JUSSARA GONÇALVES FERNANDES

**EXPRESSÃO DE MICRORNAS E SUAS INTERAÇÕES COM GENES
ENVOLVIDOS COM A RESISTÊNCIA OU SUSCEPTIBILIDADE À ARTRITE
INDUZIDA POR PRISTANE**

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

Área de concentração: Imunologia

Orientador: Prof. Dr. Marcelo de Franco

Versão original

São Paulo
2017

Resumo

FERNANDES, J. G. **Expressão de microRNAs e suas interações com genes envolvidos com a resistência ou susceptibilidade à artrite induzida por pristane**. 2017. 104 f. Tese (Doutorado em Imunologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

A artrite reumatoide (AR) é uma doença crônica autoimune que afeta as articulações e causa uma persistente inflamação sinovial e destruição da cartilagem e osso. A artrite induzida por pristane em camundongos é um modelo experimental que tem sido utilizado em muitos trabalhos, pois se assemelha à artrite reumatoide em suas características histopatológicas e sorológicas. Uma linha de estudo que tem sido bastante explorada nos últimos anos é participação de microRNAs (miRNA) no desenvolvimento da artrite. Os miRNAs são uma classe de moléculas de pequenos RNA, que agem como reguladores pós-transcricionais da expressão gênica. As linhagens de camundongos AIRmax e AIRmin, diferem quanto a susceptibilidade/resistência à artrite induzida por pristane (PIA). No presente trabalho, nós analisamos o perfil de expressão gênica de mRNA e miRNAs nas células peritoneais dessas linhagens e avaliamos sua participação no desenvolvimento da PIA. A caracterização das células infiltradas no peritônio mostrou que o pristane induziu a migração massiva de neutrófilos nos animais sensíveis enquanto que a população celular infiltrada nos animais resistentes foi mais heterogênea. A análise da expressão gênica global nas células aderentes do peritônio, mostrou a modulação de uma série de genes e de miRNAs em ambas as linhagens. Essa modulação foi maior nos camundongos AIRmax com um total de 2025 genes diferencialmente expressos contra 1043 nos animais AIRmin no início dos sintomas da doença. A assinatura de expressão de miRNAs após a injeção de pristane nos camundongos sensíveis e resistentes também foi maior nos animais AIRmax que nos animais AIRmin tanto no período inicial da doença como no período mais tardio. Os miRNAs 132-3p/212-3p e miR-130b-3p foram, entre outros, os miRNAs de interesse mais significativamente modulados nos animais sensíveis e mostraram correlações negativas com alguns de seus genes alvos preditos. Nosso estudo mostrou que a expressão de mRNAs e miRNAs é modificada nas células do peritônio das linhagens AIRmax e AIRmin durante a artrite induzida por pristane e que essa modulação pode ser em parte responsável pelo diferente fenótipo observado nessas linhagens.

Palavras chave: Artrite. Camundongos. Genes. miRNA. Peritônio.

Abstract

FERNANDES, J. G. **MicroRNA expression and the interaction with genes involved with resistance or susceptibility to pristane-induced arthritis**. 2017. 104 p. PhD thesis (Immunology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Rheumatoid arthritis is a chronic autoimmune disease that affects joints and it is characterized by synovial inflammation and articular cartilage and bone destruction. Pristane-induced arthritis (PIA) in mice is an experimental model that has been used in many studies, since it resembles rheumatoid arthritis in its histopathological and serological features. Recently the involvement of microRNAs (miRNA) in the development of arthritis has been extensively studied. The miRNAs are a class of small RNA molecules, which acts as transcriptional regulators of gene expression. AIRmax and AIRmin lines differ in their susceptibility or resistance to PIA. In the present work we analyzed the miRNA and global gene expression profile in peritoneal cells of these lines in order to evaluate their involvement in PIA development. The characterization of the infiltrated cells in peritoneum showed that pristane induced a massive migration of neutrophils in sensitive animals whereas the cell population infiltrated in resistant animals was more heterogeneous. The global gene expression analysis in adherent cells from the peritoneum showed several differentially expressed genes (DEGs) and miRNAs in both lines. The number of DEGs was higher in AIRmax mice with a total of 2025 differentially expressed genes (DEGs) against 1043 in AIRmin animals at the onset of disease symptoms. The expression signature of miRNAs after pristane injection in sensitive and resistant mice was also distinct between AIRmax and AIRmin lines both in the early and later disease period. The miR-132-3p / 212-3p and miR-130b-3p miRNAs were, among others, the most significant in susceptible animals showing negative correlations with some of their predicted target genes. Our study showed that global gene expression and miRNAs expression are modified in the peritoneal cells of AIRmax and AIRmin lines during pristane-induced arthritis and these distinct profiles may be partially responsible for the different phenotype observed in these lines.

Keywords: Arthritis. Mice. Genes. miRNA. Peritoneum.

1 INTRODUÇÃO

1.1 ARTRITE REUMATOIDE

A falha em distinguir o estranho do próprio, pode resultar no desenvolvimento de doenças autoimunes, incluindo doenças órgão específicas com envolvimento tecidual restrito como a esclerose múltipla e diabetes tipo I ou um envolvimento sistêmico como o lúpus eritematoso sistêmico (LES) e a artrite reumatoide (AR). A autoimunidade resulta em má função do sistema imune que envolve uma resposta específica e danosa contra componentes próprios ou autoantígenos. Em uma extensão variada, fatores ambientais também contribuem para o desenvolvimento de autoimunidade (POLLARD; KONO, 2013). Muitos estudos acerca de doenças autoimunes têm sido conduzidos focando no papel da imunidade adquirida para elucidar as suas anormalidades. No entanto, recentes pesquisas têm destacado o papel da imunidade inata como sendo principal na iniciação e expansão da patologia de respostas autoimunes (BACCALA et al., 2009; THEOFILOPOULOS et al., 2010).

A artrite reumatoide (AR) é uma doença crônica autoimune que afeta as articulações e causa uma persistente inflamação sinovial e destruição da cartilagem e osso (PICERNO et al., 2015), podendo levar ao dano irreversível das junções e incapacidade funcional (VOSSENAAR et al., 2003). Afeta cerca de 1% da população adulta mundial e é prevalente em mulheres sendo uma média de três mulheres afetadas para cada homem (SCOTT; WOLFE; HUIZINGA, 2010). Sua causa é de origem desconhecida, mas sabe-se que é influenciada tanto por fatores genéticos, quanto por fatores ambientais e que é uma doença imune mediada (PICERNO et al., 2015; WESTER et al., 2003)

O tabagismo é um fator de risco ambiental bem definido para a artrite. Acredita-se que a fumaça do cigarro possa induzir a citrulinização de proteínas no pulmão, favorecendo o desenvolvimento da doença, que também pode ocorrer no tecido inflamado das junções, sugerindo que autoimunidade iniciada nos pulmões pode contribuir para a inflamação em outros locais (KLARESKOG et al., 2006). A citrulinização resulta na modificação de proteínas que o sistema imune pode reconhecer como estranhas e anticorpos anti-proteínas citrulinadas (ACPA) podem ser produzidos (LINDSTROM; ROBINSON, 2010). Nesse contexto, fatores ambientais podem induzir modificações pós-traducionais, que por sua vez iniciam respostas imunes em indivíduos geneticamente susceptíveis (FINCKH, 2009). O componente genético da doença mostra fortes associações com moléculas MHC classe II (HOFFMANN; HAYER;

STEINER, 2009), especialmente a molécula HLA-DRB1. Genes não MHC também tem revelado ter associação com a susceptibilidade à artrite como o *PADI4*, *SLC22A4* e *PTPN22*, no entanto, não se sabe ao certo como o polimorfismo genético nesses genes, contribui com a doença (STANFORD; BOTTINI, 2014; SUZUKI et al., 2003; TOKUHIRO et al., 2003).

A artrite reumatoide é uma doença de caráter genético complexo, caracterizada por penetrância incompleta e heterogeneidade genética. Um dos focos para se tentar entender a susceptibilidade genética à AR tem sido em identificar genes dentro da região do complexo de histocompatibilidade principal II (MHC II). A região de classe II humana, tem cerca de 1.000.000 de pares de base e pelo menos 14 genes diferentes. Das principais sub-regiões, contidas nesse complexo, DR, DQ e DP, a sub-região DR, é a região que tem sido descrita como principal (GREGERSEN et al., 1987). O gene HLA-DRB1 (antígeno leucocitário humano), contido nessa região, é o principal componente genético da AR e contribui com cerca de 30 a 50% do risco genético. Uma sequência de aminoácidos chamada de “epítipo compartilhado”, encontrada em diferentes alelos do gene HLA-DRB1 é considerada a responsável pela susceptibilidade à doença. Esse “epítipo compartilhado” é uma sequência de aminoácidos conservada na fenda de ligação da molécula de MHC que é codificado por certos HLA de classe II e tem sido associado com o alto risco de desenvolver a doença (ALAM; O'NEILL, 2011; SHRIVASTAVA; PANDEY, 2013). Dessa forma, peptídeos associados à artrite e presentes na fenda de ligação da região DR podem favorecer a apresentação de antígenos próprios às células autorreativas. A hipótese do “epítipo compartilhado” é baseada na suposição de que moléculas de classe II estão diretamente envolvidas na etiologia e patogênese de doenças autoimunes (GREGERSEN et al., 1987).

A AR é de difícil diagnóstico, pois não há um teste único que identifique a doença. Além disso, os sintomas podem variar de pessoa para pessoa, podendo ser mais severos em algumas do que em outras. O diagnóstico é principalmente baseado nos sintomas clínicos do paciente que devem cumprir os critérios estabelecidos pela Associação Americana de Reumatologia (SHRIVASTAVA; PANDEY, 2013).

A presença de autoanticorpos no soro de pacientes com AR é uma forte característica que a distingue de outros tipos de doenças não autoimunes das junções (HOFFMANN; HAYER; STEINER, 2009). O fator reumatoide (FR) é um marcador clássico no qual autoanticorpos IgA, IgM e IgG são direcionados contra a porção Fc da imunoglobulina G. Apesar de apresentarem uma sensibilidade de 60 a 80%, tem especificidade baixa, estando presente em outras patologias e até mesmo em indivíduos sem evidência clínica da doença.

Além destes, autoanticorpos adicionais também têm sido ligados à artrite como anticorpos contra peptídeos citrulinados cíclicos (anti-CCP) (SCOTT; WOLFE; HUIZINGA, 2010), componentes da cartilagem, enzimas, proteínas nucleares, entre outros (HOFFMANN; HAYER; STEINER, 2009). O anti-CCP ou ACPA (anticorpos anti-proteínas citrulinadas) é o anticorpo mais específico para o diagnóstico, sendo encontrado quase que exclusivamente em pacientes com a doença e tem sido relacionado com um mau prognóstico (VOSSENAAR et al., 2003). Esses anticorpos reconhecem proteínas contendo o aminoácido citrulina, não padrão, resultante da modificação pós-traducional de resíduos de arginina por enzimas peptidil desaminases (PAD). Peptídeos contendo citrulina, mas não arginina, são capazes de se ligar ao produto do alelo de susceptibilidade à artrite HLA-DRB1*0401 do MHC classe II (MARTIN-MOLA et al., 2016; WOOLEY; WHALEN, 1991). Estudos clínicos têm demonstrado que altos títulos de ACPA são associados com a progressão radiográfica em pacientes com AR (WANG, Y. et al., 2015). Além disso, pacientes positivos para ACPA e RF juntos tem efeito aditivo no tamanho e número das erosões (HECHT et al., 2015).

A ativação do sistema imune ocorre anos antes do início clínico da doença e é seguido por uma fase pré-clínica assintomática, no qual autoanticorpos e citocinas inflamatórias já estão presentes e a inflamação sinovial já pode ser detectada em estudos histológicos. A existência dessa ativação imune assintomática bem antes do início da doença pode indicar que o surgimento dos sinais clínicos da artrite reumatoide já representa a fase crônica (FINCKH, 2009). ACPAs são fortes preditores da erosão das articulações. Tem sido demonstrado que mesmo durante a fase pré-clínica da doença, antes da sinovite, a perda de osso sistêmica ocorre em pacientes ACPA positivos (KLEYER et al., 2014), levando a questionamentos sobre o papel do ACPA na reabsorção óssea nessa doença.

1.2 ENVOLVIMENTO CELULAR E DE CITONAS NA ARTRITE

A população celular afetada pela AR nas articulações, são as células da cartilagem e os sinoviócitos que podem ser de dois tipos: sinoviócitos do tipo fibroblastos e sinoviócitos do tipo macrófagos sendo que estes últimos são descritos por serem os responsáveis pela produção de citocinas no local (SCOTT; WOLFE; HUIZINGA, 2010), e têm um papel importante na iniciação e perpetuação do processo inflamatório crônico na membrana sinovial (VERVOORDELDONK; TAK, 2002). Além disso, as lesões sinoviais também contêm outras células ativadas como linfócitos, células dendríticas, células NK ou NKT, mastócitos,

neutrófilos e macrófagos (fenótipo M1) (MCLNNES; O'DELL, 2010). A proliferação sinovial é um evento fundamental na lesão das articulações. Macrófagos, fibroblastos sinoviais e possivelmente os condrócitos têm um papel crucial na fase crônica da doença (COMBE, 1998; PICERNO et al., 2015).

O papel das células T é bem documentado. No entanto, alguns trabalhos mostram que apesar dessas células serem importantes no início da doença, a destruição das junções e inflamação no período crônico, deve ser independente dessas células (COMBE, 1998; LUBBERTS, 2010). As células T medeiam suas funções artritogênicas pela secreção de citocinas pró-inflamatórias nas junções (HOFFMANN et al., 2007). Alguns trabalhos descrevem que citocinas liberadas por células Th1 contribuem para a inflamação e destruição das articulações, enquanto que um perfil Th2 é mais protetor (VERVOORDELDONK; TAK, 2002). Apesar de muitos estudos terem atribuído as células Th1 como a principal célula mediadora da doença, outros trabalhos relacionam as células Th17, produtoras de IL-17, com a patogênese da artrite reumatoide, principalmente na fase inicial (CORVAISIER et al., 2012; KIKODZE; PANTSULAIA; CHIKOVANI, 2016).

Os osteoclastos também têm papel fundamental na artrite destrutiva. Na ausência dessas células, a absorção óssea é completamente prevenida na artrite mediada por TNF- α em modelos de camundongos transgênicos *knockout* para *c-fos*, que faltam completamente de osteoclastos funcionais (REDLICH et al., 2002). A erosão articular focal é mediada por essas células e o osso cortical em volta das articulações é o alvo inicial da erosão. Progressão na erosão causa perda do osso subcondral e contribui para a destruição da cartilagem articular (BAUM; GRAVALLESE, 2016). Modelos de camundongos KO para o receptor ativador ligante do fator nuclear kappa B (TRANCE/RANKL) que é um fator essencial para a diferenciação de osteoblasto, após receberem o soro de animais artríticos K/BxN, desenvolvem artrite, assim como a destruição da cartilagem, mas não desenvolvem erosão óssea, pela ausência de osteoclastos (PETTIT et al., 2001). A inflamação no sítio de perda óssea, não só induz a osteoclastogênese, como também inibe a diferenciação de osteoblastos e função (BAUM; GRAVALLESE, 2016). Essa inibição contribui para a perda óssea na AR assim como leva a uma diminuída capacidade das erosões de curarem.

A citocina IL-17 induz a produção de citocinas e quimiocinas pelas células nas articulações e o seu bloqueio tem mostrado diminuir a severidade da doença em estudos com modelos experimentais de artrite induzida por colágeno (CIA) ou adjuvante (LUBBERTS, 2010; CORVAISIER et al., 2012). Além disso, em camundongos deficientes para a citocina

IL-23, que são protegidos da doença na CIA, células Th17 estiveram ausentes enquanto que células Th1 produtoras de IFN- γ estiveram normais, mostrando que as células Th17 são extremamente importantes na fase inicial da doença, nesse modelo (MURPHY et al., 2003).

Outro mecanismo importante para a indução da AR é a alta produção da citocina inflamatória TNF- α . A expressão desta citocina pode ser induzida por diversos tipos celulares presentes nas articulações como linfócitos, fibroblastos sinoviais e macrófagos e estimula a inflamação sinovial e destruição das articulações (SCOTT; WOLFE; HUIZINGA, 2010). Além disso, a alta produção desta citocina e da citocina IL-17, pode ainda estimular a expressão de outras citocinas inflamatórias como a IL-1 β , IL-6 e IL-8 que também estimulam uma inflamação persistente e destruição das articulações (BRENNAN; MCINNIS, 2008). O bloqueio de IL-17 concomitante com bloqueio de TNF- α , mostrou ser eficiente para um efeito supressivo na artrite reumatoide inicial (LUBBERTS, 2010).

Outra citocina importante, o IFN- γ , tem sido alvo de resultados controversos. Em modelos de CIA essa citocina é descrita como tendo um papel protetor, sendo demonstrado em inúmeros experimentos com o uso de anticorpos neutralizantes, bem como a administração de IFN- γ ou estudos em camundongos transgênicos para essa citocina (BILLIAU; MATTHYS, 2011). Ao contrário disto, outros modelos como o de camundongos IFN- γ R KO mostraram-se resistentes à artrite espontânea relacionada com a idade (MATTHYS et al., 2003). Baseado nesses resultados controversos acredita-se que o IFN- γ pode ter um papel duplo, tendo um efeito estimulador no início da doença, e um efeito atenuante em uma fase mais tardia.

Apesar do papel bem documentado de células da imunidade específica no desenvolvimento de artrite, células do sistema imune inato como os macrófagos e neutrófilos também têm papel importante na doença, que se manifesta pela sua capacidade de secretar citocinas e quimiocinas inflamatórias (como IL-1, TNF- α e IL-6) e enzimas degradantes de matriz extracelular, que favorecem a destruição das junções. No sinóvio inflamado de pacientes com artrite, essas células são encontradas em abundância (BIRD et al., 2017; LI; HSU; MOUNTZ, 2012). Além disso, macrófagos presentes em outros locais, também produzem citocinas inflamatórias sistemicamente como o TNF- α que é capaz de modular os efeitos pró-inflamatórios e regulatórios de citocinas produzidas nas articulações. Isso foi demonstrado no trabalho de Howard et al. (2009), que mostrou que o silenciamento do gene TNF- α com nanopartículas de RNA de interferência (DsiRNA) em macrófagos peritoneais foi capaz de diminuir o escore de artrite quando comparado com camundongos injetados com

tampão ou siRNA controle. Além disso, em modelo de artrite induzida em ratos, a depleção sistêmica e local de macrófagos foi capaz de diminuir a inflamação causada pela doença (RICHARDS et al., 1999).

A importância dessas células na artrite também foi constatada no trabalho de Gelderman e colaboradores (2007), que mostrou que a resposta de células T autorreativas na artrite induzida por colágeno foi aumentada pela deficiência na produção de ROS por macrófagos. Neste trabalho foi demonstrado que macrófagos expressando o gene *Ncf1*, que codifica uma proteína ativadora do complexo NADPH oxidase, são capazes de mediar a proteção contra a artrite por produzir ROS, que diminui a resposta de células T de uma maneira dependente de antígeno enquanto que mutações no gene *Ncf1* (associado a baixa capacidade na produção de ROS) mostraram uma incidência de artrite mais severa em camundongos e em ratos. Acredita-se ainda que, citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias provenientes de células macrofágicas, têm um papel principal no desenvolvimento e perpetuação da doença, uma vez que monoquinas são mais comumente encontradas no tecido sinovial do que linfocinas (VERVOORDELDONK; TAK, 2002). Camundongos deficientes para CSF1 (fator estimulador de colônia 1), o principal fator de crescimento de macrófagos em camundongos MRL-*Fas^{lpr}* que desenvolvem lúpus, têm severidade reduzida da doença (ANTONI et al., 2011). Além disso, os macrófagos provenientes desses camundongos, cultivados na presença de soro, têm desregulada expressão gênica quando comparados com os macrófagos de animais sem a doença (LENDI; STANLEY; KELLEY, 2004). Dessa forma, muitos trabalhos defendem que macrófagos podem ser importantes alvos terapêuticos no tratamento da doença.

Os neutrófilos também têm sido reconhecidos por sua contribuição na patogênese da doença. Estas células são importantes na imunidade inata e são as primeiras células recrutadas para o sítio após uma injúria (MCDONALD; KUBES, 2011). Neutrófilos ativados são encontrados em grande número no fluido sinovial e no pannus e tem potencial de causar muito dano nas articulações com AR (WITTKOWSKI et al., 2007). Eles secretam um repertório de citocinas e quimiocinas no fluido sinovial como RANKL (CHAKRAVARTI et al., 2009) e TNFSF13B (ASSI et al., 2007) que implicam na ativação de osteoclastos e linfócitos B respectivamente e ainda são capazes de expressar MHCII e apresentar antígenos para os linfócitos T (CROSS et al., 2003). A presença de moléculas antiapoptóticas nas articulações sinoviais aumenta a sobrevivência de neutrófilos. Nesse local, essas células se tornam

ativadas por imuno-complexos (como RF) e medeiam os danos através da liberação e ROS e proteases (ROLLET-LABELLE et al., 2013; WEINMANN et al., 2007).

Terapia com anti-TNF α em humanos diminuiu a ativação de neutrófilos o que foi associado com a melhora clínica na atividade da doença (WRIGHT et al., 2011). Camundongos depletados completamente de neutrófilos são resistentes a artrite transferida pelo soro de animais K/BxN (WIPKE; ALLEN, 2001) e o *knockout* de moléculas que participam do recrutamento de neutrófilos leva a diminuição do influxo de neutrófilos nas articulações acompanhado da diminuição na atividade da doença (COELHO et al., 2008; KIM et al., 2006; MIYABE et al., 2017). A liberação de armadilhas extracelular de neutrófilos (NETs) que tem como papel principal a morte de bactérias extracelular, também pode ser uma fonte de autoantígenos em pacientes com doenças autoimunes. Aumentada liberação de NETs (NETose) tem sido proposta como um mecanismo que aumenta a exposição de autoantígeno e produção de autoanticorpos no lúpus eritematoso sistêmico (LES) (KNIGHT; ARMONA-RIVERA; KAPLAN, 2012). NETose também é aumentada na circulação e nos neutrófilos do fluido e tecido sinovial de pacientes com artrite comparados aos pacientes saudáveis (KHANDPUR et al., 2013). A presença de proteínas citrulinadas são detectadas nos NETs (PRATESI et al., 2014).

1.3 MODELOS EXPERIMENTAIS E A ARTRITE INDUZIDA POR PRISTANE

Diversos modelos experimentais de artrite são amplamente utilizados para o estudo dos mecanismos de autoimunidade e inflamação, além da busca por novos alvos terapêuticos. A artrite induzida por colágeno (CIA) é um modelo experimental comumente utilizado, que utiliza o colágeno tipo II como indutor de artrite e é baseada na autorreatividade contra esse componente da cartilagem (CAPLAZI et al., 2015; HOLMDAHL et al., 1989; TRENTAM; TOWNES; KANG, 1977). Outros modelos incluem o de artrite induzida por parede celular estreptocócica (SWC) que pode ser induzida por uma injeção intra-articular de fragmentos bacterianos (VOSSENAAR et al., 2003), e o de artrite induzida pela administração de adjuvantes (como os óleos minerais) (WOOLEY et al., 1989). Além desses, diversos outros modelos são descritos, incluindo o modelo de artrite espontânea como os camundongos transgênicos para o gene *Tnfa* (HOFFMANN; HAYER; STEINER, 2009).

A importância do papel do ambiente na doença pode ser demonstrada em um modelo experimental de artrite induzida por pristane (PIA), onde um estímulo exógeno não

imunogênico dispara o desenvolvimento de uma resposta autoimune artritogênica, que se assemelha a artrite reumatoide em humanos, em um fundo genético susceptível (HOFFMANN; HAYER; STEINER, 2009). O pristane é um componente de óleo mineral não antigênico também conhecido como 2,6,10,14-Tetramethylpentadecane ou pristane (TMPD), que induz inflamação e plasmocitoma em camundongos (REEVES et al., 2009). A artrite induzida experimentalmente por esse óleo se assemelha à artrite reumatoide em suas características histopatológicas e sorológicas (BARKER et al., 1996), como a infiltração de polimorfonucleares, formação de pannus nas articulações, destruição da cartilagem e osso, produção de fator reumatoide, anticorpos contra proteínas HSP65 e colágeno tipo II, e o desenvolvimento crônico da doença (MORGAN et al., 2004; HOFFMANN et al., 2007; WOOLEY et al., 1989). É observado um início tardio e prolongado que começa com a inflamação da articulação entre 60 e 180 dias após a indução (MORGAN et al., 2004; STASIUK et al., 1997) sendo que a condição é normalmente permanente. Esse início tardio da inflamação e a falta de requerimento da introdução de um antígeno não próprio na PIA sugere que a artrite se desenvolve através de uma sensibilização durante o tempo, mais do que de uma resposta imune aguda. A exposição ambiental ao pristane e a óleos minerais variados, também aumenta o risco de desenvolver LES (SVERDRUP et al., 2005) e AR (DAHLGREN et al., 2007) em seres humanos. O pristane também é comumente utilizado para induzir ascite e o desenvolvimento de plasmocitomas em camundongos Balb/c (POTTER; WAX, 1981; REEVES et al., 2009).

A artrite induzida por pristane em ratos é uma doença dirigida por células T CD4⁺ e depende de células T restritas ao MHC de classe II, sendo fortemente associada com certos haplótipos MHC II que podem favorecer a apresentação de antígenos próprios às células T autoreativas. No entanto o pristane não é um peptídeo que pode se ligar à molécula do MHC II (HOLMBERG et al., 2006). Além disso, o trabalho de Wooley et al. (1989), que utilizou várias linhagens de camundongos, mostrou que genes não MHC também podem influenciar o desenvolvimento da PIA.

O exato mecanismo que envolve a artrite induzida por pristane ainda não foi identificado, mas alguns estudos sugerem que o pristane, pode facilitar a resposta autoimune em resposta a antígenos de microrganismos encontrados no ambiente, conforme demonstrado em um modelo animal no qual a PIA não se desenvolveu em camundongos criados em condições livres de patógenos. No entanto, quando esses camundongos foram colocados em um ambiente normal, a doença foi estabelecida, demonstrando que a microbiota tem um papel

no desenvolvimento da doença (THOMPSON; ELSON, 1993). Proteínas da família das proteínas de choque térmico HSP60 foram bastante pesquisadas como possíveis antígenos ambientais que permitem uma reação cruzada com um antígeno próprio (STASIUK et al., 1997). As proteínas hsp60 de mamíferos e hsp65 micobacteriana, compartilham cerca de 50% de homologia em sua sequência de aminoácidos e células T específicas para antígeno bacteriano, foram capazes responder ao antígeno próprio (ANDERTON et al., 1995). Apesar de a associação AR-MHC sugerir que o reconhecimento de células T por antígenos microbianos ou de outra natureza (autoantígeno) seja o processo primordial no desenvolvimento da doença, essa hipótese ainda não foi comprovada (SHRIVASTAVA; PANDEY, 2013).

Outro mecanismo proposto é indução de apoptose pela injeção de pristane. Este se mostrou capaz de aumentar a apoptose de células peritoneais 48 horas após a injeção em camundongos, quando comparado com o grupo controle (CALVANI et al., 2005). Além disso, linfonodos isolados de ratos injetados com pristane mostraram um aumento da quantidade de células apoptóticas (HOFFMANN; HAYER; STEINER, 2009). Esse aumento de apoptose pode acarretar em abundante liberação de antígenos nucleares que por sua vez podem ser captados e apresentados às células T. Essa quebra da autotolerância pode levar ao desenvolvimento de artrite em um fundo genético susceptível.

Apesar de modelos experimentais de artrite como artrite induzida por colágeno ou induzida por adjuvantes dividirem similaridades com a AR (BILLIAU; MATTHYS, 2011; WOOLEY et al., 1989), eles não exibem um curso prolongado da doença, indução tardia ou patologia simétrica da junção e, portanto, a PIA que pelo contrário, reproduz essas características, pode ser um importante modelo experimental para se estudar os mecanismos envolvidos na patogênese da doença. Além disso, pela razão que a resposta à terapia anti-TNF- α é limitada nesse modelo, ele pode ser valioso para se estudar terapias relevantes a pacientes que não respondem aos inibidores do TNF- α (PATTEN et al., 2004).

1.4 AS LINHAGENS DE CAMUNDONGOS AIRMAX E AIRMIN

O trabalho de Vigar et al. (2000), mostrou que linhagens heterogêneas de camundongos denominadas de AIRmax e AIRmin, que diferem quanto a capacidade inflamatória aguda, também diferem quanto a susceptibilidade ou resistência à artrite induzida por pristane. Nesse modelo, foi observado que tanto na linhagem AIRmax susceptível, quanto

na linhagem AIRmin resistente, houve uma proliferação similar de células T e produção de IgG total específicas para a proteína micobacteriana HSP65. Embora muitos trabalhos sugiram que uma resposta Th2 seja mais protetora, nesse modelo experimental uma resposta preferencialmente Th2, foi observada nos animais AIRmax susceptíveis. Além disso, esses camundongos tiveram maior produção de IgG1 anti-HSP65, enquanto que a produção da imunoglobulina IgG2a foi predominante nos camundongos AIRmin.

As linhagens de camundongos AIRmax e AIRmin foram desenvolvidas por seleção genética bidirecional, a partir de uma população inicial F0, proveniente do cruzamento de 8 linhagens isogênicas (A/J, DBA/2J, P/J, SWR/J, SJR/J, CBA/J, BALB/cJ e C57BL/6J), e separadas nos extremos de máxima e mínima resposta inflamatória aguda. O fenótipo da inflamação foi medido pelo influxo local de leucócitos e extravasamento proteico após 24 horas de uma injeção subcutânea de poliacrilamida (Biogel) no dorso dos animais (IBANEZ et al., 1992; STIFFEL et al., 1990).

O ponto máximo de separação fenotípica entre as duas linhagens, revelou que a intensidade da reação inflamatória aguda (AIR), é dependente de uma regulação poligênica. Assim, ao final do processo de seleção, considerou-se que os alelos para máxima resposta inflamatória aguda foram fixados em homozigose nos animais AIRmax, e os alelos para mínima resposta inflamatória aguda, nos animais AIRmin, porém, mantendo um fundo genético heterogêneo (IBANEZ et al., 1992). A divergência das linhagens, nas gerações seguintes até os dias de hoje, é de cerca de 25 e 2,5 vezes de diferença para leucócitos e proteínas respectivamente com predominância de células polimorfonucleares. Foram estimados cerca de 7 a 11 loci reguladores para o caráter selecionador (BIOZZI et al., 1998). Essa divergência na resposta inflamatória pode ser em parte, devido à resposta diferencial de células da medula óssea a fatores estimulantes com maior número de neutrófilos e maior produção de quimiocinas atraentes de neutrófilos no exsudato (RIBEIRO et al., 2003).

Estudos com os camundongos AIRmax e AIRmin têm sido extensivamente realizados para susceptibilidade genética a várias doenças experimentais e alguns loci envolvidos com a regulação da resposta inflamatória aguda e outros fenótipos, têm sido identificados. Em tais experimentos, esses animais têm mostrado diferir drasticamente no desenvolvimento de diversas patologias induzidas, como é o caso da infecção por *Salmonella* Typhimurium (ARAUJO et al., 1998) e indução química de carcinogênese de pele (BIOZZI et al., 1998) e de pulmão, (MARIA et al., 2003) onde os AIRmax mostraram-se mais resistentes do que os animais AIRmin. No caso de choque endotóxico por LPS (BORREGO et al., 2006) e

carcinoma de intestino (DI PACE et al., 2006), os animais AIRmin foram os mais resistentes. Outro exemplo interessante dessa divergência foi demonstrado no trabalho de Trombone et al. (2010), que verificou que animais AIRmax foram mais sensíveis ao desenvolvimento de periodontite experimental (ePD) induzida pela bactéria *A. actinomycetemcomitans* e a indução de PIA concomitante com a indução de ePD foi capaz de aumentar a severidade de PD nesses camundongos enquanto que nos camundongos AIRmin a severidade não foi alterada, mostrando que a PIA está envolvida na modulação da severidade da ePD.

Sublinhagens AIRmax^{RR}, AIRmax^{SS}, AIRmin^{RR} e AIRmin^{SS} foram geradas por acasalamentos genótipo-assistidos a partir das linhagens parentais com o intuito de se estudar a interação dos alelos do gene *Slc11a1* com os QTL envolvidos com a resposta inflamatória aguda, desenvolvimento da PIA e outros fenótipos. O gene *Slc11a1* (anteriormente chamado de *Nramp1*) tem sido descrito por ter participação na susceptibilidade à artrite reumatoide em humanos (SHAW; CLAYTON; BLACKWELL, 1997) e outras doenças. Nos camundongos este gene está presente no cromossomo 1 e é polimórfico, apresentando alelos que conferem resistência (R) ou susceptibilidade (S) natural a diferentes tipos de infecções. Os animais AIRmax^{RR} (homozigotos para o alelo R do gene *Slc11a1*), são mais resistentes à PIA que os camundongos AIRmax^{SS} (homozigotos para o alelo S), tanto para incidência, quanto para a severidade, atingindo cerca de 70% de incidência nos AIRmax^{SS} aos 180 dias e 30% nos AIRmax^{RR} aos 150 dias. Já os animais AIRmin^{RR} foram totalmente resistentes a PIA, enquanto cerca de 13% dos AIRmin^{SS} foram afetados após 180 dias (PETERS et al., 2007).

A sublinhagem AIRmax^{RR} demonstrou ser deficiente no componente C5 do sistema complemento observada pela falta de atividade hemolítica no soro. Três das oito linhagens isogênicas parentais utilizadas para produzir a população inicial - A/J, SWR/J e DBA2/J - são deficientes desse componente (AMANO et al., 2009). Em um modelo de artrite induzida por colágeno, foi demonstrado um aumento na expressão de C5aR e C3aR, durante o curso da doença. Apesar de não haver diferença no desenvolvimento de artrite em camundongos *C3aR*^{-/-}, animais *C5aR*^{-/-} foram completamente protegidos da doença (GRANT et al., 2002).

O mapeamento de loci que regulam características quantitativas (QTLs) como a resposta inflamatória, realizado pelo nosso grupo, tem identificado várias regiões cromossômicas envolvidas com o fenótipo de seleção e fenótipos relacionados à resposta inflamatória, como o choque endotóxico por LPS, regeneração tecidual na orelha e artrite induzida por pristane. Um dos loci estimados como regulador para o caráter selecionador foi mapeado no cromossomo 7 e denominado de *Irm1* (VORRARO et al., 2010). Este *locus*

contém cerca de 230 genes e mostrou estar envolvido com o número de células infiltradas no exsudato após injeção de Biogel e com a produção de IL-1 β ex vivo. Esse QTL foi detectado por ensaio de co-segregação ou *linkage* dos níveis variáveis de resposta inflamatória individual, com marcadores de polimorfismos genético do tipo SNP (single nucleotide polymorphism) distribuídos em todo o genoma, em populações resultantes do intercruzamento de camundongos das linhagens AIRmax X AIRmin (segregantes F2). Outro locus, o *Irm2* foi mapeado no cromossomo 5 pela análise de agrupamento e associação de haplótipos e também mostrou estar envolvido com ambos os fenótipos (GALVAN et al., 2011). Este trabalho também detectou outros QTLs com níveis variados de significância estatística nos cromossomos 2, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 13 e 16 para o número de células infiltrantes e nos cromossomos 1, 5, 7, 8, 10, 13, 14, 17 e X para a produção de IL-1 β . SNPs mapeados no locus *Irm1*, que foram altamente associados com a produção de IL-1 β , apareceram também entre os SNPs associados ao número de células infiltrantes com os maiores níveis de significância.

Por ensaios de *linkage* foram também mapeados seis QTLs envolvidos com a regeneração tecidual nos cromossomos 1, 7, 8, 12, 14 e 16. Os animais AIRmax são capazes de regenerar um orifício de 2 mm na orelha feito por perfuração, enquanto nos animais AIRmin, o orifício permanece com o tempo. As sublinhagens AIRmax homozígotas para o alelo R e S do gene *Slc11a1* foram capazes de modular ainda mais essa resposta, sendo que os AIRmax^{SS} tiveram potente regeneração na orelha comparados aos animais isogênicos MRL (única linhagem de laboratório descrita que tem esta capacidade) e os animais AIRmax^{RR} uma regeneração média. Os animais AIRmin^{SS} e AIRmin^{RR} não foram capazes de regenerar o furo na orelha (CANHAMERO et al., 2011). Outro QTL detectado nessas linhagens foi associado com a susceptibilidade a tumor renal. Os camundongos AIRmin mostraram-se sensíveis ao desenvolvimento de tumor de rim, tanto espontâneo, como induzido por uretana, enquanto a linhagem AIRmax mostrou-se resistente (JENSEN et al., 2013). A análise de ligação detectou um único QTL no cromossomo 17 que foi designado como *Renal Tumor Modifier QTL1* (*Rtm1*).

QTLs significantes para a severidade à artrite experimental induzida por pristane (PIA) foram detectados nos cromossomos 5 e 8, o *Prtia2* e *Prtia3*, respectivamente, enquanto outros QTL sugestivos foram detectados nos cromossomos 7, 17 e 19 (DE FRANCO et al., 2014). O intervalo de confiança delimitado pelo nível máximo de significância da associação do fenótipo com o marcador genético no cromossomo 5, foi de 95 a 125 Mb enquanto que no

cromossomo 8 o intervalo foi de 40 a 85 Mb. Além disso, a análise de expressão gênica global pelo método de *microarrays* comparando material de patas de animais tratados com pristane versus controle evidenciou um número de genes ativados e reprimidos bem distinto entre os camundongos AIRmax e AIRmin, sendo que nos AIRmax foram verificados 416 genes ativados e 174 reprimidos após tratamento, enquanto que nos animais AIRmin, 201 genes estiveram ativados e 34 reprimidos. As principais categorias representadas em ambas as linhagens foram: resposta imune, inflamação, quimiotaxia, transporte, adesão celular e proteólise. Outro QTL, o *Prtia1*, localizado no cromossomo 3, foi o primeiro locus a ser detectado também pelo nosso grupo, utilizando animais selecionado para alta e baixa produção de anticorpos (JENSEN et al., 2006).

1.5 MICRORNAS

Uma linha de estudo que tem sido bastante explorada nos últimos anos é participação de microRNAs (miRNAs) no desenvolvimento da AR. Os miRNAs são uma classe de moléculas de RNA não codificantes com cerca de 21 nucleotídeos de comprimento, que agem como reguladores pós-transcricionais da expressão gênica, reduzindo a habilidade de mRNAs específicos a direcionar a síntese de proteínas codificadas por eles. Essa regulação pode ser feita pela prevenção da tradução ou indução da clivagem do mRNA complementar (KROL; LOEDIGE; FILIPOWICZ, 2010). Entre as funções conhecidas dos miRNAs estão a regulação da proliferação e diferenciação celular, ajuste no metabolismo de gorduras e lipídios, modulação na secreção de insulina, entre outras. Além disso, muitos estudos com essas moléculas, têm deixado claro que a regulação gênica por miRNAs é importante para a prevenção de autoimunidade e manutenção das funções normais do sistema imune (WITTMANN; JÄCK, 2011). Muitos miRNAs são conhecidos por fazer finos ajustes na produção de proteínas, e cerca de 60% dos genes codificadores de proteínas são regulados por miRNAs (BAEK et al., 2008). Um único miRNA pode regular uma centena de genes diferentes. Desde que foi descoberto que os miRNAs agem como reguladores chave em muitos processos biológicos, ficou claro que a modulação da expressão de miRNAs é uma característica comum em várias doenças, inclusive no câncer (BI; LIU; YANG, 2009).

A descoberta desses pequenos RNAs é recente. Os miRNAs foram descobertos em 1993 por Lee e Wightman em *C. elegans* que o chamaram de lin-4 e foi caracterizado por controlar o tempo de desenvolvimento do estágio larval de *C. elegans* (LEE; FEINBAUM;

AMBROS, 1993; WIGHTMAN; HA; RUVKUN, 1993). Sete anos depois um segundo miRNA foi descoberto, o let-7, dessa vez por Reinhart et al. (2000), e foi constatado ser conservado entre as espécies. Esses achados iniciaram uma explosão na pesquisa dessas moléculas e desde então diversos miRNAs em diferentes espécies já foram identificados.

Os miRNAs são transcritos no núcleo das células em sua forma precursora como miRNA primário ou pri-miRNA pela enzima RNA polimerase II. Esse pri-miRNA, forma um *hairpin* e serve como substrato para posterior clivagem por uma RNase III, a enzima Drosha que gera uma molécula chamada de pré-miRNA com cerca de 70 nucleotídeos de tamanho. Esse pré-miRNA é então exportado para o citoplasma, pela exportina 5 e processado novamente pela enzima Dicer, que vai então produzir um miRNA/miRNA* duplex com aproximadamente 20 bp (GERLACH; VAIDYA, 2017; O'CONNELL et al., 2010). Uma dessas fitas, representando o miRNA maduro, vai ser então incorporada no complexo de silenciamento de RNA ou complexo RISC enquanto a outra fita é tipicamente degradada. Nesse complexo, o miRNA é então direcionado ao mRNA alvo, e pareia com o mesmo para reprimir a tradução, ou induzir a sua degradação. Como parte essencial do complexo RISC, estão presentes proteínas argonautas (AGO) e proteína glicina-triptofano de 182kDa (GW182) que são moléculas chave na montagem e funcionamento do complexo (figura 1) (KROL; LOEDIGE; FILIPOWICZ, 2010; WINTER, 2009).

Os miRNAs tipicamente pareiam com a sequência contida na região 3' não traduzível (3' UTR) do mRNA através da região denominada de "*seed region*" que compreende os nucleotídeos de 2-8 do miRNAs e é importante para a associação com alvo. Tanto o passo de maturação do miRNA como a formação do complexo RISC são assistidos por um número de cofatores e proteínas acessórias, com importantes funções regulatórias. Esses reguladores podem ser restritos a famílias específicas de miRNAs ou podem afetar uma faixa mais ampla de seus precursores o que pode afetar a expressão de redes gênicas inteiras. A estabilidade termodinâmica do miRNA duplex é o que vai definir qual das duas fitas, será carregada no complexo RISC. De maneira geral, os genes de miRNAs são genes não codificantes, mas também podem estar localizados dentro de introns ou em regiões UTR, não traduzíveis de genes codificantes (HAMMOND, 2015; KROL et al., 2010).

Figura 1 - Via canônica do processamento de miRNAs

Fonte: (Winter et al., 2009)

MiRNAs podem regular RNAs dentro das suas células de origem ou podem ser carregados em exossomos para mediar interações célula-célula e regular genes dentro das células alvos (CHEN et al., 2012a; CHEN et al., 2012b). Exossomos são vesículas medindo de 40-100 nm que são formados a partir dos endossomos dentro de células secretoras. Esses exossomos podem deixar a célula em forma de vesículas que são subsequentemente internalizadas por outras células via fusão de membrana, endocitose ou fagocitose (VISHNOI; RANI, 2017). A transferência exossomal de miRNAs para células receptoras ocorre, e tem sido mostrado que o miRNA transferido é funcional. Muitos exemplos dessa comunicação célula-célula têm sido demonstrados (BOBRIE et al., 2011; MITTELBRUNN et al., 2011; ROCCARO et al., 2013).

Um estudo realizado por Pauley et al. (2008) com a expressão de miRNAs em humanos, detectou a expressão alterada dessas moléculas em pacientes com artrite reumatoide quando comparados aos controles. Além disso, células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) de pacientes com AR tiveram expressão aumentadas dos miR-16, miR-132, miR-146a e o aumento na expressão de miR-16 e miR-146a correlacionou com a doença ativa nos pacientes com AR. O papel de miRNAs na homeostasia das junções também se mostrou

evidente em camundongos *knockout* para o gene Dicer, que mostraram anormalidades no desenvolvimento e estrutura da cartilagem (KOBAYASHI et al., 2008).

Os miRNAs também têm sido utilizados como biomarcadores para certas doenças possibilitando o monitoramento de processos biológicos anormais ou normais e podendo ter utilidade prognóstica ou diagnóstica (CERIBELLI; SATOH; CHAN, 2012). Sua detecção como um biomarcador nos fluídos corporais, por exemplo, pode evitar que procedimentos invasivos sejam realizados. As doenças reumáticas têm sido exemplos de aplicações de miRNAs como biomarcadores. Dessa forma os miRNAs, têm sido uma ferramenta de estudo importante no processo de regulação gênica, e por isso alvo de muitos estudos.

O diagnóstico precoce e o tratamento da artrite reumatoide nos estágios iniciais, são extremamente importantes para prevenir sua progressão. Nesse contexto, o uso de biomarcadores tanto para o diagnóstico, como para o prognóstico são altamente desejados. Marcadores ideais devem ser estáveis nas amostras de pacientes a serem examinadas, e devem ser associadas com os resultados clínicos. Nesse contexto, miRNAs são relativamente estáveis quando comparados com outras moléculas biológicas e podem, portanto, ajudar a identificar uma doença antes mesmo de sinais clínicos serem aparentes, ou mesmo quantificarem a severidade da doença. Além disso, a detecção de miRNAs no soro de pacientes para diagnóstico, é uma técnica desejável, pois ela é simples e não invasiva (ALEVIZOS; ILLEI, 2010).

Baseado nessas informações, nós acreditamos que nosso modelo animal de camundongos heterogêneos, possa ser uma ferramenta adicional e importante na busca de miRNAs reguladores da expressão gênica envolvidos com a artrite. Para explorar esse aspecto nós investigamos a relação entre as diferenças de expressão de miRNAs entre camundongos AIRmax e AIRmin tratados com pristane e seus controles e seu envolvimento no controle gênico baseando-se nos níveis de expressão de seus potenciais genes alvos. Inúmeras evidências têm mostrado que os alvos de miRNAs são afetados ao nível de mRNA e, portanto, a comparação dos dados de expressão dos *microarrays* de mRNA e de miRNA é uma ferramenta importante para identificar e avaliar o impacto da desregulação gênica. Nossa hipótese é que as linhagens possuem diferentes assinaturas de expressão gênica global e miRNA após a indução de artrite com pristane e que essas diferenças podem ser em parte, responsáveis pelo fenótipo distinto observado e reproduzindo o que é verificado na artrite reumatoide humana.

2 CONCLUSÃO

Nosso estudo mostrou que a expressão gênica global e de miRNAs são modificadas nas células do peritônio das linhagens AIRmax e AIRmin durante a artrite induzida por pristane, principalmente com a ativação de diversos miRNAs na linhagem sensível à PIA. Correlações negativas foram observadas entre diversos miRNAs e seus genes alvos especialmente o miR-132-3p e o miR-130b-3p, o que pode ser melhor explorado em análises funcionais para verificar o efeito desses miRNAs nas alterações relacionadas com a doença. Nós demonstramos ainda que a modulação desses miRNAs é bem distinta nos animais AIRmax e AIRmin que receberam o mesmo estímulo, sugerindo que a diferença na susceptibilidade ou resistência decorrente da seleção genética artificial que esses animais foram submetidos, é em parte devido a diferença na ativação/repressão de genes e de miRNAs nessas linhagens. Além disso, nós observamos a modulação de genes importantes no desenvolvimento da artrite reumatoide em humanos e em outros modelos de artrite experimental, como o *P2xr7* e *C5aR*. Esses genes podem representar novos biomarcadores para diagnóstico, prognóstico e terapia. Estudos mais específicos com esses genes e miRNAs devem ser realizados a partir desse “*screening*” para confirmar a participação de cada um deles no desenvolvimento da PIA.

REFERÊNCIAS¹

- AL-SHUKAILI, A.; AL-KAABI, J.; HASSAN, B. A comparative study of interleukin-1beta production and p2x7 expression after ATP stimulation by peripheral blood mononuclear cells isolated from rheumatoid arthritis patients and normal healthy controls. **Inflammation**, v. 31, n. 2, p. 84-90, 2008.
- ALAM M. M.; O'NEILL L. A. MicroRNAs and the resolution phase of inflammation in macrophages. **Eur. J. Immunol.**, v. 41, p. 2470–2525, 2011.
- ALEVIZOS I.; ILLEI G. G. MicroRNAs as biomarkers in rheumatic diseases. **Nat. Rev. Rheumatol.**, v. 6, n. 7, p. 391–398, 2010.
- AMANO M. T.; CARNEIRO A. S.; RIBEIRO O. G.; CABRERA W. K.; DE FRANCO M.; IBÁÑEZ O. M.; ISAAC L.; STAROBINAS N. A new model of outbred genetically selected mice which present a strong acute inflammatory response in the absence of complement component C5. **Inflamm. Res.**, v. 58, p. 204–209, 2009.
- ANDERTON S. M.; ZEE R. V. D.; PRAKKEN B.; NOORDZIJ A.; EDEN W. V. Activation of T Cells Recognizing Self 60-kD Heat Shock Protein Can Protect against Experimental Arthritis. **J. Exp. Med.**, v. 181, p. 943-952, 1995.
- ANTONI A.; PATEL V. A.; FAN H.; LEE D. J.; GRAHAM L. H.; ROSCH C. L.; SPIEGEL D. S.; RAUCH J.; LEVINE J. S. Macrophages from lupus-prone MRL mice have a conditional signaling abnormality that leads to dysregulated expression of numerous genes. **Immunogenetics**, v. 63, n. 5, p. 291-308, 2011.
- ARAUJO L. M.; RIBEIRO O. G.; SIQUEIRA M.; DE FRANCO M.; STAROBINAS N.; MASSA S.; CABRERA W. H.; MOUTON D.; SEMAN M.; IBÁÑEZ O. M. Innate resistance to infection by intracellular bacterial pathogens differs in mice selected for maximal or minimal acute inflammatory response. **Eur J. Immunol.**, v. 28, n. 9, p. 2913-2920, 1998.
- ASSI L. K.; WONG S. H.; LUDWIG A.; RAZA K.; GORDON C.; SALMON M.; LORD J. M.; SCHEEL-TOELLNER D. Tumor necrosis factor alpha activates release of B lymphocyte stimulator by neutrophils infiltrating the rheumatoid joint. **Arthritis Rheum**, v. 56, n. 6, p. 1776-1786, 2007.
- BACCALA R.; GONZALEZ-QUINTIAL R.; LAWSON B. R.; STERN M. E.; KONO D. H.; BEUTLER B.; THEOFILOPOULOS A. N. Sensors of the innate immune system: their mode of action. **Nat. Ver. Rheumatol.**, v. 5, n. 8, p. 448-456, 2009.
- BAEK, D.; VILLEN J.; SHIN C.; CAMARGO F. D.; GYGI S. P.; BARTEL D. P. The impact of microRNAs on protein output. **Nature**, v. 455, p. 64-71, 2008.

¹ De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BARKER R. N.; EASTERFIELD A. J.; ALLEN R. F.; WELLS A. D.; ELSON C. J. THOMPSON S. J. B- and T-cell autoantigens in pristane-induced arthritis. **Immunol.**, v. 89, p. 189-194, 1996.

BAUM R.; GRAVALLESE E. M. Bone as a Target Organ in Rheumatic Disease: Impact on Osteoclasts and Osteoblasts. **Clinic. Rev. Allerg. Immunol.**, v. 51, p. 1–15, 2016.²

BENSON M. D.; OPPERMAN L. A.; WESTERLUND J.; FERNANDEZ C. R.; SAN MIGUEL S.; HENKEMEYER M.; CHENAUX G. Ephrin-B stimulation of calvarial bone formation. **Dev. Dyn.**, v. 241, n. 12, p. 1901-1910, 2012.

BI Y.; LIU G.; YANG R. MicroRNAs: Novel Regulators During the Immune Response. **J. Cell. Physiol.**, v. 218, p. 467–472, 2009.

BILLIAU A.; MATTHYS P. Collagen-induced arthritis and related animal models: How much of their pathogenesis is auto-immune, how much is auto-inflammatory? **Cytokine & Growth Factor Rev.**, v. 22, p. 339–344, 2011.

BIOZZI G.; RIBEIRO O. G.; SARAN A.; ARAUJO M. L.; MARIA D. A.; DE FRANCO M.; CABRERA W. K.; SANT'ANNA O. A.; MASSA S.; COVELLI V.; MOUTON D.; NEVEU T.; SIQUEIRA M.; IBANEZ O. M. Effect of genetic modification of acute inflammatory responsiveness on tumorigenesis in the mouse. **Carcinogenesis**, v. 19, n. 2. p. 337-346, 1998.

BIRD A. K.; CHANG M.; BARNARD J.; GOLDMAN B. I.; MEEDNU N.; RANGEL-MORENO J.; ANOLIK J. H. Neutrophils Slow Disease Progression in Murine Lupus via Modulation of Autoreactive Germinal Centers. **J. Immunol.**, v. 199, n. 2, p. 458-466, 2017.

BOBRIE A.; COLOMBO M.; RAPOSO G.; THÉRY C. Exosome secretion: molecular mechanisms and roles in immune responses. **Traffic**, v. 12, n. 12, p. 1659-1668, 2011.

BORREGO, A.; PETERS, L. C.; JENSEN, J. R.; RIBEIRO, O. G.; A, CABRERA, W. H. K.; STAROBINAS, N.; SEMAN, M.; IBAÑEZ, O. M.; DE FRANCO, M. Genetic determinants of acute inflammation regulate Salmonella infection and modulate Slc11a1 gene (formerly Nramp1) effects in selected mouse lines. **Microbes Infect.**, v. 8, p. 2766–2771, 2006.

BRANDES M. E.; ALLEN J. B.; OGAWA Y.; WAHL S. M. Transforming growth factor beta 1 suppresses acute and chronic arthritis in experimental animals. **J. Clin. Invest.**, v. 87, n. 3, p. 1108-1113, 1991.

BRENNAN F. M; MCINNES I. B. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. **J. Clin. Invest.**, v. 118, n. 11, p. 3537-3545, 2008.

CALVANI N.; CARICCHIO R.; TUCCI M.; SOBEL E. S.; SILVESTRIS F.; , PAOLA TARTAGLIA, AND HANNO B. RICHARDS. Induction of Apoptosis by the Hydrocarbon Oil Pristane: Implications for Pristane-Induced Lupus. **J. Immunol.**, v. 175, p. 4777-4782, 2005.

CANHAMERO T.; REINES B.; PETERS L. C.; BORREGO A.; CARNEIRO P. S.; ALBUQUERQUE L. L.; CABRERA W. H.; RIBEIRO O. G.; JENSEN J. R.; STAROBINAS N.; IBAÑEZ O. M.; DE FRANCO M. Distinct Early Inflammatory Events during Ear Tissue Regeneration in Mice Selected for High Inflammation Bearing Slc11a1 R and S Alleles. **Inflammation**, v. 34, n. 5, p. 303-313, 2011.

CAPLAZI P.; BACA M.; BARCK K.; CARANO R. A.; DEVOSS J.; LEE W. P. BOLON B.; DIEHL L. Mouse Models of Rheumatoid Arthritis. **Vet. Pathol.**, v. 52, n. 5, p. 819-826, 2015.

ARROLL W. A.; ROBERTS D. D.; JARVIS M. F. Selective P2X7 receptor antagonists for chronic inflammation and pain. **Purinergic Signal.**, v. 5, p. 63–73, 2009

CERIBELLI, A.; SATOH, M.; CHAN, E. K. MicroRNAs and autoimmunity. **Curr. Opin. Immunol.**, v. 24, n. 6, p. 686-691, 2012.

CHAKRAVARTI A.; RAQUIL M. A.; TESSIER P.; POUBELLE P. E. Surface RANKL of Toll-like receptor 4-stimulated human neutrophils activates osteoclastic bone resorption. **Blood**, v. 114, n. 8, p. 1633-1644, 2009.

CHEN S.; CHEN B.; WEN Z.; HUANG Z.; YE L. IL-33/ST2-mediated inflammation in macrophages is directly abrogated by IL-10 during rheumatoid arthritis. **Oncotarget**, v. 8, n. 20, p. 32407-32418, 2017.

CHEN X.; LIANG H.; ZHANG J.; ZEN K.; ZHANG C. Y. Horizontal transfer of microRNAs: molecular mechanisms and clinical applications. **Protein Cell**, v. 3, n. 1, p. 28–37, 2012a.

CHEN X.; LIANG H.; ZHANG J.; ZEN K.; ZHANG C. Y. Secreted microRNAs: a new form of intercellular communication. **Trends Cell Biol.**, v. 22, n. 3, p. 125-132, 2012b.

CHINEN I.; NAKAHAMA T.; KIMURA A.; NGUYEN N. T.; TAKEMORI H.; KUMAGAI A.; KAYAMA H.; TAKEDA K.; LEE S.; HANIEH H.; RIPLEY B.; MILLRINE D.; DUBEY P. K.; NYATI K. K.; FUJII-KURIYAMA Y.; CHOWDHURY K.; KISHIMOTO T. The aryl hydrocarbon receptor/microRNA-212/132 axis in T cells regulates IL-10 production to maintain intestinal homeostasis. **Int. Immunol.**, v. 27, n. 8, p. 405–415, 2015

COELHO F. M.; PINHO V.; AMARAL F. A.; SACHS D.; COSTA V. V.; RODRIGUES D. H.; VIEIRA A. T.; SILVA T. A.; SOUZA D. G.; BERTINI R.; TEIXEIRA A. L.; TEIXEIRA M. M. The chemokine receptors CXCR1/CXCR2 modulate antigen-induced arthritis by regulating adhesion of neutrophils to the synovial microvasculature. **Arthritis Rheum.**, v. 58, n. 8, p. 2329-2337, 2008.

COMBE B. Inflammation and joint destruction during rheumatoid polyarthritis: what relation? **Presse. Med.**, v. 27, n. 10, p. 481-483, 1998.

CORREA M. A.; CANHAMERO T.; BORREGO A.; KATZ I. S. S.; JENSEN J. R.; GUERRA J. L.; CABRERA W. H. K.; STAROBINAS N.; FERNANDES J. G.; RIBEIRO O.

G.; IBAÑEZ O. M.; DE FRANCO M. Slc11a1 (Nramp-1) gene modulates immune-inflammation genes in macrophages during pristane-induced arthritis in mice. **Inflamm. Res.**, 2017.

CORVAISIER M.; DELNESTE Y.; JEANVOINE H.; PREISSER L.; BLANCHARD S.; GARO E.; HOPPE E.; BARRÉ B.; AUDRAN M.; BOUVARD B.; SAINT-ANDRÉ J. P.; JEANNIN P. IL-26 Is Overexpressed in Rheumatoid Arthritis and Induces Proinflammatory Cytokine Production and Th17 Cell Generation. **PLoS Biol.**, v. 10, n. 9, p. 1-15, 2012.

CROSS A.; BUCKNALL R. C.; CASSATELLA M. A.; EDWARDS S. W.; MOOTS R. J. Synovial fluid neutrophils transcribe and express class II major histocompatibility complex molecules in rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 48, n. 10, p. 2796-2806, 2003.

DAHLGREN J.; TAKHAR H.; ANDERSON-MAHONEY P.; KOTLERMAN J.; TARR J.; WARSHAW R. Cluster of systemic lupus erythematosus (SLE) associated with an oil field waste site: a cross sectional study. **Environ. Health**, v. 22, p. 6-8, 2007.

DE FRANCO M.; PETERS L. C.; CORREA M. A.; GALVAN A.; CANHAMERO T.; BORREGO A.; JENSEN J. R.; GONÇALVES J.; CABRERA W. H.; STAROBINAS N.; RIBEIRO O. G.; DRAGANI T. A.; IBAÑEZ O. M. Pristane-induced arthritis loci interact with the Slc11a1 gene to determine susceptibility in mice selected for high inflammation. **Plos One**, v. 5, n. 9, p. e88302, 2014

DESHMANE S. L.; KREMLEV S.; AMINI S.; SAWAYA B. E. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. **J. Interferon Cytokine Res.**, v. 29, n. 6, p. 313-326, 2009.

DI PACE R. F.; MASSA S.; RIBEIRO O. G.; CABRERA W. H.; DE FRANCO M.; STAROBINAS N.; SEMAN M.; IBAÑEZ O. C. Inverse genetic predisposition to colon versus lung carcinogenesis in mouse lines selected based on acute inflammatory responsiveness. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 8, p. 1517-1525, 2006.

ELLIOTT J. I.; MCVEY J. H.; HIGGINS C. F. The P2X7 receptor is a candidate product of murine and human lupus susceptibility loci: a hypothesis and comparison of murine allelic products. **Arthritis Res. Ther.**, v. 7, p. R468-R475, 2005.

FAN Z. D.; ZHANG Y. Y.; GUO Y. H.; HUANG N.; MA H. H.; HUANG H.; YU H. G. Involvement of P2X7 receptor signaling on regulating the differentiation of Th17 cells and type II collagen-induced arthritis in mice. **Sci. Rep.**, v. 6, p. 35804, 2016.

FERNANDES J. G.; CANHAMERO T.; BORREGO A.; JENSEN J. R.; CABRERA W. H.; CORREA M. A.; STAROBINAS N.; RIBEIRO O. G.; IBAÑEZ O. C.; DE FRANCO M. Distinct gene expression profiles provoked by polyacrylamide beads (biogel) during chronic and acute inflammation in mice selected for maximal and minimal inflammatory responses. **Inflamm. Res.**, v. 65, p. 313–323, 2016.

FINCKH A. Early inflammatory arthritis versus rheumatoid arthritis. **Curr. Opin. Rheumatol.** v. 21, p. 118–123, 2009

GALL B. J.; SCHROER A. B.; GROSS J. D.; SETOLA V.; SIDEROVSKI D. P. Reduction of GPSM3 expression akin to the arthritis-protective SNP rs204989 differentially affects migration in a neutrophil model. **Genes Immun.**, v. 17, n. 6, p. 321-327, 2016.

GALVAN, A.; VORRARO, F.; CABRERA, W.; RIBEIRO, O. G.; STAROBINAS, N.; JENSEN, J. R.; CARNEIRO, P. S.; DE FRANCO, M.; GAO X.; IBÁÑEZ, O. C. M.; DRAGANI, T. A. Association study by genetic clustering detects multiple inflammatory response loci in non-inbred mice. **Genes Immun.**, v. 12, p. 390-394, 2011.

GELDERMAN K. A.; HULTQVIST M.; PIZZOLLA A.; ZHAO M.; NANDAKUMAR K. S.; MATSSON R.; HOLMDAHL R. Macrophages suppress T cell responses and arthritis development in mice by producing reactive oxygen species. **J. Clin. Invest.**, v. 117, p. 3020–3028, 2007.

GERLACH, C. V.; VAIDYA, V. S. MicroRNAs in injury and repair. **Arch Toxicol**, v. 91, n. 8, p. 2781-2797, 2017.

GIGUÈRE P. M.; BILLARD M. J.; LAROCHE G.; BUCKLEY B. K.; TIMOSHCHENKO R. G.; MCGINNIS M. W.; ESSERMAN D.; FOREMAN O.; LIU P.; SIDEROVSKI D. P.; TARRANT T. K. G-protein signaling modulator-3, a gene linked to autoimmune diseases, regulates monocyte function and its deficiency protects from inflammatory arthritis. **Mol. Immunol.**, v. 54, n. 2, p. 193-198, 2013.

GIULIETTI, A.; OVERBERGH, L.; VALCKX, D.; DECALLONNE, B.; BOUILLON, R.; MATHIEU, C. An overview of real-time quantitative PCR: applications to quantify cytokine gene expression. **Methods**, v. 25, p. 386-340, 2001.

GRANT E. P.; PICARELLA D.; BURWELL T.; DELANEY T.; CROCI A.; AVITAHN N.; HUMBLE A. A.; RAMOS J. C. G.; BRISKIN M.; GERARD C.; COYLE A. J. Essential Role for the C5a Receptor in Regulating the Effector Phase of Synovial Infiltration and Joint Destruction in Experimental Arthritis. **J. Exp. Med.**, v. 196, n. 11, p. 1461–1471, 2002.

GREGERSEN P. K.; SILVER J.; WINCHESTER R. J. The shared epitope hypothesis. An Approach to Understanding The Molecular Genetics of Susceptibility to Rheumatoid Arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 30, n. 11, p. 1205-1213, 1987.

HAMMOND S. M. An overview of microRNAs. **Adv. Drug. Deliv. Rev.**, v. 87, p. 3-14, 2015.

HECHT C.; ENGLBRECHT M.; RECH J.; SCHMIDT S.; ARAUJO E.; ENGELKE K.; FINZEL S.; SCHETT G. Additive effect of anti-citrullinated protein antibodies and rheumatoid factor on bone erosions in patients with RA. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 74, n. 12, p. 2151-2156, 2015.

HOFFMANN M.; HAYER S.; STEINER G. Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. **Ann. N.Y. Acad. Sci.** v. 1173, p. 391–400, 2009.

HOFFMANN M. H.; TUNCEL J.; SKRINER K.; TOHIDAST-AKRAD M.; TÜRK B.; PINOL-ROMA S.; SERRE G.; SCHETT G.; SMOLEN J. S.; HOLMDAHL R.; STEINER G. The Rheumatoid Arthritis-Associated Autoantigen hnRNP-A2 (RA33) Is a Major Stimulator of Autoimmunity in Rats with Pristane-Induced Arthritis. **J. Immunol.**, v.179, p. 7568-7576, 2007.

HOLMBERG J.; TUNCEL J.; YAMADA H.; LU S.; OLOFSSON P.; HOLMDAHL R. Pristane, a Non-Antigenic Adjuvant, Induces MHC Class II-Restricted, Arthritogenic T Cells in the Rat1. **J. Immunol.**, v. 176, p. 1172-1179, 2006.

HOLMDAHL R.; BAILEY C.; ENANDER I.; MAYER R.; KLARESKOG L.; MORAN T.; BONA C. Origin of the autoreactive anti-type II collagen response. II. Specificities, antibody isotypes and usage of V gene families of anti-type II collagen B cells. **J. Immunol.**, v. 142, n. 6, p. 1881-1886, 1989.

HOU G. Q.; GUO C.; SONG G. H.; FANG N.; FAN W. J.; CHEN X. D.; YUAN L.; WANG Z. Q. Lipopolysaccharide (LPS) promotes osteoclast differentiation and activation by enhancing the MAPK pathway and COX-2 expression in RAW264.7 cells. **Int. J. Mol. Med.**, v. 32, n. 2, p. 503-510, 2013.

HOWARD K. A.; PALUDAN S. R.; BEHLKE M. A.; BESENBACHER F.; DELEURAN B.; KJEMS J. Chitosan/siRNA Nanoparticle-mediated TNF- α Knockdown in Peritoneal Macrophages for Anti-inflammatory Treatment in a Murine Arthritis Model. **Mol. Ther.**, vol. 17, n. 1, p. 162–168, 2009.

HUANG, D. W.; SHERMAN, B. T.; LEMPICKI, R. A. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. **Nucleic Acids Res.**, v. 37, n. 1, p. 1-13, 2009a.

HUANG D. W, SHERMAN B. T.; LEMPICKI R. A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. **Nat. Protoc.**, v. 4, n. 1, p. 44-57, 2009b.

IBANHEZ O. M.; STIFFEL C.; RIBEIRO O. G.; CABRERA W. H.; MASSA S.; DE FRANCO M.; SANT'ANA O. A.; DECREUSENFOND C.; MOUTON D.; SIQUEIRA M.; BIOZZI G. Genetics of nonspecific immunity: I. Bidirectional selective breeding of lines of mice endowed with maximal or minimal inflammatory responsiveness. **Eur. J. Immunol.**, v. 22, p. 2555-2563, 1992.

IWAMOTO T.; OKAMOTO H.; TOYAMA Y.; MOMOHARA S. Molecular aspects of rheumatoid arthritis: chemokines in the joints of patients. **FEBS J.**, v. 275, n. 18, p. 4448-4455, 2008.

JENSEN J. R.; GALVAN2 A.; BORREGO A.; CABRERA W. H. K.; RIBEIRO O. G.; STAROBINAS N.; DE FRANCO M. COLECCHIA M.; BERTOLOTTI A.; DRAGANI T. A.; IBÁÑEZ O. C. M. Genetic control of renal tumorigenesis by the mouse Rtm1 locus. **BMC Genomics**, v. 14, p. 724 – 731, 2013.

JENSEN J. R.; PETERS L. C.; BORREGO A.; RIBEIRO O. G.; CABRERA W. H.; STAROBINAS N.; SIQUEIRA M.; IBAÑEZ O. C.; DE FRANCO M. Involvement of antibody production quantitative trait loci in the susceptibility to pristane-induced arthritis in the mouse. **Genes Immun.**, v. 7, n. 1, p. 44-50, 2006.

KHANDPUR R.; CARMONA-RIVERA C.; VIVEKANANDAN-GIRI A.; GIZINSKI A.; YALAVARTHI S.; KNIGHT J. S.; FRIDAY S.; LI S.; PATEL R. M.; SUBRAMANIAN V.; THOMPSON P.; CHEN P.; FOX D. A.; PENNATHUR S.; KAPLAN M. J. NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis. **Sci. Transl. Med.**, v. 5, n. 178, p. 178ra40, 2013.

KIKODZE, N.; PANTSULAIA, I.; CHIKOVANI, T. The role of regulatory and Th17 cells in the pathogenesis of rheumatoid arthritis (review). **Georgian Med. News**, n. 261, p. 62-68, 2016.

KIM N. D.; CHOU R. C.; SEUNG E.; TAGER A. M.; LUSTER A. D. A unique requirement for the leukotriene B4 receptor BLT1 for neutrophil recruitment in inflammatory arthritis. **J. Exp. Med.**, v. 203, n. 4, p. 829-835, 2006.

KLARESKOG L.; STOLT P.; LUNDBERG K.; KÄLLBERG H.; BENGTSSON C.; GRUNEWALD J.; RÖNNELID J.; HARRIS H. E.; ULFGREN A. K.; RANTAPÄÄ-DAHLQVIST S.; EKLUND A.; PADYUKOV L.; ALFREDSSON L. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. **Arthritis Rheum.**, v. 54, n. 1, p. 38-46, 2006.

KLEYER A.; FINZEL S.; RECH J.; MANGER B.; KRIETER M.; FAUSTINI F.; ARAUJO E.; HUEBER A. J.; HARRE U.; ENGELKE K.; SCHETT G. Bone loss before the clinical onset of rheumatoid arthritis in subjects with anticitrullinated protein antibodies. **Ann. Rheum. Dis**, v. 73, n. 5, p. 854-860, 2014.

KNIGHT, J. S.; CARMONA-RIVERA, C.; KAPLAN, M. J. Proteins derived from neutrophil extracellular traps may serve as self-antigens and mediate organ damage in autoimmune diseases. **Front. Immunol.**, v. 3, p. 380, 2012.

KOBAYASHI T.; LU J.; COBB B. S.; RODDA S. J.; MCMAHON A. P.; SCHIPANI E.; MERKENSCHLAGER M.; KRONENBERG H. M. Dicer-dependent pathways regulate chondrocyte proliferation and differentiation. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A**, v. 105, n. 6, p. 1949-1954, 2008.

KROL J.; LOEDIGE I.; FILIPOWICZ W. THE WIDESPREAD REGULATION OF MICRORNA BIOGENESIS, FUNCTION AND DECAY. **Nat. Rev. Genet.**, v. 11, p. 597 – 610, 2010.

LEE, R. C.; FEINBAUM, R. L.; AMBROS, V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. **Cell**, v. 75, n. 5, p. 843-854, 1993.

LEND A, D. M.; STANLEY, E. R.; KELLEY, V. R. Negative role of colony-stimulating factor-1 in macrophage, T cell, and B cell mediated autoimmune disease in MRL-Fas(lpr) mice. **J. Immunol.**, v. 173, n. 7, p. 4744-4754, 2004.

LI J.; HSU H. C.; MOUNTZ J. D. Managing Macrophages in Rheumatoid Arthritis by Reform or Removal. **Curr. Rheumatol. Rep.**, v. 14, p. 445-454, 2012.

LIN L.; YEE S. W.; KIM R. B.; GIACOMINI K. M. SLC transporters as therapeutic targets: emerging opportunities. **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 14, p. 543-560, 2015.

LINDSTROM T. M.; ROBINSON W. H. Rheumatoid Arthritis: A Role for Immunosenescence? **J. Am. Geriatr. Soc.**, v. 58, n. 8, p. 1565-1575, 2010.

LIU Q.; XIAO X. H.; HU L. B.; JIE H. Y.; WANG Y. YE W. C.; LI M. M.; LIU Z. Anhuinoside C Ameliorates Collagen-Induced Arthritis through Inhibition of MAPK and NF- κ B Signaling Pathways. **Front. Pharmacol.**, v. 8, p. 299, 2017.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta C_T$ method. **Methods**, v. 25, p. 402-408, 2001.

LOPEZ-CASTEJON G.; THEAKER J.; PELEGRIN P.; CLIFTON A. D.; BRADDOCK M.; SURPRENANT A. P2X(7) receptor-mediated release of cathepsins from macrophages is a cytokine-independent mechanism potentially involved in joint diseases. **J. Immunol.**, v. 185, n. 4, p. 2611-2619, 2010.

LU F.; LIU L.; YU D. H.; LI X. Z.; ZHOU Q.; LIU S. M. Therapeutic effect of Rhizoma Dioscoreae Nipponicae on gouty arthritis based on the SDF-1/CXCR 4 and p38 MAPK pathway: an in vivo and in vitro study. **Phytother. Res.**, v. 28, n. 2, p. 280-288, 2014.

LU T. P.; LEE C. Y.; TSAI M. H.; CHIU Y. C.; HSIAO C. K.; LAI L. C.; CHUANG E. Y. miRSystem: An Integrated System for Characterizing Enriched Functions and Pathways of MicroRNA Targets. **PloS One**, v. 7, n. 8, e42390, 2012.

LUBBERTS E. Th17 cytokines and arthritis. **Semin. Immunopathol.**, v. 32, p. 43-53, 2010.

MANTOVANI A.; CASSATELLA M. A.; COSTANTINI C.; JAILLON S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. **Nat. Ver. Immunol.**, v. 11, n. 8, p. 519-531, 2011.

MARIA D. A, MANENTI G.; GALBIATI F.; RIBEIRO O. G.; CABRERA W. H.; BARRERA R. G.; PETTINICCHIO A.; DE FRANCO M.; STAROBINAS N.; SIQUEIRA M.; DRAGANI T. A.; IBÁÑEZ O. M. Pulmonary adenoma susceptibility 1 (Pas1) locus affects inflammatory response. **Oncogene**, v. 22, n. 3, p. 426-432, 2003.

MARTIN-MOLA E.; Balsa A.; GARCÍA-VICUNA R.; GÓMEZ-REINO J.; GONZÁLEZ-GAY M. A.; SANMARTÍ R.; LOZA E. Anti-citrullinated peptide antibodies and their value for predicting responses to biologic agents: a review. **Rheumatol. Int.**, p. 1-21, 2016.

MATTHYS P.; LORIES R. J.; DE KLERCK B.; HEREMANS H.; LUYTEN F. P.; BILLIAU A. Dependence on Interferon- γ for the Spontaneous Occurrence of Arthritis in DBA/1 Mice. **Arthritis Rheum.**, v. 48, n. 10, p. 2983–2988, 2003.

MCDONALD, B.; KUBES, P. Cellular and molecular choreography of neutrophil recruitment to sites of sterile inflammation. **J. Mol. Med. (Berl.)**, v. 89, n. 11, p. 1079-1088, 2011.

MCLNNES I. B.; O'DELL J. R. State-of-the-art: rheumatoid arthritis. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 69, p. 1898–1906, 2010.

MITTELBRUNN M.; GUTIÉRREZ-VÁZQUEZ C.; VILLARROYA-BELTRI C.; GONZÁLEZ S.; SÁNCHEZ-CABO F.; GONZÁLEZ M. Á.; BERNAD A.; SÁNCHEZ-MADRID F. Unidirectional transfer of microRNA-loaded exosomes from T cells to antigen-presenting cells. **Nat. Commun.**, v. 2, p. 282, 2011.

MIYABE Y.; MIYABE C.; MUROOKA T. T.; KIM E. Y.; NEWTON G. A.; KIM N. D.; HARIBABU B.; LUSCINSKAS F. W.; MEMPEL T. R.; LUSTER A. D. Complement C5a Receptor is the Key Initiator of Neutrophil Adhesion Igniting Immune Complex-induced Arthritis. **Sci. Immunol.** v. 2, n. 7, p. 1-30, 2017.

MIZUKI S.; OISHI H.; ZHANG M. C.; KAMOGAWA J.; MIYAZAKI T.; ONO M.; TAKAHASHI S.; YAMAMOTO H.; NOSE M.. Genetic heterogeneity in rheumatoid arthritis mouse models induced by extrinsic and intrinsic factors. **Pathol. Int.**, v. 60, p. 430–437, 2010.

MORGAN R.; WU B.; SONG Z.; WOOLEY P. H. Immune Reactivity to Connective Tissue Antigens in Pristane Induced Arthritis. **Rheumatol.**, v. 31, p. 1497-1505, 2004.

MURPHY C. A.; LANGRISH C. L.; CHEN Y.; BLUMENSCHN W.; MCCLANAHAN T.; KASTELEIN R. A.; SEDGWICK J. D.; CUA D. J. Divergent Pro- and Antiinflammatory Roles for IL-23 and IL-12 in Joint Autoimmune Inflammation. **J. Exp. Med.**, v. 198, n. 12, p. 1951–1957, 2003.

MURPHY, G.; NAGASE, H. Reappraising metalloproteinases in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: destruction or repair? **Nat. Clin. Pract. Rheumatol.**, v. 4, n. 3, p. 128-135, 2008.

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

O'CONNELL R. M.; RAO D. S.; CHAUDHURI A. A.; BALTIMORE D. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 10, n. 2, p. 111-122, 2010.

PATTEN C.; BUSH K.; RIOJA I.; MORGAN R.; WOOLEY P. Characterization of Pristane-Induced Arthritis, a Murine Model of Chronic Disease. **Arthritis Rheum.**, v. 50, n. 10, p. 3334–3345, 2004.

PAULEY K. M.; SATOH M.; CHAN A. L.; BUBB M. R.; REEVES W. H.; CHAN E. K. Upregulated miR-146a expression in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. **Arthritis Res. Ther.**, v. 10, R101, 2008.

PETERS L. C.; JENSEN J. R.; BORREGO A.; CABRERA W. H. K.; BAKER N.; STAROBINAS N.; RIBEIRO O. G.; IBÁÑEZ O. M.; DE FRANCO M. Slc11a1 (formerly NRAMP1) gene modulates both acute inflammatory reactions and pristane-induced arthritis in mice. **Genes Immun.**, v. 8, p.51–56, 2007.

PETTIT A. R.; JI H.; STECHOW D. V.; MÜLLER R.; GOLDRING S. R.; CHOI Y.; BENOIST C.; GRAVALLESE E. M. TRANCE/RANKL knockout mice are protected from bone erosion in a serum transfer model of arthritis. **Am. J. Pathol.**, v. 159, n. 5, p. 1689-1699, 2001.

PICERNO V.; FERRO F.; ADINOLFI A.; VALENTINI E.; TANI C.; ALUNNO A. One year in review: the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Clin. Exp. Rheumatol.**, v. 33, n. 4, p. 551-558, 2015.

POLLARD K. M.; KONO D. H. Requirements for innate immune pathways in environmentally induced autoimmunity. **BMC Med.**, v. 11, n. 100, p. 1-12, 2013.

PORTALES-CERVANTES L.; NIÑO-MORENO P.; DONÍZ-PADILLA L.; BARANDA-CANDIDO L.; GARCÍA-HERNÁNDEZ M.; SALGADO-BUSTAMANTE M.; GONZÁLEZ-AMARO R.; PORTALES-PÉREZ D. Expression and function of the P2X(7) purinergic receptor in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. **Hum. Immunol.**, v. 71, n. 8, p. 818-825, 2010.

PORTALES-CERVANTES L.; NIÑO-MORENO P.; SALGADO-BUSTAMANTE M.; GARCÍA-HERNÁNDEZ M. H.; BARANDA-CANDIDO L.; REYNAGA-HERNÁNDEZ E.; BARAJAS-LÓPEZ C.; GONZÁLEZ-AMARO R.; PORTALES-PÉREZ D. P. The His155Tyr (489C>T) single nucleotide polymorphism of P2RX7 gene confers an enhanced function of P2X7 receptor in immune cells from patients with rheumatoid arthritis. **Cell Immunol.**, v. 276, n. 1-2, p. 168-175, 2012.

POTTER M.; WAX J. S. Genetics of susceptibility to pristane-induced plasmocytomas in Balb/cAn: reduced susceptibility in Balb/cJ with a brief description of pristane-induced arthritis. **J. Immunol.**, v. 127, n. 4, p. 1591-1595, 1981.

PRATESI F.; DIONI I.; TOMMASI C.; ALCARO M. C.; PAOLINI I.; BARBETTI F.; BOSCARO F.; PANZA F.; PUXEDDU I.; ROVERO P.; MIGLIORINI P. Antibodies from patients with rheumatoid arthritis target citrullinated histone 4 contained in neutrophils extracellular traps. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 73, n. 7, p. 1414-1422, 2014.

REDLICH K.; HAYER S.; RICCI R.; DAVID J. P.; AKRAD M. T.; KOLLIAS G.; STEINER G.; SMOLEN J. S.; WAGNER E. F.; SCHETT G. Osteoclasts are essential for TNF- α -mediated joint destruction. **J. Clin. Invest.**, v. 110, p. 1419–1427, 2002.

REEVES W. H.; LEE P. Y.; WEINSTEIN J. S.; SATOH M.; LU L. Induction of autoimmunity by pristane and other naturally occurring hydrocarbons. **Trends Immunol.**, v. 30, n. 9, p. 455-464, 2009.

REINHART B. J.; SLACK F. J.; BASSON M.; PASQUINELLI A. E.; BETTINGER J. C.; ROUGVIE A. E.; HORVITZ H. R.; RUVKUN G. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 901-906, 2000.

RIBEIRO, O. G.; MARIA, D. A.; ADRIOUCH, S.; PECHBERTY, S.; CABRERA, W. H. K.; MORRISET, J.; IBANEZ O. M.; SEMAN, M. Convergent alteration of granulopoiesis, chemotactic activity, and neutrophil apoptosis during mouse selection for high acute inflammatory response. **J. Leukoc. Biol.**, v. 74, p. 497- 506, 2003.

RICHARDS P. J.; WILLIAMS A. S.; GOODFELLOW R. M.; WILLIAMS B. D. Liposomal clodronate eliminates synovial macrophages, reduces inflammation and ameliorates joint destruction in antigen-induced arthritis. **Rheumatology (Oxford)**, v. 38, n. 9, p. 818–825, 1999.

ROCCARO A. M.; SACCO A.; MAISO P.; AZAB A. K.; TAI Y. T.; REAGAN M.; AZAB F.; FLORES L. M.; CAMPIGOTTO F.; WELLER E.; ANDERSON K. C.; SCADDEN D. T.; GHOBRIAL I. M. BM mesenchymal stromal cell-derived exosomes facilitate multiple myeloma progression. **J. Clin. Invest.**, v. 123, n. 4, p. 1542-1555, 2013.

ROLLET-LABELLE E.; VAILLANCOURT M.; MAROIS L.; NEWKIRK M. M.; POUBELLE P. E.; NACCACHE P. H. Cross-linking of IgGs bound on circulating neutrophils leads to an activation of endothelial cells: possible role of rheumatoid factors in rheumatoid arthritis-associated vascular dysfunction. **J. Inflamm. (Lond.)**, v. 10, n. 1, p. 27, 2013.

SANCHO D.; GÓMEZ M.; VIEDMA F.; ESPLUGUES E.; ALONSO M. G.; LÓPEZ M. A. G.; DE LA FUENTE H.; MARTÍNEZ-A C.; LAUZURICA P.; MADRID F. S. CD69 downregulates autoimmune reactivity through active transforming growth factor- β production in collagen-induced arthritis. **J. Clin. Invest.**, v. 112, p. 872–882, 2003.

SATO C.; IWASAKI T.; KITANO S.; TSUNEMI S.; SANO H. Sphingosine 1-phosphate receptor activation enhances BMP-2-induced osteoblast differentiation. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 423, n. 1, p. 200-205, 2012.

SCOTT D. L.; WOLFE F.; HUIZINGA T. W. J. Rheumatoid arthritis. **Lancet**, v. 376, p. 1094–1108, 2010.

SHANG W.; ZHAO L. J.; DONG X. L.; ZHAO Z. M.; LI J.; ZHANG B. B.; CAI H. Curcumin inhibits osteoclastogenic potential in PBMCs from rheumatoid arthritis patients via the suppression of MAPK/RANK/c-Fos/NFATc1 signaling pathways. **Mol. Med. Rep.**, v. 14, n. 4, p. 3620-3626, 2016.

SHANNON P.; MARKIEL A.; OZIER O.; BALIGA N. S.; WANG J. T.; RAMAGE D.; AMIN N.; SCHWIKOWSKI B.; IDEKER T. Cytoscape: a software environment for

integrated models of biomolecular interaction networks. **Genome Res.**, v. 13, n. 11, p. 2498-2504, 2003.

SHAW M. A.; CLAYTON D.; BLACKWELL J.M. Analysis of the candidate gene NRAMP1 in the first 61 ARC National Repository families for rheumatoid arthritis. **J. Rheumatol.**, v. 24, p. 212–214, 1997.

SHRIVASTAVA A. K.; PANDEY A. Inflammation and rheumatoid arthritis. **J. Physiol. Biochem.**, v. 69, p. 335–347, 2013.

SOTO H.; HEVEZI P.; ROTH R. B.; PAHUJA A.; ALLEVA D.; ACOSTA H. M.; MARTINEZ C.; ORTEGA A.; LOPEZ A.; ARAIZA-CASILLAS R.; ZLOTNIK A. Gene Array Analysis Comparison between Rat Collagen-induced Arthritis and Human Rheumatoid Arthritis. **Scand. J. Immunol.**, v. 68, p. 43–57, 2008.

STANFORD S. M.; BOTTINI N. PTPN22: the archetypal non-HLA autoimmunity gene. **Nat. Rev. Rheumatol.**, v. 10, n. 10, p. 602-611, 2014.

STASIUK L. M.; GHORAISHIAN M.; ELSON C. J.; THOMPSON S. J. Pristane-induced arthritis is CD4⁺ T-cell dependent., **Immunology**, v. 90, n. 1, p. 81-86, 1997.

STIFFEL, C.; IBANEZ, O.M.; RIBEIRO, O.G.; DECREASEFOND, C.; MOUTON, D.; SIQUEIRA, M.; BIOZZI, G. Genetics of acute inflammation: inflammatory reactions in inbred lines of mice and their interline crosses. **Expl. Clin. Immunogenet.**, v. 7, p. 221-233, 1990.

SUZUKI A.; YAMADA R.; CHANG X.; TOKUHIRO S.; SAWADA T.; SUZUKI M.; NAGASAKI M.; NAKAYAMA-HAMADA M.; KAWAIDA R.; ONO M.; OHTSUKI M.; FURUKAWA H.; YOSHINO S.; YUKIOKA M.; TOHMA S.; MATSUBARA T.; WAKITANI S.; TESHIMA R.; NISHIOKA Y.; SEKINE A.; IIDA A.; TAKAHASHI A.; TSUNODA T.; NAKAMURA Y.; YAMAMOTO K. Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. **Nat. Genet.**, v. 34, n. 4, p. 395-402, 2003.

SVERDRUP B.; KÄLLBERG H.; BENGTSSON C.; LUNDBERG I.; PADYUKOV L.; ALFREDSSON L.; KLARESKOG L. Association between occupational exposure to mineral oil and rheumatoid arthritis: results from the Swedish EIRA case-control study. **Arthritis Res. Ther.**, v. 7, n. 6, p. R1296-1303, 2005.

THEOFILOPOULOS A. N.; GONZALEZ-QUINTIAL R.; LAWSON B. R.; KOH Y. T.; STERN M. E.; KONO D. H.; BEUTLER B.; BACCALA R. Sensors of the innate immune system: their link to rheumatic diseases. **Nat. Rev. Rheumatol.**, v. 6, n. 3, p. 146-156, 2010.

THOMPSON S. J.; ELSON C. J. Susceptibility to pristane induced arthritis is altered with changes in bowel flora. **Immunol. Lett.**, v. 36, n. 2, p. 227-231, 1993.

TOKUHIRO S.;YAMADA R.; CHANG X.; SUZUKI A.; KOCHI Y.; SAWADA T.; SUZUKI M.; NAGASAKI M.; OHTSUKI M.; ONO M.; FURUKAWA M.; NAGASHIMA M.; YOSHINO S.; MABUCHI A.; SEKINE A.; SAITO S.; TAKAHASHI A.; TSUNODA

T.; NAKAMURA Y.; YAMAMOTO K. An intronic SNP in a RUNX1 binding site of *SLC22A4*, encoding an organic cation transporter, is associated with rheumatoid arthritis. **Nat. Genet.**, v. 35, p. 341-348, 2003.

TRENTHAM D. E.; TOWNES A. S.; KANG A. H. Autoimmunity to type II collagen: an experimental model of arthritis. **J. Exp. Med.**, v. 146, n. 3, p. 857-868, 1977.

TROMBONE A. P.; CLAUDINO M.; COLAVITE P.; DE ASSIS G. F.; AVILA-CAMPOS M. J.; SILVA J. S.; CAMPANELLI A. P.; IBAÑEZ O. M.; DE FRANCO M.; GARLET G. P. Periodontitis and arthritis interaction in mice involves a shared hyper-inflammatory genotype and functional immunological interferences. **Genes Immun.**, v. 11, n. 6, p. 479-489, 2010.

VERVOORDELDONK M. J., TAK P. P. Cytokines in rheumatoid arthritis. **Curr. Rheumatol. Rep.**, v. 3, p. 208-217, 2002.

VIGAR N. D.; CABRERA W. H. K.; ARAUJO L. M. M.; RIBEIRO O. G.; OGATA T. R. P.; SIQUEIRA M.; IBAÑEZ O. M.; DE FRANCO M. Pristane-induced arthritis in mice selected for maximal or minimal acute inflammatory reaction. **Eur. J. Immunol.**, v. 30, p. 431-437, 2000

VINCENTI M. P.; BRINCKERHOFF C. E. Transcriptional regulation of collagenase (MMP-1, MMP-13) genes in arthritis: integration of complex signaling pathways for the recruitment of gene-specific transcription factors. **Arthritis Res.**, v. 4, p. 157-164, 2002

VISHNOI A.; RANI S. MiRNA Biogenesis and Regulation of Diseases: An Overview. **Methods Mol. Biol.**, v. 1509, p. 1-10, 2017.

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

VONK L. A.; KRAGTEN A. H. M.; DHERT W. J. A.; SARIS D. B. F.; CREEMERS L. B. Overexpression of hsa-miR-148a promotes cartilage production and inhibits cartilage degradation by osteoarthritic chondrocytes. **Osteoarthritis Cartilage**, v. 22, p. 145-153, 2014.

VORRARO, F.; GALVAN, A. ; CABRERA, W. H. K.; CARNEIRO, P. S.; RIBEIRO, O. G.; DE FRANCO, M.; STAROBINAS, N.; JENSEN, J. R.; SEMAN, M.; DRAGANI, T. A.; IBANEZ, O. C. M. Genetic Control of IL-1b Production and Inflammatory Response by the Mouse *Irm1* Locus. **J. Immunol.**, v. 185, p. 1616-1621, 2010.

VOSSENAAR E. R.; NIJENHUIS S.; HELSEN M. M. A.; HEIJDEN A. V. D.; SENSU T.; BERG W. B. D.; VENROOIJ W. J. V.; JOOSTEN L. A. B. Citrullination of Synovial Proteins in Murine Models of Rheumatoid Arthritis. **Arthritis Rheum.** v. 48, n. 9, p. 2489-2500, 2003.

WANG W.; MOU S.; WANG L.; ZHANG M.; SHAO X.; FANG W.; LU R.; QI C.; FAN Z.; CAO Q.; WANG Q.; FANG Y.; NI Z. Up-regulation of Serum MiR- 130b-3p Level is Associated with Renal Damage in Early Lupus Nephritis. **Sci. Rep.**, v. 5, p.12644, 2015.

WANG Y.; LI M.; STADLER S.; CORRELL S.; LI P.; WANG D.; HAYAMA R.; LEONELLI L.; HAN H.; GRIGORYEV S. A.; ALLIS C. D.; COONROD S. A. Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. *J. Cell Biol.*, v. 184, n. 2, p. 205-213, 2009.

WANG Y.; PEI F.; WANG X.; SUN Z.; HU C.; DOU H. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody for juvenile idiopathic arthritis. *J. Immunol. Res.*, v. 2015, p. 915276, 2015.

WEINMANN P.; MOURA R. A.; CAETANO-LOPES J. R.; PEREIRA P. A.; CANHÃO H.; QUEIROZ M. V.; FONSECA J. E. Delayed neutrophil apoptosis in very early rheumatoid arthritis patients is abrogated by methotrexate therapy. *Clin. Exp. Rheumatol.*, v. 25, n. 6, p. 885-887, 2007.

WESTER L.; KOCZAN D.; HOLMBERG J.; OLOFSSON P.; THIESEN H. J.; HOLMDAHL R.; IBRAHIM S. Differential gene expression in pristane-induced arthritis susceptible DA versus resistant E3 rats. *Arthritis Res. Ther.* v. 5, n. 6, p. 361-372, 2003.

WIGHTMAN, B.; HA, I.; RUVKUN, G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene lin-14 by lin-4 mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*, v. 75, n. 5, p. 855-862, 1993.

WINTER J.; JUNG S.; KELLER S.; GREGORY R. I.; DIEDERICH S. Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nat. Cell Biol.*, v. 11, n. 3, p. 228-234, 2009.

WIPKE, B. T.; ALLEN, P. M. Essential role of neutrophils in the initiation and progression of a murine model of rheumatoid arthritis. *J. Immunol.*, v. 167, n. 3, p. 1601-1608, 2001.

WITTKOWSKI H.; FOELL D.; AF KLINT E.; DE RYCKE L.; DE KEYSER F.; FROSCH M.; ULFGREN A. K.; ROTH J. Effects of intra-articular corticosteroids and anti-TNF therapy on neutrophil activation in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, v. 66, n. 8, p. 1020-1025, 2007.

WITTMANN, J.; JÄCK, H. M. microRNAs in rheumatoid arthritis: midget RNAs with a giant impact. *Ann. Rheum. Dis.*, v. 70, suppl 1, p. i92-6, 2011.

WOOLEY P. H.; SEIBOLD J. R.; WHALEN J. D.; CHAPDELAINE J. M. PRISTANE-INDUCED ARTHRITIS. The immunologic and genetic features of an experimental murine model of autoimmune disease. *Arthritis Rheum.*, v. 32, n. 8, p. 1022-1030, 1989.

WOOLEY P. H.; WHALEN J. D. Pristane-induced arthritis in mice. III. Lymphocyte phenotypic and functional abnormalities precede the development of pristane-induced arthritis. *Cell Immunol.*, v. 138, n. 1, p. 251-259, 1991.

WRIGHT H. L.; CHIKURA B.; BUCKNALL R. C.; MOOTS R. J.; EDWARDS S. W. Changes in expression of membrane TNF, NF- κ B activation and neutrophil apoptosis during active and resolved inflammation. *Ann. Rheum. Dis.*, v. 70, n. 3, p. 537-543, 2011.

YAKUWA N.; INOUE T.; WATANABE T.; TAKAHASHI K.; SENDO F. A novel neutrophil adherence test effectively reflects the activated state of neutrophils. **Microbiol. Immunol.**, v. 33, n. 10, p. 843-852, 1989.

YOSHITAKE F.; ITOH S.; NARITA H.; ISHIHARA K.; EBISU S. Interleukin-6 directly inhibits osteoclast differentiation by suppressing receptor activator of NF-kappaB signaling pathways. **J. Biol. Chem.**, v. 283, n. 17, p. 11535-11540, 2008.

ZHANG W.; SHEN X.; XIE L.; CHU M.; MA Y. MicroRNA-181b regulates endotoxin tolerance by targeting IL-6 in macrophage RAW264.7 cells. **J. Inflamm. (Lond.)**, v. 12, p. 18, 2015.

ZHOU B.; ZUO X. X.; LI Y. S.; GAO S. M.; DAI X. D.; ZHU H. L.; LUO H. Integration of microRNA and mRNA expression profiles in the skin of systemic sclerosis patients. **Sci. Rep.**, v. 7, p. 42899, 2017.