

CRISTINA EUSÉBIO MENDES

**ESTUDO DO EFEITO DOS ANTAGONISTAS DO RECEPTOR P2X7 E
PANEXINA-1 NAS CÉLULAS GLIAIS ENTÉRICAS NO PROTOCOLO DE
ISQUEMIA E REPERFUSÃO INTESTINAL**

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

Área de concentração: Ciências Morfofuncionais

Orientadora: Profa. Dra. Patricia Castelucci

Versão Parcial

São Paulo
2017

RESUMO

MENDES, C. E. **Estudo do efeito dos antagonistas do receptor P2X7 e Panexina-1 nas células glias entéricas no protocolo de isquemia e reperfusão intestinal.** 2017. 166 p. Tese (Doutorado em Ciências Morfofuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Evidências recentes indicam uma interação na comunicação glia-neurônio que contribui para a manutenção neuronal e que alterações nessas células (funcionais ou morfológicas) podem exercer um papel nas disfunções gastrintestinais. É sabido que a isquemia e reperfusão intestinal (I/R) são eventos clínicos graves e comuns que desempenham papel fundamental em muitas doenças associadas com elevada taxa de mortalidade e morbidade e podem ocorrer a partir de diferentes fatores fisiopatológicos, que por consequência afetam os neurônios e células glias entéricas. O ATP está envolvido na regulação de diversos processos fisiopatológicos, podendo ser co-liberado com outros neurotransmissores e sua sinalização extracelular pode acontecer via receptores da família P2X e P2Y. O receptor P2X7 tem papel em diversos eventos intracelulares e atua conjuntamente com o canal de Panexina-1. Este projeto visa estudar os efeitos dos antagonistas *Brilliant Blue G* (BBG) e de Probenecida (PB) nas células glias entéricas do íleo de ratos que expressam o receptor P2X7 e Panexina-1 na I/R. Os vasos ileais foram ocluídos por 45 minutos com uma pinça vascular não traumática. Os períodos de reperfusão foram de 24 horas, 14 dias e 28 dias. Após a isquemia, os animais foram tratados com BBG (grupo I/R BBG), PB (I/R PB) ou Salina (I/R Salina). Os resultados de duplas marcações demonstraram que o receptor P2X7 estava presente em células glias entéricas (S100 β) e neurônios (Hu); que houve fenótipos diferentes de células glias entéricas, algumas células são imunorreativas (-IR) somente a S100 β ou somente a GFAP e que, a Panexina-1 estava presente em células glias entéricas (GFAP). As análises de densidade (células/cm²) demonstraram diminuição do número de células-IR ao receptor P2X7, Panexina-1 e Hu no grupo I/R Salina, porém quando feito tratamento com BBG ou PB houve recuperação do número dessas células. Com as células glias entéricas ocorreu aumento do número de células glias (S100 β e GFAP) no grupo I/R Salina, no entanto, com o tratamento houve o reestabelecimento dessas células a parâmetros normais. A área do perfil celular (μm^2) dos neurônios Hu-IR apresentaram aumento no grupo de 28 dias e as células glias S100 β -IR apresentaram comportamento diferente dependendo do período, com 24 h de reperfusão as células glias entéricas apresentaram diminuição da área, no entanto, com 14 dias e 28 dias de reperfusão apresentaram aumento da área. Com análise de microscopia eletrônica de transmissão foi possível visualizar a interação neurônio-glia em todos os grupos estudados. Houve alterações na expressão proteica de P2X7 e Panexina-1 e na atividade contrátil do intestino. Conclui-se que a I/R afetou morfológica e funcionalmente o intestino, e que o uso de BBG e de PB foi eficaz na recuperação de células glias entéricas e neurônios e, que os mesmos podem ser alvos terapêuticos no tratamento de doenças do trato gastrintestinal.

Palavras-chave: Plexo Mioentérico. Íleo. Célula Glial Entérica. *Brilliant Blue G*. Probenecida.

ABSTRACT

MENDES, C. E. **Study of the effect of P2X7receptor and Pannexin-1 antagonists on enteric glial cells in the intestinal ischemia and reperfusion protocol.** 2017. 166 p. Ph. D. thesis (Morphofunctional Sciences) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Recent evidence indicates an interaction in glia-neuron communication that contributes to neuronal maintenance and that changes in these cells (functional or morphological) may play a role in gastrointestinal dysfunctions. It is known that intestinal ischemia and reperfusion (I/R) are serious and common clinical events that play a fundamental role in many diseases associated with a high mortality and morbidity and can occur from different pathophysiological factors, which consequently affect the neurons and enteric glial cells. ATP is involved in the regulation of several pathophysiological processes and can be co-released with others neurotransmitters and its extracellular signaling can occur via P2X and P2Y family receptors. The P2X7 receptor plays a role in several intracellular events and acts with the Pannexin-1 channel. This study aims to study the effects of Brilliant Blue G (BBG) and Probenecid (PB) antagonists on the enteric glial cells of the ileum of rats expressing the P2X7 receptor and Pannexin-1 on I/R. The ileal vessels were occluded for 45 minutes with non-traumatic vascular tweezers. The reperfusion periods were 24 hours, 14 days and 28 days. After ischemia, the animals were treated with BBG (group I/R BBG), PB (I/R PB) or Saline (Saline I/R). The results of double labeling demonstrated that the P2X7 receptor was present in enteric glial cells (S100 β) and neurons (Hu); there were different phenotypes of enteric glial cells, some cells were immunoreactive (-IR) only to S100 β or only GFAP and Pannexin-1 was present in enteric glial cells (GFAP). Density (cell/cm²) analyzes showed a decrease in the number of IR-cells to the P2X7 receptor, Pannexin-1 and Hu in the Salina I/R group, but after treated with BBG or PB there was recovery of the number of these cells. There was an increase in the number of glial cells (S100 β and GFAP) in the Salina I/R group, however, with the treatment there was the reestablishment of these cells. The cell profile area (μm^2) of the Hu-IR neurons showed increase in the group of 28 days and the enteric glial cells S100 β -IR presented different behavior depending on the period, with 24 h reperfusion the enteric glial cells presented decrease of the area, however, with 14 days and 28 days of reperfusion increased area. Scanning electron microscopy analysis showed the neuron-glia interaction in all the studied groups. There were changes in the protein expression of P2X7 receptor and Pannexin-1, and also changes in the contractile activity of the intestine. It is concluded that I/R affected morphologically and functionally the intestine, and that the use of BBG and PB has been effective in the recovery of enteric glial cells and neurons and that they may be therapeutic targets in the treatment of diseases of the gastrointestinal tract

Key words: Myenteric Plexus. Ileum. Enteric Glial Cell. Brilliant Blue G. Probenecid.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Sistema Nervoso Entérico

O sistema nervoso entérico (SNE) é a maior divisão do sistema nervoso autônomo (SNA) e consiste em aproximadamente 100 milhões de neurônios entéricos que são cercados por 1 - 7 vezes o número de células gliais entéricas, dependendo da espécie (GRUBIŠIĆ; GULBRANSEN, 2016; GULBRANSEN, 2014). Os neurônios e as células gliais entéricas são derivados de precursores que se originam na crista neural, migram para o intestino e passam por um longo processo de desenvolvimento e maturação (BURNS; PACHNIS, 2009; GERSHON, 2010).

Portanto, o SNE engloba os circuitos neurais intrínsecos do trato gastrointestinal (TG), que estão organizados em uma vasta rede de gânglios interligada e distribuída em dois plexos, mioentérico e submucoso (Figura 1) (FURNESS, 2006; KABOURIDIS et al., 2015).

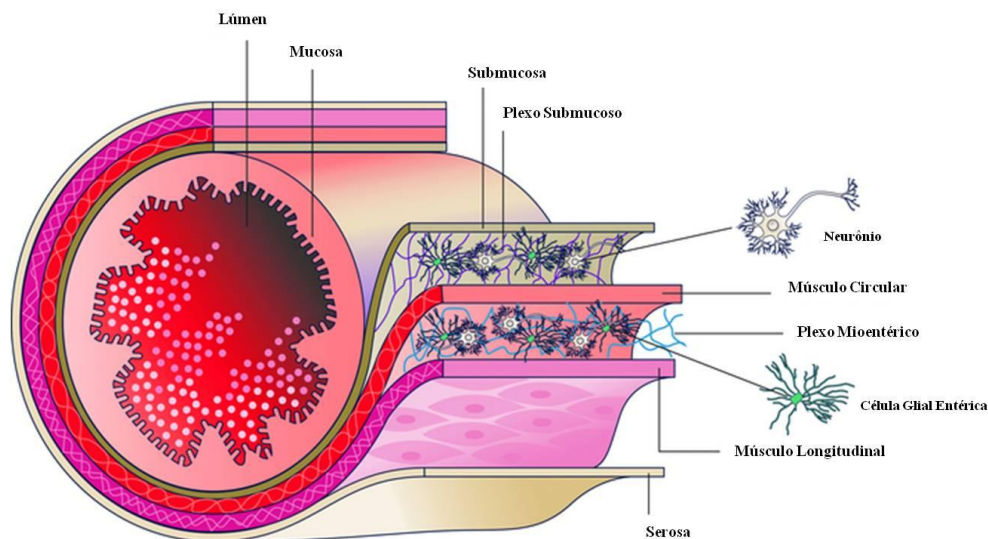
O plexo mioentérico (de Auerbach), localiza-se entre a camada muscular longitudinal externa e a camada do músculo circular, presente por todo trato digestório, do esôfago ao reto (FURNESS, 2006; SISU et al., 2008). Este plexo está envolvido na regulação reflexa das atividades contráteis do músculo circular e longitudinal, justamente por estar mais próxima ao músculo (LOMAX; FURNESS, 2000).

No entanto, 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, 2012; FURNESS, 2006). Tem papel direto no controle de secreção e absorção, através de neurônios motores que regulam a atividade secretomotora e vasomotora da mucosa (LOMAX; FURNESS, 2000; SONG; COSTA; BROOKES, 1998).

Assim, o SNE regula a maioria dos aspectos fisiológicos do TG, tais como peristalse, fornecimento de sangue para a parede do intestino, secreção e constitui uma rede na via neuro-endócrino bi-direcional que ligam o sistema digestório e o cérebro (COLLINS et al., 2014; FURNESS, 2006; KABOURIDIS et al., 2015).

Estes plexos podem sofrer alterações frente a diversos protocolos como: desnutrição/renutrição (CASTELUCCI et al., 2002a; GIROTTI et al., 2013; MISAWA et al., 2010), obesidade (MIZUNO et al. 2014, 2012) e isquemia/reperfusão (MAROSTI et al., 2015; MENDES et al., 2015; PALOMBIT et al., 2013; PAULINO et al., 2011) e inflamação intestinal (DA SILVA et al., 2015).

Figura 1 - Representação esquemática do SNE do intestino delgado.



Fonte: Adaptado de Grubišić, Gulbransen, 2016.

1.2 Células Gliais Entéricas

No SNE as informações sobre as células gliais entéricas precisam ser melhores esclarecidas, os plexos nervosos do trato gastrintestinal são supridos com células gliais entéricas, essas células abrangem diversas populações de células neuroectodermas que são essenciais para a organização e funcionamento do sistema nervoso (GABELLA, 1970; KABOURIDIS et al., 2015; VERKHRATSHY; BUTT, 2007).

As células gliais entéricas são pequenas, apresentam-se com formato de estrela com numerosas ramificações e processos que se misturam com os neurônios e com os feixes de axônios, não sintetizam mielina, possuem uma série de canais iônicos dependentes de voltagem, além disso, expressam receptores de neurotransmissores, tais como purinérgicos, adrenérgicos, receptores metabotrópicos do glutamato e são, portanto, capazes de modular a transmissão sináptica, com isso essas células exibem semelhanças morfológicas e moleculares com os astrócitos do sistema nervoso central (SNC) (CABARROCAS; SAVIDGE; LIBLAU, 2003; CLAIREMBAULT et al., 2014; HAGSTROM; OLSSON, 2010; NASSER et al., 2007; NASSER; HO; SHARKEY, 2006).

Para a identificação das células gliais entéricas utilizam-se frequentemente métodos imunohistoquímicos como a marcação de células que expressam proteína fibrilar ácida glial (GFAP) e/ou proteína ligante de cálcio S100/S100 β . Visto que células gliais entéricas

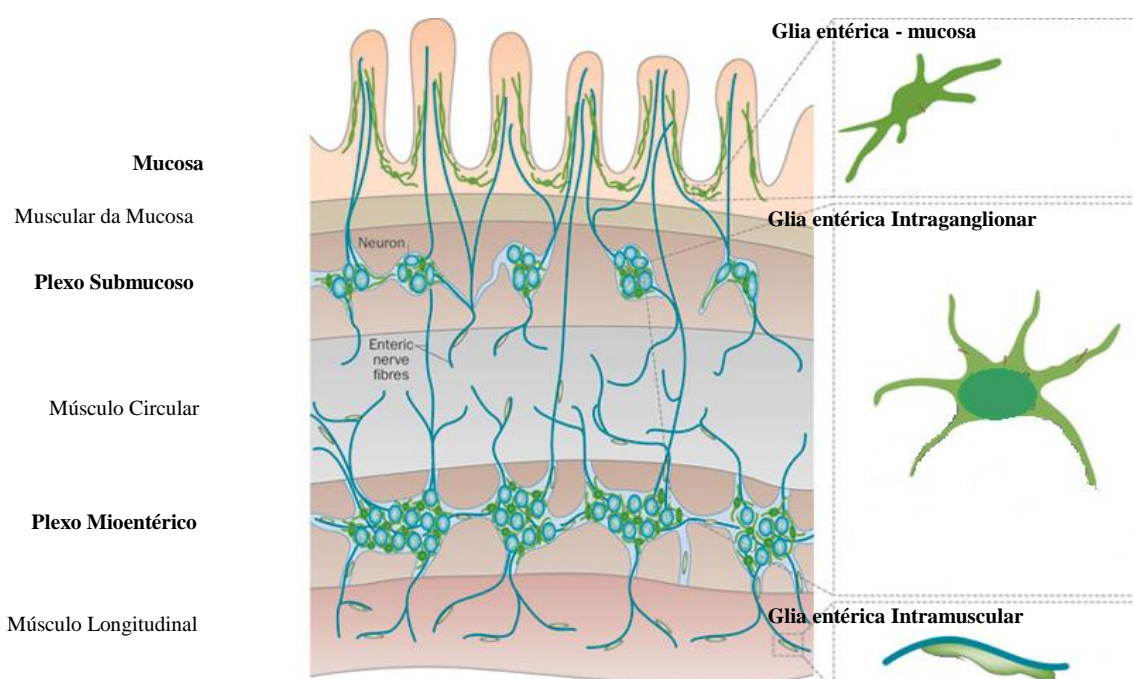
maduras expressam esses tipos de proteína (HAGSTRÖM; OLSSON, 2010; RÜHL; NASSER; SHARKEY, 2004).

A expressão de GFAP é modulada por proliferação de células glias entéricas, diferenciação e inflamação (CIRILLO et al., 2011) e S100 é uma proteína ligante de cálcio que pode ser encontrada no núcleo/citoplasma e têm algumas funções, como a regulação da estrutura e função do citoesqueleto e a homeostase de cálcio no citoplasma das células glias entéricas (GONZALEZ-MARTINEZ et al., 2003; HSIEH et al., 2004; RÜHL, 2005).

Apesar de todas as células glias entéricas terem o indicativo de serem derivadas a partir de uma base comum de células progenitoras da crista-neural, é os microambientes únicos da parede do intestino que irão definir o fenótipo final dessas células. Portanto, as células glias entéricas representam morfologicamente e funcionalmente, subtipos específicos dependendo da sua localização na parede intestinal (DULAC et al., 1991; GULKBRANSEN, SHARKEY, 2012; LARANJEIRA et al., 2009).

Com base nas características morfológicas e localização, as células glias entéricas são subdivididas em: intraganglionares (residem dentro dos gânglios mioentéricos e submucoso), subepiteliais (dentro de feixes intraganglionares, fibras nervosas, abaixo das células epiteliais da mucosa) e intramusculares (associadas com as fibras nervosas intercaladas entre as células do músculo liso) (GULKBRANSEN, SHARKEY, 2012) (Figura 2).

Figura 2 - Populações de células glias entéricas no SNE.



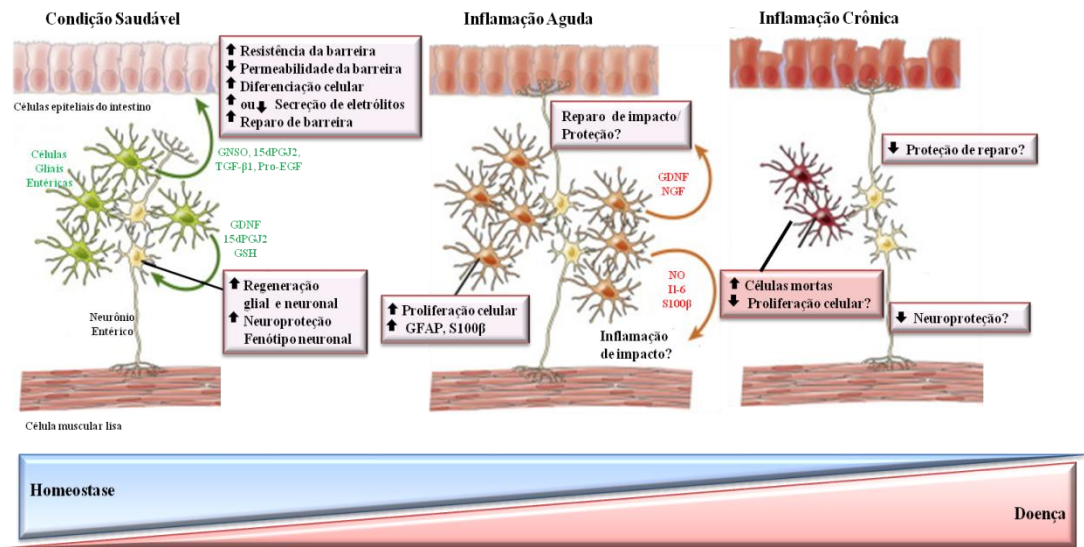
Fonte: Adaptado de Gulkbransen, Sharkey, 2012.

Além de seu papel de suporte e nutrição para os neurônios, as células gliais entéricas regulam a transmissão sináptica (BASSOTTI et al., 2007; CLARKE; BARRES, 2013), medeiam a comunicação entre o sistema nervoso e imunológico (JENSEN; MASSIE; DE KEYSER, 2013), cria um microambiente protetor (RÜHL, 2005; RÜHL; NASSER; SHARKEY, 2004), fazem regulação da barreira intestinal (FLAMANT et al., 2011; SAVIDGE et al., 2007), liberação de mediadores gliais como, glutatona, fator neurotrófico derivado de célula glial (GDNF) (BASSOTTI et al., 2007b; NEUNLIST et al., 2014; RODRIGUES et al., 2011) e homeostase neuronal (BASSOTTI et al., 2007b; RÜHL; NASSER; SHARKEY, 2004).

O déficit de células gliais entéricas estão associadas com desordens degenerativas, inflamatórias, além de desordens no desenvolvimento do sistema nervoso (KABOURIDIS et al., 2015; SKAPER; FACCI; GIUSTI, 2014). No entanto, trabalhos recentes indicam que as células gliais entéricas têm potencial neurogênico e são capazes de gerar neurônios entéricos em resposta a lesões (BOESMANS et al., 2012).

Com este conjunto de "funções" as células gliais entéricas tem papel como regulador central dos processos homeostáticos do intestino que são necessários para o bom funcionamento deste órgão (NEUNLIST et al., 2014) (Figura 3).

Figura 3 - Células gliais entéricas como regulador central dos processos homeostáticos no SNE.



Em condições fisiológicas, as células gliais entéricas regulam várias funções neuronais como a neuroproteção, expressão de neuromediadores, ou renovação neuronal via liberação de diferentes mediadores. Além disso, as células gliais entéricas são reguladores centrais na homeostase da barreira epitelial intestinal através da liberação de gliomediadores específicos (GSNO, 15DPG2, TGF-β1, pro-EGF). Com stress ambientais pode ocorrer gliose entérica reativa (semelhante à astrogliose no cérebro), o que poderia contribuir para o desenvolvimento de inflamação intestinal, mas também concomitantemente na proteção/reparação de lesões neuronais/barreira intestinal. Em situações com morte de células gliais entéricas, pode contribuir para a degeneração neuronal ou disfunções da barreira intestinal, características que são observadas em algumas doenças intestinais ou extra-intestinais crônicas.

Fonte: Adaptado de Neunlist et al., 2014.

1.3 Receptores Purinérgicos

Purinas (adenina, guanina e uridina) podem atuar como moléculas de sinalização na forma dos seus nucleotídeos 5' trifosfato (adenosina trifosfato (ATP), guanosina trifosfato (GTP) e uridina trifosfato (UTP), adenosina difosfato (ADP), adenosina monofosfato (AMP) ou como um nucleosídeo (adenosina) (AGRAWAL; GARTLAND, 2015).

Portanto, a influência exercida pelo sistema purinérgico em funções motoras do TG tem sido observado desde a década de 70. Em 1972, foi proposto que a ATP é liberado pelos neurônios entéricos, comportando-se como um neurotransmissor não adrenérgico e não colinérgico (NANC) envolvido na regulação da motilidade intestinal (ANTONIOLI et al., 2013; BURNSTOCK, 2008).

A ATP está envolvida na regulação de diversos processos fisiológicos e patológicos no meio extracelular (BOURS et al., 2006), sendo reconhecido como um neurotransmissor, pois é sintetizado e armazenado em terminais sinápticos e liberado após estímulo destes terminais

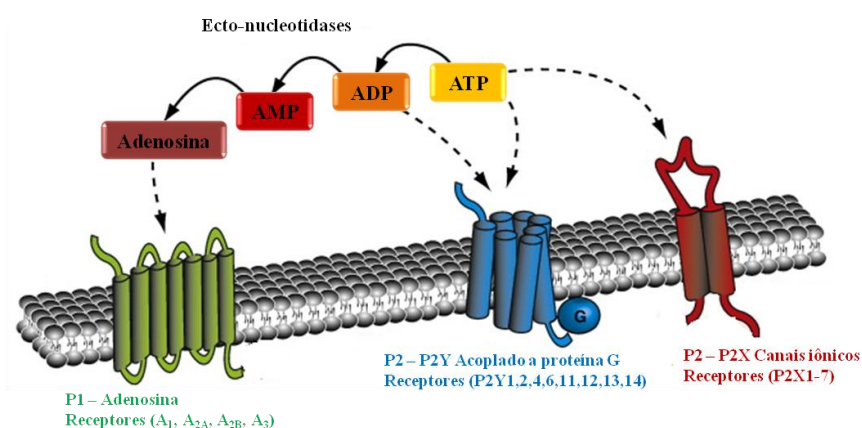
(BURNSTOCK, 2008). Além disso, pode ser co-liberado juntamente com vários neurotransmissores, como a acetilcolina, glutamato, noradrenalina, serotonina e GABA (NORTH; VERKHRATSKY, 2006).

Os nucleosídeos e nucleotídeos derivados de purinas atuam como moléculas sinalizadoras extracelulares em vários tecidos, por meio da ativação dos receptores purinérgicos (BURNSTOCK, 2008; BURNSTOCK; KNIGHT, 2004). Embora o catabolismo extracelular de ATP pela via das ecto-nucleotidases contribua parcialmente para a concentração de nucleotídeos no plexo mioentérico (CORREIA-DE-SÁ et al., 2006), este pode ser importante em diversas situações patológicas como a isquemia intestinal e inflamação, quando os níveis de ATP extracelular estão aumentados (DUARTE-ARAÚJO et al., 2009).

Portanto, os receptores purinérgicos, são uma família de moléculas da membrana plasmática envolvidos em diversas funções celulares como a reatividade vascular, apoptose e secreção de citocinas (MEHTA et al., 2014; VIAL; ROBERTS; EVANS, 2004).

Estes receptores, com base nos seus mecanismos de ativação, são classificados em duas classes, P1 e P2. Tipo de receptor P1 é ativado por adenosina (ADO), enquanto que os receptores de classe P2 são ativados por ADP ou ATP (MEHTA et al., 2014; RALEVIC; BURNSTOCK, 1998) (Figura 4).

Figura 4 - Esquema da arquitetura geral dos receptores P1 e P2.



Fonte: Adaptado de Guan; Osmond; Inscho, 2007.

Os receptores P1 são subdivididos de acordo com suas características moleculares, farmacológicas e bioquímicas em quatro subtipos A₁, A_{2A}, A_{2B} e A₃. Os receptores A₁ são

abundantemente expressos no plexo mioentérico do trato gastrointestinal e têm um papel importante sobre o controle da motilidade (CHRISTOFI et al., 2001).

Os receptores P2 subdividem-se em receptores P2X que são canais iônicos e P2Y que são receptores acoplados a proteína G (ABBRACCHIO et al., 2009; FREDHOLM et al., 1997; RALEVIC; BURNSTOCK, 1998).

Os receptores P2Y são compostos por sete domínios hidrofóbicos transmembranares, com cadeias amino-terminal (extracelular) e carboxi-terminal (intracelular) curtas. Na família dos receptores P2Y existem 8 subtipos diferentes (P2Y1, 2, 4, 6, 11, 12, 13, 14), que são aceitos na literatura como P2Y funcionalmente expressos em mamíferos (ABBRACCHIO et al., 2003; BURNSTOCK; KNIGHT, 2004; GITTERMAN; EVANS, 2000; MARTEU et al., 2003).

Os receptores P2X são receptores ionotrópicos, seletivos para cátions nonovalentes e divalentes (Na^+ , K^+ e Ca^{2+}) cuja velocidade de abertura dos canais é de aproximadamente 10 ms (NORTH, 2002; NORTH; SURPRENANT, 2000), possuem duas regiões transmembranais, com terminais amino e carboxi localizados intracelular, sendo que a maior porção da proteína é extracelular (DI VIRGILIO et al., 1998).

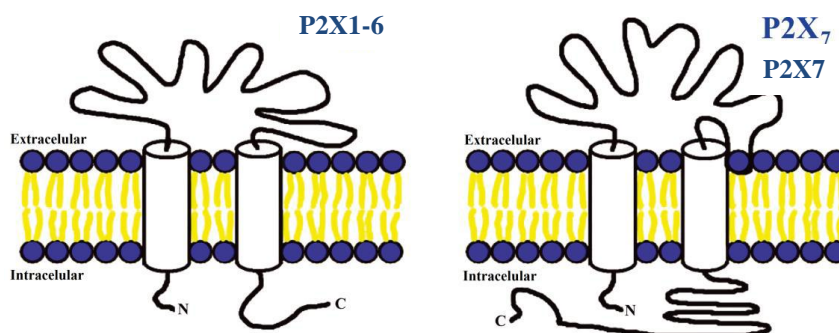
Atualmente foram clonados, caracterizados farmacologicamente e aceitos como válidos sete tipos diferentes na família dos receptores P2X (P2X1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Os receptores P2X são encontrados em células musculares lisas, neurônios, células gliais e apresentam um papel de mediador na neurotransmissão excitatória rápida nos SNC e sistema nervoso periférico (SNP) (ABBRACCHIO et al., 2009; COLLO et al., 1996; RALEVIC; BURNSTOCK, 1998).

A unidade funcional do receptor P2X, assim como outros canais iônicos, é uma proteína oligomérica composta por mais de uma subunidade. Evidências funcionais e bioquímicas mostram que as subunidades dos receptores P2X podem formar complexos monoméricos e heteroméricos, como P2X2/P2X3, P2X1/P2X5 e P2X4/P2X6 (NORTH; SURPRENANT, 2000) e a combinação dos diferentes subtipos de receptores podem ter diferentes características dos receptores e aumentar a diversidade para a seletividade com os antagonistas e agonistas, transmissão de sinalização, propriedades dos canais e dessensibilização (VOLONTÉ; D'AMBROSI, 2009).

1.3.1 Receptor P2X7

O receptor P2X7 é codificado pelo gene P2RX7 que pertence à família de receptores P2X (BARTLETT; STOKE; SLUYTER, 2014; CODDOU et al., 2011). Da família P2X, a subunidade monomérica P2X7 é o maior, com um comprimento de 595 aminoácidos (BARTLETT; STOKE; SLUYTER, 2014). Cada subunidade é caracterizado por terminais amino relativamente curto e carboxi longo localizados intracelular, bem como dois segmentos que atravessam a membrana hidrofóbica (domínios transmembranares) separadas por um longo domínio extracelular glicosilado de ligação a ATP (BARTLETT; STOKE; SLUYTER, 2014) (Figura 5).

Figura 5 - Esquema da arquitetura geral das subunidades dos receptores P2X e P2X7.



Fonte: Di Virgilio et al., 1998.

Este receptor está amplamente distribuído por todo o corpo de um mamífero, originalmente foi pensado em estar presente somente em células das linhagens hematopoiéticas, no entanto, o receptor P2X7 está expresso em todo o intestino e em uma variedade de tipos de tecidos, incluindo células epiteliais, mastócitos, macrófagos, linfócitos, osteoblastos, fibroblastos, além de células do SNC e SNP (BARTLETT; STOKE; SLUYTER, 2014; BURNSTOCK; KNIGHT, 2004; CESARO et al., 2010; IDZKO; FERRARI; ELTZSCHIG, 2014; KUHN et al., 2014; RALEVIC; BURNSTOCK, 1998; SHOJI et al., 2014; SPERLÁGH et al., 2006;).

O receptor P2X7 também é expresso em gânglios entéricos de roedores, onde se verificou sua presença tanto em neurônios como em células gliais entéricas (CESARO et al., 2010; DA SILVA et al., 2015; DE CAMPOS et al., 2012; GULBRANSEN et al., 2012; PALOMBIT et al., 2013; VANDERWINDEN; TIMMERMANS; SCHIFFMANN, 2003). E foi demonstrado estar envolvido em processos fisiológicos e patológicos através da regulação

da proliferação celular, apoptose, respostas inflamatórias e tumorigênese (COUTINHO-SILVA et al., 1999; DI VIRGILIO, 2007; MAYO et al., 2008; WANG et al., 2015).

Portanto, sabe-se que este participa na regulação da permeabilidade celular, liberação de citocinas, apoptose, geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e formação de fagossomos, (BARTLETT; STOKE; SLUYTER, 2014; COUTINHO-SILVA et al., 1999; SCHULZE-LOHOFF et al., 1998).

A ativação do receptor homomérico requer concentrações de ATP que são mais ou menos de 10-100 vezes maiores do que as necessárias para ativar os outros receptores P2X, sua ativação plena é atingida em concentrações de ordem milimolar de ATP (KIM et al., 2001; VERKHRATSKY; KRISHTAL et al., 2009). Baixas concentrações de ATP ativam os canais iônicos do receptor P2X7 para tornar-se permeável aos íons de pequeno porte, enquanto que, quando exposto a altas concentrações de ATP ou durante um longo período, pode ter seu canal iônico convertido em um grande poro transmembrana não-seletivo que permite a passagem não só de cátions, mas também de moléculas pequenas de até 900 daltons de tamanho que em última análise, causa a morte celular (BURNSTOCK et al., 2008; STAGG; SMYTH, 2010).

Apesar do receptor P2X7 possuir a mais baixa afinidade para o ATP (>100 μM) de entre todos os receptores P2X identificados (JARVIS; KHAKH, 2009), este pode ser ativado por níveis elevados do nucleotídeo durante estímulos nervosos de elevada intensidade ou em situações patológicas, tais como durante fenômenos de isquemia/ reperfusão ou situações de inflamação, sem apresentar dessensibilização significativa. Outra particularidade do receptor P2X7 é a sua inibição relativa na presença de cations divalentes (Ca^{2+}) no meio extracelular (JIANG, 2009; VIRGINIO et al., 1997; YAN et al., 2011).

O receptor P2X7 possui o terminal intracelular carboxi mais longo da sua classe o que permite a sua oligomerização com outros receptores, a translocação rápida do receptor para a membrana plasmática e a interação funcional com proteínas intervenientes em diversas cascatas de sinalização intracelular (fosfolipases, RhoA/ROCK) e com o citoesqueleto de actina envolvido em fenômenos de plasticidade membranar e formação de poros (ALLOISIO et al., 2010; NORTH, 2002; ROGER et al., 2010).

Em condições basais, a ativação do receptor P2X7 favorece a abertura do canal iônico permeável a cátions (Ca^{2+} , K^+ , Na^+) (ROGER et al., 2010). No entanto, a ativação prolongada do receptor P2X7 promove a oligomerização de vários receptores P2X7 e, conseqüentemente, a abertura de poros permeáveis a moléculas com peso molecular inferior a 900 daltons na membrana plasmática (ALLOISIO et al., 2010). Alguns autores sugerem que a abertura de

poros na membrana plasmática depende da associação do receptor P2X7 com canais de panexina-1 (PELEGRIN; SUPERNANT, 2006; POORNIMA et al., 2012), embora exista alguma controvérsia na literatura sobre este assunto, já que em determinadas circunstâncias o bloqueio do canal de panexina-1 não preveniu a formação de poros na membrana plasmática (SPERLÁGH et al., 2014).

1.3.2 Antagonistas do Receptor P2X7

Estudos sugerem que o receptor P2X7 pode desempenhar papéis importantes em uma série de doenças inflamatórias, imunes, neurológicas ou perturbações musculoesqueléticas (BARTLETT; STOKE; SLUYTER, 2014). Dada à importância deste receptor tanto na saúde como na doença, estudos têm sido realizados para caracterizar e compreender melhor as funções deste receptor; assim auxiliar na geração de antagonistas seletivos e com isso obter um efeito terapêutico deste composto.

Vários antagonistas do receptor P2X7 têm sido identificados a fim de avaliar as funções deste receptor. Recentemente, foi publicado um estudo com a caracterização completa de um antagonista do receptor P2X7, AZ11645373, que mostrou alta afinidade pelo receptor de humanos, porém apresentou baixa afinidade por receptores de ratos (STOKES et al., 2006; VOLONTÉ et al., 2012). Outros antagonistas seletivos de P2X7 e com afinidade comparável em humanos, ratos e camundongos têm sido desenvolvidos e caracterizados (CARROLL et al., 2007; DONNELLY-ROBERTS et al., 2007).

No seguimento da identificação de antagonistas para o receptor P2X7 modificações estruturais destes compostos foram feitas na tentativa de melhorar suas propriedades e especificidade (BARTLETT; STOKE; SLUYTER, 2014).

O *Brilliant Blue G* (BBG) é um corante trifenilmetano (índice de cor 42655), com a fórmula $C_{47}H_{48}N_3NaO_7S_2$ e peso molecular de 854 g/mol; também conhecido como ácido azul 90 e Coomassie Azul (ENANDA et al., 2006; NOTOMI et al., 2011). É amplamente utilizado como corante alimentar e não é considerado tóxico (BORZELLECA; DEPUKAT; HALLAGAN, 1990; SOOYEON; BRUCE, 2011). No campo biológico é utilizado para coloração de proteínas. Apesar de não existirem relatórios sobre o uso médico deste corante, há uma longa história de uso biológico no qual nenhuma toxicidade aparente tem sido relatada (ENANDA et al., 2006).

Estudos mostram que BBG é o antagonista mais seletivo e potente, com seletividade de 30-50 vezes maior para o receptor P2X7 de ratos versus humano (JIANG; MACKENZIE;

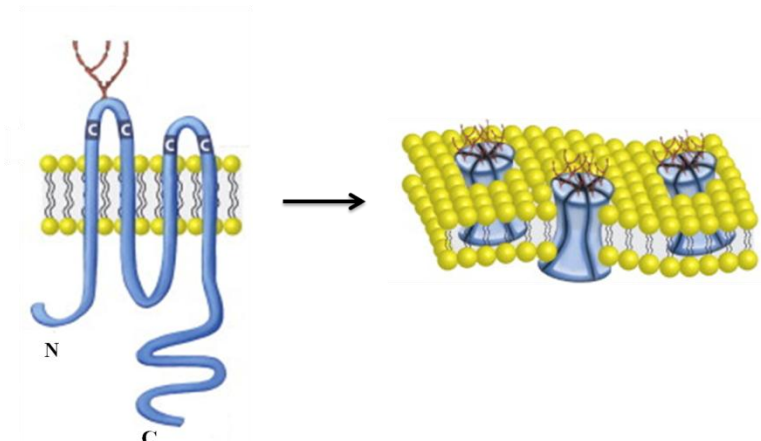
NORTH, 2000). A baixa toxicidade (REMY et al., 2008) e a alta seletividade do BBG (JIANG; MACKENZIE; NORTH, 2000) fazem desse composto um candidato ideal para bloquear o efeito adverso da ativação do receptor P2X7. Com este contexto, tem sido reconhecido como um potente agente farmacológico, particularmente no tratamento de condições que envolvam a morte neuronal (SOOYEON; BRUCE, 2011).

Trabalhos recentes têm demonstrado que a administração *in vivo* de BBG protege contra a perda neuronal em modelo de doença de Alzheimer (RYU; MCLARNON, 2008); atenua a apoptose neuronal e déficits motores em modelo de doença de Huntington em camundongo (DÍAZ-HERNÁNDEZ et al., 2009) e aumenta a taxa de sobrevivência de neurônios e reduz a morte celular por apoptose na área CA1 do hipocampo após isquemia/reperfusão em ratos (YU et al., 2013). Estudos de lesão da medula espinal mostraram que administração de BBG melhorou a recuperação e reduziu a resposta inflamatória local em ratos (MARCILLO et al., 2012; PENG et al., 2009). Resultados do laboratório com isquemia e reperfusão intestinal tem demonstrado que o uso do BBG protege os neurônios entéricos (PALOMBIT, 2014).

1.4 Canal de Panexina-1

Panexina é uma família de proteínas de membrana (panexina-1, -2 e -3) que são expressas tanto em vertebrados como em invertebrados, têm uma homologia sequencial em torno de 20% com as inexas que formam junções de hiato (gap junctions) nos invertebrados e possui uma semelhança estrutural notável com as conexinas, no entanto, não compartilham com estas qualquer homologia sequencial e não formam junções de hiato (D'HONDT et al., 2009; MAKARENKOVA; SHESTOPALOV, 2014; PANCHIN et al., 2000). Estruturalmente é constituída de um domínio amino-terminal, quatro domínios transmembranares com duas alças extracelulares e um domínio citosólico carboxilo-terminal (BOASSA et al., 2007; PENUELA et al., 2007; VELASQUEZ; EUGENIN, 2014). Experiências de metagênese dirigida ao local demonstraram que quatro resíduos de cisteína extracelulares conservados são necessários para a formação de canais de panexina-1 funcionais (BONDS, NAUS, 2014) (Figura 6).

Figura 6 - Esquema da arquitetura geral do canal de Panexina -1.



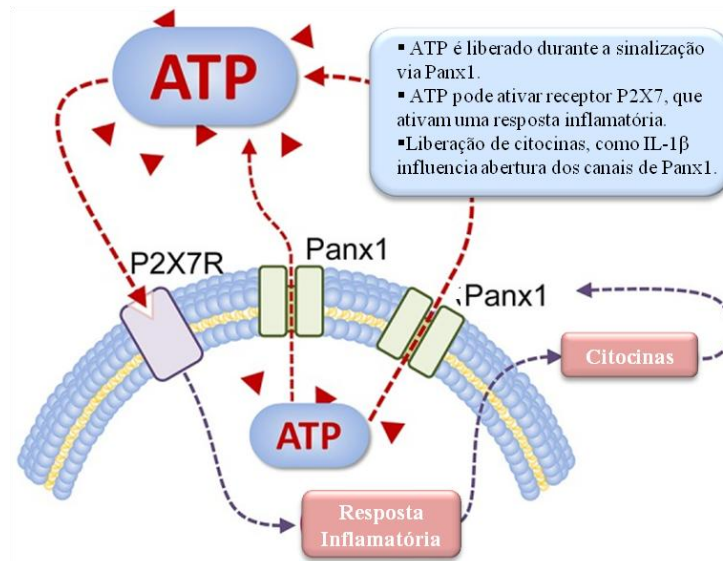
Fonte: Adaptado de Penuela et al., 2013.

Os canais de panexina-1 são não-seletivos e formam grandes poros na membrana plasmática (D'HONDT et al., 2009; VELASQUEZ; EUGENIN, 2014; YANG et al., 2015). Esses poros são abertos com estímulos de despolarização da membrana, quando há mudança na sinalização (concentração) de Ca^{2+} intracelular, vasodilatação, vasoconstricção, diferenciação celular, morte celular e durante respostas imunes inatas e adaptativas (CHEKENI et al., 2010; MacVICAR; THOMPSON, 2010; PROCHNOW et al., 2012; VELASQUEZ; EUGENIN, 2014).

Com a abertura dos canais de panexina, moléculas são liberadas para o meio extracelular como ATP e outros metabolitos que são importantes para a comunicação celular e sinalização autócrina/parácrina (CHEKEMI et al., 2010; JIANG; PEÑUELA, 2016; PEÑUELA et al., 2007; PEÑUELA et al., 2009; VELASQUEZ; EUGENIN, 2014).

É sabido que danos nos tecidos (por lesão ou por patologia) provoca a liberação de ATP, resultando em uma interação de sinalização entre receptores purinérgicos e canais de panexina-1, dando início a um processo inflamatório (BOURS et al., 2006; KANNEGANTI et al., 2006; MARIATHASAN et al., 2006) (Figura 7).

Figura 7 - Esquema de liberação e ação do ATP.

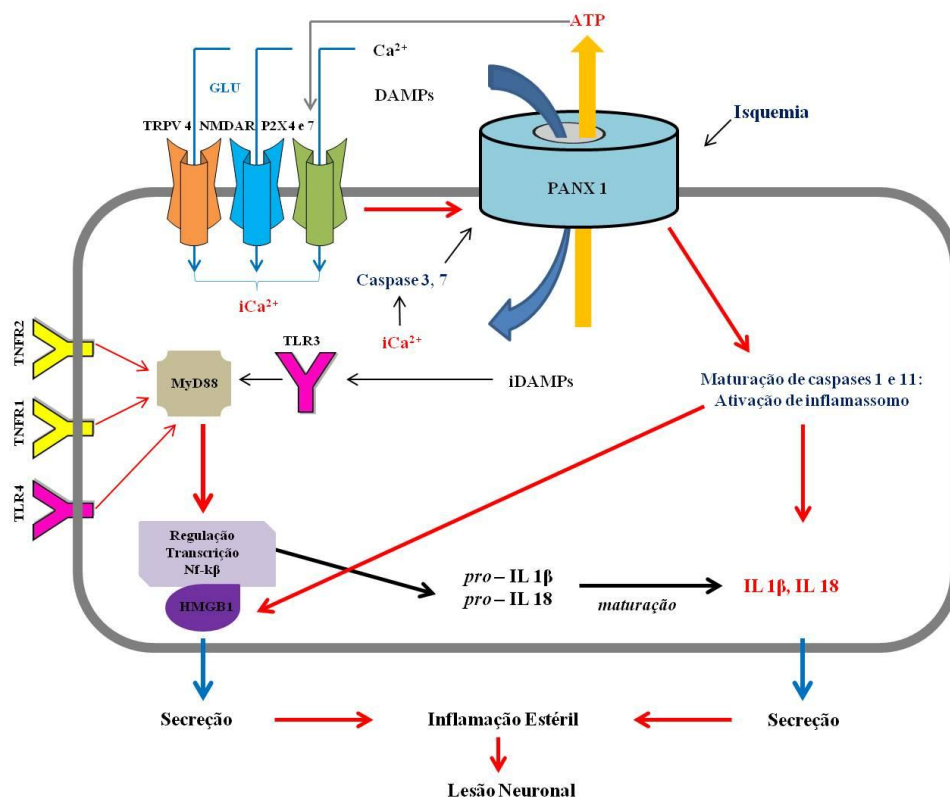


Fonte: adaptado de Diezmos; Bertrand; Liu, 2016.

Kawamura, Ruskin, Masino (2010) demonstraram essa relação entre panexina e receptores purinérgicos. O papel do canal de panexina-1 para a excitabilidade neuronal é mediada pela liberação de ATP e ativação dos receptores P2X. A associação do receptor P2X7 e panexina-1 constitui a base para a dilatação do poro do receptor P2X7 e aumento da permeabilidade da membrana (PELEGRIN; SUPERNANT, 2006; POORNIMA et al., 2012). É também conhecido que canais de panexina-1 medeia à liberação de ATP que estimula ação autócrina e parácrina do receptor P2X7 e promove o processo de ativação das citocinas pro-inflamatórias (ROMANOV et al. 2012). Há evidências que mostram uma relação entre panexina-1, ativação do receptor P2X7, processos de morte celular e ativação de inflamossomo, (complexo de proteínas: caspase-1, citocinas pro-inflamatórias, como Interleucina - 1 β (IL-1 β), e IL-18) (LOCOVEI et al., 2007; PELEGRIN; SUPERNANT, 2006; SILVERMAN et al., 2009) (Figura 8).

Gulbransen et al. (2012) demonstraram a colocalização de panexina-1 e do receptor P2X7 nos neurônios entéricos no cólon de camundongos, eles demonstraram que na colite experimental, a inflamação provoca a morte dos neurônios mioentéricos, ativando o receptor P2X7 e canais de panexina-1.

Figura 8 - Esquema de sinalização mediada por receptores de superfície e Panexina-1 em resposta a isquemia (retina).



Glu: glutamato; Damps: padrões moleculares associados a risco; iCa^{2+} : cálcio intracelular livre; TRPV: receptor de potencial transiente vanilóide; NMDAR: N-metil-D-aspartato; P2X: receptor purinérgico; TLR: receptor tipo Toll; TNFR: receptor do fator de necrose tumoral; HMGB1: proteína de alta mobilidade grupo tipo B1; NF-KB: fator nuclear-kappa B; IL: interleucinas.

Fonte: Adaptado de Shestapalov; Slepak, 2014.

Portanto, os canais de panexina-1 são amplamente expressos em vários tipos de células, e sugere-se que a inibição destes canais podem trazer benefícios terapêuticos em determinados contextos patofisiológicos, tais como asma, hipertensão, convulsões induzidas e isquemia (CHIU et al., 2014).

Alguns estudos têm realizado a inibição dos canais de panexina -1 com probenecida, que é considerado um inibidor dos transportadores de íons orgânicos, que tem sido utilizado como fármaco uricosúricos e vêm sendo sugerido para suprimir a inflamação inibindo a ativação de canais de panexina-1 (DAHL; KEANE, 2012; XIONG et al., 2014). O mesmo é considerado um potente inibidor específico dos canais de panexina-1 afetando a função de liberação de ATP (XIONG et al., 2014) e reduzindo a sobrecarga de Ca^{2+} (WEI et al., 2015).

Neste contexto, os mecanismos capazes de liberar ATP (canais de panexina-1), as enzimas responsáveis pelo catabolismo extracelular do ATP e os seus receptores específicos, que no seu conjunto podem ser designado por “purinoma”, parece desempenharem funções

muito relevantes na sinalização celular em diversas situações patológicas, como na isquemia/reperfusão e nos processos inflamatórios, passíveis de serem candidatos ao desenvolvimento de terapias inovadoras (ADAMON; LEITINGER 2014).

1.5 Isquemia e Reperfusão Intestinal (I/R)

A isquemia é uma condição de interrupção no suprimento de oxigênio e nutrientes para uma determinada área durante um período, devido a uma deficiência de fornecimento de sangue (SANTOS; PONTES; GOMES, 2006). A isquemia é ocasionada pela diminuição da luz de artérias, arteríolas ou capilares. Quando instalada, induz alterações do metabolismo celular que reduzem reservas energéticas, causam acúmulo de metabólitos tóxicos e eventualmente causando morte celular (CERQUEIRA; HUSSNI; YOSHIDA, 2005; SCARABELLI et al., 2002).

A isquemia intestinal é uma emergência abdominal com risco de vida, e seu prognóstico depende crucialmente de um diagnóstico e tratamento rápido para prevenir um enfarte substancial do intestino. A taxa de mortalidade manteve-se elevada ao longo da última década variando entre 60%-80% e as incidências vêm aumentando consideravelmente (VOLLMAR; MENGER, 2011). Isquemia e reperfusão desempenham um papel fundamental em muitas doenças associadas com elevada taxa de mortalidade e de morbidade, tais como transplante, trombose mesentérica aguda venosa ou arterial, embolismo e obstrução intestinal (HAGLUND; BERGQVIST, 1999; MASSBERG; MESSMER, 1998; SOYDAN et al., 2009). Contudo, I/R de vasos intestinais são recorrentes em pacientes hospitalizados, especialmente aqueles que estão nas unidades de terapias intensivas (OLDENBURG et al., 2004). O distúrbio intestinal desses pacientes se associa a um maior tempo de internação (MYTHEN, 2005).

A isquemia aguda representa o primeiro nível de dano, por causa da diminuição dos níveis de oxigênio nos tecidos que provoca um acúmulo de lactato e com isso leva a uma diminuição do pH celular. Com transporte da membrana celular prejudicado, causa influxo de Ca^{2+} para o meio intracelular, que provoca ativação de enzimas e acúmulo de mediadores pró-inflamatórios (MARRETA et al., 2012). Outros mecanismos podem ocorrer e sujeitar o intestino a um aumento de estresse oxidativo, com ativação subsequente de ROS e espécie reativa de nitrogênio (RNS) (CAMPOLO et al., 2013).

Os resultados da isquemia estão associados às alterações morfológicas e funcionais derivadas da necrose tecidual. Nas últimas décadas têm-se estudado também os aspectos de

morte celular programada. As alterações provocadas pela falta de suprimento sanguíneo desencadeiam processos metabólicos celulares que induzem a célula a sua autodestruição sem a característica reação inflamatória, conhecido como fenômeno de apoptose. Portanto, a necrose e apoptose celular podem ser utilizadas como indicadores das alterações de tecidos submetidos à isquemia (HENGARTNER, 2000; JONES; GORES, 1997; LOCKSHIN; ZACHERI, 2002).

O período de reperfusão que é o restabelecimento do fluxo sanguíneo é, na realidade, tão ou mais deletério que o período isquêmico, pois causa a geração e liberação para a circulação portal e sistêmica de uma série de mediadores químicos como por exemplo, TNF- α , interleucinas (ILs) 1, 6 e 10 e o óxido nítrico (NO) que afetam o metabolismo localmente, no intestino e em órgãos distantes (CARAMELO et al., 1996; CORNEJO et al., 2002; GARCIA-CRIADO et al., 1998; HARWARD et al., 1993).

Alguns estudos vêm demonstrando quão agressivo é o processo de reperfusão. Rivera et al. (2012) observaram em camundongos *knockout* para a NOS que após a I/R, danos na mucosa e músculo foram mais severos. Nas primeiras 24 horas há maior infiltração de neurófilos; dados imunohistoquímicos mostram perda significativa da proteína contrátil, α -actina e a parte funcional demonstra uma redução da atividade contrátil basal do músculo longitudinal e das respostas contráteis a estimulação dos nervos ou com um agonista muscarínico.

A ativação de receptores purinérgicos como o P2X7 por ATP exógeno pode ser outro mecanismo de estímulo para a morte celular. Em determinadas células, o ATP pode induzir a formação de poros na membrana plasmática, por ativação do receptor P2X7, levando a um aumento de íons dentro da célula, com desencadeamento de necrose e/ou apoptose e conseqüentemente morte celular (PROSKURYAKOV; KONOPLYANNIKOV; GABAI, 2003). Dados indicam o envolvimento deste receptor na regulação de diversas funções neurais, como a modulação de liberação de neurotransmissores e a ativação da microglia e astrogliia. Além disso, há indícios que o receptor P2X7 possa ter um potencial terapêutico em locais de desordens no sistema nervoso, como na I/R, na doença de Alzheimer e na dor neuropática (SPERLÁGH et al., 2006; SPERLÁGH; KOFALVI; DEUCHARS, 2002). Resultados do grupo têm demonstrado diminuição dos neurônios entéricos e alterações na expressão dos receptores P2X2 e P2X7 no protocolo de I/R (MAROSTI, et al., 2015; PALOMBIT et al., 2013; PAULINO et al., 2011). Palombit (2014) tem demonstrado que o uso do antagonista BBG protege os neurônios entéricos na isquemia e reperfusão.

Os autores Gulbransen e Sharkey (2012) propuseram que as purinas são os mediadores de comunicação neurônio-glia no SNE, e que a ativação dos neurônios entéricos provoca liberação de ATP e posterior ativação de receptores P2 em vários protocolos experimentais, evidências sugerem que as células glias entéricas respondem a liberação de ATP a partir de nervos entéricos de populações distintas e em circunstâncias específicas de comunicação neurônio-glia.

Alguns estudos demonstram que as células glias entéricas respondem a estímulos exógenos pró-inflamatórios e a mediadores liberados por células do sistema imunológico, através da liberação de citocinas pró-inflamatórias, tais como a IL-6. Von Boyen et al. (2004) demonstraram que sob influência de citocinas pró-inflamatórias, células glias entéricas que não são imunorreativas a GFAP podem se tornar GFAP positivas. O aumento da expressão de GFAP por células glias é também observado em tecidos coletados de pacientes portadores de colite ulcerativa e doença de Crohn. Estes dados sugerem que as células glias entéricas, participam ativamente do surgimento e desenvolvimento de inflamações intestinais (CIRILLO et al., 2011; VON BOYEN; STEINKAMP, 2011).

Bush et al. (1998), utilizaram camundongos adultos transgênicos para depletar as células imunorreativas a GFAP, com o objetivo de avaliar a importância das mesmas na fisiologia intestinal e, observaram que em 2 semanas, todos os animais morreram devido a um quadro de jejunoileíte fulminante. Esse quadro foi independente de processos infecciosos, sendo o mesmo caracterizado por degeneração de neurônios mioentéricos e hemorragia intestinal. Esses dados confirmam o papel das células glias entéricas como mantenedora da integridade intestinal.

Mendes et al. (2015) tem demonstrado no protocolo de I/R que há um aumento no número de glias entéricas positivas a S100 β , diminuição de neurônios e diminuição na motilidade intestinal nos grupos isquêmicos quando comparados ao grupos sham. Em outro trabalho, Mendes (2013) demonstra que há duas populações distintas de glias entéricas, as imunorreativas a S100 β e a GFAP, que no protocolo de I/R apresentam comportamento distintos. A densidade de células glias entéricas imunorreativas a S100 β apresenta um aumento significativo em tempos mais longos de reperfusão (14 dias), no entanto, as células glias entéricas imunorreativas a GFAP apresentam um aumento significativo nos grupos isquêmicos tanto em períodos considerados curtos (0 h e 24 h), como em período mais longo (14 dias).

1.6 Justificativa do Trabalho

Com base neste contexto, é mostrado que o modelo experimental de isquemia e reperfusão tem sua importância clínica, visto que há taxa de mortalidade de pacientes hospitalizados em enfermarias e em unidades de terapia intensiva que sofrem de comprometimento intestinal é alta. Além disso, o entendimento do papel da glia entérica neste processo, bem como esclarecimentos das interações do receptor P2X7/Panexina-1 com o uso dos antagonistas BBG e Probenecida poderiam vir a ser de extrema importância no desenvolvimento de fármacos e de estratégias terapêuticas para os transtornos gastrintestinais causados pela isquemia e reperfusão intestinal.

6 CONCLUSÕES

Com base nos objetivos estabelecidos, a metodologia empregada e os resultados obtidos, conclui-se que:

1. O receptor purinérgico P2X7 foi identificado em neurônios e em células gliais entéricas em todos os grupos estudados e foram afetados pela I/R;
2. A panexina-1 foi identificada em células gliais entéricas e em neurônios em todos os grupos estudados;
3. As células gliais entéricas apresentaram fenótipos diferentes, ou seja, existe uma população que é imunorreativa só a S100 β , outras só a GFAP e outra que é S100 β e GFAP;
4. A manipulação visceral acarretou como consequência alterações na densidade, o que pode ser observado no grupo Sham.
5. O uso dos antagonistas BBG e PB demonstraram ser eficientes na recuperação dos neurônios e células gliais entéricas na I/R e na motilidade; no entanto, o PB não recuperou as células gliais entéricas S100 β -IR.
6. O uso do fluorocitrato demonstrou que a célula glial entérica tem participação na motilidade intestinal.
7. A isquemia com diferentes períodos de reperfusão tem demonstrado ser um modelo experimental importante para o estudo do SNE, sendo que esta pode provocar alterações na densidade, morfologia tanto de neurônios como de células gliais entéricas e também causa alterações funcionais.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS*

- ABBRACCHIO, M. P.; BURNSTOCK, G.; VERKHRATSKY, A.; ZIMMERMANN, H. Purinergic signalling in the nervous system: an overview. **Trends Neurosci.**, v. 32, n. 1, p. 19-29, 2009.
- ABBRACCHIO, M. P.; BOEYNAEMS, J. M.; BARNARD, E. A.; BOYER, J. L.; KENNEDY, C.; MIRAS-PORTUGAL, M. T.; KING, B. F.; GACHET, C.; JACOBSON, K. A.; WEISMAN, G. A.; BURNSTOCK, G. Characterization of the UDP-glucose receptor (re-named here the P2Y₁₄ receptor) adds diversity to the P2Y receptor family¹. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 24, n. 2, p. 52-55, 2003.
- ABDO, H.; DERKINDEREN, P.; GOMES, P.; CHEVALIER, J.; AUBERT, P.; MASSON, D.; GALMICHE, J. P.; VANDEN BERGHE, P.; NEUNLIST, M.; LARDEUX, B. Enteric glial cells protect neurons from oxidative stress in part via reduced glutathione. **FASEB J.**, v. 24, p. 1082–1094, 2010.
- ABDO, H.; MAHE, M. M.; DERKINDEREN, P.; BACH-NGOHO, K.; NEUNLIST, M.; LARDEUX, B. The omega-6 fatty acid derivative 15-deoxy- $\delta(1)(2),(1)(4)$ -prostaglandin J₂ is involved in neuroprotection by enteric glial cells against oxidative stress. **J Physiol.**, v. 590, p. 2739–2750, 2012.
- ACOSTA, S.; ÖGREN, M.; STERNBY, N.H.; BERGQVIST, D.; BJÖRCK, M. Incidence of acute thrombo-embolic occlusion of the superior mesenteric artery – a population-based study. **Eur J Vasc Endovasc Surg.**, v. 27, p.145–150, 2004.
- ADAMSON, S. E.; LEITINGER, N. The role of pannexin1 in the induction and resolution of inflammation. **FEBS Lett.**, v. 588 n.8, p. 1416 – 1422, 2014.
- AGRAWAL, A.; GARTLAND, A. P2X₇ receptors: role in bone cell formation and function. **J. Mol. Endocrinol.**, v. 54, n.2, p.R75-88, 2015.
- ALLOISIO, S.; DI GARBO, A.; BARBIERI, R.; BOZZO, L.; FERRONI, S.; NOBILE, M. Evidence for two conductive pathways in P2X receptor: differences in modulation and selectivity. **J Neurochem.**, v. 113, p. 796-806, 2010.
- 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.**, v. 139, n. 2, p. 157-188, 2013.
- ANUP, R.; SUSAMA, P.; BALASUBRAMA, K. A. Role of xanthine oxidase in small bowel mucosal dysfunction after surgical stress. **British Journal of Surgery**, v. 87, p. 1094-1101, 2000.

* De acordo com:

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

ARULKUMARAN, N.; UNWIN, R. J.; TAM, F. W. A Potential therapeutic role for P2X7 receptor (P2X7R) antagonists in the treatment of inflammatory diseases. *Expert Opin Investig Drugs*, v. 20, n. 7, p. 897-915, 2011.

AUBE, A. C.; CABARROCAS, J.; BAUER, J.; PHILIPPE, D.; AUBERT, P.; DOULAY, F.; LIBLAU, R.; GALMICHE, J. P.; NEUNLIST, M. Changes in enteric neurone phenotype and intestinal functions in a transgenic mouse model of enteric glia disruption. *Gut*, v.55, p. 630–637, 2006.

BALLABENI, V.; BAROCELLI, E.; BERTONI, S.; IMPICCIATORE, M. Alterations of intestinal motor responsiveness in a model of mild mesenteric ischemia/reperfusion in rats. *Life Sci*, v. 71, p. 2025–2035, 2002.

BAO, L.; LOCOVEI, S.; DAHL, G. Pannexin membrane channels are mechanosensitive conduits for ATP. *FEBS Lett*. v. 572, p. 65–68, 2004.

BARANOVA, A.; IVANOV, D.; PETRASH, N.; PESTOVA, A.; SKOBLOV, M.; KELMANSON, I.; SHAGIN, D.; NAZARENKO, S.; GERAYMOVYCH, E.; LITVIN, O.; TIUNOVA, A.; BORN, T.L.; USMAN, N.; STAROVEROV, D.; LUKYANOV, S.; PANCHIN, Y. The mammalian pannexin family is homologous to the invertebrate innexin gap junction proteins. *Genomics*, v. 83, p. 706-716, 2004.

BARGIOTAS, P.; KRENZ, A.; HORMUZDI, S. G.; RIDDER, D. A.; HERB, A.; BARAKAT, W.; PENUELA, S.; VON ENGELHARDT, J.; MONYER, H.; SCHWANINGER, M. Pannexins in ischemia-induced neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 108, n. 51, p. 20772-20777, 2011.

BARTLETT, R.; STOKES, L.; SLUYTER, R. The P2X7 receptor channel: recent developments and the use of P2X7 antagonists in models of disease. *Pharmacol Rev.*, v. 66, n.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.*, v. 13, n. 30, p. 4035-4041, 2007.

BASSOTTI, G.; VILLANACCI, V.; ANTONELLI, E.; MORELLI, A.; SALERNI, B. Enteric glial cells: new players in gastrointestinal motility? *Laboratory Investigation*, v. 87, p. 628-632, 2007b.

BASSOTTI, G.; VILLANACCI, V.; MAURER, C. A.; FISOGNI, S.; DI FABIO, F.; CADEI, M.; MORELLI, A.; PANAGIOTIS, T.; CATHOMAS, G.; SALERNI, B. The role of glial cells and apoptosis of enteric neurones in the neuropathology of intractable slow transit constipation. *Gut*, v. 55, p. 41-46, 2008.

BECKEL, J. M.; ARGALL, A. J.; LIM, J. C.; XIA, J.; LU, W.; COFFEY, E. E.; MACARAK, E. J.; SHAHIDULLAH, M.; DELAMERE, N. A.; ZODE, G. S.; SHEFFIELD, V. C.; SHESTOPALOV, V. I.; LATIES, A. M.; MITCHELL, C. H. Mechanosensitive release of adenosine 5'-triphosphate through pannexin channels and mechanosensitive upregulation of pannexin channels in optic nerve head astrocytes: a mechanism for purinergic involvement in chronic strain. *Glia*, v. 62, p. 1486–1501, 2014.

- BELKIND-GERSON, J.; HOTTA, R.; NAGY, N.; THOMAS, A. R.; GRAHAM, H.; CHENG, L.; SOLORZANO, J.; NGUYEN, D.; KAMIONEK, M.; DIETRICH, J.; CHERAYIL, B. J.; GOLDSTEIN, A. M. Colitis induces enteric neurogenesis through a 5-HT₄-dependent mechanism. **Inflamm. Bowel Dis.**, v. 21, p. 870-878, 2015.
- BHASKARACHARYA, A.; DAO-UNG, P.; JALILIAN, I.; SPILDREJORDE, M.; SKARRATT, K. K.; FULLER, S. J.; SLUYTER, R.; STOKES, L. probenecid blocks human p2x7 receptor-induced dye uptake via a pannexin-1 independent mechanism. **PLoS One.**, v. 9, n. 3, p. E93058, 2014.
- BOASSA, D.; AMBROSI, C.; QIU, F.; DAHL, G.; GAETTA, G.; SOSINSKY, G. Pannexin1 channels contain a glycosylation site that targets the hexamer to the plasma membrane. **J. Biol. Chem.**, v. 282, p. 31733–31743, 2007.
- BOESMANS, W.; CIRILLO, C.; VAN DEN ABBEEL, V.; VAN DEN HAUTE, C.; DEPOORTERE, I.; TACK, J.; VANDEN BERGHE, P. Neurotransmitters involved in fast excitatory neurotransmission directly activate enteric glial cells. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 25, n. 2, p. 151-160, 2012.
- BOESMANS, W.; LASRADO, R.; VANDEN BERGHE, P.; PACHINIS, V. Heterogeneity and phenotypic plasticity of glial in the mammalian enteric nervous system. **Glia.** v. 63, p. 229-241, 2014.
- BOND, S. R.; NAUS, C. C.; The pannexins: past and present. **Front Physiol.**, v. 19, p. 1-25, 2014.
- BORZELLECA, J. F.; DEPUKAT, K.; HALLAGAN, J. B. Lifetime toxicity/carcinogenicity studies of FD & C blue No. 1 (brilliant blue FCF) in rats and mice. **Food Chem toxicol.**, v. 28, p. 221-234, 1990.
- BOURS M. J., SWENNEN E. L., DI VIRGILIO F., CRONSTEIN B. N., DAGNELIE P. C. Adenosine 5'-triphosphate and adenosine as endogenous signaling molecules in immunity and inflammation. **Pharmacol. Ther.**, v. 112, p. 358 -404, 2006.
- BURNS, A. J.; PACHNIS, V. Development of the enteric nervous system: bringing together cells, signals and genes. **Neurogastroenterol Motil.**, v. 21, p. 100–102, 2009.
- BURNSTOCK, G. Purinergic signalling and disorders of the central nervous system. *Nature Rev. Drug Discov.*, v. 7, n. 7, p. 575-590, 2008.
- BURNSTOCK, G.; KNIGHT, G. E.; Cellular distribution and function of P2 receptor subtypes in different systems. **Int. Rev. Cytol.**, v. 240, p. 31-304, 2004.
- BUSH, T. G.; SAVIDGE, T. C.; FREEMAN, T. C.; COX, H. J.; CAMBELL, E. A.; MUCKE, L.; JOHNSON, M. H.; SOFRONIEW, M. V. Fulminant jejuno-ileitis following ablation of enteric glia in adult transgenic mice. **Cell.**, v. 93, n. 2, p. 189-201, 1998.
- CABALLERO-ALOMAR, C.; SANTOS, C.; LOPEZ, D.; METAFIL, M. T.; PUING-PARELLADA, P. sources and implications of basal nitric oxide in spontaneous contractions of guinea pig *Taenia caeci*. **Am J Physiol.**, v. 285, p. 747-753, 2003.

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

CAGIN, Y. F.; ATAYAN, Y.; SAHIN, N.; PARLAKPINAR, H.; POLAT, A.; VARDI, N.; TAGLUK, M. E.; TANBEK, K.; YILDIZ, A. Beneficial effects of dexpanthenol on mesenteric ischemia and reperfusion injury in experimental rat model. **Free RadicRes.**, v. 50 (3), p. 354-365, 2016.

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

CAMPOLO, M.; DI PAOLA, R.; IMPELLIZZERI, D.; CRUPI, R.; MORITTU, V. M.; PROCOPIO, A.; PERRI, E.; BRITTI, D.; PELI, A.; ESPOSITO, E.; CUZZOCREA, S. Effects of a polyphenol present in olive oil,oleuropein aglycone, in a murine model of intestinal ischemia/reperfusion injury. **J. of Leukocyte Biology.**, v. 93, n. 2, p. 277-287, 2013.

CARAMELO, C.; ESPINOSA, G.; MANZARBEITIA, F.; CERNADAS, M. R.; PÉREZ TEJERIZO, G.; TAN, D.; MOSQUERA, J. R.; DIGIUNI, E.; MONTÓN, M.; MILLÁS, I.; HERNANDO, L.;CASADO, S.; LÓPEZ-FARRÉ, A. Role of endothelium-related mechanisms in the pathophysiology of renal ischemia/reperfusion in normal rabbits. **Circ. Res.**, v. 79, n. 5, p. 1031-1038, 1996.

CARPANESE, E.; MORETTO, P.; FILPA, V.; MARCHET, S.; MORO, E.; CREMA, F.; FRIGO, G.; GIARONI, C. Antagonism of ionotropic glutamate receptors attenuates chemical ischemia-induced injury in rat primary cultured myenteric ganglia. **PLos One.**, v. 9, n. 11, p. 113-613, 2014.

CARROLL, W. A.; KALVIN, D. M.; PEREZ MEDRANO, A.; FLORJANCIC, A. S.; WANG, Y.; DONNELLY-ROBERTS, D. L.; NAMOVIC, M. T.; GRAYSON, G.; HONORÉ, P.; JARVIS, M. F. Novel and potent 3-(2,3-dichlorophenyl)-4-(benzyl)-4H-1,2,4-triazole P2X₇ antagonists. **Bioorg. Med. chem. Lett.**, v. 17, n. 14, p. 4044-4048, 2007.

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

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.

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

CESARO, A.; BREST, P.; HOFMAN, V.; HEBUTERNE, 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.*, v. 299, p. 32–42, 2010.

CHEKENI, F. B.; ELLIOTT, M. R.; SANDILOS, J. K.; WALK, S. F.; KINCHEN, J. M.; LAZAROWSKI, E. R.; ARMSTRONG, A. J.; PENUELA, S.; LAIRD, D. W.; SALVESEN, G. S.; ISAKSON, B. E.; BAYLISS, D. A.; RAVICHANDRAN, K. S. Pannexin 1 channels mediate ‘find-me’ signal release and membrane permeability during apoptosis. *Nature*, v. 467, n. 7317, p. 863–867, 2010.

CHEN, J.; TERADA, N.; OHNO, N.; SAITOH, S.; SAITOH, Y.; OHNO, S. Immunolocalization of membrane skeletal protein, 4.1G, in enteric glial cells in the mouse large intestine. *Neurosci Lett.*, v. 488, p. 193-198, 2011.

CHIU, Y. H.; RAVICHANDRAN, K. S.; BAYLISS, D. A. Intrinsic properties and regulation of Pannexin 1 channel. *Channels (Austin)*, v. 8, n. 2, p. 1- 7, 2014.

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. *J. Comp. Neurol.*, v. 439, p. 46-64, 2001.

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.

CISNEROS-MEJORADO, A.; GOTTLIEB, M.; CAVALIERE, F.; MAGNUS, T.; KOCH-NOLTE, F.; SCEMES, E.; PÉREZ-SAMARTÍN, A.; MATUTE, C. Blockade of P2X7 receptors or pannexin-1 channels similarly attenuates post ischemia damage. *J Cereb Blood Flow Metab.*, v. 35, n. 5, p. 843-850, 2015.

CLAIREMBAULT, T.; LECLAIR-VISONNEAU, L.; NEUNLIST, M.; DERKINDEREN, P. Enteric glial cells: New players in Parkinson's disease? *Mov. Disorg.*, v. 30, n. 4, p. 494-498, 2014.

CLARKE, L. E.; BARRES, B. A. Glia keep synapse distribution under wraps. *Cell.*, v. 152, n. 2, p. 267, 2013.

CODDOU. C.; YAN, Z.; OBSIL, T.; HUIDOBRO-TORO, J. P.; STOJILKOVIC, S. S. Activation and regulation of purinergic P2X receptor channels. *Pharmacol Rev.*,v. 63, p. 641–683, 2011.

COLLINS, J.; BOROJEVIC, R.; VERDU, E.F.; HUIZINGA, J.D.; RATCLIFFE, E.M. Intestinal microbiota influence the early postnatal development of the enteric nervous system. *Neurogastroenterol. Motil.*, v. 26, p. 98-107, 2014.

COLLO, G.; NORTH, R. A.; KAWASHIMA, E.; MERLO-PICH, E.; NEIDHART, S.; BUELL, G. Cloning of P2X₅ and P2X₆ receptors and the distribution and properties of an extended family of ATP-gated ion channels. *J. Neurosci.*, v. 16, p. 2495-2507, 1996.

CORNEJO, R.; GATICA, H.; SEGOVIA, E.; CORTES, C. Intestinal necrosis as clinical presentation of takayasu's arteritis: report of one case. **Rev. Med. Chil.**, v. 130, n. 10, p. 1159-1164, 2002.

CORREIA-DE-SÁ, P.; ADÃES, S.; TIMÓTEO, M.A.; VIEIRA, C.; MAGALHÃES-CARDOSO, T.; NASCIMENTO, C. & DUARTE-ARAÚJO, M. Fine-tuning modulation of myenteric motoneurons by endogenous adenosine: On the role of secreted adenosine deaminase. **Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical**. v. 126-127, p. 211-224, 2006.

COUTINHO-SILVA, R.; PERSECHINI, P. M.; BISAGGIO, R. D.; PERFETTINI, J. L.; NETO, A. C.; KANELLOPOULOS, J. M.; MOTTA-LY, I.; DAUTRY-VARSAT, A.; OJCIUS, D. M. P2Z/P2X7 receptor-dependent apoptosis of dendritic cells. **Am. J. Physiol.**, v. 276, p. C1139-C1147, 1999.

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.**, v. 143, n. 2, p. 171-184, 2015.

DAHL, G.; KEANE, R. W. Pannexin: from discovery to bedside in 11±4 years? **Brain Res.**, v.1487, p. 150-159, 2012.

DE CAMPOS, N. E.; MARQUES-DA-SILVA, C.; CORREA, G.; CASTELO-BRANCO, M. T.; DE SOUZA, H. S.; COUTINHO-SILVA, R. Characterizing the presence and sensitivity of the P2X7 receptor in different compartments of the gut. **J. Innate Immun.**, v. 4, p. 529-541, 2012.

DENG ,Y.; GUO, X. L.; YUAN, X.; SHANG, J.; ZHU, D.; LIU, H. G. P2X7 receptor antagonism attenuates the intermittent hypoxia-induced spatial deficits in murine model of sleep apnea via inhibiting neuroinflammation and oxidative stress. **Chin Med J Engl.**, v. 128, n. 16, p. 2168-2175, 2015.

D'HONDT, C.; PONSARTS, R.; DE SMEDT, H.; BULTYNCK, G.; HIMPENS, B. Pannexins, distant relatives of the connexin family with specific cellular functions?. **Bioessays.**, v. 31, p. 953-974, 2009.

DI VIRGILIO, F. Liaisons dangereuses: P2X(7) and the inflammasome. **Trends Pharmacol. sci.**, v. 28, n. 9, p. 465-472, 2007.

DI VIRGILIO, F.; CHIOZZI, P.; FALZONI, S.; FERRARI, D.; SANZ, J. M.; VENKETARAMAN, V.; BARICORDI, O. R. Cytolytic P2X purinoceptors. **Cell Death Differ.**, v. 5, n. 3, p. 191-199, 1998.

DÍAZ-HERNÁNDEZ, M.; DÍEZ-ZAERA, M.; SÁNCHEZ-NOGUEIRO, J.; GÓMEZ-VILLAFUERTES, R.; CANALS, J. M.; ALBERCH, J.; MIRAS-PORTUGAL, M. T.; LUCAS, J. J. Altered P2X7-receptor level and function in mouse models of Huntington's disease and therapeutic efficacy of antagonist administration. **FASEB J.**, v. 23, p. 1893-1906, 2009.

DIEZMOS, E. F.; SANDOW, S. L.; MARKUS, I.; PERERA, D.S.; LUBOWSKI, D. Z.; KING, D. W.; BERTRAND, P. P.; LIU, L. Expression localization of pannexin-1 hemichannels in human colon in health and disease. **Neurogastroenterol Motil.**, v. 25, n. 6, p. 3945-405, 2013.

- DIEZMOS, E. F.; SANDOW, S. L.; PERERA, D. S.; KING, D. W.; BERTRAND, P. P.; LIU, L. Pannexin-2 is expressed in the human colon with extensive localization in the enteric nervous system. **Neurogastroenterol Motil.**, v. 27, n. 5, p. 672-683, 2015.
- DIEZMOS, E. F.; BERTRAND, P. P.; LIU, L. Purinergic signaling in gut inflammation: The role of connexins and pannexins. **front neurosci.**, v. 10, p. 311, 2016.
- DINARELLO, C. A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. **Annu Rev Immunol.**, v. 27, p. 519-550, 2009.
- DINARELLO, C. A. The il-1 family and inflammatory diseases. **Clin Exp Rheumatol.**, v. 20, p. 1-13, 2002.
- DOCKENDORF, B. L.; FRAZEE, R. C.; PETERSON, W. G.; MYERS, D. Treatment of acute intestinal ischemia with hyperbaric oxygen. **South Med. J.**, v. 86, n. 5, p. 518-520, 1993.
- DONATO, R. Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. **Microscopy Research and Technique**, Perugia, Italy, v. 60, p. 540-551, 2003.
- DONNELLY-ROBERTS, D.; MCGARAUGHTY, S.; SHIEH, C. C.; HONORE, P.; JARVIS, M. F. Painful Purinergic receptors. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 324, n. 2, p. 409-415, 2007.
- DUARTE-ARAÚJO, M.; NASCIMENTO, C.; TIMÓTEO, MA.; MAGALHÃES-CARDOSO, MT.; CORREIA-DE-SÁ, P. Relative contribution of ecto-ATPase and ecto-ATPDase pathways to the biphasic effect of ATP on acetylcholine release from myenteric motoneurons, **British Journal of Pharmacol.**, v 156, p. 519-533, 2009.
- DULAC, C.; LE DOUARIN, N. M. Phenotypic plasticity of Schwann cells and enteric glial cells in response to the microenvironment. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 88, p. 6358–6362, 1991.
- ENAIDA, H.; HISATOMI, T.; HATA, Y.; UENO, A.; GOTO, Y.; YAMADA, T.; KUBOTA, T.; ISHIBASHI, T. Brilliant blue G selectively stains the internal limiting membrane/brilliant blue G - assisted membrane peeling. **Retina.**, v. 26, n. 6, p. 631-636, 2006.
- ENG, L. F.; GHIRNIKAR, R. S.; LEE, Y. L. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). **Neurochem., Res.**, v. 25, p. 1439-1451, 2000.
- FERRARI, D.; PIZZIRANI, C.; ADINOLFI, E.; LEMOLI R, M.; CURTI, A.; IDZKO, M.; PANTHER, E.; DI VIRGILIO, F. The P2X7 receptor: a Key player in IL-1 processing and release. **J. Immunol.**, v. 176, n. 7, p. 3877-3883, 2006.
- FLAMANT, M.; AUBERT, P.; ROLLI-DERKINDEREN, M.; BOURREILLE, A.; NEUNLIST, M. R.; MAHÉ, M. M.; MEURETTE, G.; MARTEYN, B.; SAVIDGE, T.; GALMICHE, J. P.; SANSONETTI, P. J.; NEUNLIST, M. Enteric glia protect against *Shigella flexneri* invasion in intestinal epithelial cells: a role for S-nitrosoglutathione. **Gut**, v. 60, n. 4, p. 473-483, 2011.
- FLETCHER, E. L.; CLARK, M. J.; FURNESS, J. B. Neuronal and glial localization of GABA transporter immunoreactivity in the myenteric plexus. **Cell Tissue Res.**, v. 308, p.339–346, 2002.

FONNUM, F.; JOHNSEN, A.; HASSEL, B. Use of fluorocitrate and fluoroacetate in the study of brain metabolism. **Glia.**, v. 21, p. 106–113, 1997.

FREDHOLM, B. B.; ABBRACCHIO, M. P.; BURNSTOCK, G.; DUBYAK, G. R.; HARDEN, T. K.; JACOBSON, K. A.; CHWABE, U.; WILLIAMS, M. Towards a revised nomenclature for P1 and P2 receptors. **TIPS**, v. 18, 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. 244, p. 53-64, 2008.

FUJIKAWA, Y.; TOMINAGA, K.; TANAKA, F.; TANIGAWA, T.; WATANABE, T.; FUJIWARA, Y.; ARAKAWA, T. Enteric glial cells are associated with stress-induced colonic hyper-contraction in maternally separated rats. **Neurogastroenterol Motil.**, v. 27, n. 7, p. 1010-1023, 2015.

FURNESS, J. B. The enteric nervous system and neurogastroenterology. **Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 9, n. 5, p. 286-294, 2012.

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

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

GANNS, D.; SCHRÖDL, F.; NEUHUBER, W.; BREHMER, A. Investigation of general and cytoskeletal markers to estimate numbers and proportions of neurons in human intestine. **Histol. Histopathol.**, v. 21, p. 41-51, 2006.

GARCIA-CRIADO, F. J.; ELENO, N.; SANTOS-BENITO, F.; VALDUNCIEL, J. J.; REVERTE, M.; LOZANO-SÁNCHEZ, F. S.; LUDEÑA, M. D.; GOMEZ-ALONSO, A.; LÓPEZ-NOVOA, J. M. Protective effect of exogenous nitric oxide on the renal function and inflammatory response in a model of ischemia-reperfusion. **Transplantation.** v. 66, n. 8, p. 982-990, 1998.

GENG, Y.; LI, J.; WANG, F.; LI, Q.; WANG, X.; SUN, L.; LI, W. Epidermal Growth Factor Promotes Proliferation and Improves Restoration After Intestinal Ischemia–Reperfusion Injury in Rats. **Inflammation**, v. 9, 2013.

GERSHON, M. D. Developmental determinants of the independence and complexity of the enteric nervous system. **Trends Neurosci.**, v. 33, p. 446–456, 2010.

GIARONI, C.; ZANETTI, E.; GIULIANI, D.; OLDRINI, R.; MARCHET, S.; MORO, E.; BORRONI, P.; TRINCERA, M.; CREMA, F.; LECCHINI, S.; FRIGO, G. Protein kinase C modulates NMDA receptors in the myenteric plexus of the guinea pig ileum during in vitro ischemia and reperfusion. **Neurogastroenterol Motil.**, v. 23, p. 91–103, 2011.

GIROTTI, A. P.; MISAWA, R.; PALOMBIT, K.; MENDES, C. E.; BITTENCOURT, C. J.; CASTELUCCI, P. Differential effects of undernourishment on the differentiation 5 and maturation of rat enteric neurons. **Cell Tissue Res.**, v.353 n. 8, p. 367-380, 2013.

GITTERMAN, D. P.; EVANS, R. J. Properties of P2X and P2Y receptors are dependent on artery diameter in the rat mesenteric bed. **British Journal of Pharmacology**, v. 131, p. 1561-1568, 2000.

GOMES, P.; CHEVALIER, J.; BOESMANS, W.; ROOSEN, L.; VAN DEN ABBEEL, V.; NEUNLIST, M.; TACK, J.; VANDEN BERGHE, P. ATP-dependent paracrine communication between enteric neurons and glia in a primary cell culture derived from embryonic mice. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 21, n. 8, p. 862-870, 2009.

GONÇALEZ, P. O.; CLEBIS, N. K.; MARI, R. B.; GAGLIARDO, K. M.; STABILLE, S. R.; FARIA, H. G.; LIBERTI, E. A.; JR, J. R. Morphological effects of autoclaved diet on the myenteric neurons of rats. **World J. Gastroenterol.**, v. 17, n. 43, p. 4799-4803, 2011.

GONZALEZ-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.

GORDON, G. R.; BAIMOUKHAMETOVA, D. V.; HEWITT, S. A.; RAJAPAKSHA, W. R.; FISHER, T. E.; BAINS, J. S. Norepinephrine triggers release of glial ATP to increase postsynaptic efficacy. **Nat Neurosci.**, v. 8, p. 1078-1086, 2005.

GRANGER, D. N.; RICHARDSON, P. D.; KVIETYS, P. R.; MORTILLARO, N. A. Intestinal blood flow. **Gastroenterology**, v. 78, n. 4, p. 837-863, 1980.

GREGGIO, F. M.; FONTES, R. B. V.; MAIFRINO, L. B. M.; CASTELUCCI, P.; SOUZA, R. R.; LIBERTI, E. A. Effects of perinatal protein deprivation and recovery on esophageal myenteric plexus. **World J. Gastroenterol.**, v. 16, n. 5, p. 563-570, 2010.

GROOTJANS, J.; LENAERTS, K.; DERIKX, J. P.; MATTHIJSSEN, R. A.; DE BRUINE, A. P.; VAN BIJNEN, A. A.; VAN DAM, R. M.; DEJONG, C. H.; BUURMAN, W. A. Human intestinal ischemia-reperfusion-induced inflammation characterized: experiences from a new translational model. **Am J Pathol.**, v. 176, p. 2283-2291, 2010.

GRUBIŠIĆ, V.; GULBRANSEN, B. D. Enteric glia: the most alimentary of all glia. **J Physiol.**, 2016. *in print*

GRUNDMANN, D.; MARKWART, F.; SCHELLER, A.; KIRCHHOFF, F.; SCHÄFER, K. H. Phenotype and distribution pattern of nestin-GFP-expressing cells in murine myenteric plexus. **Cell Tissue Res.**, v. 366, n. 3, p. 573-586, 2016.

GUAN, Z.; OSMOND, D. A.; INSCHO, E. W. Purinoceptors in the kidney. **Exp. Biol. Med. (Maywood).**, v. 232, n. 6, p. 715-726, 2007.

GULBRANSEN, B. D. Enteric glia. (doi: 10.4199/C00113ED1V01Y201407NGL002) Morgan & Claypool Publishers, San Rafael, 2014.

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. **Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.** v. 9, n. 11, p. 625-632, 2012.
- GULBRANSEN, B. D.; SHARKEY, K. A. Purinergic neuron-to-glia signaling in the enteric nervous system. **Gastroenterology**, v. 136, p. 1349-1358, 2009.
- HAGLUND, U.; BERGQVIST, D. Intestinal ischemia - the basics. **Langenbeck's Arch. Surg.**, v. 384, p. 233-238, 1999.
- HAGSTRÖM, C.; OLSSON, C. Glial cells revealed by GFAP immunoreactivity in fish gut. **Cell Tissue Res.**, v. 341, p. 73-81, 2010.
- HARWARD, T. R.; BROOKS, D. L.; FLYNN, T. C.; SEEGER, J. M. Multiple organ dysfunction after mesenteric artery revascularization. **J. Vasc. Surg.**, v. 18, p. 459-467, 1993.
- HASSEL, B.; SONNEWALD, U.; UNSGARD, G.; FONNUM, F. NMR spectroscopy of cultured astrocytes: effects of glutamine and the gliotoxin fluorocitrate. **J Neurochem.**, v. 62, p. 2187-2194, 1994.
- HENGARTNER, M. O. The biochemistry of apoptosis. **Nature**, v. 407, p. 770-776, 2000.
- HSIEH, H.L.; SCHÄFER, B.W.; WEIGLE, 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.
- 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.
- IDZKO, M.; FERRARI, D.; ELTZSCHIG, H. K. Nucleotide signalling during inflammation. **Nature.**, v. 509, p. 310-317, 2014.
- IKEDA, H.; SUZUKI, Y.; SUZUKI, M.; KOIKE, M.; TAMURA, J.; TONG, J.; NOMURA, M.; ITOH, G. Apoptosis is a major mode of cell death caused by ischemia and ischemia/reperfusion injury to the rat intestinal epithelium. **Gut**, v. 42, p. 530-537, 1998.
- IRIE, K.; MURAKI, T.; FURUKAWA, F.; NOMOTO, T. L-NG-nitro-arginine inhibits nicotine-induced relaxation of isolated rat duodenum. **Eur J Pharmacol.**, v. 202, p. 285-288, 1991.
- JARVIS, M. F.; KHAKH, B. S. ATP-gated P2X cation-channels. **Neuropharmacol.**, v. 56, p. 208-215, 2009.
- 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.
- JIAN, Z.; DING, S.; DENG, H.; WANG, J.; YI, W.; WANG, L.; ZHU, S.; GU, L.; XIONG, X. Probenecid protects against oxygen-glucose deprivation injury in primary astrocytes by regulating inflammasome activity. **Brain Res.**, v. 1643, p. 123-129, 2016.

JIANG, J. X.; PENUELA, S. Connexin and pannexin channels in cancer. **BMC Cell Biol.**, v.17, p. 1-12, 2016.

JIANG, L. H. Inhibition of P2X7 receptors by divalent cations: old action and new insight. **Eur Biophys J.**, v. 38, p. 339-346, 2009.

JIANG, L. H.; MACKENZIE, A. B.; NORTH, R. A. Surprenant A. Brilliant Blue G selectively blocks ATP-gated rat P2X7 receptors. **Mol. Pharmacol.**, v. 58, p. 82-88, 2000.

JONES B. A.; GORE G. J. physiology and pathology of apoptosis in epithelial cells of the liver, pancreas and intestine. **Am. J. Physiol.**, v. 273, p. 1174-1188, 1997.

JOSEPH, N. M.; HE, S.; QUINTANA, E.; KIM, Y. G.; NUNEZ, G.; MORRISON, S. J. Enteric glia are multipotent in culture but primarily form glia in the adult rodent gut. **J. Clin. Invest.**, v. 121, p. 3398-3411, 2011.

JSAKSON, B. E.; THOMPSON, R. J. Pannexin-1 as a potentiator of ligand-gated receptor signaling. **Channels (austin)**, v. 8, n. 2, p. 118-123, 2014.

KABOURIDIS, P.S.; LASRADO, R.; MCCALLUM, S.; CHNG, S.H.; SNIPPET, 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.

KANNEGANTI, T. D.; BODY-MALAPEL, M.; AMER, A.; PARK, J. H.; WHITFIELD, J.; FRANCHI, L.; TARAPOREWALA, Z. F.; MILLER, D.; PATTON, J. T.; INOHARA, N.; NÚÑEZ, G. Critical role for Cryopyrin/Nalp3 in activation of caspase-1 in response to viral infection and double-stranded RNA. **J. Biol. Chem.**, v. 281, p. 36560–36568, 2006.

KAWAMURA, M. Jr.; RUSKIN, D.N.; MASINO, S.A. Metabolic autocrine regulation of neurons involves cooperation among pannexin hemichannels, adenosine receptors, and KATP channels. **J Neurosci.**, v.17;30, n. 11, p. 3886-95, 2010.

KIM, M.; JIANG, L. H.; WILSON, H. L.; NORTH, R. A.; SURPRENANT, A. Proteomic and functional evidence for a P2X7 receptor signalling complex. **EMBO J.** v. 20, n. 22, p. 6347-6358, 2001.

KONG, F.; LIU, S.; XU, C.; LIU, J.; LI, G.; LI G.; GAO, Y.; LIN, H.; TU, G.; PENG, H.; QIU, S.; FAN, B.; ZHU, Q.; YU, S.; ZHENG, C.; LIANG, S. Electrophysiological studies of upregulated P2X7 receptors in rat superior cervical ganglia after myocardial ischemic injury. **Neurochem Int.**, v. 63, n. 3, p. 230-237, 2013.

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

LARANJEIRA, C.; SANDGREN, K.; KESSARIS, N.; RICHARDSON, W.; POTOČNIK, A.; VANDEN BERGHE, P.; PACHNIS, V. Glial cells in the mouse enteric nervous system can undergo neurogenesis in response to injury. **J. Clin. Invest.**, v. 121, p. 3412-3424, 2011.

LE BERRE-SCOUL, C.; CHEVALIER, J.; OLEYNIKOVA, E.; COSSAIS, F.; TALON, S.; NEUNLIST, M.; BOUDIN, H. A novel enteric neuron-glia coculture system reveals the role of glia in neuronal development. *J. Physiol.*, 2016.

LE FEUVRE, R.; BROUGH, D.; ROTHWELL, N. Extracellular ATP and P2X7 receptors in neurodegeneration. ***Eur. J. Pharmacol.***, v. 447, p. 261-269, 2002.

LENERTZ, L. Y.; GAVALA, M. L.; ZHU, Y.; BERTICS, P. J. Transcriptional control mechanisms associated with the nucleotide receptor P2X7, a critical regulator of immunologic, osteogenic, and neurologic functions. ***Immunol Res.***, v. 50, p. 22-38, 2011.

LIN, Z.; GAO, N., HU, Z. H.; LIU, S.; GAO, C.; REN, J.; XIA, J.; PECK, C. O.; WOOD, D. Immunoreactivity of Hu proteins facilitates identification of myenteric neurones in guinea-pig small intestine. ***Neurogastroenterol. Mot.***, v. 14, p. 197-204, 2002.

LINDESTRÖM, L.; EKBLAD, E. Structural and Neuronal Changes in Rat Ileum After Ischemia with Reperfusion. ***Dig. Dis. Sci.***, v. 49, p. 1212-1222, 2004.

LIU, K. X.; LI, Y. S.; HUANG, W. Q.; CHEN, S. Q.; WANG, Z. X.; LIU, J. X.; XIA, Z. Immediate postconditioning during reperfusion attenuates intestinal injury. ***Intensive Care Med.***, v. 35, p.933–942, 2009.

LOCHSHIN, R. A.; ZACHERI, Z. Caspase-independent cell death. ***Curr. Cell Biol.***, v. 14, p. 727-733, 2002.

LOCOVEI, S.; SCEMES, E.; QIU, F.; SPRAY, D. C.; DAHL, G. Pannexin1 is part of the pore forming unit of the P2X(7) receptor death complex. ***FEBS Lett.***, v. 581, n. 3, p. 483-488, 2007.

LOCOVEI, S.; WANG, J.; DAHL, G. Activation of pannexin 1 channels by ATP through P2Y receptors and by cytoplasmic calcium. *FEBS Lett.*, v. 580, p. 239–244, 2006.

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.

MACKENZIE, A.; WILSON, H. L.; KISS-TOTH, E.; DOWER, S. K.; NORTH, R. A.; SURPRENANT, A. Rapid secretion of interleukin-1beta by microvesicle shedding. ***Immunity.***, v.15, p. 825-835, 2001.

MacVicar, B. A.; THOMPSON, R. J. Non-junction functions of pannexin-1 channels. ***Trends Neurosci.***, v. 33, p. 93–102, 2010.

MAKARENKOVA, H. P.; SHESTOPALOV, V. I. The role of pannexin hemichannels in inflammation and regeneration. ***Front Physiol.***, v. 25, p. 1- 8, 2014.

MALLICK, I.H.; YANG, W.; WINSLET, M.C.; SEIFALIAN, A. M. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. ***Dig Dis Sci.***, v. 49, p.1359–1377, 2004.

MARCILLO, A.; FRYDEL, B.; BRAMLETT, H. M.; DIETRICH, W. D. A reassessment of P2X7 receptor inhibition as a neuroprotective strategy in rat models of contusion injury. ***Exp. Neurol.***, v. 233, p. 687-692, 2012.

MARETTA, M.; TÓTH, S.; BUJDOS, M.; TÓTH, S. JR; JONECOVÁ, Z.; VESELA, J. Alterations of epithelial layer after ischemic preconditioning of small intestine in rats. **J. Mol. Hist.**, v. 43, n. 2, p. 171-178, 2012.

MARIATHASAN, S.; WEISS, D. S.; NEWTON, K.; MCBRIDE, J.; O'ROURKE, K.; ROOSE-GIRMA, M.; LEE, W. P.; WEINRAUCH, Y.; MONACK, D. M.; DIXIT, V. M. Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. **Nature**, v. 440, p. 228–232, 2006.

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.

MARTEU, F.; LE POUL, E.; COMMUNI, D.; LABOURET, C.; SAVI, P.; BOEYNAEMS, J. M.; GONZALEZ, N. S. Pharmacological characterization of the human P2Y13 receptor. **Mol. Pharmacol.**, v. 64, n. 1, p. 104-112, 2003.

MASSBERG, S.; MESSMER, K. The nature of ischemia/reperfusion injury. **Transplant. Proc.**, v. 30, p. 4217-4223, 1998.

MATSUO, S.; YANG, W. L.; AZIZ, M.; JACOB, A.; WANG, P. Cyclic arginine-glycine-aspartate attenuates acute lung injury in mice after intestinal ischemia/reperfusion. **Crit. Care**, v. 17, n. 1, p. 1-12, 2013.

MAYO, C.; REN, R.; RICH, C.; STEPP, M. A.; TRINKAUS-RANDALL, V. Regulation by P2X7: epithelial migration and stromal organization in the cornea. **Invest. Ophthalmol. vis. Sci.**, v. 49, n. 10, p. 4384-4391, 2008.

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. Chrm.**, v. 22, p. 54-88, 2014.

MENDES, C.E. **Estudo das células gliais entéricas imunorreativas aos receptores P2X₂ e P2X₇ do íleo de ratos submetidos à isquemia e reperfusão intestinal.** 2013. 114 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

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. 60, n. 9, 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 P2X₂ receptor in different classes of ileum myenteric neurons in the female obese *ob/ob* mouse. **World J. of Gastroenterol.**, v. 18, n. 34, p. 4693-4703, 2012.

MIZUNO, M. S.; CRISMA, A. R.; BORELLI, P.; SCHÄFER, B.A.; SILVEIRA, M.P.; CASTELUCCI, P. Distribution of the P2X2 receptor and chemical coding in ileum enteric

neurons of the obese male mouse (*ob/ob*). **World J. of Gastroenterol.**, v. 20, n. 38, p. 13911 - 13919, 2014.

MONCADA, S.; PALMER, R. M. J.; HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacol Rev.**, v. 43, p.109–142, 1991.

MYTHEN, M. G. Postoperative gastrointestinal tract dysfunction. **Anesth Analg.**, v. 100, n. 1, p. 196-204, 2005.

NABORS, L. B.; FURNEAUX, H. M.; KING, P. H. HuR, a novel target of anti-Hu antibodies, is expressed in non-neural tissues. **J. Neuroimmunol.**, v. 92, p. 152-159, 1998.

NAGAHAMA, M.; SEMBA, R.; TSUZUKI, M.; AOKI, E. L-Arginine immunoreactive enteric glial cells in the enteric nervous system of rat ileum. **Biol Signals Recept.**, v. 10, p. 336–340, 2001.

NASSER, Y.; HO, W.; SHARKEY, K. A. Distribution of adrenergic receptors in the enteric nervous system of the guinea pig, mouse, and rat. **J Comp Neurol.**, v. 495, n. 5, p. 529-553, 2006.

NASSER, Y.; FERNANDEZ, E.; KEENAN, C.M.; HO, W.; OLAND, L. D.; TIBBLES, L. A.; SCHEMANN, M.; MACNAUGHTON, W. K.; RÜHL, A.; SHARKEY, K. A. Role of enteric glia in intestinal physiology: effects of the gliotoxin fluorocitrate on motor and secretory function. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.** v. 291, n. 5, p.912-27, 2007.

NEUNLIST, M.; ROLLI-DERKINDEREN, M.; LATORRE, R.; VAN LANDEGHEM, L.; CRON, E.; DERKINDEREN, P.; DE GIORGIO, R. Enteric glial cells recent developments and future directions. **Gastroenterology**, v. 147, n. 6, p. 1230-1237, 2014.

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

NORTH, R.A.; VERKHRATSKY A. Purinergic transmission in the central nervous system. **Pflugers Arch.**, v. 452, n. 5, p. 479-85, 2006.

NORTH, R. A. Molecular physiology of P2X receptors. **Physiol Rev.**, v. 82, n. 4, p. 1013 - 1067, 2002.

NOTOMI ,S.; HISATOMI, T.; KANEMARU, T.; TAKEDA, A.; IKEDA, Y.; ENAIDA, H.; KROEMER, G.; ISHIBASHI, T. Critical Involvement of Extracellular ATP Acting on P2RX7 Purinergic Receptors in Photoreceptor Cell Death. **Am J Pathol.**, v. 179, n. 6, p. 2798-2809, 2011.

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

OLIVEIRA, C. O.; IKUTA, N.; REGNER, A. Biomarcadores prognósticos no traumatismo crânio-encefálico grave. **Rev. Bras. de Terap. Inten.**, Canoas, RS, Brasil, v. 20, n. 4, p. 134-139, 2008.

OMARA, F.; SISODIA, C. S. Evaluation of potential antidotes for sodium fluoroacetate in mice. **Vet Hum Toxicol.**, v. 32, p. 427–431, 1990

OTSUKI, Y.; LI, Z.; SHIBATA, M. Apoptotic detection methods-from morphology to gene. **Progress in Histochemistry and Cytochemistry**, v. 38, n. 3, p. 275-340, 2003.

PALOMBIT, K. **Papel do antagonista Brilliant Blue G sobre os neurônios mioentéricos imunorreativos ao receptor P2X7 do íleo de ratos submetidos à isquemia/reperfusão intestinal**. 2014. 128 f. Tese (Doutorado em Ciências Morfofuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

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**, 2013. v.58, p. 3429-3439, 2013.

PANCHIN, Y.; KELMANSON, I.; MATZ, M.; LUKYANOV, K.; USMAN, N.; LUKYANOV, S. A ubiquitous family of putative gap junction molecules. **Curr Biol.**, v. 10, n. 13, p. R473-4, 2000.

PACHIN, Y. V. Evolution of gap junction proteins--the pannexin alternative. **J Exp Biol.**, v. 208, n. 8, p. 1415 - 1419, 2005.

PARVATHENANI, L. K.; TERTYSHNIKOVA, S.; GRECO, C. R.; ROBERTS, S. B.; ROBERTSON, B.; POSMANTUR, R. P2X₇ mediates superoxide production in primary microglia and is up-regulated in a transgenic mouse model of alzheimer's disease. **J Biol Chem.**, v.278, p. 13309-13317, 2003.

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.

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.

PELEGRIN, P.; SURPRENANT, A. Pannexin-1 mediates large pore formation and interleukin-1beta release by the atp-gated p2x7 receptor. **Embo J.**, v. 25, n. 21, p. 5071-5082, 2006.

PENG, W.; COTRINA, M. L.; HAN, X.; YU, H.; BEKAR, L.; BLUM, L.; TAKANO, T.; TIAN, G. F.; GOLDMAN, S. A.; NEDERGAARD, M. Systemic administration of an antagonist of the ATP-sensitive receptor P2X₇ improves recovery after spinal cord injury. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, v. 106, p. 12489-12493, 2009.

PENUELA, S.; BHALLA, R.; GONG, X. Q.; COWAN, K. N.; CELETTI, S. J.; COWAN, B. J.; BAI, D.; SHAO, Q.; LAIRD, D. W. Pannexin 1 and pannexin 3 are glycoproteins that exhibit many distinct characteristics from the connexin family of gap junction proteins. **J Cell Sci.**, v. 120, n. 21, p. 3772-3783, 2007.

PENUELA, S.; BHALLA, R.; NAG, K.; LAIRD, D.W. Glycosylation regulates pannexin intermixing and cellular localization. **Mol Biol Cell.**, v. 20, n. 20, p.4313-23, 2009.

PENUELA, S.; GEHI, R.; LAIRD, D. W. The Biochemistry and function of pannexin channels. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 1828, n. 1, p. 15-22, 2013.

- PHILLIPS, R. J.; HARGRAVE, S. L.; RHODES, B. S.; ZOPF, D. A.; POWLEY, T. L. Quantification of neurons in the myenteric plexus: an evaluation of putative pan-neuronal markers. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 133, p. 99–107, 2004.
- 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.
- POORNIMA, V.; MADHUPRIYA, M.; KOOTAR, S.; SUJATHA, G.; KUMAR, A.; BERA, A. K. P2X7 receptor- pannexin 1 hemichannel association: effect of extracellular calcium on membrane permeabilization. *J Mol Neurosci.*, v. 46, n. 3, p. 585-594, 2012.
- PROCHNOW, N.; ABDULAZIM, A.; KURTENBACH, S.; WILDFÖRSTER, V.; DVORIANANTCHIKOVA, G.; HANSKE, J.; PETRASCH-PARWEZ, E.; SHESTOPALV, V. I.;DERMIETZEL, R.; MANAHAN-VAUGHAN, D.; ZOIDL, G. Pannexin1 stabilizes synaptic plasticity and is needed for learning. **PLoS ONE**, v. 7, p. 51767, 2012.
- PROSKURYAKOV, S. Y. A.; KONOPLYANNIKOV, A. G.; GABAI, V. L. Necrosis: a specific form of programmed cell death? **Exper. Cell Res.**, v. 283, p. 1-16, 2003.
- 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.
- RAGY, M.; ELBASSUONI, E. The role of nitric oxide and L-type calcium channel blocker in the contractility of rabbit ileum in vitro. **J Physiol Biochem.**, v. 68, n. 4, p. 521-528, 2012.
- RALEVIC, V.; BURNSTOCK, G. Receptors for purines and pyrimidines. **Pharmacol. Rev.**, v. 50, p. 413-492, 1998.
- RAO, M.; NELMS, B. D.; DONG, L.; SALINAS-RIOS, V.; RUTLIN, M.; GERSHON, M. D.; CORFAS, G. Enteric glia express proteolipid protein 1 and are a transcriptionally unique population of glia in the mammalian nervous system. **Glia**, v. 63, p. 2040–2057, 2015.
- RAO, K. M.; PORTER, D. W.; MEIGHAN, T.; CASTRANOVA, V. The sources of inflammatory mediators in the lung after silica exposure. **Environ Health Perspect.** v. 112, n. 17, p. 1679-1686, 2004.
- RATHBONE, M. P.; MIDDLEMISS, P. J.; GYSBERS, J. W.; ANDREW, C.; HERMAN, M. A. R.; REED, J. K.; CICCARELLI, R.; DI IORIO, P.; CACIAGLI, F. Trophic effects of purines in neurons and glial cells. **Neurobiology**, v. 59, p. 663-690, 1999.
- REMY, M.; et al. An in vivo evaluation of Brilliant Blue G in animals and humans. **Br. J. Ophthalmol.**, v. 92, p. 1142-1147, 2008.
- REYNOLDS, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. **Journal of Cell Biol.**, v. 17, p. 1208-1212, 1963.
- RIBEIRO, M. E.; YOSHIDA, W. B. Reperfusion injury after intestinal ischemia: pathophysiology and experimental models. **J. Vasc. Br.**, v. 4, n. 2, p. 183-194, 2005.

RIVERA, L. R.; PONTELL, L.; CHO, H. J.; CASTELUCCI, P.; THACKER, M.; POOLE, D. P.; FRUGIER, T.; FURNESS, J. B. Knock out of neuronal nitric oxide synthase exacerbates intestinal ischemia/reperfusion injury in mice. **Cell and Tissue Research**, v. 349, p. 565-576, 2012.

RIVERA, L. R.; THACKER, M.; PONTELL, L.; CHO, H. J.; FURNESS, J. B. Deleterious effects of intestinal ischemia/reperfusion injury in the mouse enteric nervous system are associated with protein nitrosylation. **Cell Tissue Res.**, v. 344, p.111–123, 2011.

RIVERA, L. R.; THACKER, M.; CASTELUCCI, P.; BRON, R.; FURNESS, J. B. The reactions of specific neuron types to intestinal ischemia in the guinea-pig enteric nervous. **Acta Neuropathol.**, v. 118, p. 261-270, 2009.

RODRIGUES, D. M.; LI, A. Y.; NAIR, D. G.; BLENNERHASSETT, M. G. Glial cell line-derived neurotrophic factor is a key neurotrophin in the postnatal enteric nervous system. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 23, p. 44-56, 2011.

ROGER, S.; GILLET, L.; BAROJA-MAZO, A.; SURPRENANT, A.; PELEGRIN, P. C-terminal calmodulin-binding motif differentially controls human and rat P2X7 receptor current facilitation. **J Biol Chem.**, v. 285, p.17514-17524, 2010.

ROMANOV, R. A.; ROGACHEVSKAIA, O. A.; KOLESNIKOVA, A. S.; KHOKHLOV, A. A.; KOLESNIKOV, S. S. Permeability of pannexin 1 channels to large anions. **Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova**. v. 12, p. 1578 – 1586, 2012.

RÜHL A. Glial cells in the gut. **Neurogastroenterol. Motil.**, v. 17, p. 777-790, 2005.

RÜHL, A.; NASSER, Y.; SHARKEY, K. A. Enteric Glia. **Neurogastroenterol.**, v. 16, p. 44-49, 2004.

RYOO, S. B.; OH, H. K.; MOON, S. H.; CHOE, E. K.; YU, S. A.; PARK, S. H.; PARK, K. J. Electrophysiological and Mechanical Characteristics in Human Ileal Motility: Recordings of Slow Waves Conductions and Contractions, In vitro. **Korean J Physiol Pharmacol.**, v. 6, p. 533-542, 2015.

RYU, J. K.; MCLARNON, J. G. Block of purinergic P2X(7) receptor is neuroprotective in an animal model of Alzheimer's disease. **Neuroreport.**, v, 19, p. 1715-1719, 2008.

SANDERS, K. M.; WARD, S. M. Nitric oxide as a mediator of nonadrenergic noncholinergic neurotransmission. **Am J Physiol.**, v. 262, p. 379–392, 1992.

SANTOS, C. H. M.; PONTES, J. C. D. V.; GOMES, O. M. Terapêutica medicamentosa na isquemia e reperfusão mesentérica: revisão da literatura. **Rev. Bras. Coloproct.**, v. 26, n. 1, p. 28-33, 2006.

SAROSI, G. A.; BARNHART, D. C.; TURNER, D. J.; MULHOLLAND, M. W. Capacitative Ca²⁺ entry in enteric glia induced by thapsigargin and extracellular ATP. **Am J Physiol.**, v. 275, p. 550–555, 1998.

SASAKI, M.; JOH, T. Oxidative stress and ischemia–reperfusion injury in gastrointestinal tract and antioxidant, protective agents. **J Clin Biochem Nutr.**, v. 40, p. 1-12, 2007.

SAVIDGE, T. C. Enteric glia regulate intestinal barrier function and inflammation via release of S-nitrosoglutathione. **Gastroenterol.**, v. 132, p. 1344-1358, 2007.

SCARABELLI, T. M.; PASINI, E.; STEPHANOU, A.; COMINI, L.; CURELLO, S.; RADDINO, R.; FERRARI, R.; KNIGHT, R.; LATCHMAN, D. S. Urocortin promotes hemodynamic and bioenergetic recovery and improves cell survival in the isolated rat heart exposed to ischemia/reperfusion. **J Am Coll Cardiol.**, v. 40, n. 1, p. 155 -161, 2002.

SCHULZE-LOHOFF, E.; HUGO, C.; ROST, S.; ARNOLD, S. GRUBER, A; BRUNE, B.; STERZEL, R. B. Extracellular ATP causes apoptosis and necrosis of cultured mesangial cells via P2Z/P2X₇ receptors. **Am. J. Physiol.**, v. 275, p. F962-F971, 1998.

SHESTOPALOV, V. I.; SLEPAK, V. Z. Molecular pathways of pannexin1-mediated neurotoxicity. **Front. Physiol.**, v. 11, p. 5-23, 2014.

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

SILVERMAN, W. R.; DE RIVERO VACCARI, J. P.; LOCOVEI, S.; QIU, F.; CARLSSON, S. K.; SCEMES, E.; KEANE, R. W.; DAHL, G. The pannexin 1 channel activates the inflammasome in neurons and astrocytes. **J Biol Chem.**, v. 284, n. 27, p.18143-18151, 2009.

SILVERMAN, W.; LOCOVEI, S.; DAHL, G. Probenecid, a gout remedy, inhibits pannexin 1 channels. **Am J Physiol Cell Physiol.**, v. 295, n. 3, p. 761-767, 2008.

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

SISU, A. M.; PETRESCU, C. I.; CEBZAN, C. C.; NICULESCU, M. C.; NICULESCU, V.; MATUSZ, P. L.; RUSU, M. C. Enteric nervous system development in cavitary viscera allocated to the celiac plexus. **Romanian Journal of Morphology and Embryol.**, v. 49, n. 1, p. 63-67, 2008.

SKAPER, S.D.; FACCI, L.; GIUSTI, P. Mast cells, glia and neuroinflammation: partners in crime? **Immunol.** v. 141, p. 314-327, 2014.

SLONE, E. A.; FLEMING, S. D. Membrane lipid interactions in intestinal ischemia/reperfusion-induced Injury. **Clin Immunol.**, v. 153, n. 1, p. 228-240, 2014.

SONG, Z. M.; COSTA, M.; BROOKES, S. J. H. Projections of submucous neurons to the myenteric plexus in the guinea pig small intestine. **J. Comp. Neurol.**, v. 399, p. 255-268, 1998.

SOOYEON, J. O.; BRUCE, P. B. Inhibition of Neuronal Voltage-Gated Sodium Channels by Brilliant Blue G. **Mol Pharmacol.**, v. 80, n. 2, p. 247-257, 2011.

SOYDAN, G.; SÖKMENSÜER, C.; KILINÇ, K.; TUNCER, M. The effects of sildenafil on the functional and structural changes of ileum induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 610, p. 87-92, 2009.

SPERLÁGH, B.; KOFALVI, A.; DEUCHARS, J. Involvement of P2X₇ receptors in the regulation of neurotransmitter release in the rat hippocampus. **J. Neurochem.**, v. 81, p. 1196-1211, 2002.

SPERLÁGH, B.; ILLES, P. P2X₇ receptor: an emerging target in central nervous system diseases. **Trends Pharmacol Sci.**, v. 35, n. 10, p.537-547, 20014.

SPERLÁGH, B.; VIZI, E. S.; WIRKNER, K.; ILLES, P. P2X₇ receptors in the nervous system. **Prog. Neurobiology**, v. 78, p. 327-346, 2006.

STAGG, J.; SMYTH, M. J. Extracellular adenosine triphosphate and adenosine in cancer. **Oncog.**, v. 29, n. 39, p. 5346-5358, 2010.

STENKAMP-STRAHM, C.; PATTERSON, S.; BOREN. J.; GERICKE, M.; BALEMBA, O. High-fat diet and age-dependent effects on enteric glial cell populations of mouse small intestine. **Auton Neurosci.** v. 177, n.2, p. 199-210, 2013.

STOKES, L.; JIANG, L. H.; ALCARAZ, L.; BENT, J.; BOWERS, K.; FAGURA, M.; FURBER, M.; MORTIMORE, M.; LAWSON, M.; THEAKER, J.; LAURENT C.; BRADDOCK, M.; SURPRENANT, A. Characterization of a selective and potent antagonist of human P2X(7) receptors, AZ11645373. **Br J Pharmacol.**, v. 149, n. 7, p. 880-887, 2006.

SURPRENANT, A.; NORTH, R. A. Signaling at purinergic P2X receptors. **Annu Rev Physiol.**, v. 71, p. 333–359, 2009.

SWANSON, R. A.; GRAHAM, S. H. Fluorocitrate and fluoroacetate effects on astrocyte metabolism in vitro. **Brain Res.**, v. 664, p.94–100, 1994.

TAKEYOSHI, I.; ZHANG, S.; NAKAMURA, K.; IKOMA, A.; ZHU, Y.; STARZL, T.E.; T ODO, S. Effect of ischemia on the canine large bowel: a comparison with the small intestine. **J Surg Res.**, v.62, p.41, 1996.

TAN, L. L.; BORNSTEIN, J. C.; ANDERSON, C. R. The neurochemistry and innervations patterns of extrinsic sensory and sympathetic nerves in the myenteric plexus of the C57BL6 mouse jejunum. **Neurosc.**, v. 166, p. 564-579, 2010.

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

TODA, N.; BABA, H.; OKAMURA, T. Role of nitric oxide in non-adrenergic, non-cholinergic nerve mediated relaxation in dog duodenal longitudinal muscle strips. **Jpn J Pharmacol.**, v. 53, p. 281–284, 1990.

UESAKA, T.; NAGASHIMADA, M.; ENOMOTO, H. Neuronal differentiation in schwann cell lineage underlies postnatal neurogenesis in the enteric nervous system. **J. Neurosci.**, v. 35, p. 9879-9888, 2015.

VAN CROMBRUGGEN, K.; VAN NASSAUW, L.; TIMMERMANS, J. P.; LEFEBVRE, R. A. Inhibitory purinergic P2 receptor characterisation in rat distal colon. **Neuropharmacol.**, v. 53, p. 257-271, 2007.

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

VELASQUEZ, S.; EUGENIN, E. A. Role of Pannexin-1 hemichannels and purinergic receptors in the pathogenesis of human diseases. **Front Physiol.**, v. 14, p. 5 - 96, 2014.

VERKHRATSKY A.; BUTT A.M. **Glial Neurobiology**, John Wiley & Sons; Chichester, UK, 2007, 214 p.

VERKHRATSKY, A., O. A. KRISHTAL. Purinoceptors on neuroglia. **Mol Neurobiol.**, v. 39, n. 3, p. 190-208, 2009.

VIAL, C.; ROBERTS, J. A.; EVANS, R. J. Molecular properties of ATP-gated P2X receptor ion channels. **Trends Pharmacol Sci.**, v. 25, n. 9, p. 487 - 493, 2004.

VIRGINIO, C.; CHURCH, D.; NORTH, R. A.; SURPRENANT, A. Effects of Divalent Cations, Protons and Calmidazolium at the Rat P2X₇ Receptor. **Neuropharmacol.**, v.36, p. 1285-1294, 1997.

VOLLMAR, B.; MENGER, M. D. Intestinal ischemia/reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences. **Langenbecks Arch Surg.**, v. 396, p. 13-29, 2011.

VOLONTÉ, C.; D'AMBROSI, N. Membrane compartments and purinergic signalling: the purione, a complex interplay among ligands, degrading enzymes, receptors and transporters. **FEBS Journ.**, v. 33, p. 265-271, 2009.

VOLONTÉ, C.; APOLLONI, S.; SKAPER, S. D.; BURNSTOCK, G. P2X₇ receptors: channels, pores and more. **CNS Neurol Disord Drug Targets.**, v. 11, n. 6, p. 705-721, 2012.

VON BAHTEN, L. C.; MANTOVANI, M.; NICOLUZZI, J. E. L.; SILVEIRA, F.; VON BAHTEN, A. C. Heat loss caused by bowel exposition to room temperature in rats. **Rev. Col. Bras. Cir.**, v. 33, p. 265-271, 2006.

VON BOYEN, G. B.; STEINKAMP, M.; REINSHAGEN, M.; SCHAFFER, K. H.; ADLER, G.; KIRSCH, J. Proinflammatory cytokines increase glial fibrillary acidic protein expression in enteric glia. **Gut**, v. 53, p. 222-228, 2004.

VON BOYEN, G.; STEINKAMP, M. The role of enteric glia in gut inflammation. **Neuron glia biol.**, v. 6, n. 4, p. 231-236, 2011.

VULCHANOVA, L.; ARVIDSSON, U.; RIEDHL, M.; WANG, J.; BUELL, G.; SUPRENANT, A.; NORTH, R. A. Differential distribution of two ATP-gated ion channels P2x receptors determined by immunohistochemistry. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 93, p. 8063-8067, 1996.

WANG, J.; LIU, S.; NIE, Y.; WU, B.; WU, Q.; SONG, M.; TANG, M.; XIAO, L.; XU, P.; TAN, X.; ZHANG, L.; LI, G.; LIANG, S.; ZHANG, C. Activation of P2X₇ receptors decreases the proliferation of murine luteal cells. **Reprod. Fertil. Dev.** v. 27, n.8, p. 1268-1271, 2015.

WATANABE, I.; YAMADA, E. The fine structure of lamellated nerve endings found in the rat gingival. **Archivum Histologicum Japonicum**, v. 46, p. 173-182, 1983.

WEI, R.; WANG, J.; XU, Y.; YIN, B.; HE, F.; DU, Y.; PENG, G.; LUO, B. Probenecid protects against cerebral ischemia/reperfusion injury by inhibiting lysosomal and inflammatory damage in rats. **Neuroscience**. v. 301, p. 168-177, 2015.

WILLOUGHBY, J. O.; MACKENZIE, L.; BROBERG, M.; THOREN, A. E.; MEDVEDEV, A.; SIMS, N. R.; NILSSON, M. Fluorocitrate-mediated astroglial dysfunction causes seizures. **J Neurosci Res.**, v.74, p.160–166, 2003.

XIA, J.; LIM, J. C.; LU, W.; BECKEL, J. M.; MACARAK, E. J.; LATIES, A. M.; MITCHELL, C. H. Neurons respond directly to mechanical deformation with pannexin-mediated ATP release and autostimulation of P2X7 receptors. **J. Physiol.**,v. 590, n. 10, p. 2285–2304, 2012.

XIONG, X. X.; GU, L. J.; SHEN, J.; KANG, X. H.; ZHENG, Y. Y.; YUE, S. B.; ZHU, S.M. Probenecid protects against transient focal cerebral ischemic injury by inhibiting H MGB1 release and attenuating AQP4 expression in mice. **Neurochem Res.**, v. 39, n. 1, p.216 - 224, 2014.

XU, X.; LI, D.; GAO, H.; GAO, Y.; ZHANG, L.; DU, Y.; WU, J.; GAO, P. Protective effect of the traditional Chinese medicine xuesaitong on intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. **Int J clin Exp Med.**, v. 8, n. 2, p. 1768-1779, 2015.

YAN, Z.; KHADRA, A.; SHERMAN, A.; STOJILKOVIC, S. S.; Calcium-dependent block of P2X7 receptor channel function is allosteric. **J Gen Physiol.**, v.138, p. 437-452, 2011.

YANG, D.; HE, Y.; MUÑOZ-PLANILLO, R.; LIU, Q.; NÚÑEZ, G. Caspase-11 requires the pannexin-1 channel and the purinergic P2X7 pore to mediate pyroptosis and endotoxic shock. **Immunity.**, v. 43, n. 7, p. 923-932, 2015.

YASUHARA H. Acute mesenteric ischemia: the challenge of gastroenterology. **Surg Today.**, v. 35, p.185–195, 2005.

YU, Q.; GUO, Z.; LIU, X.; OUYANG, Q.; HE, C.; BURNSTOCK, G.; YUAN, H.; XIANG, Z. Block of P2X7 receptors could partly reverse the delayed neuronal death in area CA1 of the hippocampus after transient global cerebral ischemia. **Purinergic Signal.**, v. 9, n. 4, p. 633-675, 2013.