BARONE, M.; CHAIN, F.; SOKOL, H.; BRIGIDI, P.; BERMÚDEZ-HUMARÁN, L. G.; LANGELLA, P.; & MARTÍN, R. A versatile new model of chemically induced chronic colitis using an outbred murine strain. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 565, 2018.
- BARTLETT, R.; STOKES, L.; SLUYTER, R. The P2X7 receptor channel: recent developments and the use of P2X7 antagonists in models of disease. **Pharmacol Rev**. N. 66 V. 3 P. 638-675, 2014.
- BASSOTTI, 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**; n.13 v.30 p.4035-4041, 2007.
- BATISTA, D. R. Estudo dos receptores purinérgicos em células gliais do gânglio da raiz dorsal. 70 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- BELL, C. J.; GALL, D. GRANT.; WALLACE, J. L. Disruption of colonic electrolyte transport in experimental colitis. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 268, n. 4, p. G622-G630, 1995.
- BERTRAND, P. P. ATP and sensory transduction in the enteric nervous system. **Neuroscientist**. v. 9, n. 4, p. 243-260, 2003.
- BERTRAND, P. P.; KUNZE, W. A.; BORNSTEIN, J. C.; SMITH, M. L.; FURNESS, J. B. Analysis of the responses of myenteric neurons in the small intestine to chemical stimulation of the mucosa. **American Journal of Physiology**. v. 273 n. 2 p.422-435, 1997.

BESSAC, A.; CANI, P. D.; MEUNIER, E.; DIETRICH, G.; KNAUF, C. Inflammation and gut-brain axis during type 2 diabetes: focus on the crosstalk between intestinal immune cells and enteric nervous system. **Frontiers in neuroscience**, p.12, 2018.

BORNSTEIN, J. C.; FURNESS, J.B.; SMITH, T. K.; TRUSSELL, D. C. Synaptic responses evoked by mechanical stimulation of the mucosa in morphologically characterized myenteric neurons of the guinea-pig ileum. *J. Neurosci.* 11:505–18, **1991**.

BREDT, D.S.; HWANG, P.M.; GLATT, C.E.; LOWENSTEIN, C.; REED, R.R.; SNYDER, S.H. Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. **Nature**. v.351 n.6329 p. 714-718, 1991.

BRIERLEY, S. M.; LINDEN, D. R. Neuroplasticity and dysfunction after gastrointestinal inflammation. **Nature reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 11, n. 10, p. 611, 2014.

BUISMAN, H. P.; STEINBERG, T. H.; FISCHBARG, J.; SILVERSTEIN, S. C.; VOGELZANG, S. A.; INCE, C.; YPEY, D. L.; LEIJH, P. C. Extracellular ATP induces a large nonselective conductance in macrophage plasma membranes. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 21 n. 85 p. 7988-7992, 1988.

BURNSTOCK, G. A basis for distinguishing two types of purinergic receptor. In: STRAUB, R.W.; BOLIS, L.(Eds.). *Cell membrane receptors for drugs and hormones. a multidisciplinary approach*. p. 107-118, 1978.

BURNSTOCK, G. Do some nerve cells release more than one transmitter? **Neuroscience**. v.1 p. 239–48, 1976.

BURNSTOCK, G. Purinergic Receptors. **J. theor. Biol.** v.62 p. 491-503, 1976.

BURNSTOCK, G. A basis for distinguishing two types of purinergic receptor. In: STRAUB, R.W.; BOLIS, L.(Eds.). **Cell membrane receptors for drugs and hormones**. A multidisciplinary approach. New York.,: Raven Press, 1978. p. 107-118.

BURNSTOCK, G. Purine and pyrimidine Cell Mol. **Life Sci.**, v. 64 n.12, p. 1471-1483, 2007.

BURNSTOCK, G. Purinergic signalling and disorders of the central nervous system. **Nat Rev Drug Discov**. v.7 n.7 p.575-590, 2008.

BURNSTOCK, G. Review Article The journey to establish purinergic signalling in the gut. **Neurogastroenterol Motil**. v.20 p. 8-19, 2008.

BURNSTOCK, G.; KENNEDY, C. Is there a basis for distinguishing two types of P2- purinoceptor? **Gen. Pharmacol.**, v.16, p.433-440, 1985.

BURNSTOCK, G.; KNIGHT, G.E. Cellular distribution and functions of P2 receptor subtypes in different systems. **Int Rev Cytol**. n. 240 p. 31-304, 2004.

BURNSTOCK, G; JACOBSON, A.; CHRISTOFI, L. Purinergic drug targets for gastrointestinal disorders. **Current opinion in pharmacology**. v. 37, p. 131-141, 2017.

CAI, L., LI, Z., GUAN, X., CAI, K., WANG, L., LIU, J., & TONG, Y. The Research Progress of Host Genes and Tuberculosis Susceptibility. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2019, 2019.

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, 2002a.

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

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

CAVRIANI, G.; OLIVEIRA-FILHO, R.M.; TREZENA, A.G.; DA SILVA, Z.L.; DOMINGOS, H.V. DE ARRUDA, M.J.; JANCAR, S.; TAVARES DE LIMA, W. Lung microvascular permeability and neutrophil recruitment are differently regulated by nitric oxide in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion. **Eur J Pharmacol.** v.494 (2-3):241-9, 2004.

CESARO, A.; BREST, P.; HOFMAN, V.; HÉBUTERNE, X.; WILDMAN, S.; FERRUA, B.; MARCHETTI, S.; DOGLIO, A.; VOURET-CRAVIARI, V.; GALLAND, F.; NAQUET, P.; MOGRABI, B.; UNWIN, R.; HOFMAN, P. Amplification loop of the inflammatory process is induced by P2X7R activation in intestinal epithelial cells in response to neutrophil transepithelial migration. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.** n. 299 v. 1 p. 32-42, 2010.

CHALAZONITIS, A.; RAO, M. Enteric nervous system manifestations of neurodegenerative disease. **Brain research,** v. 1693, p. 207-213, 2018.

CHARPENTIER, C.; CHAN, R.; SALAMEH, E.; MBODJI, K.; UENO, A.; COËFFIER, M.; MARION-LETELLIER, R. Dietary n-3 PUFA may attenuate experimental colitis. **Mediators of inflammation,** v. 2018, 2018.

CHEN, G.; RAN, X.; LI, B.; LI, Y.; HE, D.; HUANG, B.; WANG, W. Sodium butyrate inhibits inflammation and maintains epithelium barrier integrity in a TNBS-induced inflammatory bowel disease mice model. **EBioMedicine,** v. 30, p. 317-325, 2018.

CHRISTOFI, F.L.; ZHANG, H.; YU, J.G.; GUZMAN, J.; XUE, J.; KIM, M.; WANG, Y.Z.; COOKE, H.J. Differential gene expression of adenosine A1, A2a, A2b, and A3 receptors in the human enteric nervous system. **Comp Neurol.** v.439 n.1 p. 46-64, 2001.

COOK, T.A.; BRADING, A.F.; MORTENSEN, N.J. Abnormal contractile properties of rectal smooth muscle in chronic ulcerative colitis. **Aliment Pharmacol Ther.** n.14 v.10 p.1287-1294, 2000.

COSTA, D. V.; BON-FRAUCHES, A. C.; SILVA, A. M.; LIMA-JÚNIOR, R. C.; MARTINS, C. S.; LEITÃO, R. F.; WARREN, C. A. 5-Fluorouracil Induces Enteric Neuron Death and Glial Activation During Intestinal Mucositis via a S100B-RAGE-NFκB-Dependent Pathway. **Scientific reports,** v. 9, n. 1, p. 665, 2019.

CRABBÉ, M.; VAN DER PERREN, A.; BOLLAERTS, I.; KOUNELIS, S.; BAEKELANDT, V.; BORMANS, G.; VAN LAERE, K INCREASED. P2X7 receptor binding is associated with neuroinflammation in acute but not chronic rodent models for Parkinson's disease. **Frontiers in neuroscience,** v. 13, 2019.

DA SILVA, M.V.; MAROSTI, A.R.; MENDES, C.E.; PALOMBIT, K.; CASTELUCCI, P. Differential effects of experimental ulcerative colitis on P2X7 receptor expression in enteric neurons. **Histochem Cell Biol.** n. 142 v. 2 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, n. 5, p. 481-494, 2017.

DA SILVA, J. L.; PASSOS, D. F.; BERNARDES, V. M.; LEAL, D. B. ATP and adenosine: role in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. **Immunology letters,** 2019.

DI VIRGILIO, F. The P2Z purinoceptor: an intriguing role in immunity, inflammation and cell death. **Immunol. Today.** v. 16 p. 524-528, 1995.

DI VIRGILIO, F.; CHIOZZI, P.; FALZONI, S.; FERRARI, D.; SANZ, J. M.; VENKETARAMAN, V.; BARICORDI, O. R. Review Cytolytic P2X purinoceptors. **Cell Death and Differentiation.** p. 191-199, 1998.

EBERHARDSON, M.; TARNAWSKI, L.; CENTA, M.; OLOFSSON, P. S. Neural Control of Inflammation: Bioelectronic Medicine in Treatment of Chronic Inflammatory Disease. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine,** 2019.

EKBLAD, E.; ALM, P.; SUNDLER, F. Distribution, origin and projections of nitric oxide synthase-containing neurons in gut and pancreas. **Neuroscience,** v. 63, p. 233-248, 1994.

- ELSON, C.O.; R. SARTOR, R. B.; TENNYSON, G. S.; RIDDELL, R. H. SPECIAL Reports and Reviews of Experimental Models of Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterology**. v. 109 p. 1344-1367, 1995.
- ERDOGAN, B.; ISIKSOY, S.; DUNDAR, E.; PASAOGLU, O.; BAL, C. The effects of sodium phosphate and polyethylene glycol-electrolyte bowel preparation solutions on 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in the rat. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 55, n. 2-3, p. 213-220, 2003.
- FABIA, R.; AR'RAJAB, A.; JOHANSSON, M. L.; WILLEN, R.; ANDERSSON, R.; MOLIN, G.; BENGMARK, S. The effect of exogenous administration of Lactobacillus reuteri R2LC and oat fiber on acetic acid-induced colitis in the rat. **Scandinavian journal of gastroenterology**, v. 28, n. 2, p. 155-162, 1993.
- FALZONI, S.; CHIOZZI, P.; FERRARI, D.; BUELL, G.; DI VIRGILIO, F. P2X7 Receptor and Polykarion Formation. **Molecular Biology of the Cell**. v. 11 p. 3169-3176, 2000.
- FAUSSONE-PELLEGRINI, M. S.; MATINI, P.; STACH, W. Differentiation of enteric plexuses and interstitial cells of Cajal in the rat gut during pre- and postnatal life. **Acta Anat (Basel)**. v.155(2): 113-25, 1996.
- FERRI, G.; PROBERT, L.; COCCHIA, D.; MICHETTI, F.; MARANGOS P. P.; POLAK, J. M. Evidence for the presence of S-100 protein in the glial component of the human enteric nervous system. **Nature**. V. 297 p. 409-410, 1982.
- FIGLIUOLO, V. R.; SAVIO, L. E. B.; SAFYA, H.; NANINI, H.; BERNARDAZZI, C.; ABALO, A.; COUTINHO-SILVA, R. P2X7 receptor promotes intestinal inflammation in chemically induced colitis and triggers death of mucosal regulatory T cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1863, n. 6, p. 1183-1194, 2017.
- FILPA, V.; BISTOLETTI, M.; CAON, I.; MORO, E.; GRIMALDI, A.; MORETTO, P.; CREMA, F. Changes in hyaluronan deposition in the rat myenteric plexus after experimentally-induced colitis. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 17644, 2017.
- FREDHOLM, B. B.; ABBRACCHIO, M. P.; BURNSTOCK, G.; DUBYAK, G. R.; HARDEN, T. K.; JACOBSON, K. A.; SCHWABE, U.; WILLIAMS, M. Towards a revised nomenclature for P1 and P2 receptors. **Trends Pharmacol Sci**. v.3 p. 79-82, 1997.
- FREYTAG, C.; SEEGER, J.; SIEGEMUND, T.; GROSCHE, J.; GROSCHE, A.; FREEMAN, D.E.; SCHUSSER, G.F.; HÄRTIG, W. Immunohistochemical characterization and quantitative analysis of neurons in the myenteric plexus of the equine intestine. **Brain Res**. v.9 p.1244:1253-64, 2008.
- FURNESS, J. B.; MORRIS, J. L.; GIBBINS, I. L.; COSTA, M. Chemical coding of neurons and plurichemical transmission. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol**. v. 29, p. 289- 306, 1989.
- FURNESS, J. B.; KURAMOTO, H.; MESSENGER, J. P. Morphological and chemical identification of neurons that project from the colon to the inferior mesenteric ganglia in the guinea-pig. **J. Auton. Nerv. Syst.**, v. 31, p. 203-210, 1990.
- FURNESS, J. B.; POOLE, D. P. Nonruminant Nutrition Symposium: Involvement of gut neural and endocrine systems in pathological disorders of the digestive tract. **J Anim Sci**. v.90 n.4 p. 1203-1212, 2012.
- FURNESS, J.B. **The Enteric Nervous System**. Austrália: Blackwell Publishing., p 287, 2006.
- FURNESS, J.B. Types of neurons in the enteric nervous system. **J. Autonom. Nerv. Syst.**, v.81: 87-96, 2000.
- FURNESS, J.B. The enteric nervous system and neurogastroenterology. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**. v.9 n.5 p. 286-294, 2012.
- FURNESS, J.B.; YOUNG, H.M.; POMPOLO, S.; BORNSTEIN, J.C.; KUNZE, W.A.A.; Mc CONALOUGUE, K. Plurichemical transmission and chemical coding of neurons in the digestive tract. **Gastroenterology**, v.108, p.554-563, 1995b.

GEBOES, K.; COLLINS, S. Structural abnormalities of the nervous system in Crohn's disease and ulcerative colitis. **Neurogastroenterol Motil.** v.3 p. 189-202, 1998.

GIACOVAZZO, G., FABBRIZIO, P., APOLLONI, S., COCCURELLO, R., & VOLONTÉ, C. Stimulation of P2X7 enhances whole body energy metabolism in mice. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 13, p. 390, 2019.

GIROTTI, P.A.; MISAWA, R.; PALOMBIT, K.; MENDES, C.E.; BITTENCOURT, J.C.; CASTELUCCI, P. Differential effects of undernourishment on the differentiation and maturation of rat enteric neurons. **Cell Tissue Res.** v. 353 n. 3 p. 367-380, 2013.

GULBRANSEN, B.D.; BASHASHATI, M.; HIROTA, S.A.; GUI, X.; ROBERTS, J.A.; MACDONALD, J.A.; MURUVE, D.A.; MCKAY, D.M.; BECK, P.L.; MAWE, G.M.; THOMPSON, R.J.; SHARKEY, K.A. Activation of neuronal P2X7 receptor-pannexin-1 mediates death of enteric neurons during colitis. **Nat Med.** v.18 n.4 p. 600-604, 2012.

GULBRANSEN, B. D.; SHARKEY, K. A. Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 9, n. 11, p. 625, 2012.

GULBRANSEN, B. D.; CHRISTOFI, F. L. Are We Close to Targeting Enteric Glia in Gastrointestinal Diseases and Motility Disorders? **Gastroenterology**, v. 155, n. 2, p. 245-251, 2018.

HANANI, M.; FRANCKE, M.; HÄRTIG, W.; GROSCHE, J.; REICHENBACH, A.; PANNICKE, T. Patch-clamp study of neurons and glial cells in isolated myenteric ganglia. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.** v.4 n.278 p. 644-651, 2000.

HART, M. L.; CEONZO, K. A.; SHAFFER, L. A.; TAKAHASHI, K.; ROTHER, R. P.; REENSTRA, W. R.; BURAS, J. A.; STAHL, G. L. Gastrointestinal Ischemia-Reperfusion Injury Is Lectin Complement Pathway Dependent without Involving C1q. **J Immunol.** V.174 n.10 p. 6373-6380, 2005.

HOMERIN, G.; JAWHARA, S.; DEZITTER, X.; BAUDELET, D.; DUFRÉNOY, P.; RIGO, B.; FARCE, A. Pyroglutamide-Based P2X7 Receptor Antagonists Targeting Inflammatory Bowel Disease. **Journal of medicinal chemistry**, 2019.

HOFMAN, P. Genetic and pharmacological inactivation of the purinergic P2RX7 receptor dampens inflammation but increases tumor incidence in a mouse model of colitis-associated cancer. **Cancer research**, v. 75, n. 5, p. 835-845, 2015.

HOLTON, P. The liberation of adenosine triphosphate on antidromic stimulation of sensory nerves. **J Physiol.** n.145 v.3 p. 494-504, 1959.

HOYLE, C. H. V.; BURNSTOCK, G. Printed in Great Britain Neuronal populations in the submucous plexus of the human colon. **J. Anat.** v 7, n. 166, p. 7-22, 1989.

HU, H. Z.; GAO, N.; LIN, Z.; GAO, C.; LIU, S.; REN, J.; XIA, Y.; WOOD, J. D. P2X7 receptors in the enteric nervous system of guinea-pig small intestine. **J. Comp. Neurol.**, v.440, p.299-310, 2001.

HU, S.; YU, F.; YE, C.; HUANG, X.; LEI, X.; DAI, Y.; YU, Y. The presence of P2RX7 single nuclear polymorphism is associated with a gain of function in P2X7 receptor and inflammasome activation in SLE complicated with pericarditis. **Clinical and experimental rheumatology**, 2019.

IDZKO, M.; FERRARI, D.; ELTZSCHIG, H.K. Nucleotide signalling during inflammation. **Nature.** n. 509 v. 7500 p. 310-317, 2014.

JANSSEN, B., & MACH, R. H. Development of brain PET imaging agents: Strategies for imaging neuroinflammation in Alzheimer's disease. **Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.** v. 165, p. 371-399, 2019.

JESSEN, K.R; MIRSKY, R. Astrocyte-like glia in the peripheral nervous system: an immunohistochemical study of enteric glia. **J Neurosci.** v.3 n.11 p. 2206-2218, 1983.

KAHLENBERG, J.M; DUBYAK, G.R. Mechanisms of caspase-1 activation by P2X7 receptor-mediated K⁺ release. **Am J Physiol Cell Physiol.** v.5 n. 285, 2004.

KAPPELMAN, M.D.; RIFAS-SHIMAN, S.L.; KLEINMAN, K.; OLLENDORF, D.; BOUSVAROS, A.; GRAND, R.J.; FINKELSTEIN, J.A. The Prevalence and Geographic Distribution of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis in the United States. **Clinical Gastroenterology and Hepatology.** v .5 p. 1424-1429, 2007.

KATAYAMA, Y.; MORITA, K. Adenosine 5'-Triphosphate Modulates Membrane Potassium Conductance in Guinea-Pig Myenteric Neurons. **Journal of Physiology.** n. 408 p. 373-390, 1989.

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. 5581-5593, 2007.

KERMARREC, L.; DURAND, T.; GONZALES, J.; PABOIS, J.; HULIN, P.; NEUNLIST, M.; NAVEILHAN, P. Rat enteric glial cells express novel isoforms of Interleukine-7 regulated during inflammation. **Neurogastroenterology & Motility,** v. 31, n. 1, p. e13467, 2019.

KETTENMANN, H.; VERKHRATSKY, A. Historical Perspective Neuroglia: the 150 years after. **Trends in Neurosciences** v.31 n.12, 2008.

KOPP, R.; KRAUTLOHER, A.; RAMÍREZ-FERNÁNDEZ, A.; NICKE, A. P2X7 interactions and signalling-making head or tail of it. **Frontiers in molecular neuroscience,** v. 12, p. 183, 2019.

KOUSSOULAS, K.; SWAMINATHAN, M.; FUNG, C.; BORNSTEIN, J. C.; FOONG, J. P. Neurally Released GABA Acts via GABAC Receptors to Modulate Ca²⁺ Transients Evoked by Trains of Synaptic Inputs, but Not Responses Evoked by Single Stimuli, in Myenteric Neurons of Mouse Ileum. **Frontiers in physiology,** v. 9, p. 97, 2018.

KUHNY, M.; HOCHDÖRFER, T.; AYATA, C.K.; IDZKO, M.; HUBER, M. CD39 is a negative regulator of P2X7-mediated inflammatory cell death in mast cells. **Cell Commun Signal.** N.12 V. 40, 2014.

KUNZE, W. A. A.; FURNESS, J. B. The enteric nervous system and regulation of intestinal motility. **Annu. Rev. Physiol.** v.61, p.117-142, 1999.

LI, B; GURUNG, P.; MALIREDDI, R. K.; VOGEL, P.; KANNEGANTI, T.D.; GEIGER, T.L. IL-10 engages macrophages to shift Th17 cytokine dependency and pathogenicity during T cell-mediated colitis. **Nat Commun.** v.6 n. 6131, 2015.

LI, Yi et al. Increased enteric glial cells in proximal margin of resection is associated with postoperative recurrence of Crohn's disease. **Journal of gastroenterology and hepatology,** v. 33, n. 3, p. 638-644, 2018.

LIU, Y. H.; CHANG, Y. C.; CHEN, L. K.; SU, P. A.; KO, W. C.; TSAI, Y. S.; TSAI, P. J. Corrigendum: The ATP-P2X7 Signaling Axis Is an Essential Sentinel for Intracellular Clostridium difficile Pathogen-Induced Inflammasome Activation. **Frontiers in cellular and infection microbiology,** v. 9, 2019.

LUO, P.; LIU, D.; LI, C.; HE, W. X.; ZHANG, C. L.; CHANG, M. J. Enteric glial cell activation protects enteric neurons from damage due to diabetes in part via the promotion of neurotrophic factor release. **Neurogastroenterology & Motility,** p. e13368, 2018.

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

MAROSTI, A.R.; DA SILVA, M.V.; PALOMBIT, K.; MENDES, C.E.; TAVARES-DE-LIMA, W.; CASTELUCCI, P. Differential effects of intestinal ischemia and reperfusion in rat enteric neurons and glial cells expressing P2X2 receptors. **Histol Histopathol.** v.4 p. 489-501, 2015.

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

MATSUURA, M.; OKAZAKI, K.; NISHIO, A.; NAKASE, H.; TAMAKI, H.; UCHIDA, K.; NISHI, T.; ASADA, M.; KAWASAKI, K.; FUKUI, T.; YOSHIZAWA, H.; OHASHI, S.; NOUE, S.; KAWANAMI, C.; HIAI, H.; TABATA, Y.; CHIBA, T. Therapeutic effects of rectal administration of basic fibroblast growth factor on experimental murine colitis. **Gastroenterology**.v.12,.n.4 p.975-86, 2005.

MEHTA, N.; KAUR, M.; SINGH, M.; CHAND, S.; VYAS, B.; SILAKARI, P.; BAHIA, M.S.; SILAKARI, O. Purinergic receptor P2X₇: a novel target for anti-inflammatory therapy. **Bioorg Med Chem**. v. 1 n. 22 p. 54-88, 2014.

MENDES, C.E. Estudo do efeito dos antagonistas do receptor P2X₇ e Panexina-1 nas células gliais entéricas no protocolo de isquemia e reperfusão intestinal. Tese (Doutorado em Ciências Morfofuncionais). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2017.

MENDES, C. E.; PALOMBIT, K.; VIEIRA, C.; SILVA, I.; CORREIA-DE-SÁ, P.; CASTELUCCI, P. The Effect of Ischemia and Reperfusion on Enteric Glial Cells and Contractile Activity in the Ileum. **Dig Dis Sci**. v.9 n.60 p. 2677-2689, 2015.

MISAWA, R.; GIROTTI, P.A.; MIZUNO, M.S.; LIBERTI, E.A.; FURNESS, J.B.; CASTELUCCI, P. Effects of protein deprivation and re-feeding on P2X₂ receptors in enteric neurons. **World J Gastroenterol**. V.16 N.29 P. 3651-3663, 2010.

MIZUNO, M.S.; CRISMA, A.R.; BORELLI, P.; CASTELUCCI, P. Expression of the P2X₂ receptor in different classes of ileum myenteric neurons in the female obese ob/ob mouse. **World J Gastroenterol**. v.14 n.34 p. 4693-4703, 2012.

MIZUNO, M.S.; CRISMA, A.R.; BORELLI, P.; SCHÄFER, B.T.; SILVEIRA, M.P.; CASTELUCCI, P. Distribution of the P2X₂ receptor and chemical coding in ileal enteric neurons of obese male mice (ob/ob). **World J Gastroenterol**. v.20 n.38 p. 13991-13919, 2014.

NORTH, A.; SURPRENANT, A. Pharmacology of Cloned P2X Receptors. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol**. v. 40 p. 563-80, 2000.

NORTH, R.A.; VERKHRATSKY, A. Purinergic transmission in the central nervous system. **Pflugers Arch**. v.452 n.5 p. 479-485, 2006.

NURGALI, K.; NGUYEN, T.V.; THACKER, M.; PONTELL, L.; FURNESS, J.B. Slow synaptic transmission in myenteric AH neurons from the inflamed guinea pig ileum. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**. v.3 n.297 p. 82-93, 2009.

OBATA, Y.; PACHNIS, V. The effect of microbiota and the immune system on the development and organization of the enteric nervous system. **Gastroenterology**, v. 151, n. 5, p. 836-844, 2016.

OCHOA-CORTES, F. et al. Enteric glial cells: a new frontier in neurogastroenterology and clinical target for inflammatory bowel diseases. **Inflammatory bowel diseases**, v. 22, n. 2, p. 433-449, 2015.

OKURA, U.; HIRASHIMA, N.; TANAKA, M. Calcineurin B1 Deficiency in Glial Cells Reduces Gastrointestinal Motility and Results in Maldigestion and/or Malabsorption in Mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, n. 7, p. 1230-1235, 2019.

PALOMBIT, K.; MENDES, C.E.; TAVARES-DE-LIMA, W.; SILVEIRA, M.P.; CASTELUCCI, P. Effects of ischemia and reperfusion on subpopulations of rat enteric neurons expressing the P2X₇ receptor. **Dig Dis Sci**. v. 58 n. 12 p. 3429-3439, 2013.

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**, p. 1-15, 2019.

PAMELA, H. The liberation of adenosine triphosphate on antidromic stimulation of sensory nerves. **The Journal of Physiology**, v. 145, n. 3, p. 494-504, 1959.

POLI, E.; LAZZARETTI, M.; GRANDI, D.; POZZOLI, C.; 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.

POOLE, D. P.; CASTELUCCI, P.; ROBBINS, H. L.; CHIOCCHETTI, R.; FURNESS J.B. The distribution of P2X3 purine receptor subunits in the guinea-pig enteric nervous system. **Auton. Neurosci**. v. 101, p. 39-47, 2002.

RALEVIC, V.; BURNSTOCK, G. Receptors for purines and pyrimidines. **Pharmacol Rev**. v.50 n.3 p. 413-492, 1998.

RAMALHOSA, F.; SOARES-CUNHA, C.; SEIXAL, R. M.; SOUSA, N.; CARVALHO, A. F. The Impact of Prenatal Exposure to Dexamethasone on Gastrointestinal Function in Rats. **PLoS ONE**. v.11:(9). 2016.

REN, T.; GRANTS, I.; ALHAJ, M.; MCKIERNAN, M.; JACOBSON, M.; HASSANAIN, H.H.; FRANKEL, W.; WUNDERLICH, J.; CHRISTOFI, F.L. Impact of disrupting adenosine A₃ receptors (A₃^{-/-} AR) on colonic motility or progression of colitis in the mouse. **Inflamm Bowel Dis**. v.17 n.8 p. 1698-1713, 2011.

ROBERTS, P.J.; MORGAN, K.; MILLER, R.; HUNTER, J.O.; MIDDLETON, S.J. Neuronal COX-2 expression in human myenteric plexus in active inflammatory bowel disease. **Gut**. v.48 n.4 p.468-472, 2001.

SAKAMOTO, K.; INUKAI, M.; MORI, A.; NAKAHARA, T. Brilliant Blue G protects against photoreceptor injury in a murine endotoxin-induced uveitis model. **Experimental eye research**, v. 177, p. 45-49, 2018.

SANOVIC, S.; LAMB, D.P.; BLENNERHASSETT, M.G. Damage to the enteric nervous system in experimental colitis. **Am J Pathol**. v.155 n. 4 p.1051-1057, 1999.

SANT'ANA, D. M.; MIRANDA NETO, M.H.; DE SOUZA, R.R.; MOLINARI, S.L. Morphological and quantitative study of the myenteric plexus of the ascending colon of the rat subjected to proteic desnutrition. **Arq neuropsiquiatr**. v.4 n.55 p. 687-695, 1997.

SAVIO, L. E. B.; MELLO, P. A.; SILVA, C. G.; COUTINHO-SILVA, R. The P2X7 receptor in inflammatory diseases: angel or demon? **Frontiers in pharmacology**, v. 9, p. 52, 2018.

SAYEGH, A. I.; RITTER, R. C. Morphology and distribution of nitytic oxide synthase, neurokinin-1 receptor-, calretinin-, Calbindin-, and neurofilament-M- imunorreative neurons in the myenteric and submucosal plexuses of the rat small intestine. **Anat. Rec**. v. 271, p. 209-216, 2003.

SCHNEIDER, J.; JEHLE, E.C.; STARLINGER, M.J.; NEUNLIST, M.; MICHEL, K.; HOPPE, S.; SCHEMANN, M. Neurotransmitter coding of enteric neurones in the submucous plexus is changed in non-inflamed rectum of patients with Crohn's disease. **Neurogastroenterol Motil**. v.13 n.3 p.255-264, 2001.

SHOJI, K.F.; SÁEZ, P.J.; HARCHA, P.A.; AGUILA, H.L.; SÁEZ, J.C. Pannexin1 channels act downstream of P2X 7 receptors in ATP-induced murine T-cell death. **Channels (Austin)**. v.8 n. 2 p. 142-156, 2014.

SIGALET, D. L.; WALLACE, L.; DE HEUVAL, E.; SHARKEY, K. A. The effects of glucagon-like peptide 2 on enteric neurons in intestinal inflammation. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 22, n. 12, p. 1318-e350, 2010.

SMOLILO, D. J.; COSTA, M.; HIBBERD, T. J.; WATTCHOW, D. A.; SPENCER, N. J. Morphological evidence for novel enteric neuronal circuitry in guinea pig distal colon. **Journal of Comparative Neurology**, v. 526, n. 10, p. 1662-1672, 2018.

SOARES, A.; BERALDI, E.J.; FERREIRA, P.E.; BAZOTTE, R.B.; BUTTOW, N.C. Intestinal and neuronal myenteric adaptations in the small intestine induced by a high-fat diet in mice. **BMC Gastroenterol**. V.15 n.3, 2015.

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.

- SPENCER, N. J., WALSH, M., SMITH, T. K. Purinergic and cholinergic neuro-neuronal transmission underlying reflexes activated by mucosal stimulation in the isolated guinea-pig ileum. **The Journal of Physiology**, v. 522, n. 2, p. 321-331, 2000.
- SPELÁGH, B.; VIZI, E.S.; WIRKNER, K.; ILLES, P. P2X7 receptors in the nervous system. **Prog Neurobiol.** n. 78 v. 6 p. 327-346, 2006.
- STERNINI, C. Structural and chemical organization of the myenteric plexus. **Ann. Rev. Physiol.** v 50: 81-93, 1988.
- UESAKA, T.; JAIN, S.; YONEMURA, S.; UCHIYAMA, Y.; MILBRANDT, J.; ENOMOTO, H. Conditional ablation of GFR α 1 in postmigratory enteric neurons triggers unconventional neuronal death in the colon and causes a Hirschsprung's disease phenotype. **Development**, v. 134, n. 11, p. 2171-2181, 2007.
- VALÈS, S.; TOUVRON, M.; VAN LANDEGHEM, L. Enteric glia: Diversity or plasticity? **Brain research**, v. 1693, p. 140-145, 2018.
- VENKATARAMANA, S.; LOURENSSEN, S.; MILLER, K. G.; BLENNERHASSETT, M. G. Early inflammatory damage to intestinal neurons occurs via inducible nitric oxide synthase. **Neurobiology of disease**, v. 75, p. 40-52, 2015.
- 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.
- VOLONTÉ, C.; D'AMBROSI, N. Membrane compartments and purinergic signalling: the purinome, a complex interplay among ligands, degrading enzymes, receptors and transporters. **FEBS J.** n.276 v. 2 p. 318-329, 2009.
- VON BOYEN, G. The role of enteric glia in gut inflammation. **Neuron Glia Biol.** v.21 p.1-6, 2011.
- VULCHANOVA, L.; ARVIDSSON, U.; RIEDL, M.; WANG, J.; BUELL, G.; SURPRENANT, A.; NORTH, R.A.; ELDE, R. Differential distribution of two ATP- gated channels (P2X receptors) determined by immunocytochemistry. **Proc Natl Acad Sci.** v.23;93, n.15 p:8063-8067, 1996.
- ZHANG, W.; SEGURA, B.J.; LIN, T.R.; HU, Y.; MULHOLLAND, M.W. Intercellular calcium waves in cultured enteric glia from neonatal guinea pig. **Glia.** V.42 n.3 p. 252-262, 2003.
- ZHOU, J.; LAI, W.; YANG, W.; PAN, J.; SHEN, H.; CAI, Y.; XIE, X. BLT1 in dendritic cells promotes Th1/Th17 differentiation and its deficiency ameliorates TNBS-induced colitis. **Cellular & molecular immunology**, 2018.
- ZIEGLER, U.; GROSCURTH, P. Morphological features of cell death. **News Physiol. Sci.**, v. 19, p. 124-28, 2004.
- WAN, P.; LIU, X.; XIONG, Y.; REN, Y.; CHEN, J.; LU, N.; BAI, A. Extracellular ATP mediates inflammatory responses in colitis via P2 \times 7 receptor signaling. **Scientific reports**, v. 6, p. 19108, 2016.
- WANG, F.; PENG, P. L.; LIN, X.; CHANG, Y.; LIU, J.; ZHOU, R.; LI, J. Regulatory role of NKG2D+ NK cells in intestinal lamina propria by secreting double-edged Th1 cytokines in ulcerative colitis. **Oncotarget**, v. 8, n. 58, p. 98945, 2017.
- WINSTON, J.H.; LI, Q.; SARNA, S.K. Paradoxical regulation of ChAT and nNOS expression in animal models of Crohn's colitis and ulcerative colitis. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.** v.305 n.4 p.295-302, 2013.
- WOOLF, C.J.; ALLCHORNE, A.; SAFIEH-GARABEDIAN, B.; POOLE, S. Cytokines, nerve growth factor and inflammatory hyperalgesia: The contribution of tumour necrosis factor α . **British Journal of Pharmacology.** V. 121, n. 3 p. 417-424, 1997.
- YANO, K.; HOSOKAWA, K.; HATA, Y. Quantitative morphology of Auerbach's plexus in rat intestinal wall undergoing ischemia. **J. Reconstr. Microsurg.**, v. 13, n.4, p. 297- 301, 1997.

YIANGOU, Y.; FACER, P.; BAECKER, P.A.; FORD, A.P.; KNOWLES, C.H.; CHAN, C.L.; WILLIAMS, N.S.; ANAND, P. ATP-gated ion channel P2X(3) is increased in human inflammatory bowel disease. **Neurogastroenterol Motil.** v.13 n.4 p.365-369, 2001.