

EDUARDO EKUNDI VALENTIM

**EFEITOS DIFERENCIAIS DO SULFETO DE HIDROGÊNIO EXÓGENO
E ENDÓGENO NA SINOVITE EXPERIMENTAL INDUZIDA POR
CARRAGENINA EM RATOS WISTAR**

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

Área de concentração: Farmacologia

Orientadora: Profa. Dra. Soraia Katia Pereira Costa

**São Paulo
2010**

RESUMO

EKUNDI-VALENTIM, E. **Efeitos diferenciais do sulfeto de hidrogênio exógeno e endógeno na sinovite experimental induzida por carragenina em ratos wistar.** 2010. 116 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

O poluente ambiental sulfeto de hidrogênio (H_2S) é também produzido endogenamente em mamíferos, onde é capaz de modular a inflamação. Este estudo se propôs a avaliar o papel do H_2S , administrado exogenamente, e produzido endogenamente na sinovite induzida pela injeção intra articular (i. art.) de carragenina (CGN) no joelho de ratos Wistar machos (250 g), e os possíveis mecanismos envolvidos. Ratos foram tratados (-60 min) com a indometacina, o inibidor da cistationina γ -liase DL-propargilglicine (PGly) ou o doador de H_2S , o reagente de Lawesson (LR), e os parâmetros funcionais e bioquímicos da sinovite foram avaliados após 4h. Os animais com sinovite exibiram dor, alodinia e edema articular no joelho ipsilateral associado ao número elevado de neutrófilos, aumento das atividades de MPO, iNOS (produção NO_x), caspase-1 e via do NF- κ B. Ainda, nitratação de resíduos protéicos (3-NT) e aumento da IL-1 β foram mensurados no joelho dos animais. O LR (ou indometacina) reduziu significativamente a nocicepção (alodinia secundária) e todos os parâmetros inflamatórios e bioquímicos, exceto a maior atividade da iNOS, NO_x e 3-NT. O tratamento com a PGly não afetou a inflamação e dor, mas aumentou o número de macrófagos e as atividades da iNOS (produção NO_x) e AP-1. Conclui-se que, enquanto a administração exógena do doador de H_2S produz efeitos antiinflamatórios e anti-nociceptivos, o H_2S produzido endogenamente exerce pouco efeito imunomodulatório neste modelo. Estes dados reforçam a idéia do desenvolvimento e uso de doadores de H_2S como potenciais ferramentas terapêuticas (ou complementares) dos fármacos disponíveis para o tratamento da artrite ou seus sintomas.

Palavras chaves: Sulfeto de hidrogênio. Sinovite. Carragenina. Alodinia táctil secundária. IL-1 β . CSE. CBS. Rato.

ABSTRACT

EKUNDI-VALENTIM, E. **Differing effects of exogenous and endogenous hydrogen sulfide in carrageenan- induced Knee joint synovitis in the wistar rat.** 2010. 116 p. Ph. D. thesis (Pharmacology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

The noxious gas H₂S is produced endogenously, and the physiological concentrations of H₂S are able to modulate pain and inflammation in rodents. The aim of this study was to evaluate the effects of exogenous and endogenous H₂S in inflammatory response on knee joint of rats induced by intra articular injection of carrageenan (CGN) and the possible mechanisms involved in this process. Synovitis was induced in Wistar rats by intra-articular injection of carrageenan (CGN) into the knee joint. Sixty minutes prior to CGN injection, the rats were pretreated with indomethacin, an inhibitor of H₂S formation PGly (DL-propargylglycine) or an H₂S donor LR (Lawesson's reagent). Injection of CGN evoked knee inflammation, pain as characterized by impaired gait, secondary tactile allodynia of the ipsilateral hindpaw, joint swelling, histological changes, inflammatory cell infiltration, increased synovial myeloperoxidase, protein nitrotyrosine residues, inducible NOS (iNOS) activity and NO production, proteolytic activity of interleukin 1 converting enzyme, NF-κB activation. Pretreatment of rats with LR or indomethacin significantly attenuated the pain responses, and all the inflammatory and biochemical changes, except for the increased iNOS activity, NO production and 3-NT. Propargylglycine pretreatment potentiated synovial iNOS activity (and NO production), enhanced macrophage infiltration, and AP-1 activation, but had no effect on other inflammatory parameters. Whereas exogenous H₂S delivered to the knee joint can produce a significant anti-inflammatory and anti-nociceptive effect, locally produced H₂S exerts little immunomodulatory effect. These data support the development and use of H₂S donors as potential alternatives (or complementary therapies) to the available anti-inflammatory compounds used for treatment of joint inflammation or relief of its symptoms.

Keywords: Hydrogen sulfide. Synovitis. Carrageenan. Tactile secondary allodynia. IL-1 β . CSE. CBS. Rat.

I INTRODUÇÃO

1.1 Considerações gerais

1.1.1 Inflamação articular e modelos experimentais

Em geral, as articulações podem ser classificadas em sinartrose (sem movimentos), anfiartroses (movimentos reduzidos) e as diartroses (movimentos amplos / extensos), sendo esta última a de maior importância clínica por constituir-se alvo predileto para a inflamação articular (artrite).

Em mamíferos, a articulação do joelho é formada pela extremidade distal do fêmur, a extremidade proximal da tibia e a patela (rótula). Essa estrutura compreende ainda as cápsulas (externa e interna) e ligamentos que estabilizam a articulação em conjunto com os meniscos, que estabilizam os joelhos e amortecem o impacto sobre as cartilagens (Figura 1); (ELLIS et al., 2005; KUMAR et al., 2010).

Morfologicamente a cápsula articular externa possui estrutura fibrosa rica em fibras colágenas espessas, enquanto a cápsula articular interna caracteriza-se como uma estrutura altamente flexível, que forma o principal tecido intracapsular e apresenta três camadas: uma íntima (também chamada de militante), a qual elabora o líquido sinovial (ultrafiltrado de plasma), que contém o ácido hialurônico e exerce a importante função de diminuir o atrito das cartilagens durante os movimentos, a camada subintima, que é amplamente vascularizada e, por fim, a camada externa ou subsinovial, a qual estabelece o limite com a cápsula fibrosa (ELLIS et al., 2005; SKARE, 2007). A camada íntima da membrana sinovial possui dois tipos principais de células: as células do tipo A, semelhantes aos macrófagos, que exibem vários lisossomos e vesículas micropicnóticas e, as células do tipo B, que se assemelham aos fibroblastos (SKARE, 2007).

As células da membrana sinovial não estão limitadas por uma membrana basal verdadeira e repousam numa matriz rica em fibras colágenas e proteoglicanos (SKARE, 2007). Em relação à vascularização, existem complexas redes arteriais e venosas que formam múltiplas fistulas, as quais se comunicam com o suprimento vascular do periosteio e do osso periarticular. A área do leito capilar sinovial é espessa e desempenha papel fundamental na troca de moléculas. Os capilares sinoviais são dotados de fenestrações cobertas por uma membrana fina que facilita a troca de pequenas moléculas com o líquido sinovial. O suprimento nervoso articular é duplo e comprehende nervos, que são responsáveis pela inervação da

articulação e músculos, que circundam a articulação do joelho (ELLIS et al., 2005; SKARE, 2007).

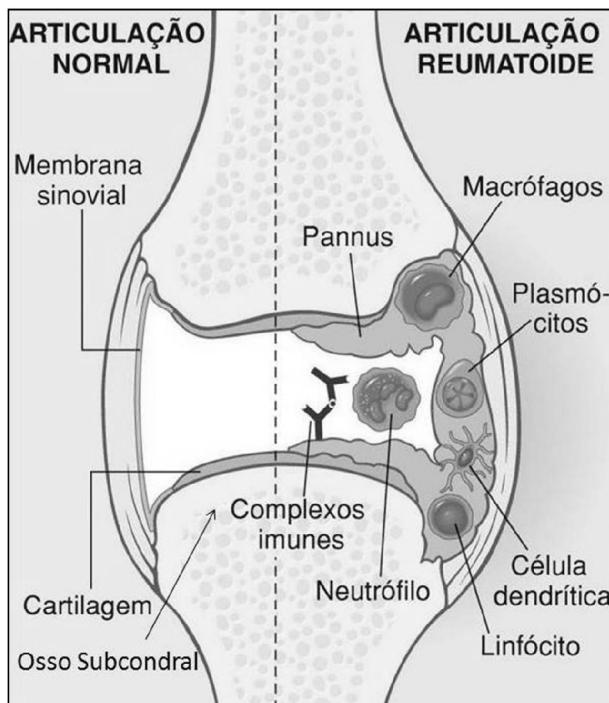


Figura 1. Artrite reumatoide. Vista esquemática de uma articulação
Fonte: Modificado de Kumar et al. (2010).

É de conhecimento que a estabilidade da articulação é o resultado de uma articulação saudável. Desta feita, as alterações das articulações e dos seus componentes (exemplo: cartilagens, tendões, músculos e ossos etc.) causadas por lesões mecânicas (fratura), biológicas (geralmente infecções causadas por bactérias ou vírus) ou por um tipo de doença autoimune, que se caracteriza pela presença de reações imunológicas contra os próprios tecidos das articulações (artrite reumatóide), podem levar à inflamação (aguda ou crônica) e subsequente disfunção dessas estruturas como um todo ou de componentes isolados.

De acordo com a estrutura anatômica afetada, a terminologia do processo inflamatório pode variar. Assim sendo, temos que o processo inflamatório da membrana sinovial, independentemente da etiologia, recebe a expressão sinovite (KUMAR et al., 2010). É importante acrescentar que a sinovite é um processo inflamatório, o qual é sabidamente conhecido como uma resposta protetora do organismo, caracterizada por sinais cardinais como rubor, calor, edema e dor.

Os sinais cardinais da inflamação são ferramentas valiosas na monitoração da evolução de um processo inflamatório, o qual é também um fenômeno imunológico. Por exemplo, a artrite reumatoide (AR) é uma doença sistêmica autoimune (crônica e inflamatória), que afeta principalmente as articulações, cuja etiologia é desconhecida e para qual não existe ainda a cura. Estima-se que, aproximadamente, 1% a 2% da população mundial (cerca de 60 a 120 milhões de indivíduos) são acometidos pela AR, sendo as mulheres três a cinco vezes mais afetadas do que os homens, independentemente da raça (SYMMONS et al., 2002). Essa patologia desenvolve-se de forma simétrica nas articulações das mãos, punhos e tornozelos em qualquer faixa etária (WALSH et al., 2005), muito embora predomina-se a faixa etária entre os 40 e 70 anos de idade (FIRESTEIN, 2005; KVIEN e UHLIG, 2006). Pelo fato de acometer principalmente os membros, a AR é considerada uma doença líder de incapacidade física, causando assim sério impacto sócio-econômico (YELIN, 1996; COOPER, 2000).

A AR é uma doença imunológica complexa, que envolve numerosas células do sistema imunológico e as consequências do mal funcionamento deste. Caracteriza-se por distúrbios regulados pelas células T e B (KLARESKOG et al., 2009) e grande aumento na gênese e ativação de citocinas (fator de necrose tumoral, interleucinas 1 β e 6); (CHOY e PANAY, 2001; SILVERMAN et al., 2003), quimiocinas e proteinases, que contribuem para a amplificação da resposta inflamatória e sua interação com as células do hospedeiro, i.e. fibroblastos, condrócitos e osteoclastos, que resulta em alterações nas articulações, tais como a formação do *pannus* invasivo, que leva à destruição do osso e da cartilagem (CONNELL e MCINNES, 2006).

Na pesquisa farmacológica experimental com a finalidade de se estudar os mecanismos fisiopatológicos que medeiam à artrite e o consequente delineamento de novos agentes terapêuticos, vários modelos experimentais mimetizando a artrite humana foram desenvolvidos ao longo dos anos (para revisão: BENDELE et al., 1999). Esses podem ser divididos em crônicos e agudos: existem três principais modelos de artrite crônica em roedores, que são amplamente usados tais como artrite induzida por adjuvante (PEARSON et al., 1963), artrite induzida por colágeno (TRENTAN et al., 1978) e artrite induzida por antígeno (BRACKERTZ et al., 1977). Quanto aos modelos agudos, destacam-se a monoartrite e / ou sinovite induzida por

carragenina (CGN); (GARDNER et al., 1960), um mucopolissacarídeo sulfatado extraído das algas marinhas *Clondrus spp.* e *Gigartina spp.*, também conhecida como Irish Moss ou CGN moss. A estrutura química consiste em resíduos sulfatados de galactose unidos por ligações α 1-3 e β 1-4, onde os locais e extensão das sulfatações e cadeias secundárias variam entre os tipos kappa, lambda e iota. Ademais, outros exemplos de artrite aguda podem ser observadas pela administração articular da mistura de CGN e kaolin (YANG et al., 1996), zimosan (FOLLIARD e TERLAIN, 1988) e, ainda, por injeções de venenos e toxinas ofídicos (MELLO et al., 2002; FERNANDES et al., 2007).

A injeção intra articular (i.art) de CGN isolada desencadeia um quadro agudo de sinovite mono articular (GARDNER et al., 1960), cujas alterações articulares mimetizam alguns dos sinais / sintomas da AR, incluindo o edema (extravasamento plasmático), a dor, infiltração leucocitária e alterações morfológicas e bioquímicas da sinóvia. Contudo, esse modelo tem a particularidade de não ser imunológico, pois sua ação parece inicialmente resultar da incapacidade dos macrófagos degradarem as partículas de CGN. Isto culmina no acúmulo dessas no interior dos lisossomos e, consequentemente, leva ao processo inflamatório seguido de morte celular (VINEGAR e SCHREIBER, 1969). Portanto, a ativação das células T não parece ser fator importante nos eventos iniciais desse modelo de inflamação articular, muito embora é sabido que estas células desempenham um papel crucial na AR (FOX et al., 1997).

1.1.2 Terapia farmacológica da artrite

Apesar de lentos, avanços na compreensão da patogenia da AR têm ocorridos na identificação de fatores de risco, tais como fatores genéticos associados (ou não) à variações entre etnias (HUGHES et al., 2008; DAHA et al., 2009) e na terapia farmacológica.

A AR constitui-se numa patologia de progressão importante e com grande variabilidade entre indivíduo. Portanto, a intervenção farmacológica imediata faz-se necessária, pois a destruição articular nesses pacientes começa na fase inicial da doença (EMERY et al., 2008). Esse tratamento farmacológico tem como objetivos principais, controlar os sintomas de dor e rigidez articular, melhorando assim a

função e qualidade de vida dos pacientes, e minimizando o risco de lesão estrutural mediante a redução da inflamação (TAYAR e SUAREZ-ALMAZOR, 2010).

Até o presente momento, o controle parcial dos sintomas da artrite é usualmente feito com antiinflamatórios não esteróides (AINES) e / ou com baixas doses de glicocorticoides (AMERICAN COLLEGE OF RHEUMATOLOGY, 2002). Ademais, numa grande população de pacientes com artrite, a coadministração de drogas antirreumáticas modificadoras da doença (DMARDs; metotrexato) é necessária para inibir a progressão da doença. É importante acrescentar que, recentemente, uma mudança de paradigma no controle dessa doença vem ocorrendo com a introdução dos agentes biológicos bloqueadores de citocinas ou de seus receptores. Dentre estes, incluem-se os agentes biológicos inibidores das citocinas TNF- α (ex.: infliximab, etanercept, adalimumab, golimumab, e certolizumab) e IL-6 (tocilizumab; NORIHIRO et al., 2007). Além disto, foram introduzidos os antagonistas do receptor de IL-1 (ex.: anakinra); (KARY e BURMESTER, 2003), e do linfócito T citotóxico associado ao antígeno 4 imunoglobulina (ex.: abatacept; MARK et al., 2005) e dos anticorpos anti-CD-20 (ex.: rituximab) ; (JONATHAN et al., 2004)

É de conhecimento que a IL-1 β é liberada de monócitos, macrófagos, neutrófilos e células dendríticas como pró-molécula inativa (WATANABE, 2007), a qual precisa ser clivada (Tyr-Val-His-Asp116/Ala117), pela cisteína-protease denominada caspase-1 (conhecida como enzima conversora de IL-1 β), para ser liberada na sua forma ativa (DINARELLO et al., 2000). Dentre as implicações dessa citocina na artrite, destacam-se a indução do influxo leucocitário na cavidade articular, da hiperplasia e formação do *pannus* invasivo. Esse mediador promove também o aumento na produção de colagenase por células sinoviais e de metaloproteinases por condrocitos (PETTIPHER et al., 1986; ROUX-LOMBARD et al., 1992), contribuindo fortemente para a destruição da cartilagem e do osso.

A ligação da IL-1 β com seu receptor do tipo um (IL-1RI) resulta na ativação das vias de sinalização, capazes de elevar a concentração de cálcio intracelular, ativar as proteínas quinases do tipo C (PKC) e as ativadas por mitógeno (MAPK), além dos fatores de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B) e da proteína estimuladora de ligação (AP-1); (BRADDOCK et al., 2004). Semelhantemente a IL-1 β , o TNF - α causa ativação de células endoteliais e do sistema imunológico (IKUTA et al., 1991; MEEKINS et al., 1994). Isto culmina em aumento da expressão de moléculas de

adesão na microcirculação, as quais aumentam o recrutamento de outras células para o foco inflamatório bem como estimulam a biossíntese de outras citocinas, como a IL-6, que está intimamente relacionada à reação de fase aguda, aumento da velocidade de sedimentação eritrocitária e, em particular, na elevação da proteína C-reativa (PRC), um marcador inflamatório importante (SNICK, 1990; KOPF et al., 1994).

Por seu turno, em pacientes sob tratamento com os agentes biológicos evidências mostram que estes exibiram maior incidência do risco de infecções oportunistas (ex: tuberculose); (KROESEN et al., 2003) e câncer de pulmão (WEINBLATT et al., 2006) e pele (GARTLEHNER, 2006). Ademais, quadros exacerbados de hepatite crônica foram diagnosticados nesses indivíduos (ESTEVE et al., 2004; WENDLING et al., 2005; GOMEZ-REINO e CARMONA, 2006). Apesar dos avanços farmacológicos com a terapia biológica, a identificação de pacientes refratários a tal terapia, que adicionada ao custo elevado dos agentes biológicos, acabam limitando este tipo de tratamento a uma grande população de indivíduos em todo mundo (PENG-THIM e KENG-HONG, 2007). Por conseguinte, a descoberta e delineamento de novos candidatos alternativos e / ou complementares para a terapia da AR ainda se faz necessário. Nesse sentido, estudos mostram que banhos em águas sulfuradas promovem efeito antioxidante sobre eritrócitos obtidos de pacientes com AR (WOZAKOWSKA-KAPŁON et al., 2006), além de exercerem efeitos antiinflamatórios em pacientes com osteoartrite, pois estimulam a resposta imunológica destes (IBADOVA et al., 2005).

1.2 Sulfeto de hidrogênio (H_2S): biossíntese e catabolismo

Historicamente, os efeitos tóxicos do gás sulfídrico (H_2S) no meio ambiente, cujo odor característico assemelha-se muitas vezes a ovos podres, são bem conhecidos (NICHOLLS, 1975; REIFFENSTEIN et al., 1992). Recentemente, juntamente com o óxido nítrico (NO) e o monóxido de carbono (CO), os efeitos fisiológicos do H_2S vêm sendo amplamente estudados devido sua recente nomeação como o terceiro gasotransmissor endógeno de importância farmacológica (SZABO, 2007; LOWICKA e BELTOWISKY, 2007).

Em geral, sua produção no meio ambiente decorre pela decomposição de materiais orgânicos, produção do gás natural e petróleo, atividade vulcânica, na rede de tratamento de esgotos e em mais de 70 tipos de produção industrial, dentre elas a produção de fibra sintética, de alimentos, de papel, cerâmica e reciclagem de lixo (DONHAM et al., 1982; HOIDAL et al., 1986; JAAKKOLA et al., 1990; HALL e RUMACK, 1997; WATT et al., 1997). Cabe ressaltar que nesses ambientes de trabalho, a exposição involuntária demasiada de indivíduos ao H₂S, além de tóxica pode ser letal (ARNOLD et al., 1985; KILBURN, 1993; GUIDOTTI, 1994), pois esse gás possui a capacidade de inibir a cadeia de elétrons na mitocôndrias, resultando no bloqueio da enzima citocromo C oxidase (KHAN et al., 1990; DORMAN et al., 2002). Como consequência, tecidos com alta demanda de oxigênio, como o cérebro e coração, podem sofrer graves transtornos do metabolismo oxidativo (AMMANN, 1986).

A biossíntese do H₂S em tecidos de mamíferos é catalizada pelas enzimas cistationina γ liase (também conhecida como cistationase; CSE; E.C. 4.4.1.1), cistationina β -sintetase (CBS; E.C. 4.2.1.22) ou pela MPST (β - mercapto-piruvato-cianeto-sulfotransferase); (STIPANUK e BECK, 1982; ERICKSON et al., 1990). As enzimas CSE e CBS utilizam o 5-fosfato de piridoxal (vitamina B6) como co-fator, enquanto a MPST é dependente de zinco (JULIAN et al., 2002). Essas enzimas distribuem-se de forma ampla e diferenciada no organismo. Enquanto no sistema nervoso central de mamíferos a CBS é expressa, aproximadamente, 30 vezes mais do que a CSE (AWATA et al., 1995), tanto no fígado como no rim, destaca-se principalmente a expressão da CSE (STIPANUK e BECK, 1982; ZHAO et al., 2001).

A síntese endógena do H₂S em mamíferos depende da transsulfuração do aminoácido L-metionina e do metabolismo da homocisteína, um aminoácido sulfidrílico que ocupa uma posição regulatória central no metabolismo da metionina, e que está presente no plasma, nas formas reduzida (1%) e oxidada (98 a 99%) (BRUGADA e MARIAN, 1997). A homocisteína reage com a serina em reação catalisada pela CBS formando a cistationina, que é subsequentemente hidrolisada, pela CSE, em cisteína, gerando ainda os produtos amônia e cetobutarato. A cisteína pode ser também hidrolisada pela CBS, formando o H₂S e o produto L-serina ou, em reação de hidrólise catalisada pela CSE, pode gerar o H₂S e os seus produtos piruvato e amônia (Figura 2).

Outra possível via alternativa para a geração do H₂S envolve a catálise da cistina (Cis-S-Cis), pela CSE, em tiocisteína, a qual é subsequentemente hidrolisada, pela CSE, em cisteína e H₂S (HUGES et al., 2009). Paralelamente, vias distintas de biossíntese de H₂S vêm sendo sugeridas na literatura, incluindo a via da reação do 3 mercapto-sulfurtransferase (MPST). Nesta, a cisteína reage com o cetoácido formando o 3-mercaptopiruvato, que sofre subsequente dissulfuração pela MPST, gerando o H₂S e o piruvato (JULIAN et al., 2002; SHIBUYA et al., 2009;). Além disso, a CBS catalisa a reação no tiol da cisteína, formando o S-tiolato (Cis-S-R) concomitantemente com a geração de H₂S. Todavia, a maioria dos estudos sugere que o H₂S é sintetizado, principalmente, pelas vias da CSE e CBS, sendo as demais enzimas menos importantes na biossíntese desse mediador.

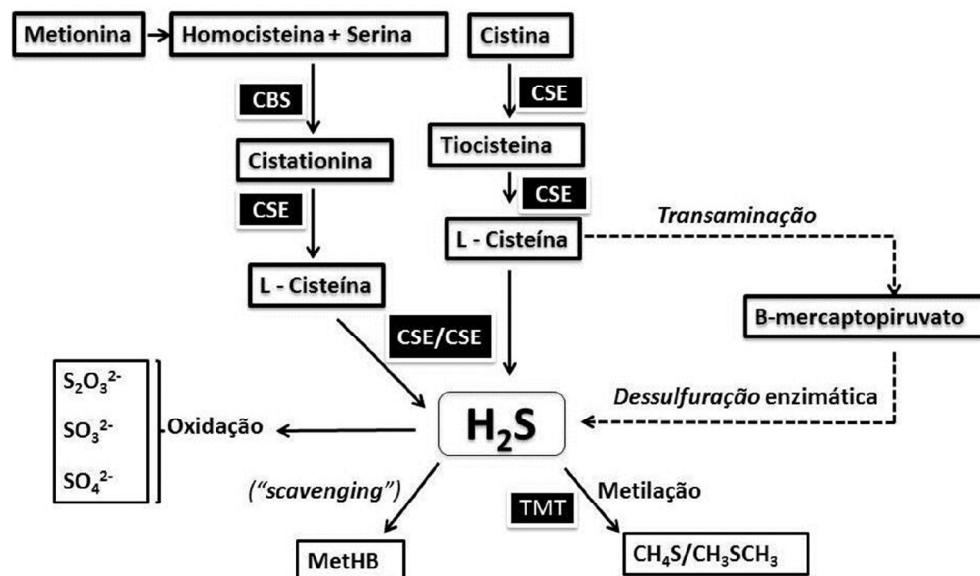


Figura 2. Mecanismos de síntese e metabolismo do H₂S *in vivo*
Fonte: Adaptado de Whiteman e Moore (2009).

O gene humano que codifica a CSE está localizado no braço curto do cromossomo 1 (1p31.1) e, até o presente momento, pelo menos duas variantes de RNAm para CSE foram caracterizadas. Contudo, a função específica destas na síntese de H₂S ainda é pouco conhecida (GE et al., 2001). Da mesma forma, o gene que codifica a enzima CBS, localizado no cromossomo 21 (21q22.3), também codifica vários RNAm. No entanto, a função destas isoformas na biossíntese de H₂S é desconhecida (MÜNKE et al., 1988). Da mesma maneira, o catabolismo do H₂S

produzido endogenamente é pouco compreendido, e a maioria das informações advêm de dados da literatura obtidos com o H₂S exógeno ou doadores deste.

O H₂S pode ser eliminado no plasma mediante a reação com a metahemoglobina, uma forma de hemoglobina que não se liga ao oxigênio ou, ainda pode ser eliminada via reação de oxidação intracelular no citosol ou na mitocôndria. No citosol, esse gás é metilado pela tiol-S-metiltransferase (E.C. 2.1.1.9), formando o metanotiol (CH₄S) ou metil mercaptano (CH₃S) e o dimetilsulfeto (CH₃SCH₃; LEVITT et al., 1999; FURNE et al., 2001). Na mitocôndria, o H₂S é rapidamente oxidado a tiossulfato (S₂O₃²⁻) em um processo provavelmente não-enzimático, mas associado à cadeia transportadora de elétrons (SEARCY et al., 1996). Já a reação direta desse gás com a metahemoglobina forma a sulfahemoglobina e, esta, pode atuar como removedora do H₂S circulante. O H₂S pode ser também oxidado para sulfito por neutrófilos ativos (MITSUHASHI et al., 2005) ou, ainda, pode ser consumido por espécies oxidantes endógenas, tais como o peroxinitrito (BATH et al., 2002), hipoclorito (WHITEMAN et al., 2005), anion superóxido (SEARCY et al., 1996; GENG et al., 2004; CHANG et al., 2008), peróxido de hidrogênio (GENG et al., 2004; CHANG et al., 2008) e NO (WHITEMAN et al., 2006).

A geração do sulfito, a partir do tiossulfato, é catalisada pela enzima tiossulfato cianido sulfotransferase (rhodanese, EC 2.8.1.1), a qual transfere o enxofre da molécula de tiossulfato para o cianido ou para outros aceptores. O sulfito, por sua vez, é rapidamente convertido em um metabólito mais estável (sulfato) pela ação da enzima sulfito oxidase (PICTON et al., 2002). É interessante ressaltar que determinados estudos utilizaram como marcadores da intoxicação por inalação ambiental de H₂S, as medidas de concentrações urinária e plasmática de tiossulfato (KAGE et al., 1997; MILBY e BASELT, 1999). Concentrações elevadas de tiossulfato foram detectadas na urina de indivíduos com síndrome de Down, sugerindo que nesses indivíduos ocorre maior produção de H₂S (BELARDINELLI et al., 2001). Em estudo experimental com ratos, a análise das concentrações de sulfito, sulfato e tiossulfato no tecido pulmonar desses animais expostos ao poluente H₂S revelou um aumento marcante das concentrações de sulfito e sulfato, mas não do tiossulfato (DORMAN et al., 2002). Paralelamente, um estudo *in vitro* mostrou que a incubação de tecidos (ex.: fígado, cólon e tecido muscular) ou plasma obtidos de ratos tratados

com o H₂S ou de seu metabólito (metanotiol) resultou na geração de tiossulfato e sulfato (FURNE et al., 2001).

Por seu turno, o tiossulfato ou o sulfato não apresentam características confiáveis para serem eleitos como marcadores específicos da produção de H₂S, uma vez que concentrações significativas de tiossulfato foram detectadas no plasma, e não na urina, de indivíduos intoxicados por H₂S (KAGE et al., 1997; DURAND e WEINSTEIN, 2007). Além disto, concentrações significativas de tiossulfato foram obtidas na urina de indivíduos saudáveis, nas quais os valores variaram consideravelmente mediante às pequenas flutuações atmosférica de H₂S (DURAND e WEINSTEIN, 2007). Grande parte do sulfato eliminado na urina é proveniente da oxidação da cisteína, pela enzima cisteína dioxigenase, ou do sulfito, pela ação da enzima sulfito oxidase (LOWILKA e BELTOSKY, 2007). Apesar disto, a importância do H₂S para a saúde humana e animal (mamíferos) vem sendo bastante discutido, muito embora os mecanismos envolvidos nos processos fisiopatológicos estão longe de serem elucidados.

1.3 Implicações do H₂S (exógeno e endógeno) na inflamação

No tocante ao processo inflamatório, os dados existentes são ainda bastante contraditórios. Alguns estudos sugerem que o H₂S exerce um papel protetor, enquanto outros demonstram o contrário. Segundo Bhatia et al. (2005a), a formação de edema e influxo de neutrófilos induzido pela injeção subplantar de CGN na pata de ratos são potencializados pelo aumento da concentração local de H₂S, visto que esses efeitos foram reduzidos pelo tratamento dos animais com a DL-propargilglicina (PGly), um inibidor da CSE. Da mesma forma, na endotoxemia induzida por lipopolissacárido (LPS), administração de sulfeto de sódio agravou o dano pulmonar, pois aumentou a atividade da mieloperoxidase, bem como a concentração de TNF - α . O pré tratamento dos animais com a PGly foi capaz de reverter este quadro (LI et al., 2005). Além disto, na pancreatite evocada pela ceruleína, a inibição da CSE com PGly reduziu as lesões hepática, neuromuscular e pancreática observadas na pancreatite (BHATIA et al., 2005b).

Contrariamente, Zanardo et al. (2006) observaram que o edema de pata induzido pela CGN foi reduzido por doadores de H₂S (NaHS e Na₂S), sendo esse

efeito revertido pela betacianoalanina, um inibidor de CSE. O efeito inibitório do H₂S sobre o influxo de mononucleares foi também visualizado no modelo de bolsa de ar cutânea (*air pouch*) frente à CGN em pele de camundongos (ZANARDO et al., 2006), bem como sobre o aumento na produção de malondialdeído e hidroxiprolina no pulmão de ratos com fibrose induzida por bleomicina (FANG et al., 2006). Outros autores observaram que em camundongos submetidos à lesão pulmonar aguda por fumaça, o tratamento destes com o Na₂S reduziu a oxidação de proteínas no pulmão bem como as concentrações de IL-1β. Tal efeito foi associado ao aumento dos níveis de IL-10 e da taxa de sobrevivência dos animais (EZELICHIE et al., 2008). Em modelos de inflamação alérgica pulmonar induzida por ovalbumina (em ratos), a administração intra peritoneal (i.p.) de NaHS reduziu a inflamação e remodelação das vias aéreas, aumentando também o pico expiratório e reduzindo o depósito de colágeno e do influxo leucocitário no lavado broncoalveolar (CHEN et al., 2009).

O efeito protetor do H₂S foi também visualizado em dois modelos de de Parkinsonismo induzido por 6-hidroxidopamina [6-OHDA] e por rotenona (LI-FANG et al., 2010). No primeiro modelo, os níveis endógenos de H₂S na substância negra estavam reduzidos quando comparados ao controle. A injeção sistêmica de NaHS reverteu esse processo e melhorando a disfunção de movimentos, a perda de neurônios positivos à tirosina hidroxilase na substância negra, e reduzindo os níveis elevados de malondialdeído no núcleo estriado lesionado No segundo modelo, a suplementação com o NaHS inibiu a ativação da microglia na substância negra e reduziu o acúmulo de fatores pro-inflamatórios (TNF-α, óxido nítrico) no núcleo estriado via mecanismo dependente do NF-κB (LI-FANG et al., 2010). Na sepse induzida por perfuração do ceco em camundongos, Spiller et al. (2010) observaram que os doadores de H₂S (NaHS ou reagente de Lawesson) restauraram o rolamento e a adesão leucocitária na microcirculação mesentérica dos animais. Isto levou, à redução da bacteriemia, hipotensão, lesão pulmonar e, ainda, elevou a taxa de sobrevivência dos animais (SPILLER et al., 2010). Segundo Baumgart et al. (2008), a exposição de ratos anestesiados e ventilados mecanicamente à 100 ppm de H₂S inibiu a inflamação decorrente da instrumentação cirúrgica.

Outrossim, estudos paralelos mostram que os fármacos antiinflamatórios não esteróides (AINES) quando associados à molécula de H₂S (ex.: mesalamina, ATB-343, ATB-337, S-diclofenaco) que, pela sua estrutura química, liberam essa

molécula, mostraram-se potentes agentes antiinflamatórios quando comparado aos AINES comuns, indicando que o H₂S aumenta a atividade antiinflamatória desses compostos (WALLACE et al., 2007; SIDHAPURIWALA et al., 2007), além de apresentarem menor toxicidade gástrica (WALLACE et al., 2010). Da mesma forma, a adição da molécula de H₂S no composto GYY4137 (ácido fosfino dióico p-metoxifenil morfolino) resultou no produto de liberação lenta de H₂S, capaz de reduzir a endotoxemia induzida pelo LPS em ratos (Li et al., 2009), bem como a síntese de mediadores pró inflamatórios (TNF α , IL-1 β , IL-6, óxido nítrico, e prostaglandina E₂ em macrófagos RAW 264.7 estimulados com LPS (WHITEMAN et al., 2009).

Em modelos de inflamação articular (CGN + Kaolin) o tratamento (i.p.) dos animais com NaHS mostrou-se potente inibidor da infiltração leucocitária, mas não atuou de forma positiva sobre a dor articular (ANDRUSKI et al., 2008). Na artrite induzida por adjuvante em ratos, o fármaco liberador de H₂S (ATB 346), quando administrado (i.p.), reduziu a geração do edema de pata nesses animais (WALLACE et al., 2010). Reforçando estas evidências, estudos *in vitro* utilizando cultura primária de células sinoviais e condrocitos estimulados com cristais de urato de sódio ou com IL-1 β , a co-incubação da cultura com o *diallyl sulfeto*, foi capaz de inibir a expressão da enzima ciclooxygenase-2 (COX-2), bem como a ativação do NF-κB (LEE et al., 2009). Em cultura de sinoviócitos extraídos de joelho pacientes com AR submetidos à cirurgia de substituição total de joelho, KLOESCH et al. (2010) verificaram que a adição de NaHS reduziu os níveis de IL-6 bem como inibiu a ativação da MAPK (p42/44) nestas culturas.

1.4 Justificativa do estudo

Postula-se que as alterações microvasculares funcionam como ponto chave no desencadeamento de várias condições fisiopatológicas, incluindo o diabetes, artrite e a cicatrização de feridas (DONELLY et al., 2000). Embora estudos em cultura de células (*in vitro*) venham contribuindo sobremaneira para melhor compreensão de fisiopatologias, sabe-se que o mecanismo funcional operante no sistema *in vivo* é bem mais complexo, especialmente em mecanismos relacionados a mudanças do estado fisiológico para o patológico. Consequentemente, a

associação do modelo experimentais *in vivo* e das técnicas *in vitro* é fundamental para a melhor compreensão dos processos fisiopatológicos e o desenvolvimento de alvos terapêuticos.

Apesar dos avanços na terapia da AR, ainda não foi estabelecido, até o presente momento, um tratamento farmacológico satisfatório para todos os pacientes com AR ou um tratamento que promova a cura. Não obstante, os fármacos disponíveis para o tratamento da artrite exercem inúmeros efeitos adversos e, alguns, possuem custos elevados. Por conseguinte, a descoberta e delineamento de novos candidatos alternativos e / ou complementares para a terapia da AR ainda se faz necessária. Neste sentido, poucas evidências clínicas e nenhuma farmacológica mostram que águas sulfuradas promovem efeitos protetor e antiinflamatório em pacientes com AR e osteoartrite (WOZAKOWSKA-KAPŁON et al., 2006; IBADOVA et al., 2005).

Sabendo que a sinovite é um dos sintomas inflamatórios da artrite, e que expressão e atividade dos precursores de H₂S (CSE e CBS) na articulação até o presente momento, este grupo achou pertinente investigar a recente implicação deste gás na progressão e manutenção da resposta inflamatória e dor, usando o modelo experimental de sinovite *in vivo* induzida por CGN.

1.5 *Objetivo e estratégias*

O objetivo deste estudo consistiu em

1) Avaliar os efeitos protetores do H₂S exógeno e endógeno na modulação da resposta inflamatória articular induzida pela injeção i. art. da CGN no joelho de ratos, e os possíveis mecanismos envolvidos.

As estratégias para o desenvolvimento deste estudo, incluem estratégias *in vivo* e *in vitro*, em que um dos grupos recebeu o tratamento intraperitoneal (i.p.) com a indometacina, um AINE, usado como controle positivo do experimento.

Estratégias

1. Averiguar o efeito farmacológico do agente doador de H₂S (reagente de Lawesson) e do inibidor da síntese de H₂S (PGly) sobre o edema, via medida do diâmetro do joelho com o auxílio do paquímetro digital (Starret 727, São Paulo, Brasil).
2. Avaliar o efeito desses mesmos tratamentos sobre a resposta dolorosa e hipernociceptiva via testes comportamental de escore de deambulação e alodinia táctil secundária na pata traseira injetada, mediante o emprego dos filamentos de Von Frey eletrônico adaptado pela empresa Insight Ltda (Ribeirão Preto, SP, Brasil).
3. Investigar a capacidade dos agentes doadores de H₂S e inibidor da síntese de H₂S modular o influxo de leucócitos e a produção de mediadores/marcadores inflamatórios, i.e. citocinas (ex.: IL-1 β , IL-6, IL-10, e TNF α), atividade proteolítica da enzima conversora de IL-1 β (caspase-1).
4. Avaliar os efeitos do H₂S e sua inibição sobre a produção de NO e nitração de resíduos proteicos (iNOS, cNOS, NO \cdot , e 3-nitrotirosina) no lavado sinovial ou membrana articular, por espectrofotômetria de cintilação, elisa (absorbância) e Slot blot respetivamente.
5. Explorar o possível envolvimento das vias de transcrição NF- κ B e AP-1 nos efeitos do doador e inibidor da síntese de H₂S pelo ensaio de mobilidade eletroforética (*gel shift*).
6. Padronizar e determinar os níveis de sulfeto total (lavado articular), atividade e expressão proteica das enzimas CSE/CBS (tecido articular), e o efeito dos tratamentos sobre estes parâmetros, por Elisa (fluorimetria) e western blot.

5 CONCLUSÕES

1. O doador de H₂S, reagente de Lawesson, reduziu a dor, influxo celular e as alterações bioquímicas (exceto iNOS e NO_x⁻) na sinovite induzida por CGN em ratos Wistar, ao passo que o inibidor da síntese endógena do H₂S, PGly, não afetou a inflamação e nem a nocicepção;
2. O mecanismo de ação envolvido no efeito protetor do doador de H₂S, reagente de Lawesson, depende, em parte, da redução da atividade proteolítica da enzima conversora de IL-1 β (e consequentemente da IL-1 β) e aumento da biossíntese de IL-10, independente da ativação dos fatores de transcrição NF- κ B e AP-1;
3. Tanto a CSE quanto a CBS, enzimas responsáveis pela síntese endógena de H₂S, estão constitutivamente expressas e ativas na membrana sinovial de ratos Wistar naive e, importantemente, a atividade e expressão protéica destas não foram alteradas pela sinovite induzida pela CGN em ratos.

REFERÊNCIAS

AMMANN, H. M. A new look at physiologic respiratory response to H₂S poisoning. **J. Hazard. Mater.**, v. 13, p. 369–374, 1986.

AMERICAN COLLEGE OF RHEUMATOLOGY. Subcommity on Rheumatoid Arthritis. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis: 2002 Update. **Arthritis Rheum.**, v. 46, p. 328–346, 2002.

AMEYAR, M; WISNIEWSKA, M.; WEITZMAN, J. B. A role for AP-1 in apoptosis: the case for and against. **Biochimie.**, v. 85, n. 8, p. 747-752, 2003.

AMIN, A. R.; VYAS, P.; ATTUR, M.; LESZCZYNSKA-PIZIAK, J.; PATEL, I. R.; WEISSMANN, G et al. The mode of action of aspirin-like drugs: effect on inducible nitric oxide synthase. **Proc. Natl. Acad. Sci USA.**, v. 92, n. 17, p. 7926–7930, 1995.

ANDRUSKI, B.; MCCAFFERTY, D.M.; IGNACY, T.; MILLEN, B.; MCDougall, J. J.; Leukocyte trafficking and pain behavioral responses to a hydrogen sulfide donor in acute monoarthritis. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 295, n. 3, p. 814–820, 2008.

ARNOLD, I. M. F.; DUFRESNE, R. M.; ALLEYNE, B. C.; STUART, P. J. W. Health implication of occupational exposures to hydrogen sulfide. **J. Occup. Med.**, v. 27, n. 5, p. 373–376, 1985.

ASADULLAH, K.; STERRY, W.; VOLK, H. D. Interleukin-10 therapy--review of a new approach. **Pharmacol. Rev.**, v. 55, n. 2, p. 241-269, 2003.

AWATA, S.; NAKAYAMA, K.; SUZUKI, I.; SUGAHARA, K.; KODAMA, H. Changes in cystathionine gamma-lyase in various regions of rat brain during development. **Biochem. Mol. Biol. Int.**, v. 35, n. 6, p. 1331–1338, 1995.

BALDASSARE, J. J.; BI, Y.; BELLONE, C. J. The role of p38 mitogen-activated protein kinase in IL-1 beta transcription. **J. Immunol.**, v. 162, n. 9, p. 5367-5373, 1999.

BATH, P. M; WILLMOT, M.; LEONARDI-BEE, J.; BATH, F. J. Nitric oxide donors (nitrates), Larginine,or nitric oxide synthase inhibitors for acute stroke. **Cochrane Database Syst Rev.**, v. 4, n. CD000398, 2002.

BEARDEN, S. E.; BEARD, R. S.; PFAU, J. C. Extracellular Transsulfuration Generates Hydrogen Sulfide from Homocysteine and Protects Endothelium From Redox Stress. **Am. J. Physiol. Heart. Circ Physiol.**, v. 299, n. 5, p. 1568-1576, 2010.

*De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referência: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BHATIA, M.; SIDHAPURIWALA, J.; MOOCHHALA, S. M; MOORE, P. K. Hydrogen sulphide is a mediator of carrageenan-induced hindpaw oedema in the rat. **Br. J. Pharmacol.**, v. 145, n. 2, p. 141–144, 2005a.

BHATIA, M.; WONG, F. L.; FU, D.; LAU, H. Y.; MOOCHHALA, S. M.; MOORE, P. K. Role of hydrogen sulphide in acute pancreatitis and associated lung injury. **FASEB J.**, v. 19, n. 6, p. 623–625, 2005b.

BAUMGART, K.; SIMKOVA, V.; PERL, M.; SEITZ, D. H.; HUBER-LANG, M.; WEBER, S. et al. Inhaled H₂S and hypothermia comparably attenuate surgery-related inflammation [abstract]. **Shock**, v. 29, n. 1, p. 72, 2008.

BELARDINELLI, M. C.; CHABLI, A.; CHADEFAUX-VEKEMANS, B.; KAMOUN, P. Urinary sulfur compounds in Down syndrome. **Clin. Chem.**, v. 47, n. 8, p. 1500-1501, 2001.

BELIZÁRIO, J. E.; LORITE, M. J.; TISDALE, M. J. Cleavage of caspases-1, -3, -6, -8 and -9 substrates by proteases in skeletal muscles from mice undergoing cancer cachexia. **Br. J. Cancer.**, v. 84, n. 8, p.1135-1140, 2001.

BENDELE, A.; MCCOMB, J.; GOULD, T.; MCABEE, T.; SENNELLO, G.; CHLIPALA, E.; GUY, M. Animal models of arthritis: relevance to human disease. **Toxicol. Pathol.**, v. 27, n. 1, p. 13413-42, 1999.

BLACK, R. A.; KRONHEIM, S. R.; CANTRELL, M.; DEELEY, M. C.; MARCH, C. J.; PRICKETT, K. S. et al. Generation of biologically active interleukin-1 beta by proteolytic cleavage of the inactive precursor. **J. Biol. Chem.**, v. 263, n. 19, p. 9437-9442, 1988.

BRADFORD, M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding" **Anal. Biochem.**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRADLEY, P. P.; PRIEBAT, D. A.; CHRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **J. Invest. Dermatol.**, v. 78, n. 3, p. 206–209, 1982.

BRACKERTZ, D.; MITCHELL, G. F.; VADAS, M. A.; MACKAY IR. Studies on antigen-induced arthritis in mice. III. Cell and serum transfer experiments. **J. Immunol.**, v. 118, n. 5, p.1645-8, 1977.

BRADDOCK, M.; QUINN, A.; CANVIN, J. Therapeutic potential of targeting IL-1 and IL-18 in inflammation. **Expert. Opin. Biol. Ther.**, v. 4, n. 6, p. 847-860, 2004.

BRUGADA, R.; MARIAN, A. J. A common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase gene is not a major risk of coronary artery disease or myocardial infarction. **Atherosclerosis.**, v. 128, n. 1, p. 107-12, 1997.

CHANG, L.; GENG, B.; YU, F.; ZHAO J.; JIANG, H.; DU, J. et al. Hydrogen sulfide inhibits myocardial injury induced by homocysteine in rats. **Amino Acids.**, v. 34, n. 4, p. 573-585, 2008.

CHOY, E. H.; PANAYI, G. S. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. **N. Engl. J. Med.**, v. 344, n. 12, p. 907-916, 2001.

CONNELL, L.; MCINNES, I. B. New cytokine targets in inflammatory rheumatic diseases. **Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.**, v. 20, n. 5, p. 865–878, 2006.

CONNOR, JR.; MANNING, P. T; SETTLE, S. L.; MOORE, W. M.; JEROME, G. M.; WEBBER, R. K et al. Suppression of adjuvant-induced arthritis by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 273, n. 1–2, p.15–24, 1995.

COOPER, N. J. Economic burden of rheumatoid arthritis: a systematic review. **Rheumatology (Oxford)**, v. 39, n. 1, p. 28-33, 2000.

CUNHA, T, M.; DAL-SECCO, D.; VERRI J. R.; GUERRERO, A. T.; SOUZA, G.R.; VIEIRA, S, M et al. Dual role of hydrogen sulfide in mechanical inflammatory hypernociception. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 590, n. 1-3, p. 127-135, 2008.

DAHA, N. A.; KURREEMAN, F. A.; MARQUES, R. B. Confirmation of STAT4, IL2/IL21, and CTLA4 polymorphisms in rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 60, n. 5, p. 1255–1260, 2009.

DAYER, J. M. Evidence for the biological modulation of IL-1 activity: the role of IL-1Ra. **Clin. Exp. Rheumatol.**, v. 20, n. 5, p. 14-20, 2002. Supplement 27.

DENADAI-SOUZA, A.; CAMARGO, L. D.; RIBELA, M. T.; KEEBLE, J. E.; COSTA SK.; MUSCARÁ, M. N. Participation of peripheral tachykinin NK(1) receptors in the carrageenan-induced inflammation of the rat tem- poromandibular joint. **Eur. J. Pain.**, v. 13, n. 8, p. 812–819, 2009.

D'EMMANUELE, D. R.; SORRENTINO , R.; MAFFIA, P.; MIRONE, V.; IMBIMBO, C.; FUSCO et al: Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smooth-muscle relaxation. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 106, n. 11, p. 4513-4518, 2009.

DINARELLO, C. A. Proinflammatory cytokines. **Chest**, v. 118, n. 2, p. 503-508, 2000.

DISTRUTTI, E.; SEDIARI, L.; MENCARELLI, A.; RENGA, B.; ORLANDI, S.; ANTONELLI, E. et al. Evidence that hydrogen sulphide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating KATP channels. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 316, n. 1, p. 325–335, 2006.

DONNELLY, R. Evidence-based symptom relief of intermittent claudication: efficacy and safety of cilostazol. **Diabetes Obes. Metab.**, v. 4 , n. 2, p. 20-25, 2002.

Dorman, D. C.; Moulin, F. J.; McManus, B. E.; Mahle, K. C.; James, R. A.; Struve, M. F; Cytochrome oxidase inhibition induced by acute hydrogen sulfide inhalation: correlation with tissue sulfide concentrations in the rat brain, liver, lung, and nasal epithelium. **Toxicol. Sci.**, v. 65, n. 1, p. 18-25, 2002.

DONHAM, K. J.; KNAPP, L. W.; MONSON, R.; GUSTAFSON, K. Acute toxic exposure to gases from liquid manure. **J. Occup. Med.**, v. 24, n. 2, p 142–145, 1982.

DURAND, M.; WEINSTEIN, P. Thiosulfate in human urine following minor exposure to hydrogen sulfide: implications for forensic analysis of poisoning. **Forensic Toxicol.**, v. 25, n. 2, p. 92–95, 2007.

EBERHARDT, W.; KUNZ, D.; HUMMEL, R.; PFEILSCHIFTER, J. Molecular cloning of the rat inducible nitric oxide synthase gene promoter. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 223, n. 3, p. 752-756, 1996.

ELLIS, H.; SUSAN, S. Gray, Henry David. **Gray's anatomy**: the anatomical basis of clinical practice. St. Louis, Mo: Elsevier Churchill Livingstone, 2005.

EMERY, P.; KEYSTONE, E.; TONY, H. P. IL-6 receptor inhibition with tocilizumab improves treatment outcomes in patients with rheumatoid arthritis refractory to anti-tumour necrosis factor biologicals: results from a 24-week multicentre randomised placebo-controlled trial. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 67, n. 11, p. 1516–1523, 2008.

ERICKSON, P. F.; MAXWELL, I. H.; SU, L. J.; BAUMANN, M.; GLODE, L. M. Sequence of cDNA for rat cystathionine gamma-lyase and comparison of deduced amino acid sequence with related Escherichia coli enzymes. **Biochem. J.**, v. 269, n. 2, p. 335–340, 1990.

ESTEVE, M.; SARO, C.; GONZALEZ-HUIX, F.; SUAREZ, F.; FORNE, M.; VIVER, J. M. Chronic hepatitis B reactivation following infliximab therapy in Crohn's disease patients: need for primary prophylaxis. **Gut**, v. 53, n. 9, p.1363-1365, 2004.

ESECHIE, A. I.; MALOHI, K. L.; OLAH, G. Protective effect of hydrogen sulfide in a murine model of acute lung injury induced by combined burn and smoke inhalation. **Clinical Science**, v. 115, n. 3, p. 91–97, 2008.

FANG, L.; LI, H.; TANG, C.; GENG, B.; QI, Y.; LIU, X. Hydrogen sulfide attenuates the pathogenesis of pulmonary fibrosis induced by bleomycin in rats. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 87, n. 7, p. 531-538, 2009.

FARRELL, A. J.; BLAKE, D. R.; PALMER, R. M.; MONCADA, S. Increased concentrations of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 51, n. 11, p. 1219–1222, 1992.

FIORUCCI, S.; ANTONELLI, E.; DISTRUTTI, E. Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs. **Gastroenterology**, v. 129, n. 4, p. 1210–1224, 2005.

FIRESTEIN, G. S. Immunologic mechanisms in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **J. Clin. Rheumatol.**, v. 11, n. 3, p. 39-44, 2005.

FÖRSTERMANN, U.; GORSKY, L. D.; POLLOCK, J. S. Regional distribution of EDRF/NO-synthesizing enzyme(s) in rat brain. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 168, n. 2, p. 727-732, 1990.

FOLLIARD, F.; TERLAIN, B. A novel method for the sampling of synovial fluid in mice. Assay of a synovial lysosomal enzyme in zymosan-induced arthritis. **Agents Actions**, v. 25, n. 1-2, p. 139-45, 1988.

FOX, D. A. The role of T cells in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis: new perspectives. **Arthritis Rheum.**, v. 40, n. 4, p. 598-609, 1997.

FURNE, J.; SPRINGFIELD, J.; KOENIG, T.; DEMASTER, E.; LEVITT, M. D. Oxidation of hydrogen sulfide and methanethiol to thiosulfate by rat tissues: a specialized function of the colonic mucosa. **Biochem. Pharmacol.**, v. 62, n. 2, p. 255–259, 2001.

GARDNER, D L. The Experimental Production of Arthritis: A Review. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 19, n. 4, p. 297-317, 1960.

GARTLEHNER, G.; HANSEN, R. A.; JONAS, B. L. The comparative efficacy and safety of biologics for the treatment of rheumatoid arthritis: a systematic review and metaanalysis. **J. Rheumatol.**, v. 33, n. 12, p. 2398–2408, 2006.

GE, Y.; JENSEN, T.L.; MATHERLY, L.H.; TAUB, J.W. Transcriptional regulation of the human cystathionine beta-synthase-1b basal pro-moter: synergistic transactivation by transcription factors NF-Y and Sp1/Sp3. **Biochem. J.**; v. 357, p. 97–105, 2001.

GENG, Y.; VALBRACHT, J.; LOTZ, M. Selective activation of the mitogen-activated protein kinase subgroups c-Jun NH₂ terminal kinase and p38 by IL-1 and TNF in human articular chondrocytes. **J. Clin. Invest.**, v. 98, n. 10, p. 2425-2430, 1996.

GENG, B.; CHANG, L.; PAN, C.; QI, Y.; ZHAO, J.; PANG, Y.; DU, J.; TANG, C. Endogenous hydrogen sulfide regulation of myocardial injury induced by isoproterenol. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 318, n. 3, p. 756–763, 2004.

GERONDAKIS, S.; GROSSMANN, M.; NAKAMURA, Y.; POHL, T; GRUMONT, R. Genetic approaches in mice to understand Rel/NF-kappaB and IkappaB function: transgenics and knockouts. **Oncogene**, v. 18, n. 49, p. 6888-6895, 1999.

GOMEZ-REINO, J. J.; CARMONA, L. Switching TNF antagonists in patients with chronic arthritis: an observational study of 488 patients over a four-year period. **Arthritis. Res. Ther.**, v. 8, n. 1, p. 29, 2006.

GRABOWSKI, P. S.; MACPHERSON, H.; RALSTON SH. Nitric oxide production in cells derived from the human joint. **Br. J. Rheumatol.**, v. 35, n. 3, p. 207-212, 1996.

GRABOWSKI, P. S.; WRIGHT, P. K.; VAN, H. R. J. Immunolocalization of inducible nitric oxide synthase in synovium and cartilage in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. **Br. J. Rheumatol.**, v. 36, n. 6, p. 651-655, 1997.

GRIFFITH, O. W. Mammalian sulfur amino acid metabolism: an overview. **Methods Enzymol.**, v. 143, p. 366-376, 1987.

Guidotti, T L. Occupational exposure to hydrogen sulfide in the sour gas industry: Some unresolved issues. **Int. Arch. Occup. Environ. Health.**, v. 66, n. 3, p. 153–160, 1994.

HALL, A. H.; RUMACK, B. H. Hydrogen sulfide poisoning: An antidotal role for sodium nitrite? **Vet. Hum. Toxicol.**, v. 39, n. 3, p. 152–154, 1997.

HOIDAL, C. R.; HALL, A. H.; ROBINSON, M. D.; KULIG, K.; RUMACK, B. H. Hydrogen sulfide poisoning from toxic inhalations of roofing asphalt fumes. **Ann. Emerg. Med.**, v. 15, n. 7, p. 826–830, 1986.

HOWARD, M.; O'GARRA, A. Biological properties of interleukin 10. **Immunol. Today**, v. 13, n. 6, p. 198-200, 1992.

HUGHES, L. B.; MORRISON, D.; KELLEY, J. M. et al: The HLA-DRB1 shared epitope is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis in African Americans through European genetic admixture. **Arthritis Rheum.**, v. 58, n. 2, p. 349–358, 2008.

Hughes, M. N.; Centelles, M. N.; Moore, K. P. Making and working with hydrogen sulfide. The chemistry and generation of hydrogen sulfide in vitro and its measurement in vivo: a review. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 47, n. 10, p. 1346–1353, 2009.

IBADOVA, GD.; MAMISHEV, S. N.; ZAVORA, M. I.; SARIAN, L. A. Combined use of hydrogen sulphide baths and galvanopeloid therapy with magnetolaser radiation in osteoarthritis patients at a health resort. **Vopr. Kurortol. Fizioter. Lech. Fiz Kult.**, v. 4, p. 23–25, 2005.

IKUTA, S.; KIRBY, J. A.; SHENTON B K.; GIVAN, A. L.; LENNARD, T. W. Human endothelial cells: effect of TNF-alpha on peripheral blood mononuclear cell adhesion. **Immunology**, v. 73, n. 1, p. 71–76, 1991.

JAAKKOLA, J. J.; VILKKA, V.; MARTTILA, J. P.; HAAHTELA, T. The South Karelia Air Pollution Study. The effects of malodorous sulfur compounds from pulp mills on respiratory and other symptoms. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 142, n. 6, p. 1344–1350, 1990.

JONATHAN, C. W.; EDWARDS, M.; LESZEK, S. Efficacy of B-Cell–Targeted Therapy with Rituximab in Patients with Rheumatoid Arthritis **N. Engl. J. Med.**, v. 350, p. 2572–2581, 2004.

JOHNSTON, M.; MARCOTTE, P.; DONOVAN, J.; WALSH, C. Mechanistic studies with vinylglycine and beta-haloaminobutyrates as substrates for cystathione gamma-synthetase from *Salmonella typhimurium*. **Biochemistry**, v. 18, n. 9, p. 1729–1738, 1979.

JULIAN, D.; STATILEJ, L.; WOHLGEMUTH, S. E.; ARP, A. J. Enzymatic hydrogen sulfide production in marine invertebrate tissues. **Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.**, v. 133, n. 1, p. 105–115, 2002.

KAGE, S.; NAGATA, T.; TAKEKAWA, K.; KIMURA, K.; KUDO, K.; IMAMURA, T. The usefulness of thiosulfate as an indicator of hydrogen sulfide poisoning in forensic toxicological examination: A study with animal experiments. **Jpn. J. Forensic. Toxicol.**, v. 110, n. 4, p. 223–227, 1997.

KARY, S.; BURMESTER, G. R. Anakinra: the first interleukin-1 inhibitor in the treatment of rheumatoid arthritis. **Int. J. Clin. Pract.**, v. 57, n. 3, p. 231–234, 2003.

KHAN, A. A.; SCHULER, M. M.; PRIOR, M. G. Effects of hydrogen sulfide exposure on lung mitochondrial respiratory chain enzymes in the rat. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 103, n. 482-490, 1990.

KATSIKIS, P. D.; CHU, C. Q.; BRENNAN, F. M.; MAINI, R. N.; FELDMANN, M. Immunoregulatory role of interleukin 10 in rheumatoid arthritis. **J. Exp. Med.**, v. 179, n. 5, p. 1517-1527, 1994.

KEINÄNEN, R.; VARTIAINEN, N.; KOISTINAHO, J. Molecular cloning and characterization of the rat inducible nitric oxide synthase (iNOS). **Gene Gene**, v. 234, n. 2, p. 297-305, 1999.

KILBURN, K. H. Case Report: Profound neurobehavioral deficits in an oil field worker overcome by hydrogen sulfide. **Am. J. Med. Sci.**, v. 306, n. 5, p. 301–305, 1993.

KLOESCH, B.; LISZT, M.; BROELL, J. H₂S transiently blocks IL-6 expression in rheumatoid arthritic fibroblast-like synoviocytes and deactivates p44/42 mitogen-activated protein kinase. **Cell. Biol. Int.**, v. 34, n. 5, p. 477-484, 2010.

KLARESKOG, L.; CATRINA, A. I.; PAGET, S. Rheumatoid arthritis. **Lancet**, v. 373, n. 9664, p. 659-672, 2009.

KOENDERS, M.I.; JOOSTEN, L. A. B.; VANDENBERG, W. B. Potential new targets in arthritis therapy: interleukin (IL)-17 and its relation to tumour necrosis factor and IL-1 in experimental arthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 65, n. 3, p. 29-33, 2006.

KOPF, M.; HEINZ, B.; GIULIA, F.; MARINA, F. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. **Nature**, v. 368, n. 6469, p. 339-342, 1994.

KROESEN, S.; WIDMER, A. F.; TYNDALL, A.; HASLER, P. Serious bacterial infections in patients with rheumatoid arthritis under anti-TNF-alpha therapy. **Rheumatology (Oxford)**, v. 42, n. 5, p. 617-621, 2003.

KUBES, P.; SUZUKI, M.; GRANGER, D. N. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 88, n. 11, p. 4651–4655, 1991.

KUBO, S.; KUROKAWA, Y.; DOE, I.; MASUKO, T.; SEKIGUCHI, F.; KAWABATA, A. Hydrogen sulphide inhibits activity of three isoforms of recombinant nitric oxide synthase. **Toxicology**, v. 241, n. 1–2, p. 92–97, 2007.

KUMAR, V.; ABUL, K.; ABBAS, N. Ossos, articulações e tumores de tecidos moles In: _____. **Robbin e Cotran Bases patológicas da doença**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 1245-1250.

KVIEN, T. K.; UHLIG T. Quality of life in rheumatoid arthritis. **Scand. J. Rheumatol.**, v. 34, n. 5, p. 333-341, 2005.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.

LEE, H. S.; LEE, C. H.; TSAI, H. C.; SALTER, D. M. Inhibition of cyclooxygenase 2 expression by diallyl sulphide on joint inflammation induced by urate crystal and IL-1b. **Osteoarthritis Cartilage**, v. 17, n. 1, p. 91–99, 2009.

LEVITT, M. D.; FURNE, J.; SPRINGFIELD, J.; SUAREZ, F.; DEMASTER, E. Detoxification of hydrogen sulfide and methanethiol in the cecal mucosa. **J. Clin. Invest.**, v. 104, n. 8, p. 1107–1114, 1999.

LI, L.; BHATIA, M.; ZHU, Y. Z.; ZHU, Y. C. et al: Hydrogen sulfide is a novel mediator of lipopolysaccharide-induced inflammation in the mouse. **FASEB J.**, v. 19, n. 9, p. 1196-1198, 2005.

LI, L.; SALTO-TELLEZ, M.; TAN, C. H.; WHITEMAN, M.; MOORE, P. K. GYY4137, a novel hydrogen sulfide-releasing molecule, protects against endotoxic shock in the rat. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 47, n. 1, p. 103–113, 2009.

LI-FANG, H. U.; MING, L. U.; CHI, X. T.; GAVIN, S. D.; GANG, H. U.; JIN-SONG, B. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide on Parkinson's disease rat models. **Aging Cell.**, v. 9, n. 2, p. 135-146, 2010.

ŁOWICKA, E.; BEŁTOWSKI, J.; WATANABE, H. et al. Hydrogen sulfide (H₂S) - the third gas of interest for pharmacologists. **Pharmacol. Rep.**, v. 59, n. 1, p. 4-24, 2007.

LUBBERTS, E.; JOOSTEN, L. A.; HELSEN, M. M.; VANDENBERG, W. B. Regulatory role of interleukin 10 in joint inflammation and cartilage destruction in murine streptococcal cell wall (SCW) arthritis. More therapeutic benefit with IL-4/IL-10 combination therapy than with IL-10 treatment alone. **Cytokine**, v. 10, n. 5, p. 361-369, 1998.

MAEDA, Y.; AOKI, Y.; SEKIGUCHI, F. et al: Hyperalgesia induced by spinal and peripheral hydrogen sulphide: evidence for involvement of Cav3.2 T-type calcium channels. **Pain**, v. 142, n. 1-2, p. 127–132, 2009.

MARK, C.; JEAN-CLAUDE, G. B.; MICHAEL, S. et al: Abatacept for Rheumatoid Arthritis Refractory to Tumor Necrosis Factor α Inhibition **N. Engl. J. Med.**, v. 353, p. 1111-1114, 2005.

MARKS-KONCZALIK, J.; CHU, S. C.; MOSS, J. Cytokine-mediated transcriptional induction of the human inducible nitric oxide synthase gene requires both activator protein 1 and nuclear factor kappaB-binding sites. **J. Biol. Chem.**, v. 273, n. 35, p. 22201-22208, 1998.

MARIGGIÒ, M. A.; MINUNNO, V.; RICCARDI, S.; SANTACROCE, R.; DE RINALDIS, P.; FUMARULO, R. Sulphide enhancement of PMN apoptosis. **Immunopharmacol. Immunotoxicol.**, v. 20, p. 399-408, 1998.

MARTIN, G. R.; MCKNIGHT, G. W.; DICAY, M. S.; COFFIN, C. S.; FERRAZ, J. G.; WALLACE, J. L. Hydrogen sulphide synthesis in the rat and mouse gastrointestinal tract. **Dig. Liver Dis.**, v. 42, n. 2, p. 103-109, 2010.

MEEKINS, J. W.; MCLAUGHLIN, P. J.; WEST, D. C.; MCFADYEN, I. R.; JOHNSON, P. M. Endothelial cell activation by tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and the development of pre-eclampsia. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 98, n. 1, p. 110-114, 1994.

MELLO, S. B.; GUZZO, M. L.; LISBOA, L. F.; FARSKY, S. H. Pharmacological characterisation of arthritis induced by Bothrops jararaca venom in rabbits: a positive cross talk between bradykinin, nitric oxide and prostaglandin E2. **Mediators Inflamm.**, v. 11, n. 1, p. 13-16. 2002.

MEDEIROS, J. V.; BEZERRA, V. H.; GOMES, A. S. Hydrogen sulfide prevents ethanol-induced gastric damage in mice: role of ATP-sensitive potassium channels and capsaicin-sensitive primary afferent neurons. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 330, n. 3, p. 764-770, 2009.

MEDZHITOF, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, n. 7203, p. 428–435, 2008.

MILBY, T. H.; BASELT, R. C. Hydrogen sulfide poisoning: Clarification of some controversial issues. **Am. J. Ind. Med.**, v. 35, n. 2, p. 192–195, 1999.

MITSUHASHI, H.; YAMASHITA, S.; IKEUCHI, H. et al. Oxidative stress-dependent conversion of hydrogen sulfide to sulfite by activated neutrophils. **Shock**, v. 24, n. 6, p. 529–534, 2005.

MUNHOZ, C. D.; LEPSCH, L. B.; KAWAMOTO, E. M; MALTA, M. B.; LIMA, LDE. S.; AVELLAR, M. C et al. Chronic unpredictable stress exacerbates lipopolysaccharide-induced activation of nuclear factor-kappaB in the frontal cortex and hippocampus via glucocorticoid secretion. **J. Neurosci.**, v. 26, n. 14, p. 3813, 2006.

MÜNKE, M.; KRAUS, J. P.; OHURA, T.; FRANKE, U. The gene for cystathionine beta-synthase (CBS) maps to the subtelomeric region on human chromosome 21q and to proximal mouse chromosome 17. **Am. J. Hum. Gene**, v. 42, n. 4, p. 550–559, 1988.

NAGANUMA, K.; AMANO, S.; TAKEDA, H.; KITANO, S.; HANAZAWA, S. Role of transcriptional factor activation protein-1 in endogenous expression of the interleukin-1 beta gene involved in Porphyromonas gingivalis fimbria-stimulated bone resorption in the mouse calvarial system. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 15, n. 1, p. 53-57, 2000.

NEMUNAITIS, J.; ROSS, M.; MEISENBERG, B. et al: Phase I study of recombinant human interleukin-1 beta (rhIL-1 beta) in patients with bone marrow failure. **Bone Marrow Transplant**, v. 14, n. 4, p. 583-588, 1994.

NICHOLLS P: The effect of sulfide on cytochrome-aa₃ isosteric and allosteric shifts of the reduced a-peak. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 396, n. 1, p. 24–35, 1975.

NORIHIRO, N.; JUN, H.; NOBUYUKI, M. et al. Study of active controlled monotherapy used for rheumatoid arthritis, an IL-6 inhibitor (SAMURAI): evidence of clinical and radiographic benefit from an x ray reader-blinded randomised controlled trial of tocilizumab. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 66, n. 9, p. 1162-1167, 2007.

OH, G. S.; PAE, H. O.; LEE, B. S. et al. Hydrogen sulphide inhibits nitric oxide production and nuclear factor-kappaB via heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 41, n. 1, p. 106–119, 2006.

OTSUKI, T.; NAKAHAMA, H.; NIIZUMA, H.; SUZUKI J. Evaluation of the analgesic effects of capsaicin using a new rat model for tonic pain. **Brain Res.**, v. 365, n. 2, p. 235-240, 1986.

Pahl, H. L. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. **Oncogene**, v. 18, n. 49, p. 6853-6866, 1999.

PEARSON, C. M. Experimental joint disease observation on adjuvant induced arthritis. **J. Chronic. Dis.**, v. 16, p. 863-874, 1963.

PELLETIER, J. P.; MINEAU, F.; FERNANDES, J. C.; DUVAL, N.; MARTEL-PELLETIER, J. Diacerhein and rhein reduce the interleukin 1beta stimulated inducible nitric oxide synthesis level and activity while stimulating cyclooxygenase-2 synthesis in human osteoarthritic chondrocytes. **J. Rheumatol.**, v. 25, n. 12, p. 2417–2424, 1998.

PENG-THIM, F.; KENG-HONG, L. The Use of Biological Agents in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. **Ann. Acad. Med. Singapore.**, v. 36, p.128-134, 2007.

PERKINS, N. D. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappaB and IKK function. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.**, v. 8, n. 1, p. 49-62, 2007.

PETTIPHER, E. R.; HIGGS, G. A.; HENDERSON, B. Interleukin 1 induces leukocyte infiltration and cartilage proteoglycan degradation in the synovial joint. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 83, n. 22, p. 8749-8753, 1986.

PICTON, R.; EGGO, M. C.; MERRILL, G. A.; LANGMAN, M. J.; SINGH, S. Mucosal protection against sulphide: importance of the enzyme rhodanese. **Gut**, v. 50, n. 2, p. 201-205, 2002.

REIFFENSTEIN, R. J.; HULBERT, W. C.; ROTH, H. H. Toxicology Of Hydrogen Sulfide. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 32, p. 109-134, 1992.

PRAKKEN, B. J.; ROORD, S.; VANKOOTEN, P. J. Inhibition of adjuvant-induced arthritis by interleukin-10-driven regulatory cells induced via nasal administration of a peptide analog of an arthritis-related heat-shock protein 60 T cell epitope. **Arthritis Rheum.**, v. 46, n. 7, p. 1937-1946, 2002.

RONG, Y.; BAUDRY, M. Seizure activity results in a rapid induction of nuclear factor-kappa B in adult but not juvenile rat limbic structures. **J. Neurochem.**, v. 67, n. 2, p. 662-668, 1996.

ROTH, A.; MOLLENHAUER, J.; WAGNER, A. Intra-articular injections of high-molecular-weight hyaluronic acid have biphasic effects on joint inflammation and destruction in rat antigen-induced arthritis. **Arthritis Res. Ther.**, v. 7, n. 3, p. 677-686, 2005.

ROUX – LOMBARD, P.; MODOUX, C.; VISCHER, T.; GRASSI , J.; DAYER, J.M. Inhibitors of interleukin 1 activity in synovial fluids and in cultured synovial fluid mononuclear cells. **J. Rheumatol.**, v. 19, n. 4, p. 517-523, 1992.

SALEH, M.; GREEN, D. R. Caspase-1 inflammasomes: choosing between death and taxes. **Cell. Death Differ.**, v. 14, n. 9, p. 1559-1560, 2007.

SEARCY, D. G. HS-O₂ oxidoreductase activity of Cu, Zn superoxide dismutase. **Arch Biochem. Biophys.**, v. 334, n. 1, p. 50-58, 1996.

SIDHAPURIWALA, J.; LI, L.; SPARATORE, A.; BHATIA, M.; MOORE, P. K. Effect of S-diclofenac, a novel hydrogen sulfide releasing derivative, on carrageenan-induced hindpaw oedema formation in the rat. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 13, n. 1-2, p. 149-154, 2007.

SHIBUYA, N.; TANAKA, M.; YOSHIDA, N. 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain. **Antioxid. Redox Signal.**, v. 11, n. 4, p. 703–714, 2009.

SIVARAJAH, A.; COLLINO, M.; YASIN, M. et al. Antiapoptotic and anti-inflammatory effects of hydrogen sulphide in a rat model of regional myocardial I/R. **Shock.**, , v. 31, n. 3, p. 267-274, 2009.

SILVERMAN, G. J.; CARSON, D. A Roles of B cells in rheumatoid arthritis. **Arthritis Res. Ther.**, v. 5, n. 4, p. 1-6, 2003.

SHAULIAN, E.; KARIN, M. AP-1 as a regulator of cell life and death, **Nat. Cell. Biol.**, v. 4, n. 5, p. 131–136, 2002.

SKARE, TL. Noções básicas de anatomia e fisiologia articular. In:_____. **Reumatologia princípios e prática**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. p. 24-27

SNICK, V. Interleukin-6: An Overview. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 8, p. 253-78, 1990.

SPILLER, F.; ORRICO, M. I.; NASCIMENTO, D. C.; CZAIKOSKI, P. G.; SOUTO, F. O.; ALVES-FILHO, J. C. et al. Hydrogen Sulfide Improves Neutrophil Migration and Survival in Sepsis via K_{ATP} Channel Activation. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 182, n. 3, p. 360-368, 2010.

STEFANOVIC-RACIC, M.; STADLER, J.; EVANS, C. H. Nitric oxide and arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 38, n. 10, p. 1529–1531, 1995.

STEEGBORN, C.; CLAUSEN, T.; SONDERMANN, P. et al: Kinetics and inhibition of recombinant human cystathionine gamma-lyase. Toward the rational control of transsulfuration. **J. Biol. Chem.**, v. 274, n. 18, p. 12675-1284, 1999.

STIPANUK, M. H.; BECK, P. W. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphydratation in liver and kidney of the rat. **Biochem. J.**, v. 206, n. 2, p. 267–277, 1982.

SUN, Q.; COLLINS, R.; HUANG, S. et al: Structural Basis for the Inhibition Mechanism of Human Cystathionine γ -Lyase, an Enzyme Responsible for the Production of H₂S. **The journal of biological Chemistry**, v. 284, n. 5, p. 3076–3085, 2009.

SZABÓ, C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 6, n. 11, p. 917-935, 2007.

TAYAR, J. H.; SUAREZ-ALMAZOR, M. E. New understanding and approaches to treatment in rheumatoid arthritis. **British Medical Bulletin**, p. 201–214, 2010.

TRENTHAM, D. E.; DYNESIUS, R. A.; ROCKLIN, R. E.; DAVID, J. R. Cellular sensitivity to collagen in rheumatoid arthritis. **Trans. Assoc. Am. Physicians.**, v. 91, p. 118-128, 1978.

THORNBERRY, N. A.; RANO, T. A.; PETERSON, E. P. et al. Combinatorial approach defines specificities of members of the caspase family and granzyme B. Functional relationships established for key mediators of apoptosis. **J. Biol. Chem.**, v. 272, n. 29, p. 1707-1711, 1997.

YANG, L. C.; MARSALA, M.; YAKSH TL. Characterization of time course of spinal amino acids, citrulline and PGE2 release after carrageenan/kaolin-induced knee joint inflammation: a chronic microdialysis study. **Pain**, v. 67, n. 2-3, p. 345-354, 1996.

YELIN, E. The costs of rheumatoid arthritis: absolute, incremental, and marginal estimates. **J. Rheumatol. Suppl.**, v. 44, p. 47-51, 1996.

YONEKURA, Y.; KOSHIISHI, I.; YAMADA, K. Association between the expression of inducible nitric oxide synthase by chondrocytes and its nitric oxide-generating activity in adjuvant arthritis in rats. **Nitric Oxide**, v. 8, n. 3, p. 164–169, 2003.

WAHL, S. M.; MCCARTNEY-FRANCIS, N.; CHAN, J.; DIONNE, R. Nitric oxide in experimental joint inflammation. Benefit or detriment? Cells **Tissues Organs**, v. 174, n. 1–2, p. 26–33, 2003.

WALSH, N. C.; CROTTI, T. N.; GOLDRING, S. R.; GRAVALLESE, E. M. Rheumatic diseases: the effects of inflammation on bone. **Immunol. Rev.**, v. 208, p. 228-251, 2005.

WALLACE, J. L. Hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drugs. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 28, n. 10, p. 501–505, 2007.

WALLACE, J. L.; GIUSEPPE, C.; VINCENZO, S.; GIUSEPPE, C. Markedly reduced toxicity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of naproxen (ATB-346) **British Journal of Pharmacology**, v. 159, n. 6, p. 1236–1246, 2010.

WATANABE, H.; GAIDE, O.; PÉTRILLI, V. et al. Activation of the IL-1 β -processing inflammasome is involved in contact hypersensitivity. **J. Invest. Dermatol.**, v. 127, n. 8, p. 1956-1963, 2007.

WATT, M. M.; WATT, S. J.; SEATON, A. Episode of toxic gas exposure in sewer workers. **Occup. Environ. Med.**, v. 54, n. 4, p. 277–280, 1997.

WEINBLATT, M.; COMBE, B.; COVUCCI, A.; ARANDA, R.; BECKER, J. C.; KEYSTONE, E. Safety of the selective costimulationmodulator abatacept in rheumatoid arthritis patients receiving background biologic and nonbiologic diseasemodifying antirheumatic drugs: a one-year randomized, placebo-controlled study. **Arthritis Rheum.**, v. 54, n. 9, p. 2807-2816, 2006.

WENDLING, D.; AUGE, B.; BETTINGER, D. Reactivation of a latent precore mutant hepatitis B virus related chronic hepatitis during infliximab treatment for severe spondylo- arthropathy. **Ann. Rheum. Dis.**, v. 64, n. 5, p. 788-789, 2005.

WHITEMAN, M.; ARMSTRONG, J. S.; CHU, S. H. The novel neuromodulator hydrogen sulphide:an endogenous peroxynitrite ‘scavenger’? **J. Neurochem.**, v. 90, n. 3, p. 765–768, 2004.

WHITEMAN, M.; CHEUNG, N. S.; ZHU, Y. Z. Hydrogen sulphide: a novel inhibitor of hypochlorous acidmediated oxidative damage in the brain? **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 326, n. 4, p. 794–798, 2005.

WHITEMAN, M.; LI, L.; KOSTETSKI, I. et al. Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulphide. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 343, n. 1, p. 303–310, 2006.

WHITEMAN, M.; MOORE, P. K. Hydrogen sulfide and the vasculature: a novel vasculoprotective entity and regulator of nitric oxide bioavailability? **J. Cell. Mol. Med.**, v. 13, n. 3, p. 488-507, 2009.

WHITEMAN, M.; LI, L.; ROSE, P.; TAN, C. H.; PARKINSON, D.; MOORE, P. The effect of hydrogen sulfide donors on lipopolysaccharide-induced formation of inflammatory mediators in macrophages. **Antioxid. Redox Signal.**, v. 12, n. 10, p. 1147-54, 2010.

WHITFIELD, N. L.; KREIMIER, E. L.; VERDIAL, F. C.; SKOVGAARD, N.; OLSON, K. R. Reappraisal of H₂S/sulfide concentration in vertebrate blood and its potential significance in ischemic preconditioning and vascular signaling. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 294, n. 6, p.1930-1937, 2008.

WOZAKOWSKA-KAPLON, B.; GRABSKI, M.; KEDZIORA, J. Hydrogen sulphide water balneum effect on erythrocyte catalase activity in patients with rheumatoid arthritis – in vitro study. **Wiad. Lek.**, v. 59, n. 1–2, p. 72–77, 2006.

VINEGAR, R.; SCHREIBER, H. G. R. Biphasic development of carrageenan edema in rats. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 166, p. 96-103, 1969.

VONFREY, M. Untersuchung über die Sinnesfunctionen der menschlichen Haut. Abhandlungen der mathematisch-physischen Klasse der Königlichen Sächsischen **Gesellschaft. der Wissenschaften**, v. 49, p. 169–266, 1896.

VIVANCOS, G. G.; VERRI, W. A. JR.; CUNHA, T. M. An electronic pressure-meter nociception paw test for rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 37, n. 3, p. 391-399, 2004.

ZANARDO, R. C.; BRANCALEONE, V.; DISTRUTTI, E.; FIORUCCI, S.; CIRINO, G.; WALLACE, J. L. Hydrogen sulphide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. **FASEB J.**, v. 20, n.12, p. 2118–2120, 2006.

ZHAO, W.; ZHANG, J.; LU, Y.; WANG R The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener. **EMBO J.**, v. 20, n. 21, p. 6008–6016, 2001.