



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ - *CAMPUS* DE SOBRAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MARIA SOCORRO CARNEIRO

PAPEL PERIFÉRICO E CENTRAL DOS RECEPTORES P₂X₇ NOS
MECANISMOS DE DOR NOCICEPTIVA NA ATM DE RATOS

SOBRAL - CEARÁ

2023

MARIA SOCORRO CARNEIRO

**PAPEL PERIFÉRICO E CENTRAL DOS RECEPTORES P₂X₇ NOS
MECANISMOS DE DOR NOCICEPTIVA NA ATM DE RATOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação – Mestrado em Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, sob orientação do Dr. Vicente de Paulo Teixeira Pinto e co-orientação da Dra. Hellíada Vasconcelos Chaves.

SOBRAL - CE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C289p Carneiro, Maria Socorro.
PAPEL PERIFÉRICO E CENTRAL DOS RECEPTORES P2X7 NOS MECANISMOS DE DOR
NOCICEPTIVA NA ATM DE RATOS / Maria Socorro Carneiro. – 2023.
64 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Sobral, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Prof. Dr. Vicente de Paulo Teixeira Pinto.

Coorientação: Profa. Dra. Profa. Dra. Hellíada Vasconcelos Chaves.

1. Articulação temporomandibular; . 2. Inflamação;. 3. Dor; . 4. receptores P2X7.. I. Título.

CDD 610

MARIA SOCORRO CARNEIRO

**PAPEL DOS RECEPTORES P₂X₇ NOS MECANISMOS DE DOR
NOCICEPTIVA NA ATM DE RATOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação – Mestrado em Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, sob orientação do Dr. Vicente de Paulo Teixeira Pinto e co-orientação da Dra. Hellíada Vasconcelos Chaves.

Aprovada em: __/__/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Vicente de Paulo Teixeira Pinto (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Hellíada Vasconcelos Chaves (Co-orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Francisco Walber Ferreira da Silva (Examinador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. José Jackson do Nascimento Costa (Examinador)
Centro Universitário Inta (UNINTA)

Dedico este trabalho a meus filhos, o melhor de mim, meus pais, minha base, meu essencial, ao esposo pela parceria ao longo do mestrado.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo cumprimento do desejo do meu coração desde o tempo de graduação - meu mestrado.

Aos professores Hellíada, Nuno e Jackson por acreditarem em mim diante de minhas limitações, e dificuldades.

Aos meninos da iniciação científica, por todo acolhimento e prontidão para sempre me ajudar.

A mim mesma por não ter desistido de mim e dos meus sonhos mesmo quando tudo e todos me diziam que não conseguiria voar tão alto.

RESUMO

A família de corantes Brilliant Blue dispõe de diversos representantes entre eles, cabe destacar o BBG (Brilliant Blue G). O composto é o antagonista mais seletivo e potente para o receptor P_2X_7 , possui baixa toxicidade e a alta seletividade para bloquear os efeitos adversos da ativação do receptor P_2X_7 . O objetivo do presente trabalho foi estudar papel dos receptores P_2X_7 nos mecanismos de dor nociceptiva na ATM de ratos. O protocolo experimental foi aprovado pela CEUA-UFC Campus Sobral (14/2020). 80 animais ($n=5$) foram pré-tratados (i.p) com salina (0,9%) ou Brilliant Blue G (50 mg/kg), antagonista seletivo dos receptores P_2X_7 , ou indometacina (5mg/kg), anti-inflamatório não-esteroidal. Após 1h, foi aplicada injeção intra-articular (i.a.) de salina (50 μ L, 0,9%) ou formalina (50 μ L, 1,5 %) na ATM esquerda, após breve (30s) anestesia com isoflurano (3%). O comportamento nociceptivo foi avaliado por 45 min. Imediatamente após as análises comportamentais, os ratos foram anestesiados com ketamina:xilazina (90:10 mg/kg, i.p.). Após a eutanásia, o gânglio trigeminal (GT) e subnúcleo caudal (SC) foram removidos para a análise da expressão dos níveis de mRNA dos receptores P_2X_7 e das citocinas TNF- α , IL-1 β e IL-6 por q-RT-PCR. Os dados foram expressos como média \pm EPM. Dados paramétricos foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo pós-teste Tukey's multiple comparisons. O tratamento com BBG reduziu dor nociceptiva ($p<0,0001$), e a expressão do genes do receptor P_2X_7 ($P<0,002$) e das citocinas TNF- α e IL-1 β ($P<0,0001$), quando comparado ao grupo formalina, tanto no GT quanto no SC. O BBG apresentou potencial efeito antinociceptivo no bloqueio de receptores P_2X_7 através da redução da expressão gênica de citocinas tanto em SN periférico quanto central, contudo o estudo crônico de hipernocicepção na ATM se fazem necessários.

Palavras chave: Articulação temporomandibular; Inflamação; Dor; receptores P_2X_7 .

ABSTRACT

Nociceptive pain in the temporomandibular joint (TMJ) is present in many clinical conditions. P₂X₇ receptors are involved in TMJ nociception, however the mechanism that involves these receptors in the pathophysiology of inflammatory TMJ pain is still unclear. The objective of the present work was to study the role of P₂X₇ receptors in the mechanisms of nociceptive pain in the TMJ of rats. The experimental protocol was approved by CEUA-UFC Campus Sobral (14/2020). 40 animals (n=5) were pre-treated (i.p) with saline (0,9%) or Brilliant Blue G (50 mg/kg), selective P₂X₇ receptor antagonist, or indomethacin (5mg/kg), non-steroidal anti-inflammatory drug. -steroidal. After 1h, an intra-articular (I.A) injection of saline (50 uL, 0,9%) or formalin (50 uL,1,5%) was applied in the left TMJ, after a brief (30s) anesthesia with isoflurane (3%). Nociceptive behavior was assessed for 45 min. Immediately after the behavioral analyses, the rats were anesthetized with ketamine:xylazine (90:10 mg/kg, i.p). After euthanasia, the trigeminal ganglion (GT) and caudal subnucleus (SC) were removed for analysis of the expression of mRNA levels of P₂X₇ receptors and cytokines TNF- α , IL-1 β and IL-6 by q-RT-PCR. Data were expressed as mean \pm SEM. Parametric data were analyzed by Analysis of Variance (ANOVA) followed by the Tukey post-test's multiple comparisons. BBG treatment reduced nociceptive pain (P<0,0001), and expression of the P₂X₇ receptor gene (P<0,002) and TNF- α cytokines and IL-1 β (P<0,0001), when compared to the formalin group, both in GT and SC. BBG had a potential antinociceptive effect in blocking P₂X₇ receptors by reducing gene expression of cytokines in both peripheral and central SN, however, the chronic study of TMJ hypernociception is necessary.

Keywords: Temporomandibular joint; Inflammation; Pain; P₂X₇ receptors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Articulação Tempomandibular	14
Figura 2.	Via Nociceptiva da dor na ATM	20
ARTIGO		
Figura 1.	Efeito do BBG sobre a hipernocicepção da ATM induzida por formalina.	36
Figura 2.	Efeito do BBG sobre a expressão gênica do receptor P ₂ X ₇ no GT e SC por qRT	37
Figura 3.	Efeito do BBG sobre a expressão gênica de TNF- α no GT e no SC por qRT-PCR	38
Figura 4.	Efeito do BBG sobre a expressão gênica de IL-1 no GT e no SC por qRT - PCR.	39
Figura 5.	Efeito do BBG sobre a expressão gênica de IL-6 no GT e no SC por qRT - PCR.	40

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
ATM	Articulação Temporomandibular
ATP	Adenosina trifosfato
BBG	Brilliant Blue G
DTM	Disfunção temporomandibular
EPM	Erro Padrão da Média
i.a	intra-articular
ip	Intraperitoneal
IL-1β	Interleucina-1 beta
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
NO	Oxido Nítrico
RNA_m	Ácido Ribonucléico mensageiro
SNC	Sistema Nervoso Central
SN	Sistema Nervoso
TNF-α	Fatores de Necrose Tumoral Alfa
UFC	Universidade Federal do Ceará

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
	2.1 Articulação Temporomandibular (ATM).....	14
	2.2 Disfunção Temporomandibular (DTM).....	15
	2.3 Dor e Inflamação.....	16
	2.3.1 Fisiologia da Dor Orofacial.....	18
	2.3.2 Fisiopatologia da Dor Orofacial.....	20
	2.4 Receptores P₂X₇.....	21
	2.4.1 Receptores P₂X₇ na Inflamação.....	24
	2.4.2 Receptor P₂X₇ e Dor Orofacial	25
	2.5 Brilliant Blue G (BBG): Antagonista Receptores P₂X₇	26
3	ARTIGO: PAPEL DOS RECEPTORES P₂X₇ NOS MECANISMOS DE DOR E INFLAMAÇÃO NA ATM DE RATOS	30
	REFERENCIAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

A articulação temporomandibular (ATM) atua bilateral e simultaneamente para realizar os movimentos mandibulares, importantes à fala, deglutição, respiração e expressão facial, essenciais à vida humana. Quando acometida, desencadeia-se o quadro de disfunção temporomandibular (DTM), que engloba um grupo de condições musculoesqueléticas e neuromusculares envolvendo a ATM, os músculos mastigatórios e todos os tecidos associados (GREENE et al., 2010). A etiologia da DTM é multifatorial, e se sabe que está relacionada à presença de fatores de risco como traumas, hábitos parafuncionais, predisposição genética, alterações sistêmicas, distúrbios do sono e alterações psicossociais. Os sinais e sintomas mais comuns são ruídos articulares (estalidos e crepitações), desvios mandibulares durante a abertura e fechamento bucal, limitação ou dificuldade de movimentos mandibulares, dor na ATM, cefaleias e sensibilidade à palpação nos músculos da mastigação e/ ou cervicais, apresentando uma maior prevalência em mulheres (FERREIRA et al., 2016).

A sensibilização dos nociceptores na região orofacial, transmite o estímulo através das ramificações do nervo trigêmeo, cujo corpo celular se situa no gânglio trigeminal, para as estruturas superiores do sistema nervoso central (SNC), onde componentes do tronco cerebral participam da modulação e transmissão da informação nociceptiva. Dentre essas estruturas, o subnúcleo caudal do trato espinhal do trigêmio é o principal local de transmissão da informação nociceptiva da região orofacial, onde ocorre modulação e sensibilização dos neurônios de segunda ordem que podem ascender e estimular o tálamo e córtex cerebral, sendo interpretado como dor (SESSLE, 2005).

Os mecanismos da dor relacionados às DTMs envolvem vias nociceptivas orofaciais que compreendem mecanismos complexos de neurotransmissão, levando à liberação de mediadores inflamatórios como citocinas: interleucina - 6 (IL-6), fator de necrose tumoral - α (TNF- α), interleucina - 1 β (IL-1 β), interleucina - 8 (IL-8) (KELLIESARIAN et al., 2016), serotonina, histamina, bradicinina, substância P, óxido nítrico (NO), eicosanoides e adenosina trifosfato (ATP) importantes nas condições álgicas por vias periféricas e centrais (SESSLE et al., 2005). Mediadores químicos que compõem a inflamação podem ser estimulados por células do sistema nervoso (SN), funcionando como estímulo da resposta inflamatória, o que indica que a inflamação não ocorre somente através de mecanismos periféricos, mas também centrais (HE et al., 2017).

Sobre condições de lesão celular, o ATP liberado das células danificadas pode exercer

efeitos deletérios direto aos neurônios, ou pode agir como modulador de processos inflamatórios mediados pelas células microgлияis, envolvidas no estabelecimento de várias condições patológicas. O ATP extracelular age através de receptores P_2 , que compreende sete subunidades de receptores P_2X ionotrópicos (Canais de íons dependentes de ligantes (P_2X_{1-7})), formados por receptores monoméricos e heteroméricos, e oito de receptores P_2Y metabotrópicos (Esses receptores não são canais iônicos ($P_2Y_{1, 2, 4, 6, 11, 12, 13, 14}$)) (LAZAROWSKI; BOUCHER; HARDEN, 2003).

Os receptores P_2X_7 encontram-se amplamente distribuídos em quase todos os tipos celulares como micrógлия, astrócitos e neurônios desempenhando as mais diferentes funções e apresentando um importante papel no desenvolvimento dos processos inflamatórios por modularem a produção de citocinas, mediadores pró-inflamatórios e espécies reativas de oxigênio, como ânion superóxido e peróxido de hidrogênio (TOULME et al., 2010). Além disso, uma prolongada ativação dos receptores P_2X_7 resulta na formação de um poro na membrana plasmática, que permite a passagem de moléculas maiores que 900 Da, levando à morte celular (PUCHAŁOWICZ et al., 2014).

Em astrócitos, os receptores P_2X_7 agem induzindo a liberação de gliotransmissores, como o glutamato, enquanto na micrógлия estimulam o processamento e liberação de citocinas como a IL-1 β , que está envolvida na neuroinflamação. Esses receptores demonstraram ainda estimular a transcrição do fator nuclear kappa B (NF- κ B), TNF- α e proteínas quinases ativadas por estresse. Além disso, o ATP é um importante mediador na co-transmissão da informação sensória do sistema nervoso periférico para o central, e já foi descrito que os receptores P_2X_7 desempenham uma importante função em outros tipos de dores (SKAPER; DEBETTO; GIUSTI, 2010).

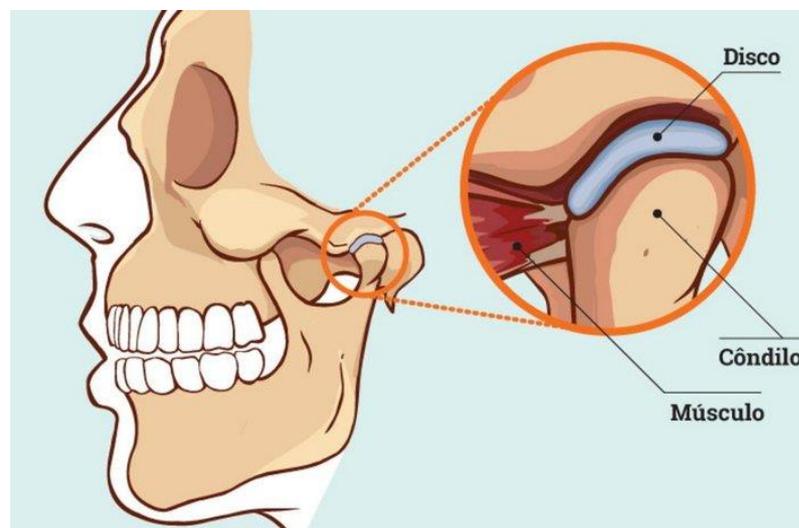
Para um melhor entendimento da importância deste trabalho, a seguir serão abordados aspectos relacionados à articulação temporomandibular, disfunção temporomandibular, dor e inflamação, fisiologia da dor orofacial, receptores P_2X_7 , receptores P_2X_7 na inflamação, receptor P_2X_7 e dor orofacial, Brilliant Blue G (BBG): antagonista dos receptores P_2X_7 .

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Articulação Temporomandibular (ATM)

Dentre os ossos craniofaciais, a mandíbula é o único que forma uma articulação móvel com o crânio, a ATM, responsável pelas funções de mastigação, fala e comunicação (SANTOS; BORGES, 2018).

Figura 01: Articulação Temporomandibular (ATM)



Fonte: Imagens Google

A ATM é uma articulação bilateral, composta pela articulação entre a mandíbula e o osso temporal. A estrutura óssea é composta por superfícies articulares, côndilo mandibular e cavidade glenoide do temporal, com interposição de um disco fibrocartilaginoso, o disco articular (STANDRING, 2008), além de tecidos moles como disco articular, cartilagem articular, membrana sinovial, tecidos retrodiscais, estruturas vasculares e nervosas. A ATM é dividida em duas cavidades diferentes: cavidade superior formada pela fossa mandibular e superfície superior do disco articular, e cavidade inferior entre superfície inferior do disco articular e cabeça da mandíbula (SILVA, 2016).

Dentre as muitas articulações presentes no corpo humano, a ATM é uma das mais complexas. De acordo com Sartoretto et al. (2012), a ATM, ao longo dos anos, vai experimentando alterações em sua estrutura, o que se conhece como processo de remodelação óssea, ocasionado pelos esforços realizados por esta articulação.

Os principais músculos responsáveis pela execução dos movimentos mandibulares são: o masseter, o temporal, o pterigoideo medial e o pterigoideo lateral (TORTORA; NIELSEN 2013). Os movimentos mandibulares têm como função primordial desempenhar pressão por sobre os dentes, a fim de que estes possam triturar os alimentos facilitando assim o processo de digestão, além dos importantes processos da fala e expressão facial. Para tanto ocorrem movimentos verticais e laterais mandibulares de forma a efetuar uma trituração eficiente (STANDRING, 2008; OKESON, 2008).

Para que esses movimentos mandibulares aconteçam, existem dois sistemas articulares responsáveis pelos movimentos executados pela ATM, o complexo côndilo-disco, que é responsável pelos movimentos rotacionais da articulação por meio dos ligamentos retrodiscais superiores e fibras do músculo pterigoide lateral superior, e o complexo côndilo-disco que atua articulando com a fossa. Manter a constante atividade dos músculos elevadores da mandíbula e os sistemas em contato é um mecanismo fisiológico desenvolvido pelo organismo para manter a estabilidade necessária a mandíbula. Para isso, os músculos ficam em constante estado de contração leve, o qual denominamos tônus muscular. O tônus, por sua vez, mantém a comunicação constante do côndilo-disco, e deste complexo com a cavidade glenoide, garantindo que a articulação se mantenha estável, junto ao côndilo em uma posição central em relação ao disco (OKESON, 2008).

2.2 Disfunção Temporomandibular (DTM)

A Disfunção Temporomandibular (DTM) é definida como um grupo de alterações relacionadas aos músculos mastigatórios e estruturas associadas (FERREIRA, et al., 2014; XU, et al., 2018; ALVES et al., 2021). Estudos apontam que dentre as causas de DTM encontram-se bruxismo, hábitos parafuncionais como onicofagia, sucção digital questões emocionais, alterações do sono, condições genéticas e traumas (DE MIRANDA COSTA, et.al., 2010; BARRETO et.al., 2010).

A dor associada às DTMs é a maior causa de procura por tratamento (FIQUEIREDO et al., 2009; FELICIO et al., 2009; ALVES et al., 2021). Os sinais e sintomas de pacientes com DTM inclui dor na musculatura da face, na ATM e na e região cervical, limitação e/ou incoordenação de movimentos mandibulares, ruídos articulares, e dificuldade na mastigação (FIQUEIREDO et al., 2009; FERREIRA, et al., 2014). Esses sinais e sintomas interferem diretamente na sua qualidade de vida, causando perdas de dias de trabalho e produtividade comprometida (MATIAS, et al., 2014). (FELICIO et al., 2009; FERREIRA, 2016).

O diagnóstico da DTM inclui instrumentos clínicos norteadores como questionários, índices anamnésicos e critérios de diagnóstico (DWORKIN & LERESCHE, 1992). Sobretudo a avaliação funcional ainda é a principal etapa no processo diagnóstico, por ser ela determinante na definição do tratamento individualizado (FERREIRA, 2019). A avaliação clínica com o objetivo de determinar como se encontram as funções orofaciais no momento que o indivíduo busca atendimento especializado é primordial (FELÍCIO & FERREIRA, 2008; FELICIO, 2012).

Atualmente há diversos tratamentos disponíveis para DTMs, entretanto, a avaliação clínica para conclusão diagnóstica por um profissional habilitado é primordial, para que o tratamento adequado seja aplicado. Baseado na literatura que refere ser as causas das DTMs multifatoriais, é recomendado que o primeiro plano de tratamento a ser escolhido deve ser conservador, reversível e não invasivo (GREENE, et al., 2010; BONTEMPO & ZAVANELLI, 2011; REID & GREENE, 2013). O plano de tratamento conservador, inclui orientações de autocuidado, intervenções psicológicas, terapia farmacológica, fisioterapia, acupuntura, laserterapia de baixa intensidade, placas de oclusão, exercícios musculares e terapias manuais (REID & GREENE, 2013). Já as terapias consideradas invasivas englobam manipulação mandibular assistida com aumento da pressão hidrostática ou artrocentese; enquanto que técnicas como artroscopia, artroplastia ou discoplastias e artrotomia são classificados como procedimentos invasivos (AL-BAGHDADI et al., 2014). Nessa perspectiva, é eminente a necessidade de pesquisas que busquem novos tratamentos que compreendam a fisiopatologia das DTMs se fazem essenciais (KUROIWA, 2011).

2.3. Dor e Inflamação

Ao longo da história da humanidade e, com o conseqüente processo evolutivo do ser humano, ocorreu o desenvolvimento de diversos processos fisiológicos a fim de garantir a sobrevivência da espécie humana. Entre esses processos, cabe destacar a dor como sinal de alerta para que o indivíduo reconheça quando a harmonia existente no organismo entre os muitos sistemas e tecidos está em desequilíbrio (MATTAR et al., 2014). A *International Association for the Study of Pain* (IASP) formulou a primeira definição para dor, que foi reformulada em 2020 e definida como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano real ou potencial ao tecido, ou descrita em termos de tal dano” (IASP, 2020). A dor também apresenta uma classificação que se fundamenta em três grupos baseados em mecanismos: dor nociceptiva, nociplástica e neuropática.

A dor nociceptiva ocorre quando estímulos nocivos advindos de agentes físicos como calor, frio, força mecânica intensa, agentes químicos ou agentes biológicos estimulam diretamente os neurônios sensoriais nociceptivos havendo liberação de mediadores inflamatórios aumentando a atividade dos nociceptores periféricos, podendo levar a respostas inflamatórias locais (ANANTHAN & BENOLIEL, 2020).

Já dor nociplástica é descrita como a dor resultante de uma nocicepção em desequilíbrio, mesmo sem que haja nenhum indício de lesão tecidual real ou ameaça desta, o que levaria à ativação de nociceptores periféricos, nem tampouco qualquer sinal evidente de doença ou lesão do sistema somatossensorial que fosse capaz de desencadear o processo de dor (KOSEK et al., 2016). A expressão “dor nociplástica” foi inserida pela IASP em 2017 como uma terceira definição de dor mecanicista, além da dor nociceptiva e neuropática. Apesar de a sensibilização central ser possivelmente um mecanismo predominante em episódios de dor nociplástica, cabe salientar que a expressão dor nociplástica não é sinônimo do termo neurofisiológico “sensibilização central” (KOSEK et al., 2016).

A dor neuropática é causada por doença ou lesão nos nervos, e, na região orofacial, relacionada a nervos que inervam a região, como nervo trigêmeo, ou 5º par de nervos cranianos (NCV), principal nervo sensitivo que inerva a região orofacial. A dor neuropática pode causar aumento da sensibilização periférica, alteração na estrutura e aumento da ativação de canais iônicos como o canal de sódio e de cálcio dos nervos afetados levando a descargas ectópicas e dor espontânea, além de alodinia e hiperalgesia. Ademais, há ativação das células da glia tanto no sistema nervoso periférico como no central (FEHÉR et al., 2019; JAASKELAINEN, 2019).

A inflamação, por sua vez, é descrita como uma resposta do sistema imunológico que, ao perceber estímulos nocivos, como patógenos, células danificadas, compostos tóxicos ou físicos como irradiação (MEDZHITOV, 2010), irá atuar finalizando no processo de cicatrização (FERRERO et al., 2007). Neste sentido, a inflamação é um mecanismo de defesa essencial à saúde, porém danosa se seguir um curso crônico (NATHAN & DING, 2010). No processo de inflamação aguda, ocorre vasodilatação, aumento do fluxo sanguíneo, aumento de permeabilidade capilar e de migração de neutrófilos para o tecido inflamado através da parede capilar (diapedese). Quando se verificam os sinais de inflamação crônica, distinguem-se dentre eles a infiltração das células inflamatórias primárias, presença de macrófagos, linfócitos e células plasmáticas no local do tecido, acarretando no aumento de citocinas inflamatórias, fatores de crescimento e enzimas, levando ao avanço do dano tecidual instalado com consequente reparo secundário, resultando em fibrose e formação de granuloma, etc (YOUSUF, et al., 2019; MILENKOVIC, et al., 2019; CUTOLO, 2019; NEEDHAM, 2019).

Como resposta ao processo inflamatório (agudo/crônico), células imunes como macrófagos e células dendríticas liberam citocinas como IL-1 β e TNF- α . Essas citocinas induzem as células endoteliais do local da lesão a liberar selectinas e integrinas que estimulam a quimiotaxia e a diapedese dos leucócitos circulantes. Neste processo também é possível verificar o recrutamento de leucócitos, macrófagos do tecido e células dendríticas que têm papel na eliminação do antígeno por meio da fagocitose, liberação de citocinas, tendo ainda a função de servir como células que irão apresentar os antígenos para os linfócitos (PAHWA, et al., 2018).

Embora haja diferença funcional na sequência de liberação de citocinas em ratos e camundongos, um grupo de citocinas é comum a ambas as espécies tendo esses papéis na lesão e na indução de hipernocicepção. Essas citocinas atuam de forma distinta em seu mecanismo de ação, mas o efeito final é indireto e mediado pela liberação de prostanóides e aminas simpatomiméticas (CUNHA et al., 2005).

2.4 Fisiologia da Dor Orofacial

A fisiologia das vias da dor orofacial envolve neurônios aferentes primários, gânglio trigeminal, estruturas do tronco cerebral e funções cerebrais superiores que atuam na regulação da nocicepção orofacial (ROTPENPIAN & YAKKAPHAN, 2021). Os principais nociceptores envolvidos na dor orofacial são basicamente acoplados às fibras A δ mielinizadas e fibras C não mielinizadas, e seus corpos celulares estão localizados no gânglio do nervo trigêmeo (GT) (SESSLE, 2011). Esses nociceptores são ativados por meio de estímulos nocivos, em que as fibras nociceptivas conduzirão os impulsos nervosos originados de suas terminações nociceptivas para os córtices somatossensorial e límbico, por meio do núcleo espinal do trigêmeo e do tálamo (HUFF & DALY, 2020).

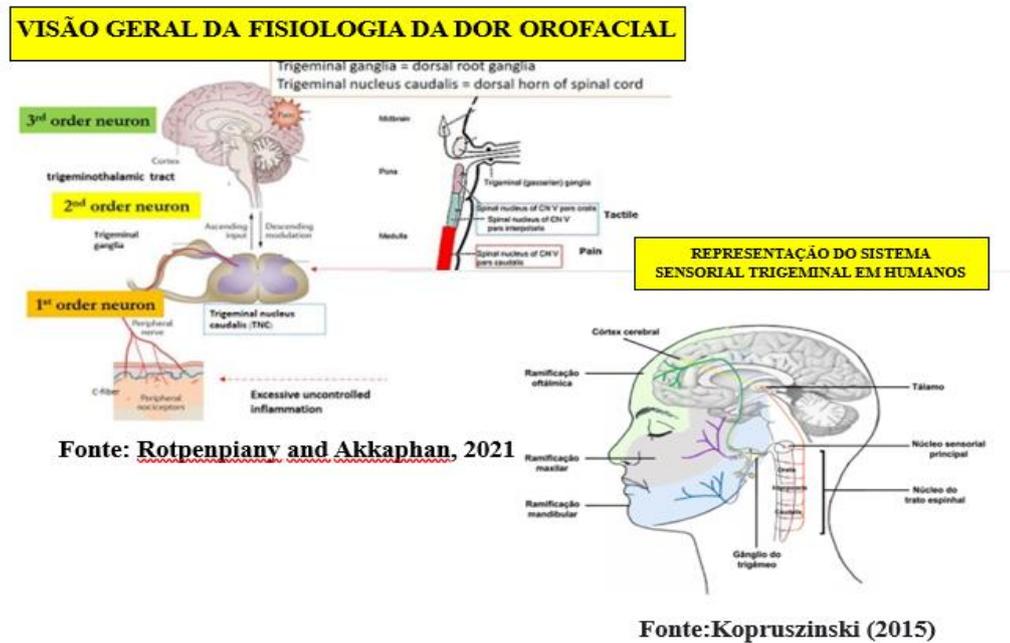
Durante o processo fisiopatológico da dor orofacial, os nociceptores periféricos recebem estímulos nocivos que farão a transdução do estímulo em potencial de ação, quando os neurônios de primeira ordem no nervo trigêmeo vão atuar na transmissão desse sinal elétrico da periferia ao tronco encefálico, passando pelo gânglio trigeminal (HUFF & DALY, 2020). O gânglio trigeminal assemelha-se aos gânglios da raiz dorsal da medula espinal (ARMSTRONG & HERR, 2020), corresponde ao local onde se situam os corpos celulares dos neurônios aferentes primários e está envolvido diretamente no processo fisiológico e fisiopatológico da dor (HUFF & DALY, 2020).

Logo após os neurônios de primeira ordem enviarem o sinal nociceptivo ao sistema nervoso central, este será recebido por neurônios de segunda ordem situados no tronco encefálico. Composto o complexo trigeminal no tronco encefálico, há três grupos de núcleos: núcleo sensitivo principal, núcleo motor e núcleo do trato espinal do trigêmio (JOHN, 1990; WILKINSON, 2014).

As fibras trigeminais primárias do gânglio trigeminal projetam-se para os núcleos trigeminal localizados dentro do tronco encefálico. O núcleo do trato espinal do nervo trigêmeo continua caudalmente com a substância gelatinosa da coluna dorsal da medula espinhal e é dividido em três subnúcleos: o oral, o interpolar e o caudal. O subnúcleo caudal está convencionalmente associado ao calor e a estímulos nocivos, transportados principalmente pelo 5º nervo craniano (SESSLE, 2000).

Depois de passar pelos neurônios de segunda ordem, os impulsos elétricos nociceptivos serão repassados para os neurônios de terceira ordem no tálamo através do trato trigeminotalâmico ventral (VAN DER BILT et al., 2006; WILKINSON, 2014; BADEL et al., 2019). A partir do tálamo, o impulso elétrico nociceptivo é direcionado ao córtex somatossensorial, onde é interpretado como dor. Em resposta ao estímulo doloroso, neurônios do tronco encefálico também são capazes de modular a via da dor ao enviar sinais somatossensoriais através da substância cinzenta periaquedutal, locus coeruleus e medula ventromedial rostral (ARENDRT-NIELSEN et al., 2018), ativando assim a via descendente modulatória da dor desde o córtex somatossensorial até o subnúcleo caudal trigeminal (SESSLE, 1987).

Figura 2:



p

A via descendente, ao ser ativada, envia sinais para o subnúcleo caudal trigeminal que, em resposta, libera serotonina, norepinefrina, produz encefalina ou peptídeos opióides ou endocanabinoides. Essas substâncias liberadas levam à redução da dor (ESPINOSA-SANCHEZ et al., 2020).

O processo de dor na ATM pode estar relacionado a pequenas mudanças anatômicas no subnúcleo caudal trigeminal, bem como alteração em suas projeções aferentes e eferentes, e alterações em áreas associadas à modulação descendente da dor. Essas alterações neurais podem estar subjacentes à função neuronal anormal que se acredita iniciar ou manter a dor crônica (WILCOX et al., 2015).

2.5 Fisiopatologia da Dor Orofacial

A fisiopatologia da dor orofacial está diretamente relacionada ao nervo trigêmeo e à via trigeminal que, juntas, levam à alteração da percepção de dor na região do córtex somatossensorial (ROTPENPIAN & YAKKAPHAN, 2021).

A inflamação que se estabelece ocorre com a participação de células neuronais e não neuronais, como células endoteliais, fibroblastos, células dendríticas, mastócitos, macrófagos e células da glia que, ao serem ativadas, liberam muitos mediadores como citocinas, quimiocinas, fator de crescimento do nervo, bradicinina, prostaglandinas e ATP (MACHELSKA, 2006; RITTNER, et al., 2005). Também a ativação de vários canais iônicos e proteínas quinases,

como potencial receptor transiente vaniloide 1 (TRPV1), proteína quinase A e proteínas quinases ativadas por mitogênio (MAPKs) são responsáveis pelo surgimento e estabelecimento da dor e hiperalgesia (ALEY & LEVINE, 1999; OBATA & NOGUCHI, 2004; SCRIVANI & SPIERINGS, 2016).

As células da glia são estruturas essenciais no processamento e sinalização da dor e são responsáveis pela instalação do processo nociceptivo por meio da liberação de vários mediadores inflamatórios que irão sensibilizar os nociceptores. Estudos demonstram que, na medula espinal, as células da glia, também chamadas de neuroglia ou gliócitos, estão envolvidas na dor induzida por inflamação periférica e dor neuropática (WATKINS et al., 2003; LEDEBOER et al., 2005). As células gliais concentram diversas substâncias, muitas das quais também estão presentes em neurônios que modulam a resposta nociceptiva, dentre elas as prostaglandinas, o glutamato, o ácido araquidônico, o NO e as citocinas (HARTUNG et al., 1988; MARRIOTT et al., 1991; AGULLO et al., 1995).

Em 1991, Garrison e colaboradores destacaram o papel das células da glia em processos nociceptivos na medula espinal quando evidenciou o aumento da densidade destas células, mais especificamente de astrócitos, após a indução de ligaduras no nervo isquiático. Estudos posteriores concluíram que os astrócitos e as células da micróglia não só participavam dos processos inflamatórios, como desempenhavam papel fundamental na manutenção de processos nociceptivos (MILLIGAN et al., 2003; WATKINS et al., 2003; CHACUR et al., 2004).

Outro componente importante, que participa dos processos inflamatórios e crônicos de dor, são os receptores do tipo P_2X_7 , responsáveis pela comunicação neurônio-glia. (LEMES, 2017). Este receptor tem papel importante na dor e hiperalgesia sendo encontrado em células do sistema imune e em células da glia (SPERLAGH et al., 2014). Estudos apontam que a ativação destes receptores nas células satélites gliais, é fundamental para que haja a transmissão do estímulo doloroso (LEMES, 2017).

2.6 Receptores P_2X_7

A molécula de ATP, além de ser uma fonte de energia dos seres vivos, também executa a função de molécula sinalizadora, quando localizada nos espaços extracelulares, desempenhando neste importante papel no controle e fisiologia celular, conectividade e dinâmica ao atuar no processo de ativação de receptores purinérgicos (KAHKH et al., 2009; BINSHTOCK, 2007).

A palavra receptor purinérgico foi originalmente utilizada para definir um grupo de receptores de membrana que atuavam sobre o relaxamento dos músculos lisos do trato gastrointestinal em resposta à liberação de ATP ou adenosina (SUGIYAMA, 2018).

Os receptores purinérgicos podem ser de dois tipos: ionotrópicos (P_2X) e metabotrópicos (P_2Y), tendo sua classificação baseada no seu mecanismo de ação e farmacologia (LUSTIG et al., 1993; RALEVIC & BURNSTOCK, 1998). Estes receptores encontram-se presentes abundantemente no tecido de mamíferos e em todos os tipos de células, incluindo neuronais (ROBERTS et al., 2006). Os receptores P_2X após terem a ligação do ATP, formam um poro que é permeável a Na^+ , K^+ e Ca^{2+} e, por esta razão, são considerados canais operados por ligantes catiônicos clássicos, além de serem considerados trímeros composto por subunidades individuais codificados por sete genes diferentes, P_2X_1 a P_2X_7 (ROBERTS et al., 2006; NORTH et al., 2002).

A família de receptores P_2X são ainda considerados receptores homoméricos que incluem P_2X_1 , P_2X_5 e P_2X_7 , e subunidades heteroméricas como receptores como $P_2X_{1/2}$, $P_2X_{1/4}$, $P_2X_{1/5}$, $P_2X_{2/3}$, $P_2X_{2/6}$ e $P_2X_{4/6}$. Dentre esses receptores, o receptor P_2X_7 é o formador de canais homoméricos, sendo expresso sozinho na membrana plasmática (DI VIRGILIO et al., 2018), por essa razão é o mais bem estudado, estando sua atividade relacionada a processos imunológicos e doenças inflamatórias, como artrite, gota, infecção por clamídia e diabetes, isquemia cerebral, inflamação e câncer (DI VIRGILIO & GIULIANI, 2016).

O receptor P_2X_7 , dentre os sete subtipos de canais iônicos P_2X , é o que requer altas concentrações de ATP, não sendo, portanto, ativado em sua fisiologia normal (BHATTACHARYA; BIBER, 2016), com exceção de processos que envolvam estresse como estresse oxidativo, dor, inflamação, dano tecidual (BHATTACHARYA, 2018; IWATA et al., 2016), visto que as concentrações extracelulares de ATP são bastante baixas em condições nomais de funcionamento (RODRIGUES et al., 2015).

Foi identificada a presença do receptor P_2X_7 no SNC por meio de sua expressão em microglia, oligodendrócitos e astrócitos (BUTT et al., 2014; HAMILTON et al., 2008; VISENTIN et al., 1999; MATUTE, 2008). Estes receptores estão localizados especificamente e em maior concentração na microglia, e atuam secretando produtos celulares inflamatórios para iniciar e manter a dor crônica de várias origens (REN & ILLES, 2022). O mecanismo que leva à ativação deste receptor se dá por meio de sua apresentação ao agonista ATP. A partir dessa ligação, os canais de cátions se abrem, ocasionando a despolarização e um influxo de Ca^{2+} . Após um estímulo prolongado do receptor P_2X_7 , há a formação de um poro na membrana da célula que a torna permeável a solutos hidrofílicos com peso molecular de até 900 Da. Outra

especificidade é que quando ocorre uma estimulação prolongada, entre 15 e 30 minutos, grande parte das células entram em apoptose (SURPRENANT et al., 1996; DI VIRGILIO, 2007; SKAPER et al., 2010; SORGE et al., 2012; KHADRA et al., 2013).

O mecanismo que envolve a neurotransmissão mediada pela sinalização purinérgica, já está bastante elucidado. Pesquisas apontam que, durante o processo de sinalização purinérgica o ATP é transportado para dentro de vesículas sinápticas, e posteriormente é liberado por exocitose (PANKRATOV, 2006; BODIN, 2001; ZHANG et al., 2007). No sistema nervoso periférico especificamente, o ATP desempenha importante papel na neurotransmissão da dor (BURNSTOCK, 2006).

Estudos evidenciaram que, a injeção intraplantar de ATP, é capaz de promover a excitação de neurônios sensoriais primários, o comportamento de dor, hiperalgesia térmica e alodinia mecânica. Foi visto ainda que, possivelmente o ATP é o principal mediador no processo de comunicação entre neurônio e glia nos neurônios sensoriais, ao agir sobre os receptores purinérgicos presentes tanto nos neurônios quanto na glia (CHEN et al., 2008; CHERKAS et al., 2004; TAKEDA et al., 2009).

O estudo do papel modulador da sinalização purinérgica na geração de dor e na sensibilização dos neurônios nociceptivos tem ganhado destaque nos últimos anos (BURNSTOCK, 2009; KUNER, 2010; HAN, et al., 2010; BELE & FABBRETTI, 2015; INOUE, 2017). De acordo com achados, é possível afirmar que o ATP, por meio da ativação de receptores P_2X nas fibras nervosas sensoriais periféricas, é capaz de induzir dor. Outra descoberta é que o ATP é capaz de promover comunicação entre neurônios nociceptivos primários e secundários, astrócitos e micróglia (HAMILTON, 2002; BURNSTOCK, 2009; HAMILTON & MCMAHON, 2000; KUKULSKI, 2011).

Um mecanismo relacionado à ativação de receptores P_2X_7 é o efluxo de K^+ que estimula a enzima conversora de interleucina 1β (IL- 1β) caspase-1 no inflamassoma. A caspase-1 converte pró-IL- 1β em IL- 1β madura (FERRARI et al., 2006; WEBER et al., 2010). No SNC, esta via P_2X_7 -IL- 1β contribui para a neuroinflamação ao envolver a cascata pró-inflamatória por meio da liberação de IL- 1β (BENNETT, 2007; BHATTACHARYA et al., 2011, 2013; IWATA et al., 2016; PARK & KIM, 2017; SPERLAGH et al., 2012; STOKES et al., 2015). Portanto, quando o ATP alcança concentrações suficientes que levaram à ativação do receptor P_2X_7 , ele levará à produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL- 1β tanto no SNC quanto na periferia (ENGEL et al., 2012; PARK & KIM, 2017; SÖDERLUND et al., 2011).

Deste modo, é de grande relevância a função que o receptor P_2X_7 executa para manutenção na transmissão de informações neurônio-glia, constatado em vários estudos sobre

dor inflamatória e dor crônica. Logo é imprescindível entender os mecanismos subjacentes à ativação do P_2X_7 nas células satélites gliais, para elucidar o papel dessas células na propagação do estímulo doloroso (LEMES, 2017).

2.7 Receptores P_2X_7 na Inflamação

Dos receptores da família P_2X , os que são mais descritos por estar relacionado a mediação de processos nociceptivos em neurônios aferentes primários são os receptores neuronais P_2X_3 . Entretanto, cabe ressaltar que os receptores gliais P_2X_7 (P_2X_7R) presentes nos gânglios sensoriais são os mais estudados recentemente e ainda assim, não dispõem de perfeita compreensão de sua atividade. (OLIVEIRA et al., 2009; DE OLIVEIRA FUSARO et al., 2010; FABBRETTI, 2013; KRIMON et al., 2013; PRADO et al., 2013).

Investigando o papel dos receptores P_2X_7 na inflamação, foi levantando que, em ensaios clínicos usando antagonistas P_2X_7R contra artrite reumatoide, os resultados mostram eficácia clínica e segurança (KEYSTONE, 2012; STOCK, 2012). Os receptores purinérgicos do tipo P_2X podem atuar de duas maneiras, direta sobre os nociceptores, ativando-os e sensibilizando-os, e de maneira indireta, estimulando a liberação de mediadores inflamatórios que irão sensibilizar os nociceptores (ANDO et al., 2010; TOULME et al., 2010; PRADO et al., 2013; BURNSTOCK, 2016; KUAN AND SHYU, 2016). Além da liberação de citocinas, estudos também apontam sua participação na imunomodulação, através da ativação da inflamação de NLRP3, crescimento de linfócitos T e diferenciação (DI VIRGILIO E GIULIANI, 2016; FERRARI et al., 2006).

Na neuroinflamação, comum a inúmeras doenças neurodegenerativas, o papel dos receptores P_2X_7 foi relatado em algumas situações de dano neuronal, como isquemia (CHU et al., 2012), doença de Alzheimer (DÍAZ-HERNÁNDEZ et al., 2012), lesão da medula espinhal (PENG et al., 2009), epilepsia (ENGEL et al., 2012), doença de Huntington (DÍAZ-HERNÁNDEZ et al., 2009) e depressão (BASSO et al., 2009).

Em uma pesquisa feita por Wang et al. (2020), os pesquisadores definiram como objetivo investigar se o P_2X_7 poderia ser considerado um fator determinante na ativação das vias de sinalização MAPK/NF- κ B que estão envolvidas na neuroinflamação induzida por LPS, como resultado onde eles verificaram que sim, entretanto, ao utilizar um antagonista deste receptor o efeito de ativação desta via conseqüentemente era bloqueado, demonstrando assim, que o receptor P_2X_7 esta presente nos processos neuroinflamatórios induzidos por sua ativação pelo ATP.

DA SILVA et al. (2015) em seu estudo sobre a expressão dos receptores P₂X₇ na colite ulcerativa concluíram que estes receptores tiveram sua expressão reduzida nos neurônios do plexo mioentérico, assim como houve a redução na densidade neuronal. Já HOFMAN et al., (2015), demonstrou em seu trabalho que a inativação genética (animal nocaute) e química de receptores P₂X₇, com o uso de antagonistas resultam em redução da inflamação em modelo animal de colite, entretanto há maior propensão ao desenvolvimento de câncer.

Diante disso, cabe salientar que o estudo do papel desempenhado por receptores purinérgicos na dor inflamatória apesar de já bem adiantado, ainda dispõem de algumas limitações, dentre elas a falta de seletividade dos agonistas disponíveis. Outro ponto importante a levantar é que apesar da existência de receptores P₂X₇ nas células satélites do gânglio da raiz dorsal (KOBAYASHI et al., 2005; CHEN et al., 2012), a total compreensão da função destes receptores no gânglio da raiz dorsal ainda não é bem descrita. Ademais, neurônios nociceptivos trigêmeos apresentam maior expressão de receptores purinérgicos quando comparados aos gânglios da raiz dorsal (AMBALAVANAR, 2005; AMBALAVANAR, 2009).

2.8 Receptor P₂X₇ e Dor Orofacial

Bonfante et al, (2018) comprovaram, em um modelo persistente de hipernocicepção induzida por albumina sérica bovina metilada (mBSA), haver um aumento nos níveis de proteínas moduladoras das células da glia Catepsina S (CatS) e Fractalkina (FKN) no subnúcleo caudal trigeminal sensorial (TNC) por ativação do receptor P₂X₇ na micróglia.

Muitos estudos têm mostrado que o bloqueio da atividade de células microgлияis é capaz de reduzir hiperalgesia / alodinia provocada por condições neuropáticas e inflamatórias (SWEITZER et al. 2001; LEDEBOER et al. 2005; CLARK et al. 2007; TAWFIK et al. 2007). Deste modo, desenvolver alternativas terapêuticas para estados de dor inflamatória crônica e neuropática utilizando células imunocompetentes tem sido visto como algo promissor (CLARK & MALCANGIO 2012; BONFANTE et al. 2018). As células microgлияis, como macrófagos do sistema nervoso central (SNC), executam um importante tarefa na sensibilização central e na plasticidade ao induzir a resposta rápida às lesões e ao instigar a liberação neuronal de mediadores inflamatórios como a interleucina 1 β (IL-1 β) e fator de necrose tumoral α (TNF- α) (CHAUVET et al. 2001; TSUDA et al. 2003).

Em outro estudo, Muñoz et al. (2020) observaram que a atividade analgésica da toxina botulínica A (BoNT-A) pode estar relacionada a sua capacidade de manter a comunicação

dentro das células neuronais e microgliais, intervindo na via ativada por microglia P_2X_7 / CatS / FKN, ao restringir os níveis de moduladores de micróglia CatS e FKN, direcionando para a redução das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e TNF- α . De acordo com este estudo, que indicou que o receptor P_2X_7 exerce influência sobre via ativada de microglia, buscou-se o entendimento do papel que este receptor desenvolve na dor na ATM quando ativado. Assim Teixeira et al. (2021) concluíram que P_2X_7 , ao ser ativado, é capaz de induzir respostas nociceptivas mediadas por aminas simpaticomiméticas, prostaglandinas, migração de leucócitos e aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias. Também constatou que a ativação do receptor P_2X_7 promove respostas nociceptivas que dependente da ativação dos nociceptores aferentes primários da ATM de ratos. É inegável a contribuição deste receptor P_2X_7 na nocicepção da ATM, sendo, portanto, um potencial alvo farmacológico no controle da dor inflamatória nas disfunções temporomandibulares.

Ademais, Ito et al. (2013) demonstraram que a fosforilação de p38 MAPK via P_2X_7R pode levar à alodinia / hiperalgia tátil, sendo estas ocasionadas possivelmente por TNF- α liberado pela micróglia. Em outro estudo, entretanto, foram avaliados quais receptores da família P_2X estariam diretamente ligados a processos inflamatórios na ATM. Seus resultados indicaram que o P_2X_3 e $P_2X_{2/3}$ estão relacionados com a hiperalgia inflamatória da ATM induzida por carragenina, contudo os receptores P_2X_7 não teriam relação com esse processo (TEIXEIRA et al., 2010).

2.9 Brilliant Blue G (BBG): Antagonista Receptores P_2X_7

A família de corantes Brilliant Blue dispõe de diversos representante entre eles, cabe destacar o BBG (Brilliant Blue G) e FD&C Blue No. 1. Os dois compostos são amplamente utilizados na área de ciências da saúde e no setor industrial. Além da denominação Brilliant Blue G, o corante sintético também tem uma outra titulação, Coomassie Brilliant Blue. O composto foi extraído pela primeira vez a partir do corante de alcatrão de carvão. Quando comparado ao FD&C Blue No. 1, o BBG apresenta estabilidade regular quando exposto à luz, calor e condições ácidas, no entanto, esta estabilidade tende a reduzir ainda mais em condições oxidativas (WATHARKAR, et al., 2013). O BBG teve seu uso pela primeira vez na indústria têxtil, tendo sido utilizado posteriormente em pesquisas médicas pela primeira vez na década de 80 (BARTLETT et al., 2014).

Contudo, quando avaliado a variedade de corantes Brilliant Blue, é possível concluir que dentre esses o BBG, é o que mais tem sido utilizado em estudos de eletroforese, mais

especificamente para fins de visualização de proteínas. Os corantes de metano trifenil (Brilliant Blue G), apresentam como vantagem para a técnica de eletroforese o fato de revelar bandas coloridas fortes ao se complexar a uma membrana de acetato de celulose. Por esse motivo, o BBG tem seu uso largamente difundido em análises bioquímicas e quantificação de proteínas em ensaios de ligação proteína-corante (BEARDEN JR, 1978; SERRA, et al., 1980). Ademais, ensaios colorimétricos alternativos de atividade enzimática têm sido sugeridos baseados nas propriedades do BBG (ASRYANTS, et al., 1985; SALEEMUDDIN, et al., 1980).

O BBG é um ingrediente do ensaio de Bradford, que mede bioquimicamente a proteína intracelular (BRADFORD, 1987). Esse corante também foi usado para purificar partículas semelhantes a vírus submetidas à ultracentrifugação de densidade de sacarose. (GIESSAUF, et al., 2002). O composto requer estudo cuidadoso, uma vez que seu uso atualmente é na área clínica em procedimentos oftalmológicos (NAITHANI, et al., 2011; HISATOMI, et al., 2006), representando um candidato apropriado para o futuro, pois o BBG tem alta afinidade pela membrana limitante interna (MENNEL, et al, 2008).

Outro uso do BBG foi relatado em 2011, quando Jo e Bean observaram que o corante era um bloqueador do canal de sódio em células de neuroblastoma N1E-115 de camundongo, enquanto o FD&C Blue No. 1 apresentou pouca ação no canal de sódio.

O Brilliant Blue G (BBG) se apresenta ainda, como o antagonista mais seletivo e potente para o receptor P_2X_7 (JIANG et al, 2000). A baixa toxicidade e a alta seletividade fazem desse composto um candidato ideal para bloquear os efeitos adversos da ativação do receptor P_2X_7 (JIANG et al., 2000, REMY et al., 2008). Devido a esta propriedade de antagonizar receptores purinérgicos P_2X_7 , o BBG tem amplamente utilizado como ferramenta farmacológica para o estudo do sistema purinérgico (BARTLETT et al., 2014), onde achados evidenciam que, doses abaixo de 50 mg/kg são passíveis de atravessar prontamente a barreira hematoencefálica. Em concentrações de 1 μ M, o BBG é capaz também de inibir receptores de panexina, Panx1 (SPERLAGH & ILLES, 2014).

Em relação a capacidade do BBG de transpor a barreira hematoencefálica, como descrito anteriormente, essa característica o torna mais eficaz na inibição de receptores P_2X_7 de ratos que de humanos, com uma afinidade nanomolar, mas inibindo também receptores P_2X_2 e alguns receptores P_2Y , em uma faixa micromolar (FRIEDLE; CURET; WATTERS, 2010).

Pelas propriedades descritas, estudos com BBG tem aumentado substancialmente nos últimos anos. Estudos evidenciaram que o composto tem capacidade de proteger contra a perda neuronal em modelos da doença de Alzheimer, atenuando a apoptose neuronal e déficits motores em modelos da doença de Huntington (RYU; MCLARNON, 2008; DÍAZ-

HERNANDEZ et al., 2009). Outros resultados, indicaram o declínio da resposta inflamatória e melhora da recuperação em lesões medulares em ratos (PENG et al., 2009; MARCILLO et al., 2012).

Fonteles (2017), em sua tese de doutorado, investigou o efeito do Brilliant Blue G, no antagonismo do receptor P_2X_7 , a fim de verificar se este era capaz de diminuir a discinesia induzida por L-Dopa em animais submetidos a modelo Experimental de Doença de Parkinson, como resultado de sua pesquisa ela constatou que, o sistema purinérgico desempenha importante papel no desenvolvimento da discinesia induzida por L-DOPA, e que o BBG possui efeito anti-discinético, possivelmente devido à diminuição da ativação do receptor D1 e da diminuição da neuroinflamação.

Um outro estudo realizado em 2019, que avaliou o antagonismo do receptor P_2X_7 , Brilliant Blue G, sobre os neurônios entéricos do colo distal de ratos submetidos à colite ulcerativa experimental, demonstrou em seus resultados que houve uma diminuição dos neurônios positivos ao NOS, ao ChAT e da ativação do receptor P_2X_7 na colite, havendo então recuperação na densidade neuronal nos grupos tratados com o BBG. Quando avaliado a área do perfil neuronal, os resultados comprovaram aumento da área do perfil nos grupos colites e recuperação nos grupos tratados com o BBG. O pesquisador conclui assim que, o BBG foi efetivo na colite ulcerativa experimental podendo ser o receptor P_2X_7 um alvo terapêutico (EVANGELINELLIS, 2019).

Em acordo com estes achados, WANG et al., (2020), se propôs a investigar se Brilliant Blue G teria a capacidade de reduzir a neuroinflamação através da regulação de MAPKs e vias de sinalização NF- κ B em células microglia BV2 induzidas por lipopolissacarídeos, seus desfechos demonstraram que o BBG contribuiu para a supressão dos efeitos inflamatórios em células BV2 induzidas por LPS através da inibição das vias de sinalização NF- κ B e MAPKs.

Um estudo utilizando a administração de BBG em modelos de ativação elétrica no gânglio trigeminal de ratos indicaram que o BBG reduziu o aumento de células c-Fos-positivas no subnúcleo caudal do trigêmeo, apesar de não ter exercido influência sobre o comportamento nem sobre o aumento de células c-Fos-positivas no TNC quanto utilizado o teste de formalina orofacial (BOHAR, 2015). Neste sentido, compreender a sinalização purinérgica na via nociceptiva trigeminal subsidiará o entendimento dos mecanismos nociceptivos subjacentes para a patogênese da dor orofacial, e avaliar o papel do BBG pode gerar uma nova possibilidade terapêutica (LIU, 2020). Apesar dos achados científicos, não há um consenso quanto a utilização do BBG em células humanas (FERREIRA, et al., 2016).

Baseado na literatura, o receptor P_2X_7 parece exercer um papel essencial na dor orofacial, contudo ainda há contradição na literatura, e ainda não foi investigado o efeito de BBG na dor inflamatória na ATM.

3. ARTIGO

ESTUDO DO PAPEL PERIFÉRICO E CENTRAL DOS RECEPTORES P2X7 NOS MECANISMOS DE DOR NOCICEPTIVA NA ATM DE RATOS

AUTORES:

Maria Socorro Carneiro¹; Sarah Rodrigues Basílio¹; Manoel Vieira do Nascimento Junior²; Jefferson Rodrigues Sousa³; Tiago Sampaio dos Reis²; Pedro Isac Fontenele Saldanha³; Pedro Wherton Mouta Júnior²; Anna Luize de Oliveira Marques³; Renato Daniel de Freitas¹; Djorkaeff Oliveira Fontinele⁴; José Jackson do Nascimento Costa⁵; Marta Regina Santos do Carmo⁵; Nuno Miguel de Jesus Machado⁶; Vicente de Paulo Teixeira Pinto^{1,2}; Mirna Marques Bezerra^{1,2}; Hellíada Vasconcelos Chaves^{1,3*}

¹Mestrado em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará, *Campus Sobral* (UFC-Sobral), Brasil

²Curso de Medicina, Universidade Federal do Ceará, *Campus Sobral* (UFC-Sobral), Brasil

³Curso de Odontologia, Universidade Federal do Ceará, *Campus Sobral* (UFC-Sobral), Brasil

⁴Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA), Brasil

⁵Curso de Medicina, Centro Universitário Uninta, Brasil, Brasil

⁶Champalimaud Foundation, Portugal

*AUTOR DE CORRESPONDÊNCIA

Hellíada Vasconcelos Chaves

E- mail: helliadachaves@ufc.br

RESUMO

Introdução: A dor nociceptiva na articulação temporomandibular (ATM) se encontra presente em muitas condições clínicas. Os receptores P₂X₇ estão envolvidos com a nocicepção na ATM, entretanto o mecanismo que envolve estes receptores na fisiopatologia da dor inflamatória na ATM ainda não está bem esclarecido.

Métodos: O protocolo experimental foi aprovado pela CEUA-UFC Campus Sobral (14/2020). 40 animais (n=5) foram pré-tratados (i.p) com salina (0,9%) ou Brilliant Blue G (50 mg/kg), antagonista seletivo dos receptores P₂X₇, ou indometacina (5mg/kg), anti-inflamatório não-esteroidal. Após 1h, foi aplicada injeção intra-articular (i.a.) de salina (50 % uL, 0,9%) ou formalina (50 uL, 1,5 %) na ATM esquerda, após breve (30s) anestesia com isoflurano (3%). O comportamento nociceptivo foi avaliado por 45 min. Imediatamente após as análises comportamentais, os ratos foram anestesiados com ketamina: xilazina (90:10 mg/kg, i.p.) e submetidos à perfusão com PBS. Após a eutanásia, o gânglio trigeminal (GT) e subnúcleo caudal (SC) foram removidos para a análise da expressão dos níveis de mRNA dos receptores P₂X₇ e das citocinas TNF- α , IL-1 β e IL-6 por q-RT-PCR. Os dados foram expressos como

média±EPM. Dados paramétricos foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo pós-teste Tukey's multiple comparisons.

Resultados: O tratamento com BBG reduziu dor nociceptiva ($p < 0,0001$), e a expressão dos genes para o receptor P_2X_7 ($P < 0,002$) e para as citocinas $TNF-\alpha$ e $IL-1\beta$ ($P < 0,0001$), quando comparado ao grupo formalina, tanto no GT, quanto no SC.

Conclusões: O BBG apresentou potencial efeito antinociceptivo na redução da expressão do receptor P_2X_7 e de citocinas inflamatórias, tanto no SNP, quanto no SNC, contudo o estudo modelos crônicos de hipernocicepção na ATM se fazem necessários.

Palavras chave: Articulação temporomandibular; Inflamação; Dor; receptores P_2X_7 .

INTRODUÇÃO

A dor nociceptiva na articulação temporomandibular (ATM) está presente em muitos quadros de disfunção temporomandibular (DTM), que engloba um grupo de condições musculoesqueléticas e neuromusculares envolvendo a ATM, os músculos mastigatórios e todos os tecidos associados¹. Os principais sinais e sintomas são ruídos articulares, limitação de movimentos mandibulares e dor, normalmente associados a cefaleias, zumbidos, dores cervicais e outros². Apresenta prevalência de 5% a 12% da população mundial e incidência de 3,9% ao ano^{3,4}, levando a grandes alterações na qualidade de vida⁵, sendo necessários, portanto, estudos de novas possibilidades terapêuticas e estudos de mecanismos fisiopatológicos para maior compreensão.

A fisiologia das vias da dor orofacial envolve neurônios aferentes primários, gânglio trigeminal (GT), subnúcleo caudal (SC) do trigêmio no tronco cerebral e funções cerebrais superiores que atuam na regulação da nocicepção orofacial⁶. Mediando tanto periférico quanto centralmente, as células da glia têm se mostrado importantes⁷, por mediar a liberação de fatores neuroinflamatórios⁸, e estudos têm mostrado que o bloqueio da atividade de células microgliais é capaz de reduzir hiperalgesia / alodinia provocada por condições neuropáticas e inflamatórias^{9,10,11}. Sabe-se também que o receptor P₂X₇ é um dos responsáveis por mecanismos de regulação da dor orofacial da micrógli, portanto desenvolver alternativas terapêuticas nesse direcionamento tem sido visto como algo promissor^{12,13}.

Um estudo investigou o efeito do *Brilliant Blue G* (BBG), um antagonista seletivo e potente para o receptor P₂X₇¹⁴, em modelos de ativação elétrica no gânglio trigeminal de ratos, indicando que o BBG reduziu o aumento de células c-Fos-positivas no SC, apesar de não ter exercido influência sobre o comportamento nem sobre o aumento de células c-Fos-positivas no núcleo caudal do trigêmeo quanto utilizado o teste de formalina orofacial¹⁵.

Neste sentido, sabendo que ainda não foi investigado o efeito do BBG na dor nociceptiva inflamatória na ATM, a avaliação do papel do BBG pode gerar uma nova possibilidade terapêutica, assim como compreender a sinalização purinérgica na via nociceptiva trigeminal, o que subsidiará o entendimento dos mecanismos nociceptivos subjacentes para a patogênese da dor orofacial.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram 40 usados ratos albinos (*Rattus norvegicus*), variedade Wistar (180-240g),

machos, em grupos com cinco animais (n=5), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. Os animais ficaram alojados (temperatura 23 ± 2 °C, obedecendo a ciclos de claro-escuro de 12 h) no Biotério Setorial da UFC - *Campus Sobral* até o momento do início dos experimentos e receberam água e alimentação *ad libitum*.

Com relação aos aspectos éticos, o protocolo experimental foi elaborado de acordo com a “Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais Para Fins Científicos e Didáticos (DBCA)” da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL), com as “Diretrizes sobre o uso de animais de laboratório para investigações de dor experimental em animais conscientes” da Associação Internacional para o Estudo da Dor (Sigla em inglês IASP) e baseados no protocolo ARRIVE¹⁶. O projeto foi aprovado sob protocolo nº14/2020 pela Comissão de Ética para o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará, Sobral, Brasil.

Injeções intra-articulares de formalina

Os animais receberam uma injeção intra-articular (i.a.) de formalina (50 µL, 1,5 %) ou salina (50 µL, 0,9%) na ATM esquerda. Para tanto, a porção pósterior inferior da borda do arco zigomático foi identificada, seguindo em direção anterior até contatar a região pósterior lateral do côndilo. Com uma agulha de calibre 30G conectada a um tubo de polietileno P50 e uma seringa de 50 µL (Hamilton, 50 µL) sob uma prévia anestesia inalatória com isoflurano (3%, 30 s)¹⁷, as soluções foram administradas dentro da ATM.

Delineamento Experimental

Os animais foram pré-tratados por via intraperitoneal (n=5) com solução salina (0,9%), *Brilliant Blue G* (BBG) (50 mg/kg) ou indometacina (5mg/kg, controle positivo). Após 60 minutos, foi aplicada injeção intra-articular (i.a.) de solução salina (50 µL, 0,9%) no grupo controle ou formalina (50 µL, 1,5 %), na ATM esquerda dos grupos experimentais.

Avaliação da resposta nociceptiva induzida pela formalina

Cada animal foi utilizado em um único experimento, e os testes foram realizados durante a fase clara entre 6 h e 16 h em uma sala silenciosa com temperatura controlada entre $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ¹⁸. Durante 7 dias anteriores ao experimento, os animais foram manipulados pelos participantes. Imediatamente antes do experimento, para ambientação animal, cada animal foi colocado durante 10 minutos na câmara de observação comportamental, feita de madeira com

sua parte superior aberta tendo uma parede de vidro para e as demais paredes e base espelhados de dimensão 30x30x30 cm¹⁹. Durante o experimento os animais não tiveram acesso a alimento ou à água. Após anestesiados com isoflurano 100%, solução inalatória, e administrada a injeção intra-articular, os animais foram colocados na câmara de observação comportamental. A análise do comportamento ocorreu pela quantificação em segundos com um cronômetro digital do ato de coçar a cabeça e pelo número de vezes de erguer a cabeça com um contador manual de células por um período de 45 minutos em 15 blocos de 3 minutos. Após esse período, foi realizado a eutanásia ao final do experimento¹⁷.

Coleta de materiais biológicos

Imediatamente após as análises comportamentais, os animais foram anestesiados com xilazina (5 mg/kg) e ketamina (100 mg/kg) e eutanasiados para a coleta do GT e do SC. Os tecidos foram armazenados em eppendorfs com 200 µL de trizol (Invitrogen, São Paulo, Brasil), e armazenados em freezer -80 °C.

Para ter acesso ao gânglio trigeminal, que fica alojado na base do crânio na região de cavo trigeminal no osso temporal, foi removida a calota craniana e o cérebro, e, cautelosamente, identificado e removido o gânglio trigeminal. No caso do subnúcleo caudal, que se situa no tronco encefálico, procedeu-se à remoção do encéfalo, que está posicionado em matriz específica para cortes de estruturas neurais de ratos. A remoção do subnúcleo caudal foi feita pelo corte com lâmina de bisturi posicionada a 2 mm em direção caudal ao fornix cerebral.

Análise da expressão gênica por qRT-PCR

O RNA total foi extraído das amostras de GT e SC, utilizando o reagente Trizol (Invitrogen, São Paulo, Brasil). A quantidade e a qualidade do RNA extraído foram determinadas por espectrofotometria (Amersham Biosciences, Cambridge, England) utilizando 260 nm e a razão 260/280nm, respectivamente. Em seguida, foi realizada a síntese do DNA complementar (cDNA) utilizando Transcriptase Reversa SuperScript IV (Invitrogen, São Paulo, Brasil) seguindo as instruções do fabricante.

Os primers utilizados para as análises por qRT-PCR foram: P₂X₇ (NCBI: NM_019256.2– Senso: CCTCCCTTTGCAGGGGAAC, Antisenso: TACAACCCTGGTCAGAATGGC); TNF-α (NCBI: NM_012675.3 - Senso: CGGGGTGATCGGTCCCAACAAG, Antisenso: GTGGTTTGCT ACGACGTGGGC); IL-1β (NCBI: NM_031512.2 - Senso: TGCTGTCTGACCCATGTGAG, Antisenso:

CCAAGGCCACAGGGATTTTG); IL-6 (NCBI: NM_012589.2 - Senso: CATTCTGTCTCGAGCCCACC, Antiseno: GCAACTGGCTGGAAGTCTCT). Os primers foram desenhados usando a ferramenta PrimerQuest® (IDT DNA, Coralville, Iowa, EUA).

Os ensaios de PCR em tempo real foram realizados em um volume final de 20 µL contendo 10 µL de SYBR Green qPCR Master Mix (Invitrogen, São Paulo, Brasil), 2 µL de cada primers (200 nM), 1µL de cDNA das amostras e 7 µL de água livre de RNAase. As condições de PCR foram: um período de desnaturação inicial a 95°C/7min, seguido por 40 ciclos de amplificação gênica. Cada ciclo consistirá de uma fase de desnaturação inicial a 95°C/15 s, seguida por uma fase de anelamento a 58°C/30s e por fim uma fase de extensão a 60°C/30 s. Para garantir a especificidade do produto de PCR foi realizada a curva de *Melting* (95°C/15 s, 58°C/30s, 95°C/15 s), após cada reação.

O GAPDH (NCBI: NM_017008.4 - Senso: GGACCAGGTTGTCTCCTGTG, Antiseno: CATTGAGAGCAATGCCAGCC) foi utilizado como gene de referência. Todas as amplificações foram analisadas pelo sistema de detecção de PCR em tempo real StepOnePlus™ Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems, Foster City, California, EUA), e a expressão gênica relativa foi determinada usando o método $2^{-\Delta\Delta Ct20}$.

Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism versão 9.0 para macbook, GraphPad Software, San Diego, Califórnia EUA. Copyright (c) por GraphPad Software. Os resultados que obedecerem a uma distribuição paramétrica foi analisado por Análise de Variância (ANOVA) seguida teste post-hoc de Tukey multiple comparisons. Em todas as análises estatísticas, os valores foram representados pela Média ± Erro Padrão da Média (EPM), sendo considerado significativo $p < 0,05$.

RESULTADOS

Efeito do BBG na hipernocicepção induzida por formalina na ATM

O comportamento nociceptivo foi avaliado após administração intra-articular (i.a.) de salina (50 µL) ou formalina (50 µL, 1,5%) na ATM esquerda de ratos. Conforme demonstrado na figura 1, a formalina foi capaz de aumentar de forma significativa a resposta nociceptiva ($226,1 \pm 20,04$) quando comparado ao grupo salina ($38,40 \pm 4,56$). O tratamento com BBG (50

mg/kg) foi capaz de reduzir de forma significativa esse efeito nociceptivo ($66,50 \pm 11,72$; $P < 0,0001$) quando comparado ao grupo formalina, semelhante ao observado com o grupo indometacina ($45,40 \pm 14,38$; $P < 0,0001$). Observa-se que o grupo BBG aplicado sozinho com salina ($34,78 \pm 9,14$) não foi capaz de afetar a resposta nociceptiva quando comparado ao grupo salina.

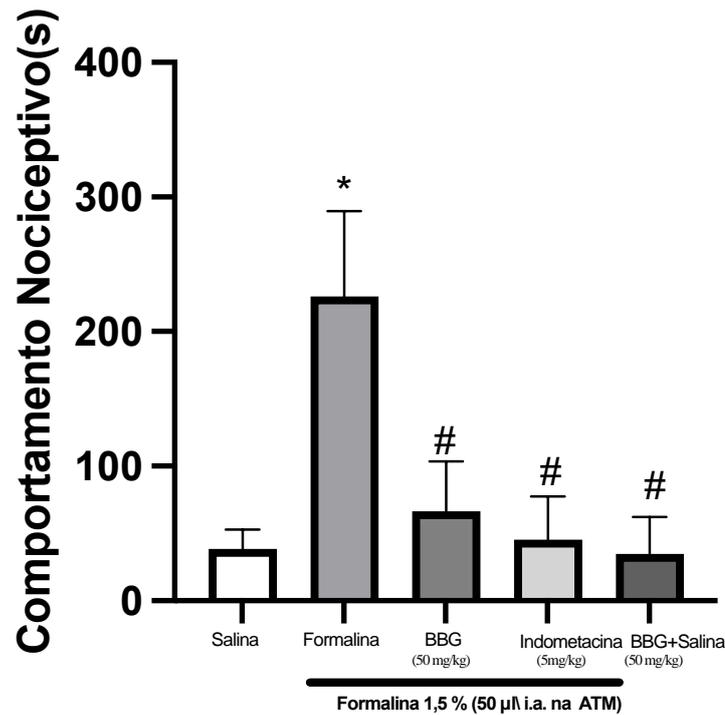


Figura 1. Efeito do BBG sobre a hipernociceção da ATM induzida por formalina. BBG (50mg/kg) reduziu as respostas nociceptivas. Os resultados são apresentados como as médias \pm EPM. *($p < 0,0001$) vs controle; #($p < 0,0001$) vs formalina (ANOVA, Tukey's multiple comparisons).

BBG regulou a expressão gênica de P_2X_7 no sistema nervoso periférico e central trigeminal

O tratamento com formalina aumentou significativamente os níveis de mRNA de P_2X_7 no GT ($5,41 \pm 0,14$) (figura 2A) e no SC ($4,62 \pm 1,13$) (figura 2B), quando comparado ao grupo salina ($p < 0,002$) no GT ($1,0 \pm 0,0$) e no SC ($1,0 \pm 0,0$), respectivamente. O tratamento com BBG (50 mg/kg) reduziu de forma significativa a expressão gênica desse receptor no GT ($1,49 \pm 0,19$), quando comparado com o grupo formalina ($5,41 \pm 0,14$; $p < 0,009$), assim como no SC ($1,69 \pm 0,30$). Esses resultados indicam que o BBG atua tanto bloqueando o receptor P_2X_7 como alterando a expressão gênica deste, reduzindo os efeitos nociceptivos induzidos por formalina

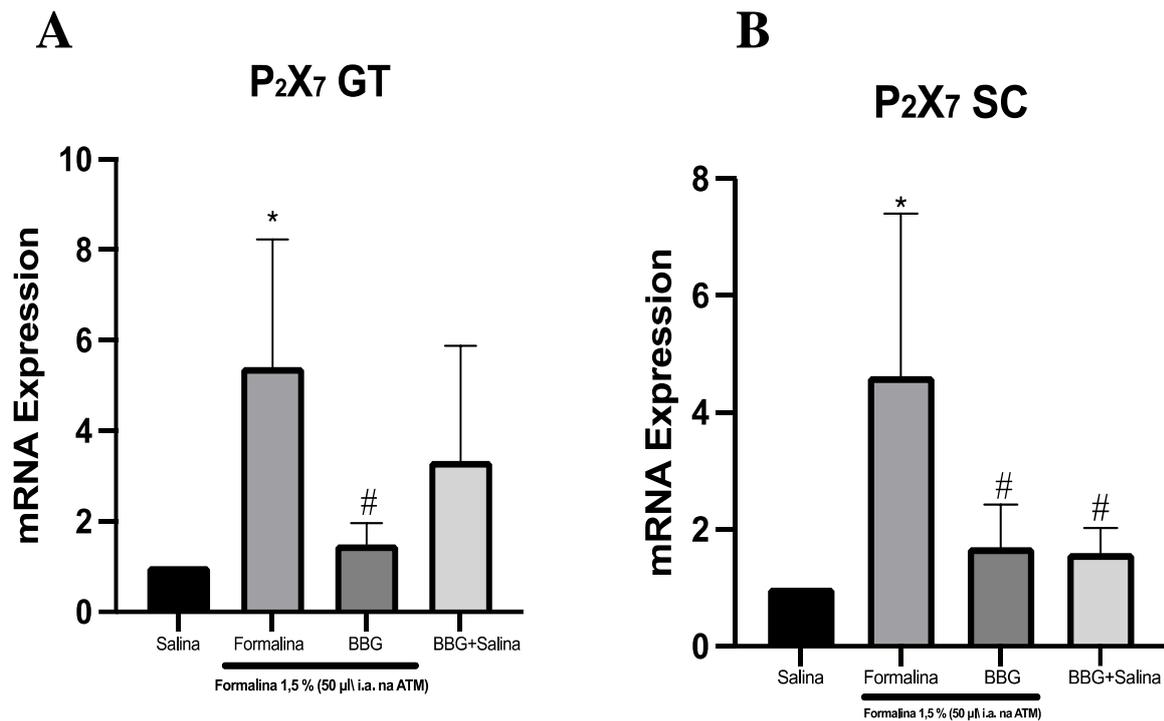


Figura 2. Efeito do BBG sobre a expressão gênica do receptor P₂X₇ no GT e SC por qRT-PCR. BBG (50 mg/kg) reduziu significativamente a expressão gênica do receptor P₂X₇ no GT (A) e SC (B) quando em comparação com o grupo formalina. Os símbolos (*) e (#) representam diferenças estatisticamente significativas. *($p < 0,003$) vs controle; # ($p < 0,009$) vs formalina (ANOVA, Tukey's multiple comparisons).

Efeito do BBG sobre a expressão gênica da citocina TNF- α no sistema nervoso periférico e central trigeminal

A figura 3 evidencia que a formalina aumentou significativamente a expressão gênica de TNF- α , no GT ($4,60 \pm 0,49$; $p < 0,0001$) (Fig 3A) e no SC ($4,60 \pm 0,49$; $p < 0,0001$) (Fig 3B), quando comparado com o grupo salina no GT ($1,0 \pm 0,0$) e no SC ($1,0 \pm 0,0$; $p < 0,0001$), respectivamente. Enquanto que o tratamento com BBG (50 mg/kg) reduziu a expressão gênica de TNF- α no GT ($1,38 \pm 1,14$; $p < 0,0001$) e SC ($1,73 \pm 0,07$; $p < 0,0001$), quando comparados ao tratamento com formalina.

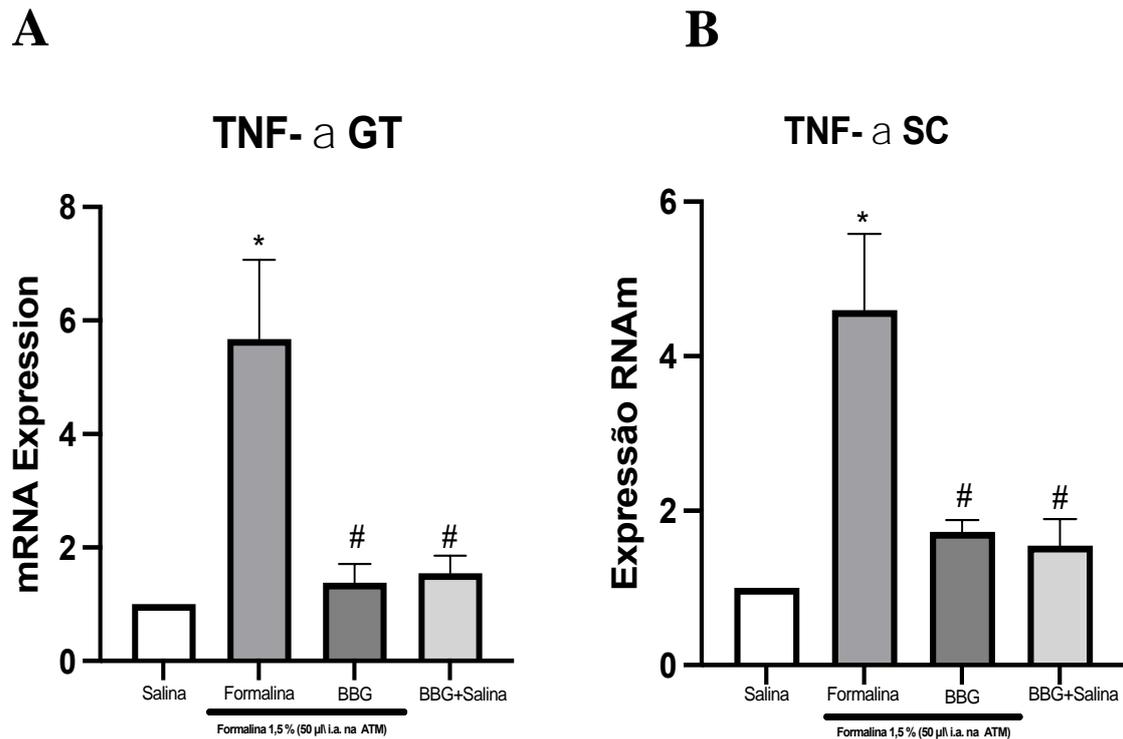


Figura 3. Efeito do BBG sobre a expressão gênica de TNF- α no GT e no SC por qRT-PCR. BBG (50 mg/kg) reduziu significativamente a expressão gênica de TNF- α no GT (A) e SC (B) quando em comparação com o grupo formalina. * ($p < 0,0001$) vs controle; # ($p < 0,0001$) vs formalina (ANOVA, Tukey's multiple comparisons).

Efeito do BBG sobre a expressão gênica da citocina IL-1 β no sistema nervoso periférico e central trigeminal

A figura 4 evidencia que a formalina aumentou significativamente a expressão gênica de IL-1 β , no GT ($4,86 \pm 0,49$, $p < 0,0001$) (Fig 4A) e no SC ($3,87 \pm 0,62$; $p < 0,0001$) (Fig 4B), quando comparado com o grupo salina no GT ($1,0 \pm 0,0$, $p < 0,0001$) e no SC ($1,0 \pm 0,0$; $p < 0,0001$), respectivamente. O BBG (50 mg/kg) reduziu de forma significativa a expressão gênica de IL-1 β no GT ($0,88 \pm 0,28$; $p < 0,0001$), quando comparada ao tratamento com formalina. Efeito semelhante foi verificado no SC (Fig. 5B), em que o BBG foi capaz de reduzir significativamente a expressão gênica de IL-1 β ($0,80 \pm 0,08$; $p < 0,0001$), quando comparada ao tratamento com formalina.

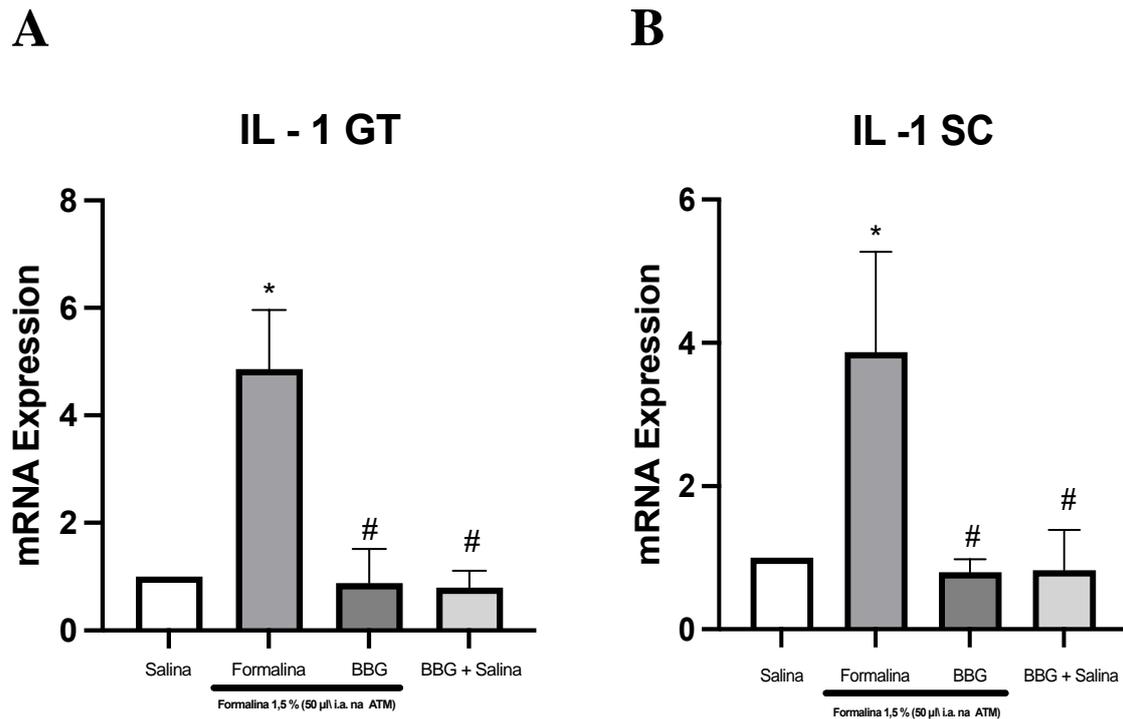


Figura 4. Efeito do BBG sobre a expressão gênica de IL-1 no GT e no SC por qRT-PCR. O BBG (50 mg/kg) reduziu significativamente a expressão gênica de IL-1 no GT (A) e SC (B), quando comparado ao grupo formalina. *($p < 0,0001$) vs controle; #($p < 0,0001$) vs formalina (ANOVA, Tukey's multiple comparisons).

Efeito do BBG sobre a expressão gênica da citocina IL-6 no sistema nervoso periférico e central trigeminal

A figura 5 evidencia que a formalina aumentou significativamente a expressão gênica de IL-6, no GT ($5,39 \pm 0,62$; $p < 0,0001$) (Fig 5A) e no SC ($14,47 \pm 1,50$; $p < 0,0003$) (Fig 5B), quando comparado com o grupo salina no GT ($1,0 \pm 0,0$; $p < 0,0001$) e no SC ($1,0 \pm 0,0$; $p < 0,0001$), respectivamente. O tratamento com BBG (50 mg/kg) não alterou a expressão gênica de IL-6 no GT ($4,69 \pm 0,26$; $p > 0,05$) (Fig. 7A) e nem no SC ($8,31 \pm 2,88$; $p > 0,05$) (Fig. 7B). Assim, BBG não foi capaz de alterar a expressão gênica de IL-6.

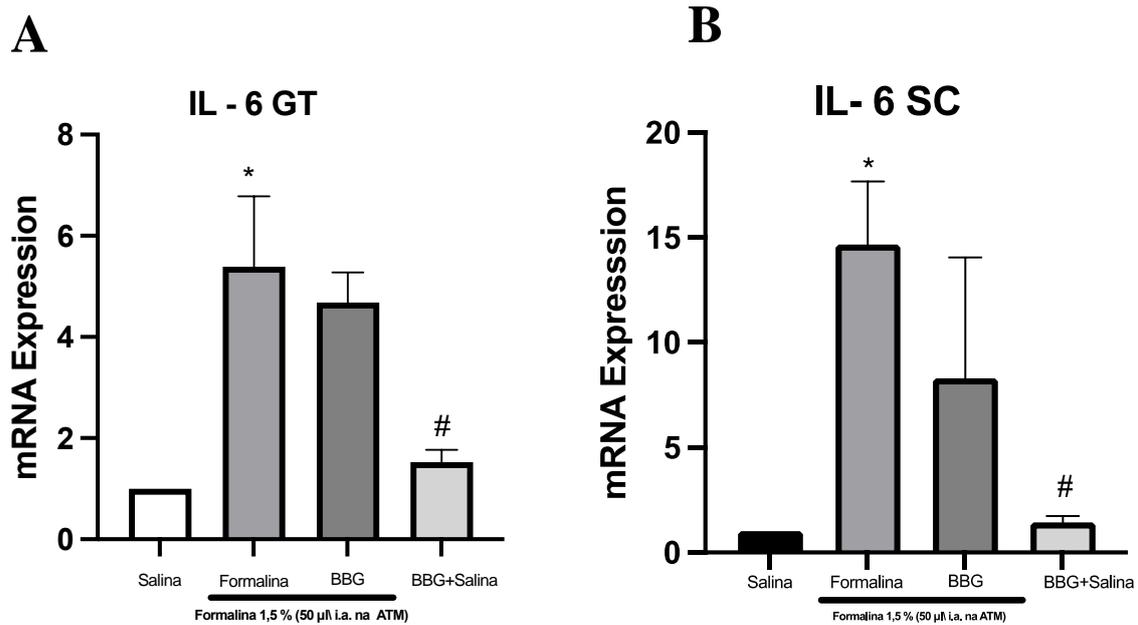


Figura 5. Efeito do BBG sobre a expressão gênica de IL-6 no GT e no SC por qRT-PCR. O BBG (50 mg/kg) alterou a expressão gênica de IL-6 no GT (A) e no SC (B), contudo a diferença não foi estatisticamente significativa *($p < 0,0001$) vs controle; # $p > 0,05$) vs formalina (ANOVA, Tukey's multiple comparisons).

DISCUSSÃO

Já foi descrito na literatura o papel do receptor P_2X_7 em células do sistema imunológico^{21,22} e em células do sistema nervoso como micróglias²³, astrócitos^{24,25}, oligodendrócitos²⁶, células de Schwann²⁷, e neurônios²⁸. Dentre as diversas estruturas envolvidas no processo de dor nociceptiva inflamatória, sabe-se que a liberação de ATP no meio extracelular funciona como o principal ativador desses receptores P_2X_7 ^{29,30}. No presente estudo, buscou-se confirmar a participação do receptor P_2X_7 nos processos inflamatórios da dor nociceptiva inflamatória da ATM tanto no sistema nervoso periférico quanto no sistema nervoso central trigeminal, e os resultados mostraram o envolvimento do receptor P_2X_7 na resposta de dor inflamatória na ATM, e o efeito do antagonista desse receptor BBG tanto no gânglio trigeminal quanto no subnúcleo caudal do nervo trigêmeo.

A função do receptor P_2X_7 já foi descrita em diversos trabalhos sobre doenças e distúrbios neurológicos psiquiátricos associados à neuroinflamação e/ou à neurodegeneração^{31,32}, assim como seu papel em lesões traumáticas da medula espinal³³, isquemia/reperfusão cerebral³⁴, epilepsia³⁵, doença de Parkinson³⁶, dor³⁷, dentre outros. Alguns

estudos têm também se debruçado a fim de estabelecer sua possível participação do receptor P_2X_7 na etiopatogenia da ansiedade, depressão, esquizofrenia e autismo^{38,39,40}.

Na medida em que os mecanismos de ação do receptor P_2X_7 são compreendidos, tornou-se interessante estudar antagonistas desse receptor como uma possível estratégia terapêutica. Nesse contexto, sabe-se que o corante BBG se liga de forma não competitiva ao receptor P_2X_7 , sendo capaz de transpor a barreira hematoencefálica (BHE), e assim vem ganhando destaque^{14,41,42}.

Dessa forma, várias pesquisas já foram desenvolvidas com o BBG. Em modelos animais, foi observado seus efeitos em neurônios entéricos do colo distal⁴³, lesão traumática da medula espinal³³, na sepse intestinal⁴⁴, na tuberculose pulmonar⁴⁵, isquemia/reperfusão cerebral³⁴, doença de Parkinson³⁶, encefalite auto-imune⁴⁶, doença de Huntington⁴⁷, ELA⁴², doença de Alzheimer⁴⁸, e depressão⁴⁹.

Nosso estudo revelou pela primeira vez que o BBG foi capaz de reduzir a dor nociceptiva inflamatória na ATM através da redução da expressão gênica do receptor P_2X_7 tanto no sistema nervoso periférico quanto no sistema nervoso central trigeminal. Como o BBG atravessa a BHE, supõe-se que seu efeito central se deva a essa característica¹⁴. Através de busca na literatura cinzenta, encontrou-se apenas um estudo na ATM de ratos que fez uso de um antagonista do receptor P_2X_7 , utilizando o BzATP, mostrando que a ativação dos receptores P_2X_7 na ATM induz nocicepção através de prostaglandinas e aminas simpatomiméticas através da ativação de receptores β_2 ⁵⁰. De fato, observamos, no presente estudo, que BBG reduziu também a expressão gênica de TNF- α e IL-1 β , alterando a expressão gênica de IL-6, no entanto, quando comparado ao grupo controle e formalina os resultados não estatisticamente significantes.

Sabe-se que durante o processo de inflamação, a produção de citocinas ocorre em uma sequência, na qual o TNF- α é produzido primeiro e, em seguida, ativa citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , para estimular a produção de ciclooxygenase (COX), e assim finalizar com a síntese dos mediadores inflamatórios e prostaglandinas que levam ao desenvolvimento de hiperalgesia. Em uma cascata paralela, TNF- α induz IL-8 o que leva ao desenvolvimento de hiperalgesia simpática^{51,52,53}. De fato, nosso estudo mostrou que BBG reduziu expressão gênica de IL-1 β , porém não reduziu expressão gênica de IL-6, mostrando que possivelmente o efeito antinociceptivo do BBG ocorre diretamente através de IL-1 β -COX-prostaglandinas, não sendo relevante a participação de IL-6. Sabe-se que a síntese de IL-6 é sinalizada por TNF- α e IL- 1 β , mas que também IL-6 seria capaz de inibir a liberação de TNF- α e IL-1 β agindo em um ciclo de *feedback* negativo resultando por atenuar a resposta

inflamatória, porém é possível que o BBG na dor nociceptiva inflamatória na ATM não atue por esse mecanismo^{54,55,56}.

Dentre as limitações do estudo, identifica-se que ainda é necessária realização das dosagens das citocinas, a fim de confirmar se o efeito do BBG na expressão gênica se confirma na síntese de proteínas; o estudo foi realizado apenas com machos, não se sabendo o efeito do BBG sobre as fêmeas, e não foram identificados os tipos celulares em que BBG atua tanto no GT quanto no SC para saber se seu efeito ocorre via neurônios ou células da glia. Como futuro direcionamento, pode-se sugerir a realização de estudos em animais machos e fêmeas na dor crônica da ATM. Ademais, sabe-se que o BBG já utilizado na clínica como marcador de coloração da cápsula do cristalino durante a cirurgia de catarata⁵⁷, e com marcador em Cirurgia Vitreorretiniana⁵⁸.

CONCLUSÃO

Nossos dados evidenciam o efeito antinociceptivo promovido pelo BBG ao reduzir a expressão gênica do receptor P_{2X}₇ e das citocinas TNF- α e IL-1 β no gânglio trigeminal e no subnúcleo caudal de ratos. Assim, o uso do BBG pode ser uma estratégia nos tratamentos de dor relacionadas a disfunções da ATM. Contudo, a adoção de modelos crônicos de hipernocicepção na ATM utilizando o BBG a fim de definir os mecanismos envolvidos na liberação e bloqueio de citocinas e outros mecanismos se fazem necessários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. GREENE, C. S. Managing the Care of Patients With Temporomandibular Disorders. **The Journal of the American Dental Association**, v. 141, n. 9, p. 1086–1088, 2010.
2. COSTA Y.M, CONTI P.C, DE FARIA F.A, BONJARDIM L.R. Temporomandibular disorders and painful comorbidities: clinical association and underlying mechanisms. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol**. 2017 Mar;123(3):288-297. doi: 10.1016/j.oooo.2016.12.005. Epub 2016 Dec 24. PMID: 28153123.
3. CANALES G.D.L.T CÂMARA-SOUZA M.B, MUÑOZ LORA V.R..M, GUARDANARDINI L, CONTI P.C.R, RODRIGUES GARCIA R.M, DEL BEL CURY AA, MANFREDINI D. Prevalence of psychosocial impairment in temporomandibular disorder patients: A systematic review. **J Oral Rehabil**. 2018 Nov;45(11):881-889. doi: 10.1111/joor.12685. Epub 2018 Jul 17. PMID: 29972707.
4. VALESAN L.F, DA-CAS C.D, RÉUS J.C, DENARDIN A.C.S, GARANHANI R.R, BONOTTO D, JANUZZI E, DE SOUZA B.D.M. Prevalence of temporomandibular joint

- disorders: a systematic review and meta-analysis. **Clin Oral Investig**. 2021 Feb;25(2):441-453. doi: 10.1007/s00784-020-03710-w. Epub 2021 Jan 6. PMID: 33409693.
5. CANALES G.T, GUARDA-NARDINI L, RIZZATTI-BARBOSA C.M, CONTI P.C.R, MANFREDINI D. Distribution of depression, somatization and pain-related impairment in patients with chronic temporomandibular disorders. **J Appl Oral Sci**. 2019 Jan 7;27: e 20180210. doi: 10.1590/1678-7757-2018-0210. PMID: 30624469; PMCID: PMC6322638.
 6. ROTPENPIAN, N; YAKKAPHAN, P. Review of Literatures: Physiology of Orofacial Pain in Dentistry. *eNeuro* 5 April 2021, 8 (2) **ENEURO**.0535-20.2021; DOI: <https://www.eneuro.org/content/8/2/ENEURO.0535-20.2021>.
 4. FERREIRA, L.A., GROSSMANN, E., JANUZZI, E., DE PAULA, M.V.Q., CARVALHO, A.C.P. Diagnosis of temporomandibular joint disorders: Indication of imaging exams. *Braz. J. Otorhinolaryngol*. 82, 341–352, 2016.
 5. SESSLE, B. J. (2011). Peripheral and central mechanisms of orofacial inflammatory pain. *Int. Rev. Neurobiol*. 97, 179–206. doi: 10.1016/B978-0-12-385198-7. 00007-2.
 6. HUFF T, DALY D.T. Neuroanatomy, Cranial Nerve 5 (Trigeminal) **StatPearls Publishing**; Treasure Island (FL): Nov 19, 2020.
 7. LIU, X. Purinergic Signaling and Dental Orofacial Pain. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.87181>.
 8. JOE E, CHOI D, AN J, EUN J, JOU I, PARK S. Astrocytes, Microglia, and Parkinson's Disease. 2018;27(2):77–87.
 9. SWEITZER S.M, SCHUBERT P, DELEO J.A. 2001. Propentofylline, a glial modulating agent, exhibits antiallodynic properties in a rat model of neuropathic pain. **J Pharmacol Exp Ther**. 297(3):1210–7.
 10. LEDEBOER A, SLOANE E.M, MILLIGAN E.D, FRANK M.G, MAHONY J.H, MAIER S.F, WATKINS L.R. 2005. Minocycline attenuates mechanical allodynia and proinflammatory cytokine expression. in rat models of pain facilitation. **Pain**. 115(1):71–83. Doi: 10.1016/j.pain.2005.02.009.
 11. TAWFIK V.L, NUTILE-MCMENEMY N, LACROIX-FRALISH M.L, DELEO J.A. 2007. Efficacy of propentofylline, a glial modulating agent, on existing mechanical allodynia following peripheral nerve injury. **Brain Behav Immun**. 21(2):238–46. doi:10.1016/j.bbi.2006.07.001.
 12. CLARK A.K, MALCANGIO M. 2012. Microglial signalling mechanisms: Cathepsin S and Fractalkine. **Exp Neurol**. 234(2):283–292. Doi: 10.1016/j.expneurol.2011.09.012
 13. BONFANTE, R. The P2X7 Receptor, Cathepsin S and Fractalkine in the Trigeminal Subnucleus Caudalis Signal Persistent Hypernociception in Temporomandibular Rat Joints. *Neuroscience*. 2018 Nov 1; 391:120-130. doi: 10.1016/j.neuroscience. 2018. 09.005. Epub 2018 Sep 22.

14. JIANG L-H, MACKENZIE AB, NORTH RA, SURPRENANT A. Brilliant Blue G Selectively Blocks ATP-Gated Rat P2X7 Receptors. The American Society for **Pharmacology and Experimental Therapeutics** MOL. 2000; 58: 82-8.
15. BOHAR Z, NAGY-GRÓCZ G, FEJES-SZABÓ A, TAR L, LÁSZLÓ AM, BÜKI A, SZABADI N, VRAUKÓ V, VÉCSEI L, PÁRDUTZ Á. Diverse effects of Brilliant Blue G administration in models of trigeminal activation in the rat. **J Neural Transm (Vienna)**. 2015 Dec;122(12):1621-31. doi: 10.1007/s00702-015-1445-x. Epub 2015 Aug 23. PMID: 26298729.
16. KILKENNY C, BROWNE W.J, CUTHILL I.C, EMERSON M, ALTMAN D.G (2010) Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. **PLoS Biol** 8(6): e1000412. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000412>.
17. ROVERONI, RC, PARADA, C. A., CECÍLIA, M., VEIGA, F. A., TAMBELI, CH, 2001. Desenvolvimento de um modelo comportamental de dor na ATM em ratos: o teste da formalina na ATM. **Dor** 94, 185-191. doi:10.1016/S0304-3959(01)00357-8.
18. ROSLAND, J. H. The formalin test in mice: The influence of ambient temperature. **Pain**, v. 45, n. 2, p. 211–216, 1991.
19. HONG, Y.; ABBOTT, F. V. Peripheral opioid modulation of pain and inflammation in the formalin test. **European journal of pharmacology**, v. 277, n. 1, p. 21–8, 13 abr. 1995.
20. LIVAK K.J, SCHMITTGEN T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) **Science**. Method. Methods. 2001 Dec;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262. PMID: 11846609.
21. WILEY J.S, SLUYTER R, GU B..J, STOKES L, FULLER S.J. The human P2X7 receptor and its role in innate immunity. **Tissue antigens**. 2011; 78(5): 321-32.
22. SKAPER S.D, DEBETTO P, GIUSTI P. The P2X7 purinergic receptor: from physiology to neurological disorders. FASEB journal: official publication of the **Federation of American Societies for Experimental Biology**. 2010; 24(2): 337-45.
23. VIRGILIO F.D, SANZ JM, CHIOZZI P, FALZONI S. **CHAPTER**. The P2Z/P2X7 receptor of microglial cells: A novel immunomodulatory receptor. 1999; 120: 355-68.
24. PANENKA W, YONG VW, JIJON H, HERX LM, RANSOHOFF RM, ARMSTRONG JN, et al. P2X7-Like Receptor Activation in Astrocytes Increases hemokine Monocyte Chemoattractant Protein-1 Expression via Mitogen-Activated Protein Kinase. **The Journal of Neuroscience**. 2001; 21(18): 7135–42.
25. KUKLEY M, BARDEN J.A, STEINHAUSER C, JABS R. Distribution of P2X receptors on astrocytes in juvenile rat hippocampus. **Glia**. 2001; 36(1): 11-21.
26. MATUTE C. P2X7 receptors in oligodendrocytes: a novel target for neuroprotection. **Molecular neurobiology**. 2008; 38(2): 123-8.
27. COLOMAR A, AMÉDÉE T. ATP stimulation of P2X7 receptors activates three different

- ionic conductances on cultured mouse Schwann cells. *European Journal of Neuroscience*. 2001; 14: 927-36.
28. ANDERSON C.M, NEDERGAARD M. Emerging challenges of assigning P2X7 receptor function and immunoreactivity in neurons. *Trends in neurosciences*. 2006; 29(5): 257-62.
 29. VOLONTÉ, C. *et al.* P2X7 receptors: channels, pores and more. *CNS & Neurol. Disord. - Drug Targets*, v. 11, n. 6, p. 705-721, 2012.
 30. PUCHALOWICZ, K. *et al.* P2X and P2Y Receptors - Role in the Pathophysiology of the Nervous System. *Int. J. Mol. Sci.*, v. 15, n. 12, p.23672-23704, 2014
 31. SURPRENANT A, RASSENDREN F, KAWASHIMA E, NORTH RA, BUEL G. The Cytolytic P2Z Receptor for Extracellular ATP Identified as a P2X Receptor (P2X7). *Science*. 1996; 272.
 32. STOKES L, SPENCER S.J, JENKINS T.A. Understanding the role of P2X7 in affective disorders-are glial cells the major players? *Frontiers in cellular neuroscience*. 2015;9: 258.
 33. PENG W, COTRINA ML, HAN X, YU H, BEKAR L, BLUM L, ET AL. Systemic administration of an antagonist of the ATP-sensitive receptor P2X7 improves recovery after spinal cord injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009; 106(30): 12489-93.
 34. CHU K, YIN B, WANG J, PENG G, LIANG H, XU Z, et al. Inhibition of P2X7 receptor ameliorates transient global cerebral ischemia/reperfusion injury via modulating inflammatory responses in the rat hippocampus. *Journal of Neuroinflammation*. 2012; 9(69).
 35. JIMENEZ-PACHECO A, MESURET G, SANZ-RODRIGUEZ A, TANAKA K, MOONEY C, CONROY R, et al. Increased neocortical expression of the P2X7 receptor after status epilepticus and anticonvulsant effect of P2X7 receptor antagonist A-438079. *Epilepsia*. 2013; 54(9): 1551-61.
 36. CARMO M.R, MENEZES A.P, NUNES A.C, PLIASSOVA A, ROLO A.P, PALMEIRA C.M, et al. The P2X7 receptor antagonist Brilliant Blue G attenuates contralateral rotations in a rat model of Parkinsonism through a combined control of synaptotoxicity, neurotoxicity and gliosis. *Neuropharmacology*. 2014; 81: 142-52.
 37. DELL'ANTONIO G, QUATTRINI A, CIN ED, FULGENZI A, FERRERO ME. Relief of inflammatory pain in rats by local use of the selective P2X7 ATP receptor inhibitor, oxidized ATP. *Arthritis and rheumatism*. 2002; 46(12): 3378-85.
 38. BASSO A.M, BRATCHER N.A, HARRIS R.R, JARVIS M.F, DECKER M.W, RUETER L.E. Behavioral profile of P2X7 receptor knockout mice in animal models of depression and anxiety: relevance for neuropsychiatric disorders. *Behavioural brain research*. 2009; 198(1): 83-90.
 39. HICKIE I.B, BANATI R, STEWART CH, LLOYD A.R. Are common childhood or

- adolescent infections risk factors for schizophrenia and other psychotic disorders? **MJA**. 2009; 190(4).
40. NAVIAUX R.K, ZOLKIPLI Z, WANG L, NAKAYAMA T, NAVIAUX JC, LE T.P, et al. Antipurinergic therapy corrects the autism-like features in the poly(IC) mouse model. **PloS one**. 2013; 8(3): e57380.
 41. TAKENOUCI T, SEKIYAMA K, SEKIGAWA A, FUJITA M, WARAGAI M, SUGAMA S, et al. P2X7 receptor signaling pathway as a therapeutic target for neurodegenerative diseases. **Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis**. 2010; 58(2): 91-6.
 42. APOLLONI S, AMADIO S, PARISI C, MATTEUCCI A, POTENZA RL, ARMIDA M, et al. Spinal cord pathology is ameliorated by P2X7 antagonism in a SOD1-mutant mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. **Disease models & mechanisms**. 2014; 7(9): 1101-9.
 43. EVANGELINELLIS, M.M. Estudo do antagonista do receptor P2X7, Brilliant Blue G, sobre os neurônios entéricos do colo distal de ratos submetidos à colite ulcerativa experimental. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. **Tese de Doutorado**. São Paulo, 2019.
 44. WU, X., REN, J., CHEN, G. ET AL. Systemic blockade of P2X7 receptor protects against sepsis-induced intestinal barrier disruption. **Sci Rep** 7, 4364 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04231-5>.
 45. FRANCO, M.S, et al. Expression and function of the purinergic receptor P2X7 in patients with pulmonary tuberculosis. **Clin Exp Immunol**. 2006 Nov;146(2):253-61. doi: 10.1111/j.1365-2249.2006.03213.x. PMID: 17034577; PMCID: PMC1942058.
 46. MATUTE C, TORRE I, PEREZ-CERDA F, PEREZ-SAMARTIN A, ALBERDI E, ETXEBARRIA E, et al. P2X(7) receptor blockade prevents ATP excitotoxicity in oligodendrocytes and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. 2007; 27(35): 9525-33.
 47. DIAZ-HERNÁNDEZ, M. et al. Altered P2X7-receptor level and function in mouse models of Huntington's disease and therapeutic efficacy of antagonist administration. **Faseb J**. v.23, n.6, p.1893-1906, 2009.
 48. CHEN X, HU J, JIANG L, XU S, ZHENG B, WANG C, et al. Brilliant Blue G improves cognition in an animal model of Alzheimer's disease and inhibits amyloid-beta-induced loss of filopodia and dendrite spines in hippocampal neurons. **Neuroscience**. 2014; 279: 94-101.
 49. MA M, REN Q, ZHANG JC, HASHIMOTO K. Effects of Brilliant Blue G on Serum Tumor Necrosis Factor-alpha Levels and Depression-like Behavior in Mice after Lipopolysaccharide Administration. *Clinical psychopharmacology and neuroscience: the official scientific journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology*. 2014; 12(1): 31-6.
 50. SOUSA, H.M.X, et al., Avaliação dos mecanismos indiretos envolvidos na nocicepção

induzida pela ativação dos receptores p2x7 na atm de ratos. XX encontro interno de iniciação científica da **UNINCAMP**, 2012. 02845153376.

51. CUNHA F.Q, POOLE S, LORENZETTI B.B, FERREIRA S.H. The pivotal role of tumour necrosis factor alpha in the development of inflammatory hyperalgesia. **Br J Pharmacol**. 1992 Nov;107(3):660-4. doi: 10.1111/j.1476-5381.1992.tb14503.x. PMID: 1472964; PMCID: PMC1907751.
52. CUNHA T.M, VERRI W.A J.R, SILVA J.S, POOLE S, CUNHA F.Q, FERREIRA S.H. A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2005 Feb 1;102(5):1755-60. doi: 10.1073/pnas.0409225102. Epub 2005 Jan 21. PMID: 15665080; PMCID: PMC547882.
53. CUNHA T.M, VERRI WA J.R, VALÉRIO D.A, GUERRERO A.T, NOGUEIRA L.G, VIEIRA S.M, SOUZA D.G, TEIXEIRA M.M, POOLE S, FERREIRA S.H, CUNHA F.Q. Role of cytokines in mediating mechanical hypernociception in a model of delayed-type hypersensitivity in mice. *Eur J Pain*. 2008 Nov;12(8):1059-68. doi: 10.1016/j.ejpain.2008.02.003. **Epub** 2008 Mar 26. PMID: 18372199.
54. AKIRA, S., T. HIRANO, T. TAGA AND T. KISHIMOTO, 1990: Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL 1 and TNF). **FASEB J**, 4, 2860-2867.
55. SCHINDLER, R., J. MANCILLA, S. ENDRES, R. GHORBANI, S. C. CLARK AND C. A. DINARELLO, 1990: Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. **Blood**, 75, 40-47.
56. SCHELLER, J., A. CHALARIS, D. SCHMIDT-ARRAS AND S. ROSE-JOHN, 2011: The pro- and anti- inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. **Biochim Biophys Acta**, 1813, 878-888.
57. HISATOMI T, ENAIDA H, YOSHIDA S, HIRAKATA A, OHJI M, NISHIDA K, KUBOTA T, OGATA N, MATSUI T, KIMURA K, SONODA K.H, UCHIYAMA M, KISHIMOTO J, TODAKA K, NAKANISHI Y, ISHIBASHI T. Safety and efficacy of brilliant blue g250 (BBG) for lens capsular staining: a phase III physician-initiated multicenter clinical trial. **Jpn J Ophthalmol**. 2020 Sep;64(5):455-461. doi: 10.1007/s10384-020-00763-y. Epub 2020 Aug 18. PMID: 32809075.
58. ENAIDA H. · ISHIBASHI T. Brilliant Blue in Vitreoretinal Surgery. Meyer CH (ed): Vital Dyes in Vitreoretinal Surgery. Dev Ophthalmol. Basel, Karger, 2008, vol 42, pp 115-125.
59. ALENCAR, K. Um corante que pode ajudar a combater o Parkinson. 21 de novembro de 2017. Disponível em:<agenciaufc@ufc.br>. Acesso em: 21\01\2023.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105, 121-6. 1984.

AL-BAGHDADI, M. et al. TMJ disc displacement without reduction management: a systematic review. *Journal of Dental Research*, Washington, v. 93, n. 7, p. 37S-51S, 2014.

AFONSO, ROTPEALEY, K. O., AND LEVINE, J. D. (1999). Role of protein kinase A in the maintenance of inflammatory pain. *J. Neurosci.* 19, 2181–2186.

AKIRA, S., T. HIRANO, T. TAGA AND T. KISHIMOTO, 1990: Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL 1 and TNF). *FASEB J*, 4, 2860-2867.

ALVES et al. Effects of photobiomodulation associated with orofacial myofunctional therapy on temporomandibular joint dysfunction. *CODAS* 2021;33(6): e20200193 DOI: 10.1590/2317-1782/20202020193.

ALVES, L. et al. Physiological roles and potential therapeutic applications of the P2X7 receptor in inflammation and pain. *Molecules.* v.18, p.10953-10972, 2013.

ALENCAR, K. Um corante que pode ajudar a combater o Parkinson. 21 de novembro de 2017. Disponível em:<agenciaufc@ufc.br>. Acesso em: 21\01\2023.

AMBALAVANAR R, DESSEM D. Emerging peripheral receptor targets for deep-tissue craniofacial pain therapies. *Journal of Dental Research.* 2009;88(3):201-211.

AMBALAVANAR R, MORITANI M, DESSEM D. Trigeminal P2X3 receptor expression differs from dorsal root ganglion and is modulated by deep tissue inflammation. *Pain.* 2005;117(3):280-291.

ANANTHAN S, BENOLIEL R (2020) Chronic orofacial pain. *J Neural Transm* (Vienna) 127:575–588. doi:10.1007/s00702-020-02157-3 pmid:32130516.

ANDERSON C.M, NEDERGAARD M. Emerging challenges of assigning P2X7 receptor function and immunoreactivity in neurons. *Trends in neurosciences.* 2006; 29(5): 257-62.

ANDO RD, MEHESZ B, GYIRES K, ILLES P, SPERLAGH B (2010) A comparative analysis of the activity of ligands acting at P2X and P2Y receptor subtypes in models of neuropathic, acute and inflammatory pain. *Br J Pharmacol* 159:1106–1117.

APOLLONI S, AMADIO S, PARISI C, MATTEUCCI A, POTENZA RL, ARMIDA M, et al. Spinal cord pathology is ameliorated by P2X7 antagonism in a SOD1-mutant mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Disease models & mechanisms.* 2014; 7(9): 1101-9.

ARENDE-NIELSEN L, MORLION B, PERROT S, DAHAN A, DICKENSON A, KRESS HG, WELLS C, BOUHASSIRA D, MOHR DREWES A (2018) Assessment and manifestation of central sensitisation across different chronic pain conditions. **Eur J Pain** 22:216–241. doi:10.1002/ejp.1140 pmid:29105941.

ARMSTRONG, S.A; HERR, M. J. Physiology, Nociception. **StatPearls [Internet]**. Last Update: May 9, 2021.

AYDEDE M, SHRIVER A (2018) Recently introduced definition of “nociplastic pain” by the International Association for the Study of Pain needs better formulation. **Pain** 159:1176–1177. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001184 pmid:29768305

BADEL T, ZADRAVEC D, BAŠIĆ KES V, SMOLJAN M, KOCIJAN LOVKO S, ZAVOREO I, KRAPAC L, ANIĆ MILOŠEVIĆ S (2019) Orofacial pain - diagnostic and therapeutic challenges. **Acta Clin Croat** 58:82–89.

BASSO, A.M. et al. Behavioral profile of P2X7 receptor knockout mice in animal models of depression and anxiety: relevance for neuropsychiatric disorders. **Behav. Brain Res.** v. 198, n. 1, p. 83-90, 2009.

BELE T, FABBRETTI E. P₂X receptors, sensory neurons and pain. *Current Medicinal Chemistry*. 2015;22(7):845-850.

BENNETT M.R (2007) Synaptic P2X7 receptor regenerative-loop hypothesis for depression. **Aust N Z J Psychiatry** 41: 563–571.

BENOLIEL R, GAUL C. Persistent idiopathic facial pain. **Cephalalgia**. 2017 Jun;37(7):680-91. <https://doi.org/10.1177/0333102417706349>.

BHATTACHARYA A (2018) Recent advances in CNS P2X7 physiology and pharmacology: focus on neuropsychiatric disorders. **Front Pharma-** col 9: 30.

BHATTACHARYA A AND BIBER K (2016) The microglial ATP-gated ion channel P2X7 as a CNS drug target. **Glia** 64: 1772–1787.

BHATTACHARYA A, NEFF R.A AND WICKENDEN A.D (2011). The physiology, pharmacology and future of P2X7 as an analgesic drug target: hype or promise? **Curr Pharm Biotechnol** 12: 1698–1706.

BOHÁR Z, NAGY-GRÓCZ G, FEJES-SZABÓ A, TAR L, LÁSZLÓ AM, BÜKI A, SZABADI N, VRAUKÓ V, VÉCSEI L, PÁRDUTZ Á. Diverse effects of Brilliant Blue G administration in models of trigeminal activation in the rat. **J Neural Transm (Vienna)**. 2015 Dec;122(12):1621-31. doi: 10.1007/s00702-015-1445-x. Epub 2015 Aug 23. PMID: 26298729.

BONFANTE, R. The P2X7 Receptor, Cathepsin S and Fractalkine in the Trigeminal Subnucleus Caudalis Signal Persistent Hypernociception in Temporomandibular Rat Joints.

Neuroscience. 2018 Nov 1; 391:120-130. doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.09.005. Epub 2018 Sep 22.

BONTEMPO K, ZAVANELLI R. Desordem temporomandibular: prevalência e necessidade de tratamento em pacientes portadores de próteses totais duplas. *Rev Gaúcha Odontol.* 2011;59(1):87-94.

BUENO M.R.S. ROSA, R.R GENARO, K.F. FELIX G.B. Validation of the MBGR orofacial myofunctional assessment protocol for adults with temporomandibular disorders with disc displacement with reduction. *CODAS* 2020;32(4):e20190132 DOI: 10.1590/2317-1782/20202019132.

BURNSTOCK G (2016) Purinergic Mechanisms and Pain. In: *Advances in Pharmacology*, pp 91–137. **Academic Press.**

BURNSTOCK G. Purinergic receptors and pain. **Current Pharmaceutical Design.** 2009;15(15):1717-1735.

BURNSTOCK, G; NOVAK, I. Purinergic signalling and diabetes. **Purinergic Signalling**, v. 9, n. 3, p.307-324, 2013.

BUTT AM, FERN RF AND MATUTE C (2014). Neurotransmitter signaling in white matter. **Glia** 62: 1762–1779.

CANALES G.D.L.T CÂMARA-SOUZA M.B, MUÑOZ LORA V.R..M, GUARDANARDINI L, CONTI P.C.R, RODRIGUES GARCIA R.M, DEL BEL CURY AA, MANFREDINI D. Prevalence of psychosocial impairment in temporomandibular disorder patients: A systematic review. **J Oral Rehabil.** 2018 Nov;45(11):881-889. doi: 10.1111/joor.12685. Epub 2018 Jul 17. PMID: 29972707.

CANALES G.T, GUARDA-NARDINI L, RIZZATTI-BARBOSA C.M, CONTI P.C.R, MANFREDINI D. Distribution of depression, somatization and pain-related impairment in patients with chronic temporomandibular disorders. **J Appl Oral Sci.** 2019 Jan 7;27:e20180210. doi: 10.1590/1678-7757-2018-0210. PMID: 30624469; PMCID: PMC6322638.

CARLSSON GE, MAGNUSSON T, GUIMARÃES AS. Tratamento das disfunções temporomandibulares na clínica odontológica. São Paulo: **Quintessence** 2006;9:23.

COSTA Y.M, CONTI P.C, DE FARIA F.A, BONJARDIM L.R. Temporomandibular disorders and painful comorbidities: clinical association and underlying mechanisms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* **Oral Radiol.** 2017 Mar;123(3):288-297. doi: 10.1016/j.oooo.2016.12.005. Epub 2016 Dec 24. PMID: 28153123.

CARMO M.R, MENEZES A.P, NUNES A.C, PLIASSOVA A, ROLO A.P, PALMEIRA C.M, et al. The P2X7 receptor antagonist Brilliant Blue G attenuates contralateral rotations in a rat model of Parkinsonism through a combined control of synaptotoxicity, neurotoxicity and gliosis. **Neuropharmacology**. 2014; 81: 142-52.

CHAUVET N, PALIN K, VERRIER D, POOLE S, DANTZER R, LESTAGE J. 2001. Rat microglial cells secrete predominantly the precursor of interleukin-1beta in response to lipopolysaccharide. **Eur J Neurosci**. 14(4):609–17. doi:10.1046/j.0953-816x.2001.01686.x.

CHEN Y, LI G, HUANG L-YM (2012) P2X7 Receptors in Satellite Glial Cells Mediate High Functional Expression of P2X3 Receptors in Immature Dorsal Root Ganglion Neurons. **Molecular Pain** 8:1744-8069-8–9.

CHEN X, HU J, JIANG L, XU S, ZHENG B, WANG C, et al. Brilliant Blue G improves cognition in an animal model of Alzheimer's disease and inhibits amyloid-beta-induced loss of filopodia and dendrite spines in hippocampal neurons. **Neuroscience**. 2014; 279: 94-101.

CHRISTOFOROU J. (2018) Dor orofacial neuropática. **Dent Clin North Am** 62: 565 – 584. doi: 10.1016/j.cden.2018.05.005 pmid: 30189983.

CHRISTOPHER LB (1998) Applied oral physiology, Ed 2. **London**: Wright.

CUNHA F.Q, POOLE S, LORENZETTI B.B, FERREIRA S.H. The pivotal role of tumour necrosis factor alpha in the development of inflammatory hyperalgesia. **Br J Pharmacol**. 1992 Nov;107(3):660-4. doi: 10.1111/j.1476-5381.1992.tb14503.x. PMID: 1472964; PMCID: PMC1907751.

CUNHA T.M, VERRI W.A J.R, SILVA J.S, POOLE S, CUNHA F.Q, FERREIRA S.H. A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2005 Feb 1;102(5):1755-60. doi: 10.1073/pnas.0409225102. Epub 2005 Jan 21. PMID: 15665080; PMCID: PMC547882.

CUNHA T.M, VERRI WA J.R, VALÉRIO D.A, GUERRERO A.T, NOGUEIRA L.G, VIEIRA S.M, SOUZA D.G, TEIXEIRA M.M, POOLE S, FERREIRA S.H, CUNHA F.Q. Role of cytokines in mediating mechanical hypernociception in a model of delayed-type hypersensitivity in mice. **Eur J Pain**. 2008 Nov;12(8):1059-68. doi: 10.1016/j.ejpain.2008.02.003. **Epub** 2008 Mar 26. PMID: 18372199.

CHU, K. YIN, B. WANG, J. PENG, G. LIANG, H. XU, Z. DU, Y. FANG, M. XIA, Q. LUO, B. Inhibition of P2X7 receptor ameliorates transient global cerebral ischemia/reperfusion injury via modulating inflammatory responses in the rat hippocampus. **J Neuroinflammation**. v. 9, p. 69, 2012.

CLARK A.K, MALCANGIO M. 2012. Microglial signalling mechanisms: Cathepsin S and Fractalkine. **Exp Neurol**. 234(2):283–292. Doi: 10.1016/j.expneurol.2011.09.012.

- CLARK GT. Etiologic theory and the prevention of temporomandibular disorders. **Adv Dent Res** 1991; 5:60-66.
- COHEN M, QUINTNER J, VAN RYSEWYK S. Reconsidering the International Association for the Study of Pain definition of pain. **Pain Rep.** 2018. 5;3(2):e634.
- COLOMAR A, AMÉDÉE T. ATP stimulation of P2X7 receptors activates three different ionic conductances on cultured mouse Schwann cells. **European Journal of Neuroscience.** 2001; 14: 927-36.
- COLLO G, NEIDHART S, KAWASHIMA E, et al. (1997) Tissue distribution of the P2X7 receptor. *Neuropharmacology* 36: 1277–1283. Collo G, Neidhart S, Kawashima E, et al. (1997) Tissue distribution of the P2X7 receptor. **Neuropharmacology** 36: 1277–1283.
- CUTOLO M, SOLDANO S, SMITH V. Fisiopatologia da esclerose sistêmica: compreensão atual e novos insights. **Expert Rev Clin Immunol.** Julho de 2019; 15 (7): 753-764.
- DE LEEUW R. Dor orofacial: guia de avaliação, diagnóstico e tratamento. 4ª ed. São Paulo: **Quintessence**; 2010;11:23.
- DE MIRANDA C. L. F; GUIMARÃES, J.P; CHAOBAH, A. Prevalência de Distúrbios da Articulação Temporo - mandibular em Crianças e Adolescentes Brasileiros e sua Relação com Má oclusão e Hábitos Parafuncionais: um Estudo Epidemiológico Transversal–Parte II: Distúrbios Articulares e Hábitos Para funcionais. **Jornal Brasileiro de ORTODONTIA & Ortopedia Facial**, v. 9, n. 50, 2010.
- DE OLIVEIRA FUSARO MCG, PELEGRINI-DA-SILVA A, ARALDI D, PARADA CA, TAMBELI CH (2010) P2X3 and P2X2/3 receptors mediate mechanical hyperalgesia induced by bradykinin, but not by pro-inflammatory cytokines, PGE2 or dopamine. **European Journal of Pharmacology** 649:177–182.
- DELL'ANTONIO G, QUATTRINI A, CIN ED, FULGENZI A, FERRERO ME. Relief of inflammatory pain in rats by local use of the selective P2X7 ATP receptor inhibitor, oxidized ATP. **Arthritis and rheumatism.** 2002; 46(12): 3378-85.
- DI VIRGILIO et al., 2018. Modulação da imunidade inata e adaptativa por canais iônicos P2X. *Curr. Opiniões Immunol.*, 52 (2018), pp. 51 – 59.
- DI VIRGILIO F (2007) Liaisons dangereuses: P2X(7) and the inflammasome. *Trends Pharmacol Sci* 28:465–472 SKAPER SD, DEBETTO P, GIUSTI P (2010) The P2X7 purinergic receptor: from physiology to neurological disorders. **The FASEB Journal** 24:337–345.
- DI VIRGILIO F. E GIULIANI, A.L. Sinalização purinérgica na autoimunidade: um papel do P2X7R no lúpus eritematoso sistêmico? 2016. **Biomed. J.**, 39 (2016), pp. 326 – 338.

DÍAZ-HERNÁNDEZ, M. et al. Altered P2X7-receptor level and function in mouse models of Huntington's disease and therapeutic efficacy of antagonist administration. **FASEB J.** v.23, n.6, p.1893-1906, 2009.

DÍAZ-HERNÁNDEZ, M. et al. 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.

DÍAZ-HERNÁNDEZ, M. et al. In vivo P2X7 inhibition reduces amyloid plaques in Alzheimer's disease through GSK3b and secretases. **Neurobiol. Aging**, v. 33, p. 1816-1828, 2012.

DWORKIN SF, LERESCHE L. Research diagnostic criteria for temporomandibular disorders: Review, criteria, examinations and specifications, critique. **J Craniomandib Disord.** 1992;6(4):301-55. PMID:1298767.

ENaida H. · ISHIBASHI T. Brilliant Blue in Vitreoretinal Surgery. Meyer CH (ed): Vital Dyes in Vitreoretinal Surgery. **Dev Ophthalmol. Basel, Karger**, 2008, vol 42, pp 115-125.

EGERMARK-ERIKSSON I, CARLSSON GE, MAGNUSSON T. A long-term epidemiologic study of the relationship between occlusal factors and mandibular dysfunction in children and adolescents. **J Dent Res** 1987; 66:67-71.

ENGEL T, GOMEZ-VILLAFUERTES R, TANAKA K, et al. (2012) Seizure suppression and neuroprotection by targeting the purinergic P2X7 receptor during status epilepticus in mice. **FASEB J** 26: 1616–1628.

ENGEL, T. et al. Seizure suppression and neuroprotection by targeting the purinergic P2X7 receptor during status epilepticus in mice. **FASEB J.** v. 26, p. 1616-1628, 2012.

ESPINOSA-SANCHEZ JM, ESPINOSA-CAMPOS L, BATUECAS-CALETRÍO Á (2020) From neuroanatomy to neurophysiology. **Anat Rec** (Hoboken) 303:1221–1231. doi:10.1002/ar.24190 pmid:31172670.

EVANGELINELLIS, M.M. Estudo do antagonista do receptor P2X7, Brilliant Blue G, sobre os neurônios entéricos do colo distal de ratos submetidos à colite ulcerativa experimental. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. **Tese de Doutorado.** São Paulo, 2019.

FABBRETTI E (2013). ATP P2X3 receptors and neuronal sensitization. **Frontiers in Cellular Neuroscience** 7:236.

FRANCO, M.S, et al. Expression and function of the purinergic receptor P2X7 in patients with pulmonary tuberculosis. **Clin Exp Immunol.** 2006 Nov;146(2):253-61. doi: 10.1111/j.1365-2249.2006.03213.x. PMID: 17034577; PMCID: PMC1942058.

FEHÉR G, NEMESKÉRI Z, PUSCH G, ZÁDORI I, BANK G, GURDÁN Z, MÉSZÁROS J, MÁK K, TIBOLD A, KOMOLY S (2019) Chronic orofacial pain. **Orv Hetil** 160:1047–1056. doi:10.1556/650.2019.31432 pmid:31264469.

FELÍCIO CM, FERREIRA CLP. Protocol of orofacial myofunctional evaluation with scores. **Int J Pediatr Otorhinolaryngol.** 2008;72(3):367-75. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijporl.2007.11.012>. PMID:18187209.

FELÍCIO CM, MEDEIROS AP, MELCHIOR MO. Validity of the ‘protocol of oro- facial myofunctional evaluation with scores’ for young and adult subjects. **J Oral Rehabil.** 2012;39(10):744-53. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2842.2012.02336.x>. PMID:22852833.

FELÍCIO CM. Desordens temporomandibulares: terapia fonoaudiológica. In: Felício CM, Trawitzki LVV. Interfaces da medicina, odontologia e fonoaudiologia no complexo cérvico-craniofacial. **Barueri: Pro-Fono;** 2009.

FERRARI D, PIZZIRANI C, ADINOLFI E, et al. (2006) The P2X7 receptor: a key player in IL-1 processing and release. **J Immunol** 176: 3877–3883.

FERREIRA C.L.P, MACHADO B.C, BORGES C.G, RODRIGUES DA SILVA M.A, SFORZA C, DE FELÍCIO C.M. Impaired orofacial motor functions on chronic temporomandibular disorders. **J Electromyogr Kinesiol.** 2014;24(4):565-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jelekin.2014.04.005>. PMID:24816190.

FERREIRA C.L.P, SFORZA C, RUSCONI F.M.E, CASTELO P.M, BOMMARITO S. Masticatory behaviour and chewing difficulties in young adults with temporomandibular disorders. **J Oral Rehabil.** 2019;46(6):533-40. <http://dx.doi.org/10.1111/joor.12779>. PMID:30809826.

FERREIRA C.L.P, SILVA M.A.M.R, FELÍCIO C.M. Signs and symptoms of temporomandibular disorders in women and men. **CoDAS.** 2016;28(1):17- 21. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1782/20162014218>. PMID:27074184.

FERREIRA, L.A., GROSSMANN, E., JANUZZI, E., DE PAULA, M.V.Q., CARVALHO, A.C.P. **Diagnosis of temporomandibular joint disorders: Indication of imaging exams.** Braz. J. Otorhinolaryngol. 82, 341–352, 2016.

FERRERO-MILIANI L, NIELSEN O, ANDERSEN P, GIRARDIN S. Inflamação crônica: importância de NOD2 e NALP3 na geração de interleucina-1 β . **Clin Exp Immunol.** 2007; 147 :227-235.

FIGUEIREDO VMG, CAVALCANTI AL, FARIAS ABL, NASCIMENTO SR. Prevalência de sinais, sintomas e fatores associados em portadores de disfunção temporomandibular. **Acta Scientiarum. Health Science.** 2009;31(2):159-63.

FRIEDLE, A.; CURET, M. A.; WATTERS, J. J. Recent patents on novel P2X7 receptor antagonists and their potential for reducing central nervous system inflammation. *Recent. Pat. CNS Drug Discov.*, v. 5, n. 1, p. 35, 2010.

GARCÍA-HERNÁNDEZ, Mariana H. et al. Expression and function of P2X(7) receptor and CD39/ Entpd1 in patients with type 2 diabetes and their association with biochemical parameters. *Cellular Immunology*, v. 296, n.2, p.135-143, 2011.

GENARO KF, BERRETIN-FELIX G, REHDER MIBC, MARCHESAN IQ. Orofacial myofunctional evaluation – MBGR Protocol. *Rev CEFAC*. 2009;11(2):237- 55. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-18462009000200009>.

GLASER, T. et al. **Modulation of Mouse Embryonic Stem Cell Proliferation and Neural Differentiation by the P2X7 Receptor**. *PLoS ONE*, v. 9, n.5, p. e96281. 2014.

GRAFF-RADFORD SB, ABBOTT J.J. Temporomandibular Disorders and Headache. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2016 Aug;28(3):335- 49. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2016.03.004>.

GREENE, C. S. **Managing the Care of Patients With Temporomandibular Disorders**. *The Journal of the American Dental Association*, v. 141, n. 9, p. 1086–1088, 2010.

GREENE C.S, KLASSER G.D, EPSTEIN J.B. Revision of the American Association of Dental Research's science information statement about temporomandibular disorders. *J Can Dent Assoc*. 2010;76:a115.

HAMILTON N, VAYRO S, KIRCHHOFF F, et al. (2008) Mechanisms of ATP- and glutamate-mediated calcium signaling in white matter astro- cytes. *Glia* 56: 734–749.

HAMILTON SG, MCMAHON SB. ATP as a peripheral mediator of pain. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 2000;81(1-3):187-194.

HAMILTON SG. ATP and pain. *Pain Practice: The Official Journal of World Institute of Pain*. 2002;2(4):289-294.

HAN JS, ADWANIKAR H, LI Z, JI G, NEUGEBAUER V. Facilitation of synaptic transmission and pain responses by CGRP in the amygdala of normal rats. *Molecular Pain*. 2010;6:10.

HE, Y.; TAYLOR, N.; FOURGEAUD, L.; BHATTACHARYA, A. The role of microglial P2X7: modulation of cell death and cytokine release, p. 1–13, 2017.

HISATOMI T, ENAIDA H, YOSHIDA S, HIRAKATA A, OHJI M, NISHIDA K, KUBOTA T, OGATA N, MATSUI T, KIMURA K, SONODA K.H, UCHIYAMA M, KISHIMOTO J, TODAKA K, NAKANISHI Y, ISHIBASHI T. Safety and efficacy of brilliant blue g250 (BBG) for lens capsular staining: a phase III physician-initiated multicenter clinical trial. *Jpn*

J Ophthalmol. 2020 Sep;64(5):455-461. doi: 10.1007/s10384-020-00763-y. Epub 2020 Aug 18. PMID: 32809075

HICKIE I.B, BANATI R, STEWART CH, LLOYD A.R. Are common childhood or adolescent infections risk factors for schizophrenia and other psychotic disorders? **MJA.** 2009; 190(4).

HONG, Y.; ABBOTT, F. V. Peripheral opioid modulation of pain and inflammation in the formalin test. **European journal of pharmacology**, v. 277, n. 1, p. 21–8, 13 abr. 1995.

HUANG GJ, LERESCHE L, CRITCHLOW CW, MARTIN MD, DRANGSHOLT MT. Risk factors for diagnostic subgroups of painful temporomandibular disorders (TMD). **J Dent Res** 2002; 81:284-288.

HUANG GJ, RUE TC. Third-molar extraction as a risk factor for temporomandibular disorder. **JADA** 2006;137:1547-1554.

HUFF T, DALY D.T. Neuroanatomy, Cranial Nerve 5 (Trigeminal) **StatPearls Publishing**; Treasure Island (FL): Nov 19, 2020.

IASP Subcommittee on Taxonomy. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. 2020. **PAIN** 1979;6:249–52. IASP. <https://www.iasp-pain.org/terminology?navItemNumber14576#Pain>. [Accessed 10 AUGUST, 2021].

INOUE K. Purinergic signaling in microglia in the pathogenesis of neuropathic pain. Proceedings of the Japan Academy. **Series B, Physical and Biological Sciences.** 2017;93(4):174-182.

ITO G, SUEKAWA Y, WATANABE M, TAKAHASHI K, INUBUSHI T, MURASAKI K, HIROSE N, HIYAMA S, UCHIDA T, TANNE K. P2X7 receptor in the trigeminal sensory nuclear complex contributes to tactile allodynia/hyperalgesia following trigeminal nerve injury. **Eur J Pain.** 2013 Feb;17(2):185-99. doi: 10.1002/j.1532-2149.2012.00174.x. Epub 2012 Aug 3. PMID: 22865777.

ITOH, K.; CHIANG, C.Y.; LI, Z.; LEE, J.C.; DOSTROVSKY, J.O.; SESSLE, B.J. **Central sensitization of nociceptive neurons in rat medullary dorsal horn involves purinergic P2X7 receptors.** *Neuroscience* 2011, 192, 721–731.

IWATA M, OTA KT, LI X-Y, et al. (2016) Psychological stress activates the inflammasome via release of adenosine triphosphate and stimulation of the purinergic type 2X7 receptor. **Biol Psychiatry** 80: 12–22.

JAASKELAINEN S.K (2019) Differential diagnosis of chronic neuropathic orofacial pain: role of clinical neurophysiology. **J Clin Neurophysiol** 36:422–429.

JIANG L-H, MACKENZIE AB, NORTH RA, SURPRENANT A. Brilliant Blue G Selectively Blocks ATP-Gated Rat P2X7 Receptors. **The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics MOL.** 2000; 58: 82-8.

JIMENEZ-PACHECO A, MESURET G, SANZ-RODRIGUEZ A, TANAKA K, MOONEY C, CONROY R, et al. Increased neocortical expression of the P2X7 receptor after status epilepticus and anticonvulsant effect of P2X7 receptor antagonist A-438079. **Epilepsia.** 2013; 54(9): 1551-61.

JOE E, CHOI D, AN J, EUN J, JOU I, PARK S. Astrocytes, Microglia, and Parkinson's Disease. 2018;27(2):77–87.

KELLIESARIAN, S., Al-kheraif, A.A., Vohra, F., Ghanem, A., Malmstrom, H., Romanos, G.E., Javed, F. **Cytokine profile in the synovial fluid of patients with temporomandibular joint disorders: A systematic review.** **Cytokine** 77, 98–106, 2016.

KEYSTONE, E.C. WANG, M.M. LAYTON, M. HOLLIS, S. MCINNES. I.B. Clinical evaluation of the efficacy of the P2X7 purinergic receptor antagonist AZD9056 on the signs and symptoms of rheumatoid arthritis in patients with active disease despite treatment with methotrexate or sulphasalazine *Ann. Rheum. Dis.*, 71 (2012), pp. 1630-1635.

KILKENNY C, BROWNE W.J, CUTHILL I.C, EMERSON M, ALTMAN D.G (2010) Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. **PLoS Biol** 8(6): e1000412. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000412>.

KHADRA A, TOMIĆ M, YAN Z, ZEMKOVA H, SHERMAN A, STOJILKOVIĆ SS (2013) Dual gating mechanism and function of P2X7 receptor channels. **Biophysical journal** 104:2612–2621.

KLASSER G.D, ALMOZNINO G, FORTUNA G (2018) Sono e dor orofacial. **Dent Clin North Am** 62: 629 – 656. doi: 10.1016/j.cden.2018.06.005 pmid: 30189987.

KOBAYASHI K, FUKUOKA T, YAMANAKA H, DAI Y, OBATA K, TOKUNAGA A, NOGUCHI K (2005) Differential expression patterns of mRNAs for P2X receptor subunits in neurochemically characterized dorsal root ganglion neurons in the rat. **The Journal of Comparative Neurology** 481:377–390.

KOBAYASHI, K.; Takahashi, E.; Miyagawa, Y.; Yamanaka, H.; Noguchi, K. Induction of the P2X7 receptor in spinal microglia in a neuropathic pain model. **Neuro. Sci. Lett.** 2011, 504, 57–61.

KOPRUSZINSKI, C. M. Estudo do desenvolvimento de alterações sensoriais e avaliação da participação do sistema endotelínérgico em um modelo experimental de carcinoma facial. /– Curitiba, 2015.112f.: il.; 30cm

KRIMON S, ARALDI D, DO PRADO F.C, TAMBELI C.H, OLIVEIRA-FUSARO M.C, PARADA C.A (2013) P2X3 receptors induced inflammatory nociception modulated by TRPA1, 5-HT3 and 5-HT1A receptors. **Pharmacol Biochem Behav** 112:49–55.

KUAN Y-H, SHYU B-C (2016) Nociceptive transmission and modulation via P2X receptors in central pain syndrome. **Molecular Brain** 9:58.

KUKLEY M, BARDEN J.A, STEINHAUSER C, JABS R. Distribution of P2X receptors on astrocytes in juvenile rat hippocampus. **Glia**. 2001; 36(1): 11-21.

KUKULSKI F, LEVESQUE SA, SEVIGNY J. Impact of ectoenzymes on p2 and p1 receptor signaling. **Advances in Pharmacology**. 2011; 61:263-299.

KUNER R. Central mechanisms of pathological pain. **Nature Medicine**. 2010;16(11):1258-1266.

KUROIWA DN, MARINELLI JG, RAMPANI MS, OLIVEIRA W, NICODEMO D. Desordens temporomandibulares e dor orofacial: estudo da qualidade de vida medida pelo Medical Outcomes Study 36 – Item Short Form Health Survey*. **Rev Dor [online]**. 2011;12(2):93-8. <https://doi.org/10.1590/2317-1782/20162015099>.

LAZAROWSKI, E. R.; BOUCHER, R. C.; HARDEN, T. K. Mechanisms of release of nucleotides and integration of their action as P2X and P2Y-receptor activating molecules. **Mol. Pharmacol**, v. 64, p.785–795, 2003.

LEDEBOER A, SLOANE E.M, MILLIGAN E.D, FRANK M.G, MAHONY J.H, MAIER S.F, WATKINS L.R. 2005. Minocycline attenuates mechanical allodynia and proinflammatory cytokine expression. in rat models of pain facilitation. **Pain**. 115(1):71–83. Doi: 10.1016/j.pain.2005.02.009.

LIU, X. Purinergic Signaling and Dental Orofacial Pain. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.87181>.

LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) **Method. Methods**. 2001 Dec;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262. PMID: 11846609.

LOESER, J. The management of pain. DPages 9-12 | Published online: 16 Jan 2010. https://doi.org/10.1300/J094v01n01_02. Ed 2. **Philadelphia**: Lea and Febiger.

LUCAS S. C. CARVALHO et al. MS: Prevalence of temporomandibular disorders symptoms in patients with multiple sclerosis disorders. **Arq Neuropsiquiatr** 2014;72(6):422-425. DOI: 10.1590/0004-282X20140059.

MA M, REN Q, ZHANG JC, HASHIMOTO K. Effects of Brilliant Blue G on Serum Tumor Necrosis Factor-alpha Levels and Depression-like Behavior in Mice after Lipopolysaccharide Administration. *Clinical psychopharmacology and*

neuroscience : **the official scientific journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology**. 2014; 12(1): 31-6.

MAARBJERG S, DI STEFANO G, BENDTSEN L, CRUCCU G. Trigeminal neuralgia - diagnosis and treatment. **Cephalalgia**. 2017 Jun;37(7):648-57. <https://doi.org/10.1177/0333102416687280>.

MACHELSKA, H., AND STEIN, C. (2006). Leukocyte-derived opioid peptides and inhibition of pain. **J. Neuroimmune Pharmacol**. 1, 90–97. doi: 10.1007/s11481-005-9002-2.

MARCILLO A. et al. A reassessment of P2X7 receptor inhibition as a neuroprotective strategy in rat models of contusion injury. **Exp Neurol**. v.233, n.2. p.687-692, 2012.

MATIAS AGC, ROCHA AB, SANTOS CS, FONSECA MA. Modulação da dor em portadores de disfunções temporomandibular pela ação do laser AsGaAL. **Interscientia**. 2014;2(2):25-37.

MATTAR, M. A. et al. Safety and possible effects of low-intensity resistance training associated with partial blood flow restriction in polymyositis and dermatomyositis. **Arthritis Research & Therapy**, v. 16, n. 5, p. 473, 2014.

MATUTE C, TORRE I, PEREZ-CERDA F, PEREZ-SAMARTIN A, ALBERDI E, ETXEBARRIA E, et al. P2X(7) receptor blockade prevents ATP excitotoxicity in oligodendrocytes and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2007; 27(35): 9525-33.

MATUTE C (2008) P2X7 receptors in oligodendrocytes: a novel target for neuroprotection. **Mol Neurobiol** 38: 123–128.

MEDZHITOV R. Inflammation 2010: novas aventuras de uma velha paixão. *Célula*. 2010; 140 :771-776.

MENZIES, Robert I. et al. Hyperglycemia-induced Renal P2X7 Receptor Activation Enhances Diabetes-related Injury. **EBioMedicine**, v. 19, p. 73–83, maio 2017.

MILENKOVIC VM, STANTON EH, NOTHDURFTER C, RUPPRECHT R, WETZEL CH. O Papel das Quimiocinas na Fisiopatologia do Transtorno Depressivo Maior. **Int J Mol Sci**. 09 de maio de 2019; 20 (9).

MONÇÃO-RIBEIRO LC, FAFFE DS, SANTANA PT, VIEIRA FS, GRAÇA CLAL, MARQUES-DA-SILVA C, et al. P2X7 Receptor Modulates Inflammatory and Functional Pulmonary Changes Induced by Silica. **Plos One**. 2014; 9(10): e110185.

MONHEIM LM (2019) Analgesia in dentistry now and in the future. **Anesth Prog** 66:227–231. doi:10.2344/0003-3006-66.4.227 pmid:31891290.

MOORE, C., GUPTA, R., JORDT, S. E., CHEN, Y., AND LIEDTKE, W. B. (2018). Regulation of pain and itch by TRP channels. **Neurosci. Bull.** 34, 120–142. doi: 10.1007/s12264-017-0200-8.

MUÑOZ-LORA V.R.M; ABDALLA H.B, DEL BEL CURY A.A, CLEMENTE-NAPIMOGA J.T. Modulatory effect of botulinum toxin type A on the microglial P2X7/CatS/FKN activated-pathway in antigen-induced arthritis of the temporomandibular joint of rats. **Toxicon.** 2020. Nov; 187:116-121. doi: 10.1016/j.toxicon.2020.08.027. Epub 2020 Sep 1. PMID: 32882256.

MURPHY MK, MACBARB RF, WONG ME, ATHANASIOU KA. Temporomandibular Joint Disorders: A review of Etiology, **Clinical Management, and Tissue Engineering Strategies.** **Int J Oral Maxillofac Implants.** 2013; 28(6): p. e393-e414.

NATHAN C, DING A. Inflamação não resolvida. *Célula.* 2010; 140 :871-882.

NEEDHAM EJ, HELMY A, ZANIER ER, JONES JL, COLES AJ, MENON DK. A resposta imunológica ao traumatismo cranioencefálico. **J Neuroimmunol.** 15 de julho de 2019; 332 : 112-125.

NAVIAUX R.K, ZOLKIPLI Z, WANG L, NAKAYAMA T, NAVIAUX JC, LE T.P, et al. Antipurinergic therapy corrects the autism-like features in the poly(IC) mouse model. **PloS one.** 2013; 8(3): e57380.

NORTH R.A AND BARNARD E.A (1997) Nucleotide receptors. **Curr Opin Neurobiol** 7: 346–357.

OBATA, K., AND NOGUCHI, K. (2004). MAPK activation in nociceptive neurons and pain hypersensitivity. **Life Sci.** 74, 2643–2653. doi: 10.1016/j.lfs.2004.01.007.

OKESON J. The Management of temporomandibular disorders and occlusion. 6th ed.; 2008.

OLIVEIRA M.C, PELEGRINI-D. A-SILVA A, TAMBELI C.H, PARADA C.A (2009) Peripheral mechanisms underlying the essential role of P2X3,2/3 receptors in the development of inflammatory hyperalgesia. **Pain** 141:127–134.

OSIEWICZ, M.A. et al. Frequency of temporomandibular disorders diagnoses based on RDC / TMD in a Polish patient population. **Cranio.** 2018 Sep;36(5):304-310. doi: 10.1080/08869634.2017.1361052. Epub 2017 Aug 9.

PAHWA R; GOYAL A; BANSAL P; JIALAL I. **Livro da StatPearls Publishing, Treasure Island** (FL), 10 de abril de 2018 PMID: 29630225.

PALLA S. Mioartropatias do sistema mastigatório e dores orofaciais. São Paulo: **Artes Médicas** 2004; 3:15.

PANENKA W, YONG VW, JIJON H, HERX LM, RANSOHOFF RM, ARMSTRONG JN, et al. P2X7-Like Receptor Activation in Astrocytes Increases hemokine Monocyte Chemoattractant Protein-1 Expression via Mitogen-Activated Protein Kinase. **The Journal of Neuroscience**. 2001; 21(18): 7135–42.

PARENTE, Alfredo Coelho, **Mecanismos periféricos e centrais dos efeitos analgésicos e anti-inflamatórios de dois compostos semissintéticos mc-d7 e mc-d9 obtidos a partir de flores da Moringa Oleifera na Atm de ratos**. 2017. 59f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2017.

PARK J-H AND KIM Y-C (2017) P2X7 receptor antagonists: a patent review (2010–2015). *Expert Opin Ther Pat* 27: 257–267.

PENG W, COTRINA ML, HAN X, YU H, BEKAR L, BLUM L, ET AL. Systemic administration of an antagonist of the ATP-sensitive receptor P2X7 improves recovery after spinal cord injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009; 106(30): 12489-93.

PERTES RA, GROSS SG. Tratamento clínico das disfunções tempor- omandibulares e da Dor Orofacial. São Paulo: **Quintessence** 2005;7:15.

PRADO F.C, ARALDI D, VIEIRA A.S, OLIVEIRA-FUSARO M.C.G, TAMBELI C.H, PARADA C.A (2013) Neuronal P2X3 receptor activation is essential to the hyperalgesia induced by prostaglandins and sympathomimetic amines released during inflammation. *Neuropharmacology* 67:252–258.

PUCHALOWICZ, K. TARNOWSKI, M. BOSIACKA, I.B. CHLUBEK, D. DZIEDZIEJKO, V. **P2X and P2Y Receptors - Role in the Pathophysiology of the Nervous System**. *Int. J. Mol. Sci.*, v. 15, n. 12, p.23672-23704, 2014.

RALEVIC V AND BURNSTOCK G (1998) Receptors for purines and pyrimidines. **Pharmacol Rev** 50: 413–492.

REID K.I, GREENE C.S. Diagnosis and treatment of temporomandibular disorders: an ethical analysis of current practices. *J Oral Rehabil*. 2013;40(7):546-61.

RENTON T. Chronic orofacial pain. *Oral Dis*. 2017 Jul;23(5):566-71.
<https://doi.org/10.1111/odi.12540>.

RITTNER, H. L., AND STEIN, C. (2005). Involvement of cytokines, chemokines and adhesion molecules in opioid analgesia. **Eur. J. Pain** 9, 109–112. doi: 10.1016/j.ejpain.2004.05.009.

RODRIGUES R.J, TOMÉ A.R AND CUNHA R.A (2015). ATP as a multi-target danger signal in the brain. **Front Neurosci** 9: 148.

ROSLAND, J. H. The formalin test in mice: The influence of ambient temperature. **Pain**, v. 45, n. 2, p. 211–216, 1991.

ROTPENPIAN, N; YAKKAPHAN, P. Review of Literatures: Physiology of Orofacial Pain in Dentistry. *eNeuro* 5 April 2021, 8 (2) **ENEURO**.0535-20.2021; DOI: <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0535-20.2021>.

ROVERONI, R. C. et al. Development of a behavioral model of TMJ pain in rats: The TMJ formalin test. **Pain**, v. 94, n. 2, p. 185–191, 2001.

RYU, K.; McLARNON, J. G. Block of purinergic P2X(7) receptor is neuroprotective in an animal model of Alzheimer's disease. **Neuroreport**. v.19, n.17, p.1715-1719, 2008.

SANTANA, J.M; PERISSINOTTI D. M. N; JUNIOR J. O. O; CORREIA L. M. F; OLIVEIRA, C.M; FONSECA, P. B. Definição de dor revisada após quatro décadas. **BrJP** 3 (3) Jul-Sep 2020. <https://doi.org/10.5935/2595-0118.20200191>.

SANTOS, D, F.; BORGES, G R. Anatomia Aplicada a Fisioterapia, 1 ed. **SAGAH**, 2018.

SARTORETTO, S.L; DAL BELLO, Y; DELLA BONA, A. Evidências científicas para o diagnóstico e tratamento da DTM e a relação com a oclusão e a ortodontia. **Revista da Faculdade de Odontologia-UPF**, v. 17, n. 3, 2012.

SCRIVANI SJ, SPIERINGS EL. Classification and differential diagnosis of oral and maxillofacial pain. **Oral Maxillofac Surg Clin North Am**. 2016 Aug;28(3):233-46. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2016.04.003>.

SESSLE B.J. (1987) Neurophysiology of orofacial pain. **Dent Clin North Am** 4:595–613.

SESSLE, B. J. (2011). Peripheral and central mechanisms of orofacial inflammatory pain. *Int. Rev. Neurobiol.* 97, 179–206. doi: 10.1016/B978-0-12-385198-7.00007-2.

SESSLE, B.J. Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates. **Minerva Anesthesiol.** 71, 117–36, 2005.

SHELLER, J., A. CHALARIS, D. SCHMIDT-ARRAS AND S. ROSE-JOHN, 2011: The pro- and anti- inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. **Biochim Biophys Acta**, 1813, 878-888.

SHINODA M, KUBO A, HAYASHI Y, IWATA K (2019) Peripheral and central mechanisms of persistent orofacial pain. **front neurosci** 13:1227. doi:10.3389/fnins.2019.01227 pmid:3179840.

SILVA M.N.A; FIGUEIREDO, J.P. A Disfunção Temporomandibular. Artigo de Revisão. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Março. 2016. Disponível em: < <https://eg.uc.pt/bitstream/10316/37134/1/TESE%20final.pdf>>. Acesso Agosto 2021.

SILVA, C. S. **Universidade Federal de São Paulo** Participação Do Receptor P2x7 Nos Efeitos De Longo Prazo Da Inflamação Sistêmica Neonatal: Estresse Oxidativo Hipocampal, Alteração Da Nocicepção E Ansiedade. p. 121. 2018.

SOUSA, H.M.X, et al., Avaliação dos mecanismos indiretos envolvidos na nocicepção induzida pela ativação dos receptores p2x7 na atm de ratos. XX encontro interno de iniciação científica da UNINCAMP, 2012. 02845153376.

SKAPER S.D, DEBETTO P, GIUSTI P. The P2X7 purinergic receptor: from physiology to neurological disorders. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2010; 24(2): 337-45

SLUYTER R (2017) The P2X7 receptor. *Adv Exp Med Biol* 1051: 17–53.

SÖDERLUND J, OLSSON SK, SAMUELSSON M, et al. (2011) Elevation of cerebrospinal fluid interleukin-1 β in bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci* 36: 114–118

SORGE R.E et al. (2012) Genetically determined P2X7 receptor pore formation regulates variability in chronic pain sensitivity. *Nature Medicine* 18:595–599.

SPERLAGH B, CSOLLE C, ANDO R.D, et al. (2012) The role of purinergic signaling in depressive disorders. *Neuropsychopharmacol Hung* 14: 231–238.

SPERLAGH B, VIZI E.S, WIRKNER K, ILLES P (2006) P2X7 receptors in the nervous system. *Prog Neurobiol* 78:327–346.

STANDRING S. *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice*. 40th ed.: Mosby Elsevier; 2008.

SCHINDLER, R., J. MANCILLA, S. ENDRES, R. GHORBANI, S. C. CLARK AND C. A. DINARELLO, 1990: Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood*, **75**, 40-47.

STOCK, T.C. BLOOM, B.J. WEI, N. ISHAQ, S. PARK, W. WANG, X. GUPTA, P. MEBUS C.A. Efficacy and safety of CE-224,535, an antagonist of P2X7 receptor, in treatment of patients with rheumatoid arthritis inadequately controlled by methotrexate *J. Rheumatol.*, 39 (2012), pp. 720-727.

STOKES L, SPENCER SJ AND JENKINS T.A (2015). Understanding the role of P2X7 in affective disorders – are glial cells the major players? *Front Cell Neurosci* 9: 258.

SUGIYAMA, T. Edição especial para receptores purinérgicos, particularmente receptor P2X7 no olho. **Instituto de Publicação Digital Multidisciplinar** (2018). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6835916>>. Publicado online em 24 de julho de 2018. doi: 10.3390 / vision2030030.

SURPRENANT A, RASSENDREN F, KAWASHIMA E, NORTH R.A, BUELL G (1996) The cytolitic P2Z receptor for extracellular ATP identified as a P2X receptor (P2X7). **Science** 272:735–738.

SWEITZER S.M, SCHUBERT P, DELEO J.A. 2001. Propentofylline, a glial modulating agent, exhibits antiallodynic properties in a rat model of neuropathic pain. **J Pharmacol Exp Ther.** 297(3):1210–7.

TAKENOUCI T, SEKIYAMA K, SEKIGAWA A, FUJITA M, WARAGAI M, SUGAMA S, et al. P2X7 receptor signaling pathway as a therapeutic target for neurodegenerative diseases. **Archivum immunologiae et therapiae experimentalis.** 2010; 58(2): 91-6.

TAWFIK V.L, NUTILE-MCMENEMY N, LACROIX-FRALISH M.L, DELEO J.A. 2007. Efficacy of propentofylline, a glial modulating agent, on existing mechanical allodynia following peripheral nerve injury. **Brain Behav Immun.** 21(2):238–46. doi:10.1016/j.bbi.2006.07.001.

TEIXEIRA J.M, OLIVEIRA M.C, NOCITI FH J.R, CLEMENTE-NAPIMOGA J.T, PELEGRINI-DA-SILVA A, PARADA C.A, Tambeli CH. Involvement of temporomandibular joint P2X3 and P2X2/3 receptors in carrageenan-induced inflammatory hyperalgesia in rats. **Eur J Pharmacol.** 2010 Oct 25;645(1-3):79-85. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.06.008. Epub 2010 Jun 15. PMID: 20558155.

TEIXEIRA J.M, PIMENTEL R.M, ABDALLA H.B, DE SOUSA H.M.X, MACEDO C.G, NAPIMOGA M.H, TAMBELI C.H, OLIVEIRA-FUSARO M.C.G, CLEMENTE-NAPIMOGA J.T. P2X7-induced nociception in the temporomandibular joint of rats depends on inflammatory mechanisms and C-fibres sensitization. **Eur J Pain.** 2021 May;25(5):1107-1118. doi: 10.1002/ejp.1732. Epub 2021 Feb 5. PMID: 33455058.

TORTORA, G, J.; NIELSEN, M T. Princípios de Anatomia Humana, 12 ed. Rio de Janeiro; **Guanabara Koogan**, 2013.

TOULME E, TSUDA M, KHAKH BS, INOUE K (2010) On the Role of ATP-Gated P2X Receptors in Acute, Inflammatory and Neuropathic Pain (Kruger L, Light AR, eds)., 2010th ed. **Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis.**

TOULME, E.; TSUDA, M.; KHAKH, B.S.; INOUE, K. On the role of ATP-Gated P2X receptors in acute, inflammatory and neuropathic pain. In *Translational Pain Research: From Mouse to Man*; Kruger, L., Light, A.R., Eds.; **CRC Press: Boca Raton, FL, USA**, 2010.

TSUDA M, SHIGEMOTO-MOGAMI Y, KOIZUMI S, MIZOKOSHI A, KOHSAKA S, SALTER M.W, INOUE K. 2003. P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury. **Nature.** 424(6950):778–83. doi:10.1038/nature01786.

TU TTH, TAKENOSHITA M, MATSUOKA H, WATANABE T, SUGA T, AOTA Y, et al. Current management strategies for the pain of elderly patients with burning mouth syndrome: a critical review. **Biopsychosoc Med.** 2019 Jan; 13:1. <https://doi.org/10.1186/s13030-019-0142-7>.

VALESAN L.F, DA-CAS C.D, RÉUS J.C, DENARDIN A.C.S, GARANHANI R.R, BONOTTO D, JANUZZI E, DE SOUZA B.D.M. Prevalence of temporomandibular joint disorders: a systematic review and meta-analysis. **Clin Oral Investig**. 2021 Feb;25(2):441-453. doi: 10.1007/s00784-020-03710-w. Epub 2021 Jan 6. PMID: 33409693.

VAN DER BILT A, ENGELEN L, PEREIRA L.J, VAN DER GLAS H.W, ABBINK J.H (2006) Fisiologia oral e mastigação. **Comportamento Fisiológico** 89: 22 – 27. doi: 10.1016/j.physbeh.2006.01.025 pmid: 16564557.

VERGANI, A. et al. Long-Term Heart Transplant Survival by Targeting the Ionotropic Purinergic Receptor P2X7. **Circulation**, v. 127, p.463–475, 2013.

VIECILLI RF, KATONA TR, CHEN J, HARTSFIELD JK JR, ROBERTS WE. Orthodontic mechanotransduction and the role of the P2X7 receptor. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**. 2009 Jun;135(6): 694.e1-16; discussion 694-5. doi: 10.1016/j.ajodo.2008.10.018. PMID: 19524819.

VIEIRA, C. S. M. JUNIOR, A. J. R. A disfunção temporomandibular e sua relação com as alterações auditivas. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. Ano 05, Ed. 06, Vol. 03, pp. 05-16. Junho de 2020. ISSN: 2448-0959.

VIRGILIO F.D, SANZ JM, CHIOZZI P, FALZONI S. CHAPTER. The P2Z/P2X7 receptor of microglial cells: **A novel immunomodulatory receptor**. 1999; 120: 355-68.

VISENTIN S, RENZI M, FRANK C, et al. (1999) Two different ionotropic receptors are activated by ATP in rat microglia. **J Physiol** 519: 723–736.

VOLONTE C, APOLLONI S, D. SKAPER S, BURNSTOCK G (2012) P2X7 Receptors: Channels, Pores and More. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets** 11:705–721.

WEBER A, WASILIEW P AND KRACHT M (2010) Interleukin-1 β (IL-1 β) processing pathway. **Sci Signal** 3: cm2.

WILCOX SL, GUSTIN SM, MACEY PM, PECK CC, MURRAY GM, HENDERSON LA (2015) Anatomical changes within the medullary dorsal horn in chronic temporomandibular disorder pain. **Neuroimage** 117:258–266. doi: 10.1016/j.neuroimage. 2015.05.014 pmid:25979666.

WILKINSON J. L (2014) Neuroanatomy for medical students. 2 nd Ed.I Title.618.8. ISBN 07506147741. **Butherworth Heinemann**.

WILEY J.S, SLUYTER R, GU B..J, STOKES L, FULLER S.J. The human P2X7 receptor and its role in innate immunity. **Tissue antigens**. 2011; 78(5): 321-32.WILLIAMS ACC, CRAIG KD. Updating the definition of pain. **Pain**. 2016;157(11):2420-3.

WOOLF C.J, AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY (2004) Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. **Ann Intern Med** 140:441–451. doi:10.7326/0003-4819-140-8-200404200-00010 pmid:15023710.

WU, H. et al. P2X7 Receptor Expression in Peripheral Blood Monocytes Is Correlated With Plasma C-Reactive Protein and Cytokine Levels in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus: a Preliminary Report. **Inflammation**, v. 38, n. 6, p. 2076–2081, dez. 2015.

WU, X., REN, J., CHEN, G. ET AL. Systemic blockade of P2X7 receptor protects against sepsis-induced intestinal barrier disruption. **Sci Rep** 7, 4364 (2017).
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-04231-5>.

XU GZ, JIA J, JIN L, LI JH, WANG ZY, CAO DY. Low-level laser therapy for temporomandibular disorders: a systematic review with meta-analysis. **Pain Res Manag.** 2018; 2018:4230583. <http://dx.doi.org/10.1155/2018/4230583>. PMID:29861802.

YOUSUF A, IBRAHIM W, GREENING N.J, BRIGHTLING C.E. T2 Biologics for Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **J Allergy Clin Immunol Pract.** 2019 maio - junho; 7 (5): 1405-1416.

ZHONG, X. et al. The impact of P2X7 receptor antagonist, brilliant blue G on graft-versus-host disease in mice after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Cell. Immunol.** v. 310, p. 71-77, 2016.