

JORGE LUIZ DALLAZEN

**Investigação do potencial farmacológico do híbrido
anti-inflamatório não esteroide doador de sulfeto de hidrogênio,
ATB-352, no tratamento da dor aguda pós-operatória**

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

Orientador: Profa. Dra. Soraia Katia Pereira Costa

Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível na Secretaria de Pós-graduação que aloja o Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

São Paulo
2023

RESUMO

DALLAZEN, J. L. **Investigação do potencial farmacológico do híbrido anti-inflamatório não esteroide doador de sulfeto de hidrogênio, ATB-352, no tratamento da dor aguda pós-operatória.** 2023. 163 p. Tese (Doutorado em Farmacologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Estima-se que 80% dos pacientes submetidos à procedimentos cirúrgicos reportam dor pós-operatória. Anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), como o cetoprofeno (CETO), apresentam eficácia analgésica na dor pós-operatória e reduzem o emprego de opioides, mas causam sérios efeitos adversos, incluindo lesões à mucosa gastrointestinal. AINEs acoplados a porções doadores de H₂S, um novo transmissor endógeno, apresentam efeitos citoprotetores; entretanto, pouco se sabe sobre a eficácia dessas moléculas na dor pós-operatória e os mecanismos envolvidos. Os objetivos deste estudo foram: 1) avaliar a relevância do H₂S endógeno no modelo experimental de dor pós-operatória (cirurgia de incisão plantar, CIP) em camundongos BALB/c machos; 2) avaliar comparativamente a eficácia analgésica, antioxidante e anti-inflamatória de doses equimolares do AINE referência (CETO), e do seu híbrido AINE doador de H₂S (ATB-352) no modelo CIP; 3) averiguar a participação do sistema endocanabinoide nas ações analgésicas do CETO e ATB-352; 4) avaliar o dano gástrico e as alterações na atividade locomotora e exploratória dos animais frente ao CETO e ATB-352. A realização da CIP induziu alodinia mecânica e hiperalgesia térmica ao calor de forma prolongada (\cong 5 dias), efeitos estes associados com a menor geração de H₂S e alteração na expressão proteica das enzimas envolvidas na sua síntese (cistationina γ -liase e cistationina β -sintase) na pata operada. A inibição seletiva da CSE ou dual da CSE/CBS exacerbou, de forma tempo-dependente (7 – 10 dias), os parâmetros nociceptivos. O tratamento oral com ATB-352 (4,6, 15 e 46 mg/Kg) promoveu eficácia analgésica superior ao CETO (3, 10 e 30 mg/Kg) e, ambos, reduziram a liberação de interleucina-1 β e elevaram a atividade da superóxido dismutase. Entretanto, somente o ATB-352 reduziu a expressão da 3-nitrotirosina. O bloqueio farmacológico dos receptores canabinoides 1 (CB1) e 2 (CB2) não influenciou na analgesia promovida pelo CETO, mas o antagonismo CB1 reverteu o efeito antialodínico e anti-hiperalgésico ao calor promovido pelo ATB-352, e o antagonismo CB2 reverteu apenas o efeito antialodínico. Enquanto o tratamento com o ATB-352 não induziu lesões gástricas e aumentou os níveis de muco gástrico, o qual foi revertido pelo antagonista CB1, dose equimolar do CETO promoveu dano gástrico, sendo potencializado pelo antagonismo CB1. CETO e ATB-352 não alteraram o comportamento exploratório/locomoção espontânea dos animais. Conclui-se que o tratamento com o ATB-352 promove eficácia analgésica superior ao CETO, bem como ação antioxidante e segurança gástrica, via mecanismo dependente do aumento nas concentrações centrais e periféricas do endocanabinoide anandamida, resultante da inibição irreversível da sua enzima de degradação, amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH), conforme avaliado por ensaios de ELISA e docagem molecular, respectivamente.

Palavras-chave: Sistema endocanabinoide. Sulfeto de hidrogênio. Analgesia. Gastroproteção. Docagem molecular.

ABSTRACT

DALLAZEN, J. L. **Investigation of the pharmacological potential of the hybrid non-steroidal anti-inflammatory hydrogen sulfide donor, ATB-352, in the treatment of acute postoperative pain.** 2023. 163 p. Thesis (Ph. D thesis in Pharmacology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

It is estimated that 80% of patients undergoing surgical procedures report postoperative pain. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), such as ketoprofen (KETO), have analgesic efficacy in postoperative pain and reduce the consumption of opioids, but cause serious adverse effects, including damage to the gastrointestinal mucosa. NSAIDs coupled to H₂S donor moieties, a novel endogenous transmitter, have cytoprotective effects; however, there is limited understanding of the effectiveness of these compounds on postoperative pain and the mechanisms involved. The aims of this study were: 1) to evaluate the relevance of endogenous H₂S in the experimental model of postoperative pain (plantar incision surgery, PIS) in male BALB/c mice; 2) to comparatively evaluate the analgesic, antioxidant and anti-inflammatory efficacy of equimolar doses of the reference NSAID (KETO) and its H₂S donor NSAID hybrid (ATB-352), in the PIS model; 3) to investigate the participation of the endocannabinoid system in the analgesic effects of KETO and ATB-352; 4) to evaluate the gastric damage and alterations in the locomotor and exploratory activity of the animals treated with KETO and ATB-352. PIS procedure induced long-lasting mechanical allodynia and thermal hyperalgesia to heat (\cong 5 days), effects associated with lower generation of H₂S, and alteration in the protein expression of the enzymes involved in its synthesis (cystathionine γ -lyase and cystathionine β -synthase) in the operated paw. Selective or dual CSE/CBS inhibition time-dependently (7 – 10 days) exacerbated nociceptive parameters. Oral treatment with ATB-352 (4.6, 15 and 46 mg/Kg) promoted analgesic efficacy superior to KETO (3, 10 and 30 mg/Kg), and both reduced the release of interleukin-1 β and increased the activity of superoxide dismutase. However, only ATB-352 reduced 3-nitrotyrosine expression. Pharmacological blockade of cannabinoid receptors 1 (CB1) and 2 (CB2) did not influence the analgesia promoted by KETO, but CB1 antagonism reversed the anti-allodynic and anti-hyperalgesic effect to heat promoted by ATB-352, and CB2 antagonism reversed only the anti-allodynic effect. While treatment with ATB-352 did not induce gastric lesions and increased gastric mucus levels, which was reversed by the CB1 antagonist, an equimolar dose of KETO promoted gastric damage, being potentiated by CB1 antagonism. KETO and ATB-352 did not alter the exploratory behavior/spontaneous locomotion of the animals. We conclude that the treatment with ATB-352 promotes analgesic efficacy superior to KETO, as well as antioxidant action and gastric safety, via a mechanism dependent on the increase in central and peripheral concentrations of the endocannabinoid anandamide, resulting from the irreversible inhibition of its degradation enzyme, amide fatty acid hydrolase (FAAH), as assessed by ELISA assays and molecular docking, respectively.

Keywords: Endocannabinoid system. Hydrogen sulfide. Analgesia. Gastroprotection. Molecular docking.

1 INTRODUÇÃO

A dor tem como função biológica alertar e proteger o organismo de um dano/risco em potencial, sendo essencial para a sobrevivência. Ao contrário da dor aguda, que fisiologicamente tem caráter adaptativo e de interação com o ambiente, a dor crônica, aquela que perdura por mais de 3 meses, não assume esse papel e não apresenta benefícios evolutivos (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021; NIKOLENKO *et al.*, 2022).

Dentre as doenças mais prevalentes e incapacitantes, segundo o Estudo de Carga de Doença Global (*Global Burden of Disease Study*, ABBAFATI *et al.*, 2020), a dor e as doenças relacionadas são consideradas um dos maiores problemas clínicos, sociais e econômicos do mundo, sendo um dos principais sintomas que força pacientes a procurarem auxílio médico (MILLS; NICOLSON; SMITH, 2019). Quando tratada inadequadamente, a dor acarreta outras complicações, tais como distúrbios de humor, do sono e da realização de tarefas diárias. Coletivamente, essas alterações contribuem para redução da qualidade de vida, e aumentam o risco de morbimortalidade dos pacientes (VELLY; MOHIT, 2018; WANG; MULLALLY, 2020).

De acordo com estudos epidemiológicos (HENSCHKE; KAMPER; MAHER, 2015), mensalmente, pelo menos 60% da população mundial, independentemente de idade e classe social, padece com algum tipo de complicação dolorosa, gerando custos financeiros superiores aos gastos com doenças cardíacas e câncer. Recente força-tarefa do *Department of Health and Human Services* dos Estados Unidos da América - EUA (CHENG; RUTHERFORD; SINGH, 2020), 50 milhões de indivíduos adultos padecem com dor crônica, cujo custo anual supera as cifras de 560 bilhões de dólares (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021).

Condições socioeconômicas e demográficas são fatores determinantes na prevalência da dor (MILLS; NICOLSON; SMITH, 2019). Apesar da escassez de estudos epidemiológicos nos países em desenvolvimento, acredita-se que a dor se faz mais presente nesses, do que em países desenvolvidos (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021). No Brasil, um estudo descritivo (VASCONCELOS; ARAÚJO, 2018) sugere que a incidência da dor crônica em diferentes estados brasileiros varia de 29,3 a 73,3%, dado este reforçado por revisão sistemática em 2021 (AGUIAR *et al.*, 2021). Mais recentemente, uma revisão sistemática e meta-análise trouxe a luz que a prevalência da dor crônica (moderada e intensa) no Brasil é de 35,7% em adultos e a

47,3% em idosos, sendo as regiões sul e sudeste as mais incidentes (SANTIAGO *et al.*, 2023). Fatores como sexo feminino, idade avançada, baixo nível educacional, intensa atividade laboral, sedentarismo e distúrbios de humor destacam-se entre os fatores associados à dor crônica (SANTIAGO *et al.*, 2023). Vale ressaltar que 48,7% dos brasileiros apontaram ineficácia ou pouco efeito na terapia analgésica preconizada (SOUZA *et al.*, 2017), indicando que, no Brasil, a dor crônica representa uma condição de muito sofrimento, incapacitante e negligenciada.

O conceito de dor foi recentemente revisado e definido pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), como “uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada com, ou que se assemelha àquela associada com, dano real ou potencial ao tecido” (RAJA *et al.*, 2020). Atualmente, postula-se um modelo biopsicossocial, onde a dor é compreendida e abordada em termo multidimensional. O componente emocional torna a dor uma experiência subjetiva, sendo este influenciado diretamente por respostas fisiológicas/biológicas, experiências prévias de vida, contexto social e psicológico e, portanto, sendo percebida de diferentes maneiras por cada indivíduo. Por ser uma sensação desagradável, admite-se que determinados estímulos promovem alterações fisiológicas, reconhecidas como fontes potenciais de risco e prejuízo ao nosso organismo (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021). A comunicação verbal da dor é apenas um dos diversos meios comportamentais utilizados por nós para descrevê-la e, apesar de animais não humanos serem incapazes de realizar isso, não podemos descartar que eles também experenciam a dor (RAJA *et al.*, 2020).

1.1 Fisiologia da dor

As alterações fisiológicas causadas por estímulos nocivos decorrem, principalmente, da ativação de neurônios aferentes primários (fibras A δ e C), resultando em processo chamado de “nocicepção” (BALIKI; APKARIAN, 2015). Esses neurônios especializados podem ser classificados de acordo com a velocidade de condução, diâmetro, grau de mielinização, e tipo de estímulo a qual respondem. Em sua grande maioria, são denominados de nociceptores polimodais, pois respondem a estímulos químicos, mecânicos e térmicos (TRACEY, 2017). As fibras A δ , de diâmetro médio, são pouco mielinizadas (velocidade de condução de 5-30 m/s) e respondem a estímulos térmicos na faixa de 43 a 53 °C, enquanto as fibras C, de pequeno diâmetro, são amielinizadas (baixa velocidade de condução, 0,5 a 2 m/s), e respondem à estímulos térmicos em torno de 43 °C (DUBIN; PATAPOUTIAN, 2010; NIKOLENKO *et al.*, 2022). As fibras C podem ainda ser classificadas em “peptidérgicas”, que expressam neuropeptídeos, como o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e a substância P (SP), e as fibras “não-peptidérgicas” (marcadas pela isolectina B4, IB4; e/ou receptor P2X3) (MIDDLETON *et al.*, 2021). Tanto as fibras nociceptivas A δ , quanto as do tipo C, apresentam limiar de ativação elevado e terminações livres na periferia, que inervam a pele, tecidos profundos e órgãos (DUBIN; PATAPOUTIAN, 2010; NIKOLENKO *et al.*, 2022). As fibras A δ são responsáveis pela transdução do sinal nociceptivo mais localizado, intenso e de curta duração, chamado de “dor primária”. Já as fibras C transduzem a “dor secundária”, sendo está mais difusa e prolongada (NIKOLENKO *et al.*, 2022).

Ao que tange a nocicepção cutânea, principalmente decorrente de estímulos mecânicos, estudos recentes demonstram que as terminações nervosas de fibras C estão longe de ser terminações “livres” na periferia (ABDO *et al.*, 2019; STUCKY; MIKESELL, 2021). Até pouco tempo acreditava-se que, enquanto as fibras A δ possuem bainha de mielina sintetizada pelas células de Schwann, as fibras C estavam organizadas em “pacotes de Remak”, onde vários axônios estão envoltos por uma única célula de Schwann (“não mielinizante”). Portanto, as terminações ao passarem pela membrana basal atingindo a epiderme, perdiam a mielina e entravam em contato direto com os queratinócitos. No entanto, sabe-se atualmente que existe um novo tipo de células de Schwann, organizada em “rede/malha” horizontal, entre a derme e a epiderme (ABDO *et al.*, 2019; STUCKY; MIKESELL, 2021). Tais células estão em

contato íntimo com as fibras C, formando uma estrutura envolta de fibrilas de colágeno, as quais penetram junto na epiderme. Essas “células de Schwann nociceptivas” estão sendo consideradas um novo órgão responsável pela detecção de estímulos nocivo mecânico, transferindo o sinal nociceptivo para o terminal da fibra C. Isto leva a compreensão atual que, os queratinócitos juntamente com as células de Schwann e as fibras C representam uma complexa ligação na transdução do sinal doloroso cutâneo (ABDO *et al.*, 2019; STUCKY; MIKESSELL, 2021).

Os nociceptores são pseudounipolares, com corpos celulares localizados no gânglio da raiz dorsal (GRD) e axônios bifurcados que emergem para periferia ou para o corno da raiz dorsal da medula espinal. A transmissão do sinal nociceptivo ocorre a nível central, onde as fibras C penetram no corno dorsal da medula em lâminas superficiais I e II (mais responsivas à estimulação lesiva/nociva), e as fibras do tipo A δ , penetram tanto em lâminas superficiais (II), quanto em profundas (V), mais sensíveis ao toque (MIDDLETON *et al.*, 2021). Nestas regiões ocorrem as primeiras sinapses com os interneurônios (excitatórios, inibitórios, ou neurônios da ampla faixa dinâmica), via liberação de neurotransmissores excitatórios (glutamato) e dos neuropeptídeos, SP e CGRP (BASBAUM *et al.*, 2009; DUBIN; PATAPOUTIAN, 2010; WOLLER *et al.*, 2017).

As fibras nociceptivas ascendem contralateralmente, via sistema anterolateral da medula, para o encéfalo, principalmente pela via espinotalâmica, onde irão alcançar o tálamo, local da segunda sinapse (BASBAUM, 2022). Desse ponto em diante ocorrerá a percepção da dor, onde projeções nervosas atingem áreas sensório-discriminativas, como o córtex somatossensorial primário, e áreas aversivas e emocionais relacionadas a dor, como o córtex cingulado anterior, insula e amígdala (BALIKI; APKARIAN, 2015; FENTON; SHIH; ZOLTON, 2015; KUNER; FLOR, 2016; PEIRS; SEAL, 2016) (Fig. 1).

Os nociceptores expressam diversas classes de canais e receptores capazes de modular respostas frente aos estímulos nocivos e, conseqüentemente, gerar potenciais de ação, que despolarizam a membrana celular e propagam o sinal nociceptivo (GANGADHARAN; KUNER, 2013; GEPETTI *et al.*, 2015; TRACEY, 2017). Nesse contexto, diferentes estímulos lesivos podem ser detectadas por: canais iônicos sensíveis à ácido e prótons (ASIC), receptores (P2Y) ou canais (P2X) de adenosina trifosfato (ATP) e os receptores de potencial transitório (TRPs); calor nocivo: TRPV1 e V2 (vanilóides 1 e 2); frio nocivo: TRPA1 (anquirina 1) e M8

(melastatina 8); ou estímulo mecânico: TRPV1, TRPA1, canais Piezo1 e 2, e canais de potássio dependentes de voltagem ($K_{v1.1}$) e canais de potássio de dois poros (TREK-1, K_{2p}); estímulos químicos: TRPs (GANGADHARAN; KUNER, 2013; JULIUS, 2013; PEIRS; SEAL, 2016; TRACEY, 2017; WOLLER *et al.*, 2017). Em adição, mediadores inflamatórios, como citocinas e derivados lipídicos, por meio da ativação de seus respectivos receptores acoplados à proteína G (GPCR) ou tirosina-quinase (RTK), podem sensibilizar os nociceptores através de respostas intracelulares que culminam na fosforilação de canais TRP ou canais de sódio dependentes de voltagem ($Na_{v1.7-1.9}$), reduzindo assim o limiar de ativação das fibras nervosas e facilitando a geração de potenciais de ação (BARAL; UDIT; CHIU, 2019; COOK *et al.*, 2018; PINHO-RIBEIRO; VERRI; CHIU, 2017) (Fig. 1).

Frente a uma lesão tecidual, mediadores inflamatórios são liberados por células imunes residentes deste tecido ou que são recrutadas até ele (macrófagos, neutrófilos e mastócitos), micróglia, astrócitos e células de Schwann, bem como por neurônios, como pelas terminações nervosas dos aferentes primários, no gânglio da raiz dorsal e no corno dorsal da medula (GONÇALVES DOS SANTOS *et al.*, 2020). A liberação sustentada de mediadores resulta em sensibilização do neurônio de primeira (nociceptor) e segunda ordem, no corno dorsal da medula (GONÇALVES DOS SANTOS *et al.*, 2020).

Por sua vez, a ativação de estruturas supra espinhais, como o hipotálamo e amígdala, leva à estimulação de áreas importantes que modulam o sinal nociceptivo, como as vias descendentes inibitórias da dor (BANNISTER, 2019). A estimulação da substância cinzenta periaquedutal culmina na ativação de neurônios encefalinérgicos do bulbo ventromedial, os quais se projetam por meio da medula e inibem neurônios pré e pós-sinápticos ascendentes no corno dorsal (KUNER; KUNER, 2021). O sistema endocanabinoide (o qual será aprofundado no tópico 1.2) também regula as vias descendentes da dor, bem como ansiedade, medo e estresse, via comunicação substância cinzenta periaquedutal-bulbo ventromedial e gânglio da base, regiões estas com elevada expressão de receptores canabinoides do tipo 1 (CB1) (FINN *et al.*, 2021). Neurotransmissores lipídicos, como anandamida (AEA) e 2-araquidonil glicerol (2-AG), ativam os receptores metabotrópicos (proteína G_i) CB1, levando a inibição da atividade de neurônios pré-sinápticos, como os gabaérgicos (MALDONADO; BAÑOS; CABAÑERO, 2016). Vale ressaltar que os receptores CB1 encontram-se ainda expressos periféricamente em nociceptores e a nível central na

amígdala, a qual ativa a substância cinzenta periaquedutal (KUNER; KUNER, 2021; WOODHAMS *et al.*, 2017).

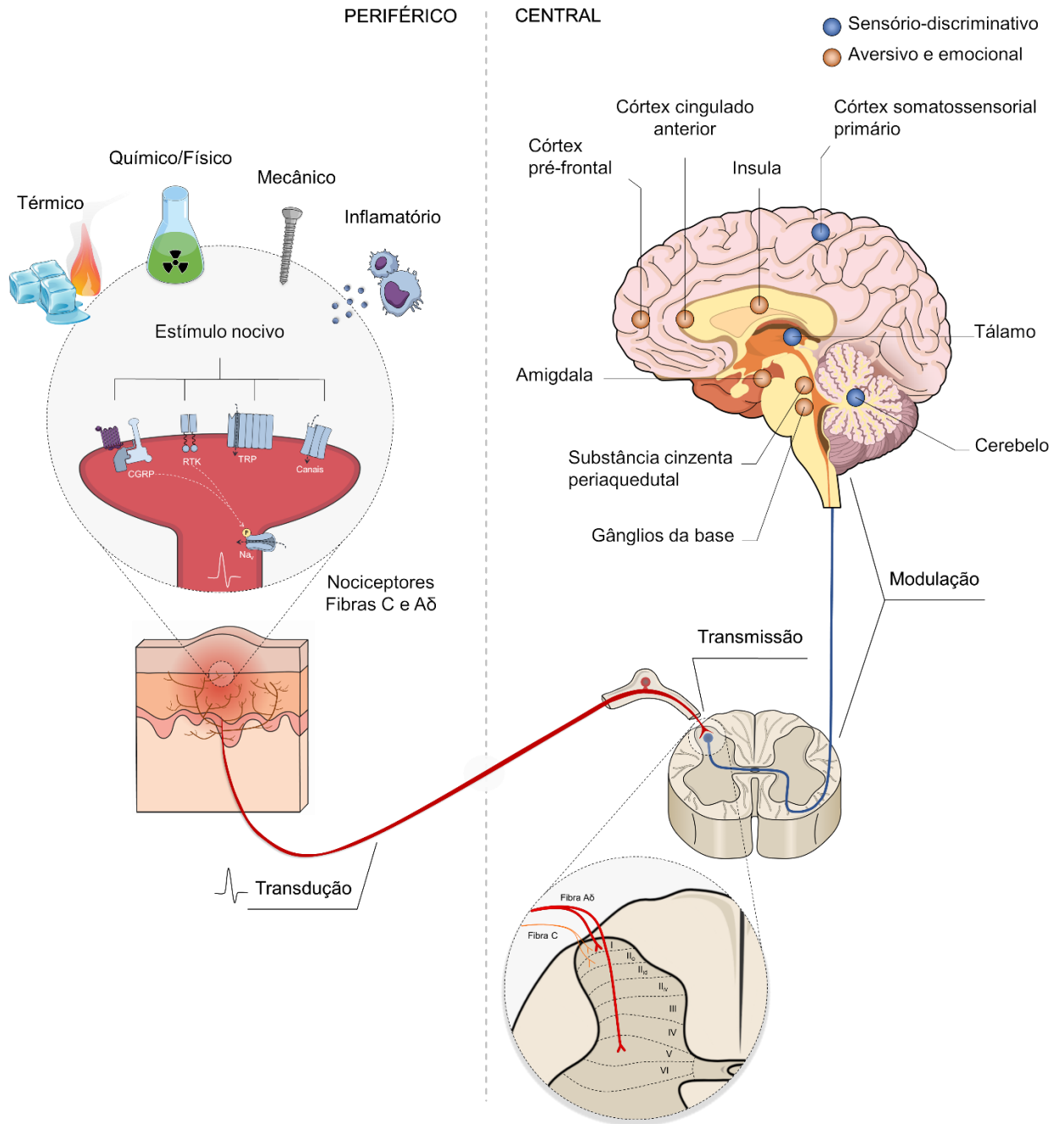


Figura 1 – Esquema ilustrativo do mecanismo da transdução, transmissão, modulação e percepção do estímulo doloroso da periferia até o Sistema Nervoso Central.
Fonte: elaborado pelo autor (2023).

1.2 Sistema endocanabinoide

O sistema endocanabinoide atua de maneira pro-homeostática em diversos sistemas e regula variadas funções do organismo (humor, memória, aprendizado, recompensa, fertilidade, movimento, fome, dor, motilidade gastrointestinal, balanço energético, imunidade etc) (GYIRES; S. ZÁDORI, 2016). Ele é compreendido pelos seus receptores, mediadores endógenos e suas respectivas proteínas de síntese, transporte e degradação. Os receptores CB1 e CB2 são os principais e melhores alvos caracterizados até o momento. Ambos estão acoplados a proteína G inibitória ($G_{i/o}$), a qual inibe a ciclase de adenilil, ativa vias da proteína quinase ativada por mitógeno (*mitogen-activated protein kinase*, MAPK), ativa de canais de potássio (ex.: *inwardly rectifying potassium channels*) e inibe canais de cálcio do tipo N- e P/Q-dependentes de voltagem, e recruta β -arrestina (FINN *et al.*, 2021; SHAHBAZI *et al.*, 2020). Em algumas circunstâncias (ex.: ativação por “ligantes enviesados”), CB1 e CB2 podem ainda estimular a formação de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPC) e acoplar-se à proteína G_s e G_q (IBSEN; CONNOR; GLASS, 2017). Os receptores CB1 podem formar heterodímeros com outros receptores dopaminérgicos (receptor D2) e opioides (receptor delta). Eles estão extensamente expressos no sistema nervoso periférico (SNP) e sistema nervoso central (SNC), fígado, sistema digestório e pele. É importante mencionar que os receptores CB1 desempenham papel importante na neurotransmissão inibindo a liberação de neurotransmissores, uma vez que estão presentes em grande parte nas terminações pré-sinápticas dos neurônios e interneurônios, principalmente de fibras gabaérgicas, serotoninérgicas e colinérgicas (FINN *et al.*, 2021; SHAHBAZI *et al.*, 2020). Por sua vez, os receptores CB2 estão primariamente expressos em células do sistema imune, incluindo micróglia, entretanto, apesar de ainda ser muito debatido, sob condições patológicas também podem ser expressos em neurônios. De maneira geral, ativação CB2 está associada a efeitos anti-inflamatórios e imunomoduladores, reduzindo a liberação de citocinas, por exemplo (FINN *et al.*, 2021; SHAHBAZI *et al.*, 2020).

Endogenamente, os mediadores canabinoide mais estudados são a AEA e a 2-AG e, apesar das similaridades estruturais, esses dois derivados lipídicos são sintetizados e degradados por vias metabólicas diferentes. A via canônica de síntese da AEA ocorre a partir da hidrólise do fosfolipídio de membrana N-araquidonoil fosfatidiletanolamina (NAPE) pela NAPE-fosfolipase D (LU; MACKIE, 2021;

SCHURMAN *et al.*, 2020). Já a via canônica de síntese de 2-AG ocorre primeiramente com a remoção do inositol trifosfato (IP3) do fosfatidil inositol bifosfato (PIP2), seguido da remoção do grupo acil da molécula pela enzima diacilglicerol (DAG) lipase (LU; MACKIE, 2021). 2-AG apresenta-se no cérebro em concentrações 170 vezes maiores que AEA. Enquanto a 2-AG é agonista total e apresenta maior afinidade pelo receptor CB2, a AEA é agonista parcial e apresenta maior afinidade pelo receptor CB1 (MARCUS; SCHECHTER, 2016; SHAHBAZI *et al.*, 2020). Além disso, vale ressaltar que a AEA é agonista total de TRPV1, e que sua ativação prolongada leva a dessensibilização da fibra (VUČKOVIĆ *et al.*, 2018).

Os mediadores endocanabinoide se diferenciam de outros neurotransmissores por diversos fatores. Primeiramente, eles são produzidos “sob demanda” a partir da clivagem de seus precursores da membrana de células neurais e não-neurais, como do sistema imune, em resposta a uma injúria tecidual (inflamação) ou sinalização nociceptiva, não sendo, portanto, armazenados em vesículas (LU; MACKIE, 2021). Apesar de apresentarem tempo de meia-vida extremamente curto (>5 min), são liberados em um espaço temporal muito preciso e geralmente atuam de maneira retrograda, funcionando como um neuromodulador, controlando a liberação de outros neurotransmissores (LU; MACKIE, 2021; SCHURMAN *et al.*, 2020). Além disso, podem atuar hiperpolarizando a membrana de neurônios através de canais iônicos mencionados anteriormente, desempenhando importante papel na neuroplasticidade (LU; MACKIE, 2021). Vale ressaltar que, devido sua característica hidrofílica, o transporte entre membranas, bem como entre as sinapses, requer transportadores específicos (LU; MACKIE, 2021; SCHURMAN *et al.*, 2020).

Por fim, após desempenharem seus efeitos, AEA e 2-AG são rapidamente hidrolisadas pelas enzimas amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH) e monoacilglicerol lipase (MAGL), respectivamente, gerando outros derivados lipídicos, como o ácido araquidônico (AA), o qual serve de substrato para as enzimas ciclooxigenase-2 (COX-2) e consequente síntese de prostaglandinas (PGs) (LU; MACKIE, 2021; SCHURMAN *et al.*, 2020).

O intercâmbio de substratos e metabólitos do sistema prostanoide e endocanabinoide pode ainda levar a oxidação de AEA e 2-AG pela enzima COX-2, gerando respectivamente ésteres de glicerol de prostaglandina (PG-Gs) e prostaglandina etanolamidas (PG-EAs), as quais são notavelmente pro-algésicas e inflamatórias (BUISSERET *et al.*, 2019). Mais adiante, a hidrólise de PG-Gs e PG-EAs

leva também a formação de PGs (BUISSERET *et al.*, 2019). Outras vias de metabolização relevantes dos endocanabinoide ocorrem através da oxidação por lipoxigenases (LOX) e citocromo P450 (URQUHART; NICOLAOU; WOODWARD, 2015).

O sistema canabinoide endógeno participa ativamente da modulação e controle de vias ascendentes e descendentes da dor, correndo em paralelo com o sistema opioide, por exemplo (FINN *et al.*, 2021; WOODHAMS *et al.*, 2017). Sabidamente a ativação CB1 em terminações nervosas de nociceptores, bem como no corno dorsal da medula espinal, é responsável pela promoção de analgesia em diversos modelos de dor aguda, crônica, inflamatória e neuropática (WOODHAMS *et al.*, 2015). Da mesma maneira, ativação de CB2 também é responsável por efeitos antinociceptivos, apesar de estar mais ligado a efeitos anti-inflamatórios (WOODHAMS *et al.*, 2015).

Devido os mediadores endógenos (AEA e 2-AG) apresentarem vida curta, a manipulação do sistema endocanabinoide através do desenvolvimento de agonistas em moduladores alostéricos dos receptores CB1 e CB2, bem como inibidores das enzimas de degradação dos mediadores endógenos, apontam para potenciais alvos farmacológicos no desenvolvimento de moléculas analgésicas e anti-inflamatórias (BUISSERET *et al.*, 2019; FINN *et al.*, 2021; WOODHAMS *et al.*, 2017). Em adição, o *cross-talking* entre o metabolismo das prostaglandinas e endocanabinoide revela ainda o potencial de inibidores das enzimas COX elevarem níveis séricos e teciduais de AEA, por exemplo (BUISSERET *et al.*, 2019). Estudos demonstram que isômeros R do ibuprofeno, naproxeno e flurbiprofeno (“R-profenos”) inibem a oxidação de AA e 2-AG pela COX-2, mantendo o tônus endocanabinoide (DUGGAN *et al.*, 2011), e ainda o bloqueio duplo da FAAH/COX-2 pode oferecer maior proteção gastrointestinal (SASSO *et al.*, 2015). Portanto, o desenvolvimento de moléculas com foco neste sistema e que apresentem efeito analgésico e anti-inflamatório superior às alternativas terapêuticas atuais, com mínimos ou nenhum efeito canabimimético, são desejados.

1.3 Dor pós-operatória e o seu manejo farmacológico

Existe ampla variedade de condições dolorosas e, para as quais, o manejo e o controle da dor demandam mais atenção. Importaneamente, a dor aguda, se não tratada adequadamente, tende a evoluir para dor crônica, além de aumentar os riscos de mortalidade e morbidade (GAN, 2017; LOVICH-SAPOLA; SMITH; BRANDT, 2015).

Pelo menos três classificações básicas de dor são descritas: 1) nociceptiva: resultante da atividade neural (ativação dos nociceptores) secundária ao dano tecidual (não-neuronal) real ou eminente; 2) neuropática: dano ou doença do sistema nervoso somatossensorial (ex.: neuropatia diabética); 3) nociplástica: resultante de um processo nociceptivo anormal, sem qualquer evidência de lesão tecidual ou no sistema somatossensorial (ex.: fibromialgia) (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021).

Entretanto, muitas condições dolorosas se enquadram em mais de uma classificação, uma vez que apresentam uma combinação de fenômenos (nociceptivos e neuropáticos), sendo, portanto, chamadas de “dor mista” (TROUVIN; PERROT, 2019). Apesar da ausência deste conceito na taxonomia da IASP, essa denominação vem sendo, nos últimos 20 anos, consolidada e cada vez mais reconhecida entre clínicos e pesquisadores (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021; TROUVIN; PERROT, 2019). Nesse contexto, podemos mencionar a dor pós-operatória, a qual desponta como um dos principais problemas da atualidade. Ela acomete elevado número de pacientes submetidos à intervenção cirúrgica superficial e invasiva que, de forma pouco controlada são submetidos ao tratamento com opioides, levando ao risco de desencadeamento de dependência química (KEHLET, 2018)

Nos EUA, por exemplo, em torno de 80% dos casos pós-cirúrgicos a prescrição de opioides é recomendada, sendo que 6% deles continuam a usá-los mesmo após resolução do quadro clínico, por um período superior a 90 dias (BRUMMETT *et al.*, 2017; HARBAUGH *et al.*, 2018). Tal prática tem contribuído para estimular ou intensificar a dependência química nesses indivíduos. De fato, estudo retrospectivo demonstrou que, durante os 3 primeiros meses pós-cirúrgicos, 69 % das prescrições de opioides foram realizadas por médicos cirurgiões, enquanto médicos de cuidado primário continuam receitando opioides em 53 % dos casos, mesmo após 9 ou 12 meses pós cirurgia (KLUEH *et al.*, 2018). Esses achados reforçam que o emprego inadvertido de opioides existe, particularmente nos EUA, onde a crise de dependência

opioide foi decretada, elevando também o risco de efeitos adversos (náusea, constipação, depressão respiratória) e morte (RAWAL, 2016; WU; RAJA, 2011).

De fato, desde a década de 90, as prescrições de opioides quadruplicaram nos EUA em relação ao período anterior. Oxycodona e hidrocodona representam dois dos principais opioides prescritos para analgesia da dor pós-operatória e, por isto, destacam-se como os principais envolvidos nos óbitos por overdose (RUDD *et al.*, 2016; ZHAO-FLEMING *et al.*, 2018). Estima-se que as mortes por overdose triplicaram e já representam 68 % dos casos de overdose medicamentosa (HILL *et al.*, 2017; VADIVELU *et al.*, 2018). Em 2020, os EUA reportaram 68 mil mortes por overdose de opioides (MULLACHERY; LIMA-COSTA; DE LOYOLA FILHO, 2023). O Canada reportou aproximadamente 4.000 mortes por overdose de opioides em 2017, e a Europa 8.200 em 2019 (AYOO *et al.*, 2020). Associado ao uso abusivo dos opioides, destaca-se o enorme dispêndio (150 bilhões de dólares por ano) aos cofres dos sistemas de saúde com os tratamentos de dependência e efeitos adversos graves e, também, ações criminal e judicial decorrentes dos acidentes fatais (AYOO *et al.*, 2020; FLORENCE *et al.*, 2016; UPP; WALJEE, 2020; ZHAO-FLEMING *et al.*, 2018).

A partir dos anos 2000, o consumo mundial de opioides aumentou 250%, sendo que a América do Norte, Europa e Oceania, respondem por 80 – 90% desse consumo. Em 2019 foram relatadas 109.500 obtidos atribuídos ao uso abusivo de opioides no mundo (MAIA; DALDEGAN-BUENO; FISCHER, 2021). Apesar destes números alarmantes, o consumo de opioides da população da América Latina representa apenas 2% do total. (MAIA; DALDEGAN-BUENO; FISCHER, 2021). No Brasil, por exemplo, estudos recentes apontam que apesar do incremento (3 vezes maior) no consumo de opioides entre os anos de 2000 a 2018, esse ainda permanece bem abaixo da média mundial, representando apenas 1,7 % das prescrições (98% dos casos sendo a codeína) para tratamento de dor, contra 71 % e 26 % de prescrições de analgésicos não-opioides e AINEs, respectivamente (DAL PIZZOL *et al.*, 2019; MAIA; DALDEGAN-BUENO; FISCHER, 2021; MULLACHERY; LIMA-COSTA; DE LOYOLA FILHO, 2023). No Brasil, opioides são prescritos majoritariamente em quadros oncológicos, de dor crônica e para procedimentos odontológicos (DAL PIZZOL *et al.*, 2019; MAIA; DALDEGAN-BUENO; FISCHER, 2021; MULLACHERY; LIMA-COSTA; DE LOYOLA FILHO, 2023).

É fato que o procedimento cirúrgico consiste em um serviço crítico de saúde pública, que geralmente se faz necessário para reduzir o risco de morte ou

incapacidade. Estima-se que mais de 320 milhões de cirurgias são realizadas anualmente em todo o mundo (MEARA *et al.*, 2016; POGATZKI-ZAHN; SEGELCKE; SCHUG, 2017; POGATZKI-ZAHN; SEGELCKE; ZAHN, 2018) e, naturalmente, a dor é uma consequência normal e frequente, podendo acometer 80% dos pacientes. Pelo menos 75% dos casos reportados de dor pós-operatória são avaliados como dor moderada ou de grave intensidade (GAN, 2017; GAN *et al.*, 2014). A ausência de controle analgésico e inflamatório eficaz e satisfatório, causa incapacitação e complicações que prorrogam a internação hospitalar, culminando em maior dispêndio financeiro e impacto negativo na qualidade de vida do paciente (KEHLET, 2018; LOVICH-SAPOLA; SMITH; BRANDT, 2015).

Como mencionado anteriormente, a dor pós-operatória é caracterizada como aguda e complexa (“dor mista”), associada ao um intenso processo inflamatório com lesões em nervos periféricos, que variam de acordo com a área e extensão cirúrgica, bem como dos traumas teciduais gerados (POGATZKI-ZAHN; SEGELCKE; SCHUG, 2017; POGATZKI-ZAHN; SEGELCKE; ZAHN, 2018). Resultante da sensibilização periférica e central, este processo induz dor espontânea (repouso), alodinia (dor induzida por um estímulo inócuo), ou hiperalgesia (dor exacerbada por um estímulo nocivo), tanto no local da incisão, quanto em regiões secundárias próximas da lesão (BRENNAN, 2011; BRENNAN; ZAHN; POGATZKI-ZAHN, 2005).

A sensibilização periférica em fibras aferentes primárias (C e A δ) decorrem, em grande parte, da resposta inflamatória resultante do trauma mecânico promovido pelo procedimento cirúrgico, sendo orquestrada pelo infiltrado de células inflamatórias (neutrófilos e macrófagos), com subsequente síntese e liberação de mediadores pró-inflamatórios, como prostaglandina E₂ (PGE₂), citocinas (caspase-1/ interleucina-1 β [IL-1 β] e o fator de necrose tumoral- α [TNF- α]) e neurotrofinas (NGF) (CARVALHO; CLARK; ANGST, 2008; LIANG *et al.*, 2010; SAHBAIE *et al.*, 2012; SPOFFORD; BRENNAN, 2012; SUN *et al.*, 2015; ZAHN, 2004). A degranulação mecânica de mastócitos no sítio operado resulta na liberação de mediadores inflamatórios, como as aminas (histamina, serotonina) e triptases, que atuam sobre seus respectivos receptores, podendo amplificar a resposta inflamatória (ativação do receptor histaminérgico 1, serotoninérgico e de protease-2, PAR-2) (OLIVEIRA; SILVA; FERREIRA, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Em termo moleculares, duas vias estão intrinsecamente relacionadas à indução da sensibilização periférica dos nociceptores, a saber: 1) via de sinalização

dependente da MAPK p38 no GRD ativada por TNF- α (YAMAKITA *et al.*, 2017); e 2) via de proteínas quinases reguladas por estímulos extracelulares 1/2 (*extracellular signal-regulated kinase*, ERK-1/2) no GRD e células satélites gliais (YAMAKITA *et al.*, 2018).

O mecanismo de sensibilização periférica pode ser fortemente influenciado pela extensão e profundidade dos procedimentos cirúrgicos, os quais podem lesionar os músculos, além de tecidos superficiais (pele) e terminações nervosas (XU; BRENNAN, 2010). Ademais, o processo inflamatório decorrente da lesão na pele e nos músculos promove redução do pH (~pH 6,8), aumento das concentrações de lactato e redução da tensão de O₂ (pO₂ - hipóxia), caracterizando um mecanismo “tipo isquêmico” (KANG *et al.*, 2013; KIM *et al.*, 2007; WOO *et al.*, 2004). O ácido (H⁺) e o lactato presentes no meio são capazes de ativar canais ASIC em fibras C, que inervam os músculos. A sensibilização dessas fibras se manifesta principalmente como dor espontânea (não-evocada) (KIDO *et al.*, 2013). De maneira semelhante, o estresse oxidativo gerado no músculo após procedimento, induz intensa produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), os quais ativam canais TRPA1 em fibras nociceptivas, deflagrando assim a dor espontânea (SUGIYAMA; KANG; BRENNAN, 2017). De maneira semelhante, o infiltrado de células imunes contribuem para o processo denominado de “explosão respiratória ou oxidativa” no tecido inflamado, onde a geração excessiva tanto de EROS (radical superóxido [O₂[•]], radical hidroxila [HO[•]], H₂O₂ e ácido hipocloroso [HOCl]), quanto espécies reativas de nitrogênio (ERN: radical óxido nítrico [[•]NO] e peroxinitrito [ONOO⁻]) promovem danos em lipídeos e proteínas, além de desequilíbrio no sistema antioxidante enzimático endógeno (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e não enzimático (glutathione reduzida) (AL-SHEHRI, 2021; DIAS *et al.*, 2020). Por sua vez, a sensibilização central decorre da ativação de receptores alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico (AMPA), especificamente via fosforilação da subunidade GluR1 pela fosfolipase C gama (PLC γ), e independentemente dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) (WANG *et al.*, 2013; ZAHN; POGATZKI-ZAHN; BRENNAN, 2005).

No tocante ao sistema endocanabinoide, é de conhecimento que a redução da síntese e liberação de AEA e o bloqueio dos receptores CB1 e CB2 em neurônios espinhais pré-sinápticos e células gliais (astrócitos e micróglia), respectivamente, representam alguns dos mecanismos envolvidos na manutenção da dor,

neuroinflamação e atraso da recuperação em quadros pós-cirúrgicos (ALKAITIS *et al.*, 2010; ROMERO-SANDOVAL; EISENACH, 2007). Estudos clínicos demonstram que pacientes portadores de microdeleção do gene ou polimorfismo de nucleotídeo único na enzima FAAH, que resulta na perda de função ou menor atividade enzimática, estão associados a menor sensibilidade (ou insensibilidade) a dor, bem como menor consumo de opioides e maior concentração circulante de endocanabinoides em pacientes pós-cirúrgicos (CAJANUS *et al.*, 2016; HABIB *et al.*, 2019). Esses achados mostram que a enzima FAAH representa um importante alvo farmacológico no tratamento da dor pós-operatória.

Recentemente, um guia básico baseado em evidências clínicas foi elaborado pelas Associações Americanas, *American Pain Society* e *American Society of Anesthesiologists*, com o intuito de auxiliar no manejo terapêutico da dor pós-operatória (CHOU *et al.*, 2016). Preconiza-se intervenção analgesia multimodal (elevada qualidade de evidência clínica), ou seja, emprego de fármacos com mecanismos de ação diferentes, com ações sobre o SNP e SNC, podendo também ser combinada com técnicas não-farmacológicas. Essa intervenção promove analgesia eficaz e superior, reduz o aporte de opioides (“*opioid-sparing effect*”) e o tempo de recuperação/internamento, evitando assim a cronificação da dor (reduz sensibilização periférica e central) (CHOU *et al.*, 2016; GABRIEL *et al.*, 2019; GLARE; AUBREY; MYLES, 2019; POGATZKI-ZAHN; SEGELCKE; SCHUG, 2017).

Dentre os fármacos listados, destacam-se: analgésicos (paracetamol) e anti-inflamatórios não esteroides (AINEs, celecoxibe, naproxeno); corticosteroides (dexametasona); agonista α_2 adrenérgicos (clonidina e dexmedetomidina); antagonistas de receptores NMDA (cetamina); anestésicos locais (lidocaína); anestesia neuroaxial (ex.: epidural) ou regional com bloqueadores de nervos periféricos; e anticonvulsivantes ligantes da subunidade $\alpha_2\delta$ de canais de cálcio (gabapentina e pregabalina) (CHOU *et al.*, 2016). A analgesia multimodal pode ser iniciada no intervalo pré-operatório (analgesia preemptiva), durante a cirurgia (intraoperatória), e continuada, que consiste no período pós-operatório (CHOU *et al.*, 2016; GABRIEL *et al.*, 2019) (Fig. 2).

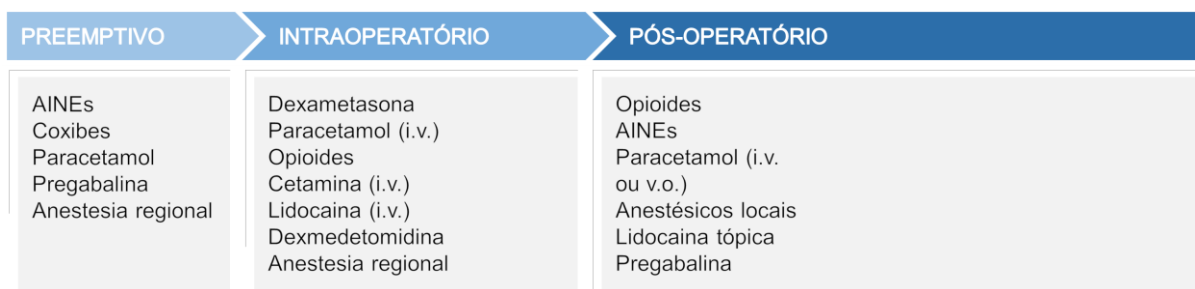


Figura 2 – Esquema ilustrativo dos medicamentos utilizados na analgesia multimodal.
 Fonte: elaborado pelo autor (2023).

Devido à ação rápida e eficácia elevada, o emprego de opioides continua sendo frequente, somado ao fato de diferentes tipos de formas farmacêuticas se encontram disponíveis. Entretanto, eles possuem janela terapêutica estreita e, conseqüentemente, a manutenção entre o controle efetivo da dor e os graves efeitos adversos desta classe são comuns, sendo muitas vezes o paciente submetido ao risco de subterapia analgésica e instalação da dor persistente e hiperalgesia (CHAPARRO *et al.*, 2013; GLARE; AUBREY; MYLES, 2019; WU; RAJA, 2011).

Parcela inferior a 50 % dos pacientes relata analgesia satisfatória e em torno de 10 a 50 % relatam dor após um mês da cirurgia, sendo que 2 a 10 % destes evoluem para dor crônica grave, a qual perdura por mais de 3 meses (APFELBAUM *et al.*, 2003; GAN, 2017; GAN *et al.*, 2014; GLARE; AUBREY; MYLES, 2019; LAVAND’HOMME, 2017; LOVICH-SAPOLA; SMITH; BRANDT, 2015; RAWAL, 2016). Desta feita, a falta de uma terapia analgésica e anti-inflamatória eficiente e segura, somada ao risco de dependência aos opioides, acabam por justificar a busca por novas opções terapêuticas mais eficazes e seguras.

Apesar das limitações que envolvem modelos experimentais de dor, como a avaliação do componente emocional, existem diversos modelos animais que mimetizam a dor pós-cirúrgica, sendo o mais utilizado o modelo de cirurgia de incisão plantar (CIP, descrito na sequência) (POGATZKI-ZAHN; SEGELCKE; SCHUG, 2017; POGATZKI-ZAHN; SEGELCKE; ZAHN, 2018). Podendo ser realizado tanto em ratos (BRENNAN; VANDERMEULEN; GEBHART, 1996), quanto em camundongos (POGATZKI; RAJA, 2003), o modelo de dor pós operatória é caracterizado pela indução de alodinia mecânica, hiperalgesia térmica ao calor e comportamentos de guarda (dor não-evocada/espontânea), os quais perduram por uma semana após a indução da CIP. Através de estudos não-clínicos utilizando modelos experimentais de dor, como a CIP, é possível descrever melhor os seus mecanismos fisiopatológicos,

além de auxiliarem na descoberta de novos fármacos mais eficazes e seguros para o seu tratamento.

Estudos voltados a novos alvos terapêuticos para o controle da dor pós-operatória são necessários, e dados da literatura vem demonstrando que doadores do sulfeto de hidrogênio (H₂S), um novo transmissor endógeno, se apresentam como analgésicos e anti-inflamatórios eficazes (GUO; LI; YANG, 2020). Outras respostas sensitivas, como o prurido agudo e crônico também são suprimidas pelo H₂S (COAVOY-SÁNCHEZ *et al.*, 2016; COAVOY-SÁNCHEZ; COSTA; MUSCARÁ, 2020; EKUNDI-VALENTIM *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2017).

1.4 Síntese e biologia do sulfeto de hidrogênio (H₂S)

O H₂S é um gás incolor, inflamável e com odor característico de ovo podre. Produzido naturalmente em atividades vulcânicas, gás natural, fontes de águas termais (sulfurosas) e decomposição da matéria orgânica por bactérias anaeróbicas (AROCA *et al.*, 2020; REIFFENSTEIN; HULBERT; ROTH, 1992).

O H₂S foi considerado por muito tempo exclusivamente como um gás tóxico e poluente ambiental, estando associado a casos de envenenamento de trabalhadores durante exposição ocupacional em indústrias de refinaria do petróleo, têxtil, celulose e cerâmica, além de estações de tratamento de esgoto e reciclagem de lixo. Concentrações elevadas desse gás (20 – 50 ppm) causam tontura, fadiga e cefaleia, podendo ser fatal em concentrações maiores que 500 ppm (AROCA *et al.*, 2020; REIFFENSTEIN; HULBERT; ROTH, 1992). Atribui-se aos efeitos tóxicos do H₂S, a inibição do citocromo C oxidase que impede a cadeia respiratória (transporte de elétrons) mitocondrial e a consequente formação de ATP (SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2017).

No início da década de 80, o H₂S passou a ser conhecido sob outra perspectiva, quando demonstraram sua produção endógena em mamíferos (BINKLEY; DU VIGNEAUD, 1942; STIPANUK; BECK, 1982). Importante descoberta sobre o papel neuromodulador desse gás ocorreu quase 15 anos após (ABE; KIMURA, 1996). Desde então, a participação do H₂S em processos fisiopatológicos vem sendo demonstrada em diversos sistemas: renal, circulatório, SNC e SNP, digestório, reprodutor e respiratório (AROCA *et al.*, 2020; CIRINO; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2023), passando a ser considerado um terceiro

“gasotransmissor”, juntamente com o óxido nítrico (NO) e monóxido de carbono (CO) (WANG, 2002). Fisiologicamente, o H₂S desempenha funções importantes no controle do tônus e pressão vascular (vasodilatação), modulação e neurotransmissão, citoproteção (antioxidante), angiogênese e apoptose, metabolismo energético e funções mitocondriais, dor, inflamação, dentre outras (AROCA *et al.*, 2020; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2017; WALLACE; WANG, 2015).

Por se tratar de um ácido fraco (pKa de 6,76 a 37 °C), o H₂S é encontrado em dois estados de dissociação: ânion hidrossulfeto (HS⁻, pKa 7,04) e o ânion sulfeto (S²⁻, pKa 11,96), pela reação: $H_2S \rightleftharpoons H^+ + HS^- \rightleftharpoons 2H^+ + S^{2-}$. Em pH 7,4 (fisiológico) a 37 °C, ~20 % do H₂S encontra-se na sua forma não dissociada, e ~80% na forma dissociada (HS⁻) (OLSON; STRAUB, 2016; POWELL; DILLON; MATSON, 2018). Devido seu caráter lipofílico e baixo peso molecular, o H₂S atravessa facilmente membranas biológicas (CAO *et al.*, 2019; CIRINO; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2023; ZAORSKA *et al.*, 2020).

Até o presente momento sabe-se que o H₂S é produzido por células e tecidos de mamíferos, via ação de três principais etapas enzimáticas: predominantemente cistationina β-sintase (CBS), cistationina γ-liase (CSE) e 3-mercaptopiruvato sulfurtransferase (3-MPST). De menor relevância, a produção do H₂S também ocorre independentemente de vias enzimática e, também, parte do H₂S é produzida pela microbiota intestinal no cólon (CAO *et al.*, 2019). A produção de H₂S pela via não enzimática requer agentes redutores, como o NADH e NADPH, obtidos da glicólise. Nessa via, o enxofre elementar, tiosulfato (S₂O₃²⁻), sulfito (SO₃²⁻), polissulfetos (RS_nR, ou H₂S_n) e tiocisteína podem ser reduzidos pela glutathiona (GSH-GSSG) (CAO *et al.*, 2019).

Na geração do H₂S dependente da CSE e CBS, ambas enzimas usam a L-cisteína e a vitamina B₆ (5'-fosfato pirodoxal) como substrato e cofator, respectivamente, e fazem parte da via da transulfuração. A L-cisteína é um aminoácido obtido na dieta ou por meio de uma reação de condensação de serina com homocisteína através da CBS, gerando cistationina, a qual pode ser convertida para cisteína, amônia (NH₃) e α-cetobutarato via hidrólise pela CSE. Outra via de síntese se dá por meio da conversão L-cisteína e α-cetoglutarato, em 3-mercaptopiruvato (3MP), pela ação da cisteína aminotransferase (CAT) e, subsequentemente, ocorre a conversão do 3MP em H₂S pela ação da 3-MPST, uma enzima que contém zinco e pertence à família das sulfurtransferase. Alternativamente,

3MP pode ser obtido a partir de D-cisteína pela ação da D-amino-oxidase (DAO) e, subsequentemente, o H₂S via ação enzimática da 3-MPST (CAO *et al.*, 2019; WANG, 2012) (Fig. 3). Vale ressaltar que a via da 3-MPST é dependente de agentes redutores ou de enzimas como a tioredoxina (TRx) (CIRINO; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2023).

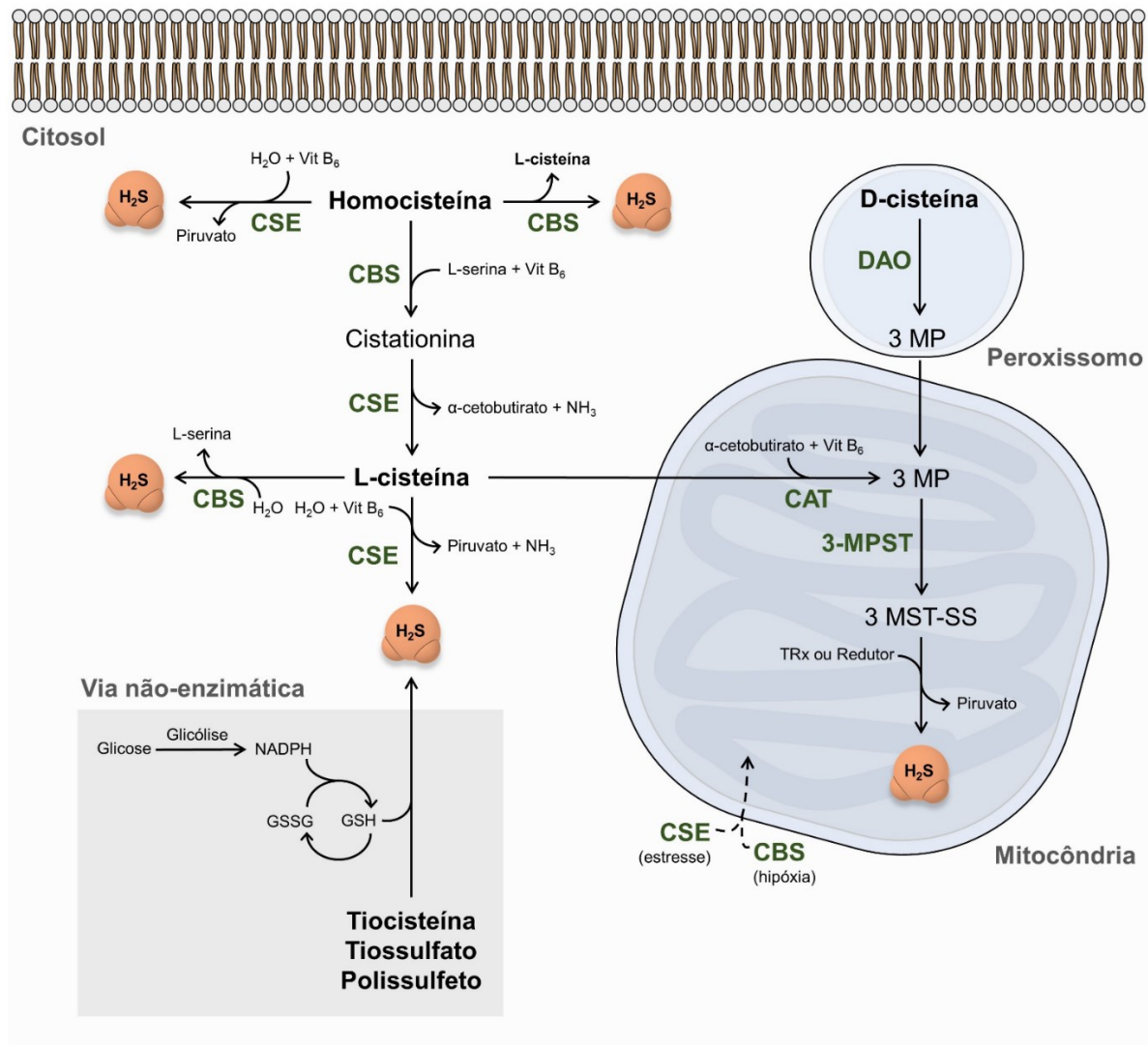


Figura 3 – Esquema ilustrativo das vias de síntese do H₂S. Cistationina-γ-liase (CSE); Cistationina-β-sintase (CBS); 3-mercaptopiruvato sulfurtransferase (3-MPST); D-amino-oxidase (DAO); Cisteína aminotransferase (CAT).

Fonte: elaborado pelo autor (2023).

As enzimas envolvidas na síntese endógena do H₂S estão amplamente expressas e distribuídas em diversos tecidos. A CBS apresenta expressão predominante no SNC (hipocampo, cerebelo, córtex e tronco cerebral), mas também é encontrada em rins, fígado, músculos esqueléticos trato gastrointestinal (TGI) (POWELL; DILLON; MATSON, 2018; WALLACE; WANG, 2015; WANG, 2012). A CSE apresenta elevada expressão no sistema cardiovascular (aorta, artéria mesentérica, veia porta) e respiratório (pulmões), sendo encontrada também no pâncreas, estômago, intestino, placenta, fígado e rins (POWELL; DILLON; MATSON, 2018; WANG, 2012). Por sua vez, a 3-MPST é altamente expressa em todas as células e tecidos, estando mais presente no SNC, coração, endotélio vascular e músculo liso, fígado e rins, e menos expressa no timo, baço, pulmão e intestino (CIRINO; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2023; POWELL; DILLON; MATSON, 2018; WANG, 2012). As 3 principais enzimas estão localizadas no citosol e nas mitocôndrias das células. Em condições fisiológicas, CSE e CBS são mais expressas no citosol, enquanto a 3-MPST nas mitocôndrias. Na vigência de fatores estressantes, como aumento do cálcio intracelular ou hipóxia, as enzimas CSE e CBS podem ser translocadas para a mitocôndria (CAO *et al.*, 2019; CIRINO; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2023; WALLACE; WANG, 2015) (Fig. 3).

Em mamíferos, as concentrações fisiológicas do H₂S podem variar de acordo com o material biológico, bem como pela técnica utilizada para sua detecção (ex.: colorimétrica usando azul de metileno, eletrodos íon-seletivos ou polarográficos, cromatografia gasosa etc.). Postula-se que as concentrações basais de H₂S estão na faixa nano e micromolar (15 nM - 300 µM) (AROCA *et al.*, 2020; KIMURA, 2017; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2017; WALLACE; WANG, 2015; ZAORSKA *et al.*, 2020), sendo que a liberação do H₂S pode ocorrer imediatamente das células ou de “estoques”, via dois mecanismos: 1) ligações de enxofre sulfano (ex: polissulfetos, persulfato, tiosulfato e enxofre elementar no citosol), em condições redutoras; ou 2) ácido-lábil enxofre (ex.: aglomerados ferro-enxofre e persulfetos na mitocôndria), em condições ácidas (WANG, 2012).

A metabolização do H₂S ocorre por oxidação na mitocôndria pela sulfeto-quinona redutase ou via metilação, pela S-metiltransferase, no citosol das células. No plasma, o H₂S pode reagir com a meta-hemoglobina, gerando sulfhemoglobina. O H₂S, sulfato, sulfeto e tiosulfeto e demais metabólitos são excretados pelo rim na urina ou ainda pelos pulmões durante a expiração (WALLACE; WANG, 2015).

O H₂S não apresenta uma única “via” de sinalização ou “receptor” no qual irá atuar para desempenhar seus efeitos fisiológicos e farmacológicos (Fig. 4). A capacidade de atravessar livremente as membranas permite que o H₂S, sintetizado por uma única célula, atinja mais de 200 células vizinhas (CIRINO; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2023; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2017). Pelo menos três mecanismos podem ilustrar os efeitos do H₂S: 1) interação direta ou redução de centros metálicos de proteínas, como a porção heme do citocromo C oxidase, hemoglobina, mioglobina e mieloperoxidase (MPO) (Fig. 4A); 2) ação antioxidante pelo sequestro de EROs e ERNs, indução da síntese de glutathione (GSH), translocação do fator de transcrição nuclear eritróide 2 (Nrf2) para o núcleo, o qual levaria ao aumento da expressão e atividade das enzimas antioxidantes (Fig. 4B), como o a heme oxigenase-1 (HO-1), superóxido dismutase (SOD) e TRx e, 3) modificações pós-traducionais por meio de S-persulfidação (do inglês, “S-persulfidation”) de proteínas, onde um grupamento tiol (-SH) de uma cisteína reativa é modificado para um grupamento persulfeto (-SSH) (Fig. 4C) (AROCHA *et al.*, 2020; CIRINO; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2023; KIMURA, 2013; OLAS, 2017). Este último mecanismo gera alterações conformacionais em proteínas alvo e, conseqüentemente, altera sua atividade, sendo considerado a principal via de atuação do H₂S (KIMURA, 2017). Entretanto, estudos recentes mostraram que devido ao estado de oxidação do H₂S e da cisteína serem iguais, parece ser pouco provável do H₂S sulfurar este resíduo. Polissulfetos (H₂S_n), sintetizados pela via enzimática de 3-MPST, são mais nucleofílicos que o H₂S, apresentando estado de oxidação diferente da cisteína e, portanto, sendo um mecanismo mais plausível para a S-persulfidação (KIMURA, 2017, 2020). Por outro lado, em estados inflamatórios e de estresse oxidativo, mais de 40 % dos resíduos de cisteína se encontram oxidados e nitrosilados (-SOH ou -SNO), condição esta que favorece a S-persulfidação pelo H₂S (KIMURA, 2020, 2021). Como exemplos de regulação por S-persulfidação, estão a abertura de canais de potássio sensíveis a ATP (K_{ATP}) (MUSTAFA *et al.*, 2011), S-sulfidação da proteína 1 associada a ECH semelhante a Kelch (Keap1), que facilita sua dissociação do fator Nrf2 (YANG *et al.*, 2013), inibição do fator nuclear-κB (NF-κB) por meio da subunidade p65 (SEN *et al.*, 2012), ativação do canal TRPA1 (HATAKEYAMA *et al.*, 2015; SHIGETOMI *et al.*, 2013), indução da NO sintase endotelial (MAZZA *et al.*, 2013), ativação da proteína quinase G1α (STUBBERT *et al.*, 2014), supressão da

atividade da fosfatase e homólogo de tensina (PTEN) (GREINER *et al.*, 2013), dentre outras.

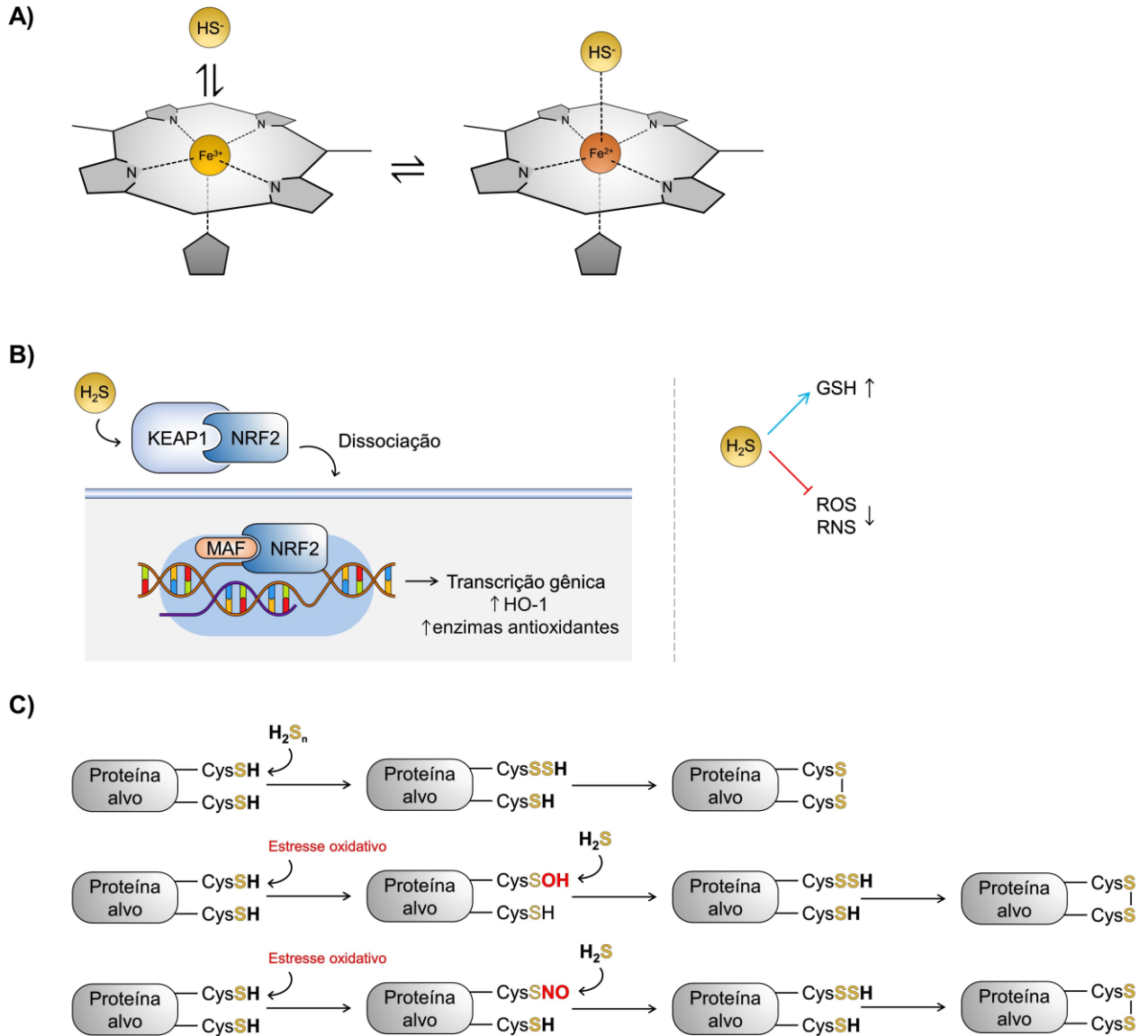


Figura 4 – Esquema ilustrativo dos mecanismos de ação propostos para o H_2S em células de mamíferos. A) Interação com proteínas heme; B) Ação antioxidante; C) Persulfidação de resíduos de cisteína (Cys) em proteínas alvo.

Fonte: elaborado pelo autor (2023).

1.5 Farmacologia do H₂S e seus doadores sintéticos no manejo da dor (nocicepção) e inflamação

Em virtude dos inúmeros alvos farmacológicos e vias de sinalização, muitos dos efeitos biológicos observados pela administração exógena do H₂S ou até mesmo decorrentes da redução/elevação da sua síntese endógena em quadros patológicos, foram inicialmente consideradas paradoxais (BHATIA; GADDAM, 2020; GUO; LI; YANG, 2020). Em parte, as concentrações/doses e vias de administração do H₂S podem determinar efeitos farmacológicos ou toxicológicos desse composto (POWELL; DILLON; MATSON, 2018; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2017).

No que tange os efeitos do H₂S em vias de dor e inflamação, estudos utilizando moléculas doadoras (rápidas e lentas) desse gás apontam que, a administração sistêmica ou local em baixas doses, promoveu efeito antinociceptivo e anti-inflamatório em diversos modelos experimentais (GUO; LI; YANG, 2020). A administração sistêmica de doadores rápidos de H₂S (Na₂S ou NaSH) reduziu a alodinia mecânica induzida por lipopolissacarídeo (LPS) e PGE₂ (intraplantar, i.pl.) em camundongos (CUNHA *et al.*, 2008), assim como a dor orofacial induzida por formalina em ratos (DONATTI *et al.*, 2014). Em modelos de artrite, a administração local de baixas doses do doador de H₂S de liberação espontânea (Reagente de Lawesson) inibiu o edema articular e a alodinia mecânica induzidos por carragenina em ratos (EKUNDI-VALENTIM *et al.*, 2010), enquanto a administração sistêmica de doadores lentos (alil- e fenil-isotiocianato, e GYY4137) reduziu a alodinia mecânica em modelo de inflamação articular frente ao iodoacetato monossódico, ou pela remoção do menisco em ratos (BATALLÉ; CABARGA; POL, 2019; VAAMONDE-GARCÍA *et al.*, 2020). Em modelos de neuropatia induzidas por constrição do nervo isquiático ou por quimioterápico (paclitaxel), o tratamento sistêmico (intraperitoneal ou inalatório) dos animais com os doadores de H₂S de liberação espontânea ou lento reduziu a alodinia mecânica e térmica em ratos (CABARGA; BATALLÉ; POL, 2020; KIDA *et al.*, 2015; LIN *et al.*, 2014; QABAZARD *et al.*, 2020). Além disso, em cartilagem de humanos com osteoartrite, tanto a geração de H₂S, quanto a expressão de 3-MSPT, estão reduzidas (BURGUERA *et al.*, 2020). Esses dados foram reforçados por estudos *in vitro* em condrócitos (NASI *et al.*, 2020). Da mesma forma, a geração de H₂S em modelo de neuropatia também se apresentou reduzida, tanto na periferia (superfície plantar), quando no SNC (QABAZARD *et al.*, 2020). Os mecanismos

propostos para o efeito antinociceptivo são: abertura de canais de K_{ATP} e via sistema opioide (CUNHA *et al.*, 2008; DISTRUTTI *et al.*, 2006, 2010). Já o efeito anti-inflamatório é mediado por vários mecanismos, a saber: a redução da migração e adesão celular, redução do estresse oxidativo, inibição da expressão e liberação de citocinas pró-inflamatórias (ex.: IL-1 β , TNF- α , IL-6), redução da expressão da COX-2 e ativação NF- κ B (LEE *et al.*, 2009a; SEN *et al.*, 2012; WHITEMAN *et al.*, 2010; ZANARDO *et al.*, 2006), bem como redução da ativação de células gliais (microglia e astrócitos) e a expressão de citocinas pró-inflamatórias a nível central, reduzindo a neuroinflamação (KIDA *et al.*, 2015; KIMURA, 2013). A ativação de receptores TRPA1 pelo H_2S , via administração de doadores lentos ou polissulfetos, também promove analgesia através da estimulação da liberação de neuropeptídeos anti-inflamatórios, como a somatostatina (POZSGAI; BÁTÁI; PINTÉR, 2019).

Por outro lado, a administração exógena de elevadas concentrações sulfeto, principalmente utilizando doadores de liberação rápida/espontânea, ou a produção endógena exacerbada de H_2S , podem promover efeitos nociceptivos via: sensibilização de canais de cálcio tipo T ($Ca_v3.2$) (DONATTI *et al.*, 2014; ELIES *et al.*, 2016), ativação de canais TRPV1 e A1 (KOROLEVA *et al.*, 2017; OKUBO *et al.*, 2012; TANG; WU; WANG, 2010), *upregulation* de receptores NMDA na medula (ZHAO *et al.*, 2016), ativação de $Na_v1.7$ e 1.8 (YAN *et al.*, 2016) e supressão de $K_v1.1$ e 1.4 (FENG *et al.*, 2013).

Diante do conhecimento atual da biologia do H_2S , diferentes classes químicas de doadores com perfil farmacocinético distinto de liberação de H_2S foram propostas e empregadas em modelos de inflamação e dor (nocicepção), a saber: 1) doadores de liberação rápida ou espontânea, como os sais inorgânicos (hidrossulfeto de sódio, NaHS; e sulfeto de sódio, Na_2S) e o Reagente de Lawesson (LR), os quais sofrem hidrólise após dissolução em água, liberando H_2S ou HS^- (dependendo do pH) de maneira rápida e descontrolada (tempo de meia-vida curto); 2) doadores de liberação lenta, como a molécula sintética GYY4137 (derivado do LR), que por hidrólise libera H_2S de maneira lenta e sustentada; 3) doadores de liberação controlada, como os controlados por pH (compostos JK-1 e JK-2), ativados por agentes oxidantes (redox e estresse oxidativo: compostos a base de tiocarbamato), doadores mitocondriais formados por um cátion lipofílico trifenilfosfônio acoplado à porção doadora de H_2S : ADT (5-[4-hidroxifenil]-3H-1,2-ditioil-3-tioana) ou TBZ-OH (4-hidroxitio benzamida), ex: AP39 e AP123, respectivamente; 4) fármacos híbridos, como os AINEs acoplados à

porções doadoras de H₂S, por exemplo: ATB-346 (naproxeno acoplado ao TBZ-OH), ATB-343 (indometacina acoplada ao ADT-OH), ATB-429 (mesalamina acoplada ao ADT-OH), ATB-337 (diclofenaco acoplado ao ADT-OH), ATB-340 (aspirina acoplada ao TBZ-OH) e ATB-352 (cetoprofeno acoplado ao TBZ-OH) (GOJON, 2020; POWELL; DILLON; MATSON, 2018; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2017; WALLACE *et al.*, 2018; ZHAO; BIGGS; XIAN, 2014).

A segurança e a eficácia analgésica e anti-inflamatória dos AINEs híbridos doadores de H₂S vem se consolidando em especial com o ATB-346, o qual está sendo utilizado em de estudo clínico de fase 2B em pacientes com osteoartrite (WALLACE *et al.*, 2018, 2020). Além disso, os efeitos de doadores de H₂S desperta o interesse do nosso grupo de pesquisa, cujos estudos confirmam o potencial e eficácia analgésica e anti-inflamatória em diversos estudos pré-clínicos. Nesse contexto, Ekundi-Valentim *et al.* (2010) demonstrou que o reagente de Lawesson administrado localmente em dose baixa, inibiu a nocicepção e inflamação (edema, migração celular e liberação de IL-1 β) no modelo de sinovite induzido por carragenina (CGN) em ratos. Em termos de mecanismos moleculares, nosso grupo demonstrou que o GYY4137 inibiu tanto o prurido agudo via inibição histaminérgica e da via PAR-2, quanto a inflamação e escores de gravidade da psoríase, via aumento da atividade de enzimas antioxidantes e inibição do eixo NF- κ B/Caspase-1/IL-1 β (COAVOY-SÁNCHEZ *et al.*, 2016; EKUNDI-VALENTIM *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2017).

1.6 Farmacologia do AINE híbrido doador de H₂S híbrido: ATB-352

Conforme bem estabelecido, os AINEs desempenham ações anti-inflamatórias e analgésicas via inibição seletiva (ou não) das enzimas COX-1 e 2, impedindo assim a síntese de eicosanoides derivados da via do AA, como as PGs, prostaciclina (PGI) e tromboxano A₂ (TXA₂). Em concentrações elevadas, as PGs e PGI participam do processo inflamatório, pois favorecem a vasodilatação, aumento do fluxo sanguíneo e permeabilidade vascular e, também, promovem sensibilização de terminações nervosas (nociceptores) no sítio inflamado (BINDU; MAZUMDER; BANDYOPADHYAY, 2020). Apesar da eficácia analgésica, anti-inflamatória e anti-térmica dos AINEs, o uso prolongado desses fármacos causa efeitos adversos, particularmente irritação gástrica e formação de úlceras gástricas e intestinais,

sangramentos, complicações renais e cardiovasculares e retardo na resolução da lesão (BINDU; MAZUMDER; BANDYOPADHYAY, 2020).

Vale ressaltar que o H₂S mostrou-se ser importante protetor gástrico, prevenindo lesões induzidas por estresse, etanol, isquemia/reperfusão e AINEs, bem como melhora do quadro inflamatório em modelos de colite (DANIELAK *et al.*, 2021; MAGIEROWSKI *et al.*, 2015). Os efeitos protetores do H₂S se devem ao seu papel anti-inflamatório e redutor do estresse oxidativo, via mecanismos variados, como inibição da migração e aderência dos leucócitos ao endotélio vascular; redução da síntese de citocinas; aumento da atividade de enzimas antioxidantes; produção gástrica e duodenal de bicarbonato; estabiliza o biofilme da microbiota intestinal; manutenção da integridade do muco gástrico e intestinal, além de favorecer maior fluxo sanguíneo da mucosa gástrica, devido ao efeito vasodilatador e angiogênico desse gás, acelerando o processo de reparo e cicatrização das úlceras (BURET *et al.*, 2021; WALLACE *et al.*, 2015; WALLACE; IANARO; DE NUCCI, 2017).

Com base no pressuposto, grupos de pesquisa, como o do Prof. John L. Wallace (Universidade de Toronto, CA; fundador e diretor científico da Antibe Therapeutics Inc.), bem como de outros centros (DANIELAK *et al.*, 2021), desenvolveram várias moléculas híbridas de AINEs acoplados a porções doadoras de H₂S (POWELL; DILLON; MATSON, 2018; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2017; WALLACE *et al.*, 2015). Dentre estas, nosso grupo demonstrou que, o tratamento com o ATB-346 apresentou efeito anti-inflamatório e analgésico semelhante ao das doses equimolares do naproxeno nos modelos de sinovite induzida por CGN (EKUNDI-VALENTIM *et al.*, 2013) e de periodontite em ratos (HERRERA *et al.*, 2015). Todavia, observou-se que em estômago de animais tratados com o naproxeno, ao contrário do grupo tratado com o ATB-346, ocorreu a formação de úlceras e focos hemorrágicos (EKUNDI-VALENTIM *et al.*, 2013; GEMICI *et al.*, 2015; HERRERA *et al.*, 2015; WALLACE; IANARO; DE NUCCI, 2017).

Mais recentemente, uma nova molécula ATB-352, AINE híbrido (cetoprofeno, CETO) doador de H₂S (Fig. 5B), revelou-se excelente agente citoprotetor mesmo quando empregado em tratamento prolongado (GEMICI *et al.*, 2015), além da ação anti-inflamatória, regeneração óssea e tecidual via inibição da expressão de NF-κB, de mediadores inflamatórios (IL-1β, TNF-α) e enzimático (COX-2 e iNOS) em modelo de periodontite induzida por LPS em ratos (GUGLIANDOLO *et al.*, 2018).

O cetoprofeno é um AINE derivado do ácido propiônico (ácido fraco, classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica), capaz de atuar de forma inibitória não seletiva sobre a COX-1 e 2, frequentemente prescrito em casos pós-cirúrgicos (SARZI- PUTTINI *et al.*, 2011; WU; RAJA, 2011). Essa indicação clínica do cetoprofeno ocorreu, em parte, como substituto da nimesulida retirada do mercado, principalmente na Europa (CARBONE *et al.*, 2013).

Por apresentar um centro quiral, o cetoprofeno é comercializado como mistura racêmica, sendo o isômero S o principal responsável pelos efeitos farmacológicos, uma vez que é bem mais potente inibidor da COX-1 e 2 (CI₅₀ 1,9 e 27 nM, respectivamente), quando comparado ao isômero R, sendo este 100 a 1000 vezes menos potente (JAMALI; BROCKS, 1990; KUCZYŃSKA; NIERADKO-IWANICKA, 2021). Apesar disso, o isômero também R apresenta efeitos analgésicos em alguns modelos experimentais, e pode sofrer inversão ao isômero S em uma taxa de 10% em humanos, 45% em camundongos e 80% em ratos (ABERG *et al.*, 1995; JAMALI; BROCKS, 1990). Em termos farmacocinéticos, o cetoprofeno apresenta boas propriedades, como concentrações plasmáticas estáveis (C_{máx} entre 0,5 – 2 h; ~95% ligação a proteínas plasmáticas), absorção rápida e biodisponibilidade elevada (~92%). O tempo de meia-vida (T_{1/2}) do cetoprofeno é curto (~3 h), sofre metabolização simples e apresenta boa segurança renal e hepática (~80% é eliminado na urina conjugado ao ácido glicurônico) e boa eficácia (JAMALI; BROCKS, 1990; KUCZYŃSKA; NIERADKO-IWANICKA, 2021). Além disso, após administração intramuscular ou venosa, o cetoprofeno tem a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e atingir rapidamente o fluido cérebro-espinhal (MANNILA *et al.*, 2006; NETTER *et al.*, 1985).

Apesar dessas propriedades farmacocinéticas positivas, que justificam sua prescrição para diversos quadros de dor e inflamação, incluindo o pós-operatório, o cetoprofeno está associado a elevado risco de dano gastrointestinal, até mesmo com baixas doses (CARBONE *et al.*, 2013; LANZA; CODISPOTI; NELSON, 1998). Nesse sentido, assim como o naproxeno, a associação do cetoprofeno (Fig. 5A) com uma porção doadora de H₂S, a 4-hidroxitobenzamida (TBZ; Fig. 5C), deve resultar numa molécula com potencial analgésico e anti-inflamatório relevante e, talvez, superior a estrutura da molécula parente, somado ao fato que o H₂S exerce efeito protetor gastrointestinal. De fato, Gemici e colaboradores (2015) demonstraram que a administração oral do cetoprofeno (30 mg/Kg), duas vezes ao dia, promoveu extensiva

lesão gastrointestinal com focos hemorrágicos, enquanto o tratamento correspondente com doses equimolares do ATB-352 não causou lesões, muito embora observou-se redução *in vitro* da síntese de PGs semelhante ao observado com o cetoprofeno.

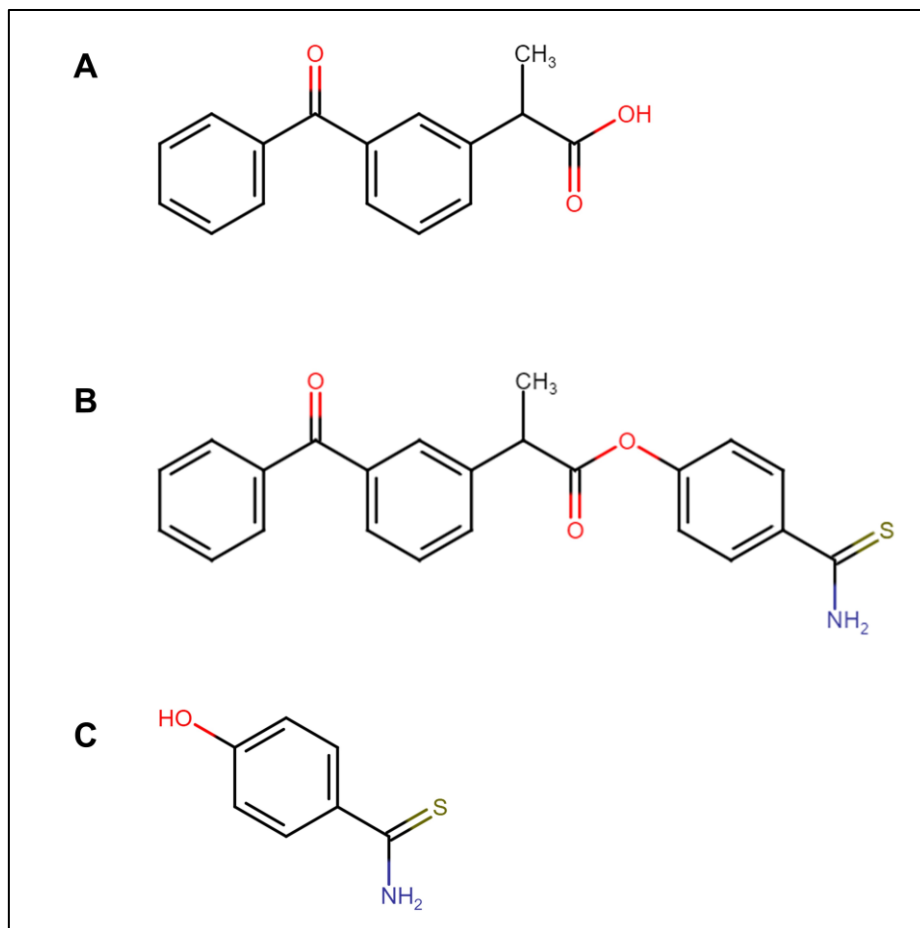


Figura 5 – Estruturas moleculares do cetoprofeno (A), ATB-352 (B) e 4-hidroxitiobenzamida (C).
Fonte: elaborado pelo autor (2023).

1.7 Inibidores da síntese de H₂S

O progresso observado no desenvolvidos doadores de H₂S, também ocorre no campo de inibidores das enzimas de síntese desse gás. Em geral, esses compostos são utilizados como ferramentas experimentais na investigação do papel fisiopatológico do H₂S gerado endogenamente, ou com potencial terapêutico em quadros onde a síntese aumentada H₂S é deletéria, como no câncer, diabetes e queimaduras (CAO *et al.*, 2019; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2017; WALLACE; WANG, 2015). Ainda não dispomos de inibidores seletivos, mas sim de moléculas com distintas afinidades e potência para cada enzima. Os inibidores mais seletivos para CSE são: aminoetoxivinilglicina (AVG, CI₅₀ 1 µM), β-cianoalanina (BCA, CI₅₀ 14 µM), e DL-propargilglicina (PAG, CI₅₀ 40 µM). Ainda não há inibidores mais seletivos para CBS, sendo o mais potente o ácido amino-oacético (AOAA, CI₅₀ 8,5 µM). Este último, apesar de originalmente ter sido descrito como seletivo para CBS, foi posteriormente demonstrado que é até mais potente para CSE (CI₅₀ 1,1 µM), sendo hoje utilizado como inibidor de ambas as enzimas (CSE/CBS) (ASIMAKOPOULOU *et al.*, 2013; SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2017). Recentemente, também foram identificados inibidores com maior seletividade para 3-MPST, os quais possuem um anel aromático carbonil-S-pirimidona em comum, como o composto 2-(4-hidroxi-6-metilpiridina-2-il-sulfanil)-1-naftaleno-1-il-etano-1-one (CI₅₀ 2,7 µM) (HANAOKA *et al.*, 2017). Apesar destes compostos apresentarem CI₅₀ em baixas concentrações (micro molares) em enzimas recombinantes, quando são aplicados em células ou animais, as doses e concentrações necessárias superam a faixa mM, demonstrando que não permeiam bem as membranas (SZABO; PAPAPETROPOULOS, 2017).

7 CONCLUSÕES

Com este trabalho podemos concluir que:

- 1) A redução da geração de H₂S após 24 horas da realização da CIP, assim como as alterações na expressão de suas enzimas de síntese, ocorreram de maneira paralela à redução nos limiares mecânicos e térmicos de nocicepção. Além disso, a inibição local das enzimas CSE e CBS retardou a recuperação dos limiares nociceptivos, indicando que o H₂S endógeno é um mediador importante na manutenção e controle das respostas nociceptivas da dor pós-operatória, particularmente dependente da via de síntese da CBS, tanto no SNP quanto no SNC;
- 2) O tratamento de camundongos submetidos à CIP com o AINE híbrido doador de H₂S (ATB-352) promoveu eficácia analgésica, antioxidante e segurança gástrica superior ao AINE referência (CETO), apesar de ambos aumentarem a atividade de SOD, e reduzirem a concentração de IL-1 β ;
- 3) Em termos mecanísticos, o antagonismo dos receptores CB1 e CB2 não influenciou nos efeitos antialodínico e anti-hiperalgésico ao calor promovidos pelo AINE referência (CETO) no modelo murino de dor pós-operatória. No entanto, o antagonismo CB1 reverteu tanto o efeito analgésico (antialodínico e anti-hiperalgésico ao calor), quanto gastroprotetor (secreção de muco) do ATB-352. Por sua vez, receptores CB2 participam apenas do efeito periférico antialodínico do AINE híbrido doador de H₂S. Sendo assim, demonstramos que o sistema endocanabinoide contribui para os efeitos protetores do ATB-352, mas não do CETO.
- 4) Os mecanismos de ação envolvidos na ação protetora do ATB-352 dependem, em grande parte, da inibição dual COX/FAAH, que favorece maior concentração sistêmica e central de anandamida, bem como da liberação de H₂S.

Os resultados apresentados apontam que o ATB-352 é uma alternativa mais eficaz e segura, quando comparado ao CETO, tornando-o um possível candidato terapêutico para o controle da dor pós-operatória (Fig. 43).

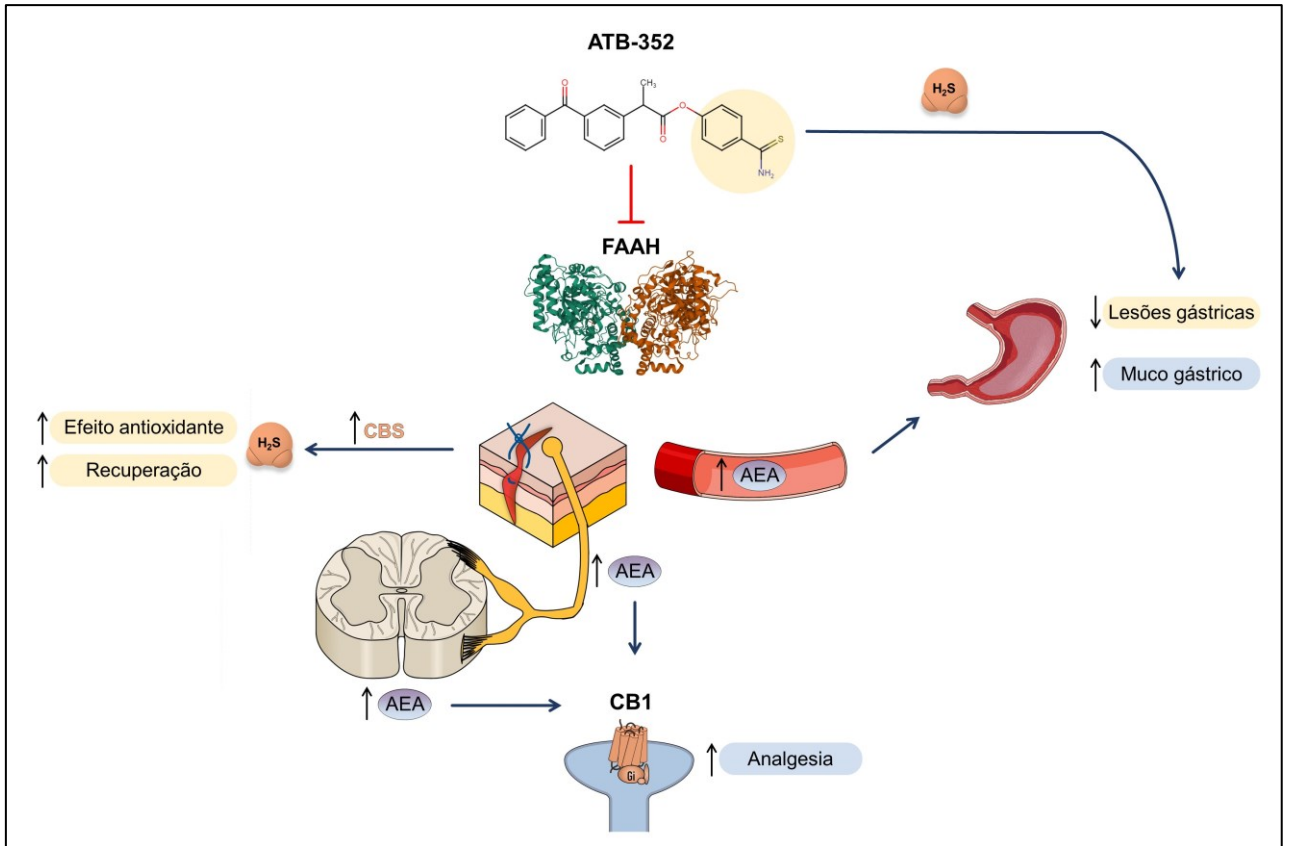


Figura 43 – Resumo gráfico dos efeitos do H₂S e seu doador híbrido AINE no modelo murino de dor pós-operatória.

Fonte: elaborado pelo autor (2023).

REFERÊNCIAS

ABBAFATI, Cristiana *et al.* Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**, v. 396, n. 10258, p. 1204-1222, 2020.

ABDO, Hind *et al.* Specialized cutaneous schwann cells initiate pain sensation. **Science**, v. 365, n. 6454, p. 695-699, 2019.

ABE, Kazuho; KIMURA, Hideo. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. **The Journal of Neuroscience**, v. 16, n. 3, p. 1066–1071, 1996.

ABERG, Gunnar; CIOFALO, Vincent B.; PENDLETON, Robert G.; RAY, Gene; WEDDLE, Diann. Inversion of (R)- to (S)-ketoprofen in eight animal species. **Chirality**, v. 7, n. 5, p. 383-387, 1995.

ADAMI, Maristella; FRATI, Paolo; BERTINI, Simone; KULKARNI-NARLA, Anjali; BROWN, David R.; DE CARO, Giuseppe; CORUZZI, Gabriella; SOLDANI, Giulio. Gastric antisecretory role and immunohistochemical localization of cannabinoid receptors in the rat stomach. **British Journal of Pharmacology**, v. 135, n. 7, p. 1598-1606, 2002.

AGARWAL, Nitin *et al.* Cannabinoids mediate analgesia largely via peripheral type 1 cannabinoid receptors in nociceptors. **Nature Neuroscience**, v. 10, n. 7, p. 870-879, 2007.

AGUIAR, Débora Pinheiro; SOUZA, Cleanis Pereira de Queiroz; BARBOSA, Wania Justina Miranda; SANTOS-JÚNIOR, Francisco Fleury Uchoa; OLIVEIRA, Anamaria Siriani De. Prevalence of chronic pain in Brazil: systematic review. **Brazilian Journal Of Pain**, São Paulo; 4 (3): 257-67, 2021.

AHN, Kay *et al.* Discovery and Characterization of a Highly Selective FAAH Inhibitor that Reduces Inflammatory Pain. **Chemistry & Biology**, v. 16, n. 4, p. 411–420, 2009.

AHSAN, Haseeb. 3-Nitrotyrosine: A biomarker of nitrogen free radical species modified proteins in systemic autoimmunogenic conditions. **Human Immunology**, v. 74, n. 10, p. 1392–1399, 2013.

AKAGAWA, Mitsugu. **Protein carbonylation: molecular mechanisms, biological implications, and analytical approaches** *Free Radical Research*, 2021. DOI: 10.1080/10715762.2020.1851027.

AL-SHEHRI, Saad S. Reactive oxygen and nitrogen species and innate immune response. **Biochimie**, v. 181, p. 52–64, 2021.

ALKAITIS, Matthew S.; SOLORZANO, Carlos; LANDRY, Russell P.; PIOMELLI, Daniele; DELEO, Joyce A.; ROMERO-SANDOVAL, E. Alfonso. Evidence for a Role

of Endocannabinoids, Astrocytes and p38 Phosphorylation in the Resolution of Postoperative Pain. **PLoS ONE**, v. 5, n. 5, p. e10891, 2010.

ANAND, Praveen; WHITESIDE, Garth; FOWLER, Christopher J.; HOHMANN, Andrea G. Targeting CB2 receptors and the endocannabinoid system for the treatment of pain. **Brain Research Reviews**, v. 60, n. 1, p. 255-266, 2009.

APFELBAUM, Jeffrey L.; CHEN, Connie; MEHTA, Shilpa S.; GAN, And Tong J. Postoperative Pain Experience: Results from a National Survey Suggest Postoperative Pain Continues to Be Undermanaged. **Anesthesia & Analgesia**, v. 97, n. 2, p. 534–540, 2003.

AROCA, Angeles; GOTOR, Cecilia; BASSHAM, Diane C.; ROMERO, Luis C. Hydrogen Sulfide: From a Toxic Molecule to a Key Molecule of Cell Life. **Antioxidants**, v. 9, n. 7, p. 621, 2020.

ASIMAKOPOULOU, Antonia *et al.* Selectivity of commonly used pharmacological inhibitors for cystathionine β synthase (CBS) and cystathionine γ lyase (CSE). **British Journal of Pharmacology**, v. 169, n. 4, p. 922-932, 2013.

AYOO, Kennedy; MIKHAEL, John Sami; HUANG, Alexander; WAŚOWICZ, Marcin. The opioid crisis in North America: Facts and future lessons for Europe. **Anesthesiology Intensive Therapy**, v. 52, n. 2, p. 139–147, 2020.

BAI, Xue; BATALL, Gerard; MART, Ignacio; POL, Olga. Hydrogen Sulfide Interacting with Cannabinoid 2 Receptors during Sciatic Nerve Injury-Induced Neuropathic Pain, **Antioxidants**, v. 12, n. 6, p. 1179, 2023.

BALIKI, Marwan N.; APKARIAN, A. Vania. Nociception, Pain, Negative Moods, and Behavior, **Neuron**, 87 (3): 474–91, 2015.

BANDOOKWALA, Maria; SENGUPTA, Pinaki. 3-Nitrotyrosine: a versatile oxidative stress biomarker for major neurodegenerative diseases. **International Journal of Neuroscience**, v. 130, n. 10, p. 1047-1062, 2020.

BANNISTER, Kirsty. Descending pain modulation: influence and impact. **Current Opinion in Physiology**, v. 11, p. 62-66, 2019.

BARAL, Pankaj; UDIT, Swalpa; CHIU, Isaac M. Pain and immunity: implications for host defence. **Nature Reviews Immunology**, v. 19, n. 7, p. 433-447, 2019.

BASBAUM, Allan. History of Spinal Cord “Pain” Pathways Including the Pathways Not Taken. **Frontiers in Pain Research**, v. 3, p. 910954, 2022.

BASBAUM, Allan I.; BAUTISTA, Diana M.; SCHERRER, Grégory; JULIUS, David. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267-284, 2009

BATALLÉ, Gerard; CABARGA, Laura; POL, Olga. The Inhibitory Effects of Slow-Releasing Hydrogen Sulfide Donors in the Mechanical Allodynia, Grip Strength Deficits, and Depressive-Like Behaviors Associated with Chronic Osteoarthritis Pain.

Antioxidants, v. 9, n. 1, p. 31, 2019.

BEELER, T.; CHURCHICH, J. E. Reactivity of the phosphopyridoxal groups of cystathionase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 251, n. 17, p. 5267-5271, 1976.

BENETTI, Leticia R. *et al.* Hydrogen sulfide inhibits oxidative stress in lungs from allergic mice in vivo. **European Journal of Pharmacology**, v. 698, n. 1-3, p. 463-469, 2013.

BERTOLACCI, Laura *et al.* A binding site for nonsteroidal anti-inflammatory drugs in fatty acid amide hydrolase. **Journal of the American Chemical Society**, v. 135, n. 1, p. 22-25, 2013.

BHATIA, Madhav; GADDAM, Ravinder Reddy. Hydrogen Sulfide in Inflammation: A Novel Mediator and Therapeutic Target. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 34, n. 17, p. 1368-1377, 2021.

BIBANCOS, T.; JARDIM, D. L.; ANEAS, I.; CHIAVEGATTO, S. Social isolation and expression of serotonergic neurotransmission-related genes in several brain areas of male mice. **Genes, Brain and Behavior**, v. 6, n. 6, p. 529-539, 2007.

BINDU, Samik; MAZUMDER, Somnath; BANDYOPADHYAY, Uday. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. **Biochemical Pharmacology**, v. 180, p. 114147, 2020.

BINKLEY, Francis; DU VIGNEAUD, Vincent. The formation of cysteine from homocysteine and serine by liver tissue of rats. **Journal of Biological Chemistry**, v. 144, p. 507-511, 1942.

BJARNASON, Ingvar; SCARPIGNATO, Carmelo; HOLMGREN, Erik; OLSZEWSKI, Michael; RAINSFORD, Kim D.; LANAS, Angel. Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. **Gastroenterology**, v. 154, n. 3, p. 500–514, 2018.

BRACK, Alexander; RITTNER, Heike L.; MACHELSKA, Halina; LEDER, Kerstin; MOUSA, Shaaban A.; SCHÄFER, Michael; STEIN, Christoph. Control of inflammatory pain by chemokine-mediated recruitment of opioid-containing polymorphonuclear cells. **Pain**, v. 112, n. 3, p. 229–238, 2004.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, 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. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 78, n. 3, p. 206-209, 1982.

BRAGA, Pier Carlo. Ketoprofen: i.c.v. injection and electrophysiological aspects of antinociceptive effect. **European Journal of Pharmacology**, v. 184, n. 2-3, p. 273-

280, 1990.

BREITZIG, Mason; BHIMINENI, Charishma; LOCKEY, Richard; KOLLIPUTI, Narasaiah. 4-Hydroxy-2-nonenal: A critical target in oxidative stress? **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 311, n. 4, p. C537-C543, 2016.

BRENNAN, Timothy J. Pathophysiology of postoperative pain. **Pain**, v. 152, n. 3, p. S33–S40, 2011.

BRENNAN, Timothy J.; VANDERMEULEN, Erik P.; GEBHART, G. F. Characterization of a rat model of incisional pain. **Pain**, v. 64, n. 3, p. 493–502, 1996.

BRENNAN, Timothy J.; ZAHN, Peter K.; POGATZKI-ZAHN, Esther M. Mechanisms of Incisional Pain. **Anesthesiology Clinics of North America**, v. 23, n. 1, p. 1–20,

BRUMMETT, Chad M.; WALJEE, Jennifer F.; GOESLING, Jenna; MOSER, Stephanie; LIN, Paul; ENGLÉSBE, Michael J.; BOHNERT, Amy S. B.; KHETERPAL, Sachin; NALLAMOTHU, Brahmajee K. New Persistent Opioid Use After Minor and Major Surgical Procedures in US Adults. **JAMA Surgery**, v. 152, n. 6, p. e170504, 2017.

BUISSERET, Baptiste; ALHOUAYEK, Mireille; GUILLEMOT-LEGRIS, Owein; MUCCIOLI, Giulio G. Endocannabinoid and Prostanoid Crosstalk in Pain. **Trends in Molecular Medicine**, v. 25, n. 10, p. 882-896, 2019.

BURET, Andre G.; ALLAIN, Thibault; MOTTA, Jean-Paul; WALLACE, John L. Effects of Hydrogen Sulfide on the Microbiome: From Toxicity to Therapy. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 36, n. 4-6, p. 211-219, 2022.

BURGUERA, Elena F.; VELA-ANERO, Ángela; GATO-CALVO, Lucía; VAAMONDE-GARCÍA, Carlos; MEIJIDE-FAÍLDE, Rosa; BLANCO, Francisco J. Hydrogen sulfide biosynthesis is impaired in the osteoarthritic joint. **International Journal of Biometeorology**, v. 64, p. 997-1010, 2020.

BURITOVA, Jaroslava; HONORÉ, Prisca; BESSON, Jean Marie. Ketoprofen produces profound inhibition of spinal c-Fos protein expression resulting from an inflammatory stimulus but not from noxious heat. **Pain**, v. 67, n. 2-3, p. 379-389, 1996.

CABARGA, Laura; BATALLÉ, Gerard; POL, Olga. Treatment with slow-releasing hydrogen sulfide donors inhibits the nociceptive and depressive-like behaviours accompanying chronic neuropathic pain: Endogenous antioxidant system activation. **Journal of Psychopharmacology**, v. 34, n. 7, p. 737-749, 2020.

CAJANUS, Kristiina; HOLMSTRÖM, Emil J.; WESSMAN, Maija; ANTTILA, Verner; KAUNISTO, Mari A.; KALSO, Eija. Effect of endocannabinoid degradation on pain: Role of FAAH polymorphisms in experimental and postoperative pain in women treated for breast cancer. **Pain**, v. 157, n. 2, p. 361-369, 2016.

CAO, Xu; DING, Lei; XIE, Zhi-zhong; YANG, Yong; WHITEMAN, Matthew; MOORE,

Philip K.; BIAN, Jin-Song. A Review of Hydrogen Sulfide Synthesis, Metabolism, and Measurement: Is Modulation of Hydrogen Sulfide a Novel Therapeutic for Cancer? **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 31, n. 1, p. 1–38, 2019.

CARBONE, Claudia; RENDE, Pierandrea; COMBERIATI, Pasquale; CARNOVALE, Domenico; MAMMI, Maria; DE SARRO, Giovambattista. The safety of ketoprofen in different ages. **Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics**, . 4, n. 1_suppl, p. S99-S103, 2013.

CARLBERG, Inger; MANNERVIK, Bengt. [59] Glutathione reductase. **Methods in Enzymology**, Academic press, 1985. p. 484-490.

CARVALHO, Brendan; CLARK, David J.; ANGST, Martin S. Local and Systemic Release of Cytokines, Nerve Growth Factor, Prostaglandin E2, and Substance P in Incisional Wounds and Serum Following Cesarean Delivery. **The Journal of Pain**, v. 9, n. 7, p. 650–657, 2008.

CASTELBLANCO, Mariela; LUGRIN, Jérôme; EHIRCHIOU, Driss; NASI, Sonia; ISHII, Isao; SO, Alexander; MARTINON, Fabio; BUSSO, Nathalie. Hydrogen sulfide inhibits NLRP3 inflammasome activation and reduces cytokine production both in vitro and in a mouse model of inflammation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 293, n. 7, p. 2546-2557, 2018.

CASTRO, José Pedro; JUNG, Tobias; GRUNE, Tilman; SIEMS, Werner. 4-Hydroxynonenal (HNE) modified proteins in metabolic diseases. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 111, p. 309-315, 2017.

CHAPARRO, Luis Enrique; SMITH, Shane A.; MOORE, R. Andrew; WIFFEN, Philip J.; GILRON, Ian. Pharmacotherapy for the prevention of chronic pain after surgery in adults. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2021, n. 6, 2013.

CHAPLAN, S. R.; BACH, F. W.; POGREL, J. W.; CHUNG, J. M.; YAKSH, T. L. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 53, n. 1, p. 55–63, 1994.

CHENG, Jianguo; RUTHERFORD, Molly; SINGH, Vanila M. The HHS pain management best practice inter-agency task force report calls for patient-centered and individualized care. **Pain Medicine (United States)**, v. 21, n. 1, p. 1-3, 2020

CHIAVEGATTO, Silvana. Comportamento Animal na Neuropsicofarmacologia. *In: Métodos em Farmacologia: Atualidades e Desafios*. 1. ed. São Paulo: Editora Payá, 2019.

CHOI, Eun Kyung *et al.* Ketoprofen inhibits expression of inflammatory mediators in human dental pulp cells. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 6, p. 764–767, 2013.

CHOU, Roger *et al.* Management of Postoperative Pain: A Clinical Practice Guideline From the American Pain Society, the American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine, and the American Society of Anesthesiologists' Committee on Regional Anesthesia, Executive Commi. **The Journal of Pain**, v. 17, n. 2, p. 131–

157, 2016.

CIRINO, Giuseppe; SZABO, Csaba; PAPAPETROPOULOS, Andreas. Physiological roles of hydrogen sulfide in mammalian cells, tissues, and organs. **Physiological Reviews**, v. 103, n. 1, p. 31-276, 2023

COAVOY-SÁNCHEZ, S. A.; RODRIGUES, L.; TEIXEIRA, S. A.; SOARES, A. G.; TORREGROSSA, R.; WOOD, M. E.; WHITEMAN, M.; COSTA, S. K. P.; MUSCARÁ, M. N. Hydrogen sulfide donors alleviate itch secondary to the activation of type-2 protease activated receptors (PAR-2) in mice. **Pharmacological Research**, v. 113, p. 686–694, 2016.

COAVOY-SÁNCHEZ, Silvia A.; COSTA, Soraia K. P.; MUSCARÁ, Marcelo N. Hydrogen sulfide and dermatological diseases. **British Journal of Pharmacology**, v. 177, n. 4, p. 857–865, 2020.

COAVOY-SANCHEZ, Silvia Abigail et al. Role of gasotransmitters in inflammatory edema. **Antioxidants & Redox Signaling**, 2023.

COHEN, Steven P.; VASE, Lene; HOOTEN, William M. Chronic pain: an update on burden, best practices, and new advances. **The Lancet**, v. 397, n. 10289, p. 2082-2097, 2021.

COOK, Andrew D.; CHRISTENSEN, Anne D.; TEWARI, Damini; MCMAHON, Stephen B.; HAMILTON, John A. Immune Cytokines and Their Receptors in Inflammatory Pain. **Trends in Immunology**, v. 39, n. 3, p. 240-255, 2018.

COSTA, David; MOUTINHO, Luís; LIMA, José Luís Fontes Costa; FERNANDES, Eduarda. Antioxidant activity and inhibition of human neutrophil oxidative burst mediated by arylpropionic acid non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n. 8, p. 1659-1670, 2006.

COSTA, S. K. P. F. *et al.* Enhanced Analgesic Effects and Gastrointestinal Safety of a Novel, Hydrogen Sulfide-Releasing Anti-Inflammatory Drug (ATB-352): A Role for Endogenous Cannabinoids. **Antioxidants & redox signaling**, v. 33, n. 14, 2020.

CORNE, S. J. A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. **J. Physiol.**(London), v. 242, p. 116-117, 1974.

CRAFT, Rebecca M.; HEWITT, Kelly A.; BRITCH, Stevie C. Antinociception produced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs in female vs male rats. **Behavioural Pharmacology**, v. 32, n. 2-# x000263, p. 153, 2021.

CUNHA, Thiago M. *et al.* Dual role of hydrogen sulfide in mechanical inflammatory hypernociception. **European Journal of Pharmacology**, v. 590, n. 1–3, p. 127–135, 2008.

DAL PIZZOL, Tatiane da Silva; FONTANELLA, Andréia Turmina; CARDOSO FERREIRA, Maria Beatriz; BERTOLDI, Andréa Dâmaso; BORGES, Rogerio Boff;

MENGUE, Sotero Serrate. Analgesic use among the Brazilian population: Results from the national survey on access, use and promotion of rational use of medicines (PNAUM). **PLoS ONE**, v. 14, n. 3, p. e0214329, 2019.

DANIELAK, Aleksandra; WALLACE, John L.; BRZOZOWSKI, Tomasz; MAGIEROWSKI, Marcin. Gaseous Mediators as a Key Molecular Targets for the Development of Gastrointestinal-Safe Anti-Inflammatory Pharmacology. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 657457, 2021.

DE BEAUREPAIRE, Renaud; SUAUDEAU, Charles; CHAIT, Abderrhaman; CIMETIÈRE, Caroline. Anatomical mapping of brain sites involved in the antinociceptive effects of ketoprofen. **Brain Research**, v. 536, n. 1-2, p. 201-206, 1990.

DEPLANO, Alessandro *et al.* Design, synthesis and in vitro and in vivo biological evaluation of flurbiprofen amides as new fatty acid amide hydrolase/cyclooxygenase-2 dual inhibitory potential analgesic agents. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 36, n. 1, p. 940-953, 2021.

DEUTSCH, D. G.; UEDA, N.; YAMAMOTO, S. The fatty acid amide hydrolase (FAAH). **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 108, n. 1-2, p. 107-121, 2000.

DIAS, Irundika H. K.; MILIC, Ivana; HEISS, Christian; ADEMOWO, Opeyemi S.; POLIDORI, Maria Cristina; DEVITT, Andrew; GRIFFITHS, Helen R. Inflammation, Lipid (Per)oxidation, and Redox Regulation. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 33, n. 3, p. 166–190, 2020.

DÍAZ-REVAL, María Irene; VENTURA-MARTÍNEZ, Rosa; DÉCIGA-CAMPOS, Myrna; TERRÓN, José A.; CABRÉ, Francesc; LÓPEZ-MUÑOZ, Francisco Javier. Evidence for a central mechanism of action of S-(+)-ketoprofen. **European Journal of Pharmacology**, v. 483, n. 2-3, p. 241-248, 2004.

DISTRUTTI, Eleonora *et al.* Evidence That Hydrogen Sulfide Exerts Antinociceptive Effects in the Gastrointestinal Tract by Activating K ATP Channels. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 316, n. 1, p. 325–335, 2006.

DISTRUTTI, Eleonora; CIPRIANI, Sabrina; RENGA, Barbara; MENCARELLI, Andrea; MIGLIORATI, Marco; CIANETTI, Stefano; FIORUCCI, Stefano. Hydrogen sulphide induces μ opioid receptor-dependent analgesia in a rodent model of visceral pain. **Molecular Pain**, v. 6, p. 1744-8069-6-36, 2010.

DIXON, W. J. Efficient Analysis of Experimental Observations. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 20, n. 1, p. 441–462, 1980.

DONATTI, Alberto F.; ARAUJO, Rebeca M.; SORIANO, Renato N.; AZEVEDO, Leopoldo U.; LEITE-PANISSI, Christie A.; BRANCO, Luiz G. S. Role of hydrogen sulfide in the formalin-induced orofacial pain in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 738, p. 49–56, 2014.

DU, Chenchen *et al.* Downregulation of cystathionine β -synthase/hydrogen sulfide contributes to rotenone-induced microglia polarization toward M1 type. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 451, n. 2, p. 239-245, 2014.

DUBIN, Adrienne E.; PATAPOUTIAN, Ardem. Nociceptors: The sensors of the pain pathway. **Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 11, p. 3760-3772, 2010.
DUGGAN, Kelsey C.; HERMANSON, Daniel J.; MUSEE, Joel; PRUSAKIEWICZ, Jeffery J.; SCHEIB, Jami L.; CARTER, Bruce D.; BANERJEE, Surajit; OATES, J. A.; MARNETT, Lawrence J. (R)-Profens are substrate-selective inhibitors of endocannabinoid oxygenation by COX-2. **Nature Chemical Biology**, v. 7, n. 11, p. 803-809, 2011.

EKUNDI-VALENTIM, E. *et al.* Differing effects of exogenous and endogenous hydrogen sulphide in carrageenan-induced knee joint synovitis in the rat. **British Journal of Pharmacology**, v. 159, n. 7, p. 1463–1474, 2010.

EKUNDI-VALENTIM, Eduardo *et al.* A comparative study on the anti-inflammatory effects of single oral doses of naproxen and its hydrogen sulfide (H₂S)-releasing derivative ATB-346 in rats with carrageenan-induced synovitis. **Medical Gas Research**, v. 3, n. 1, p. 24, 2013.

EKUNDI-VALENTIM, Eduardo; COSTA, Soraia Katia Pereira. Efeitos diferenciais do sulfeto de hidrogênio exógeno e endógeno na sinovite experimental induzida por carragenina em ratos Wistar. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Disponível em: < <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42136/tde-14012011-145144/pt-br.php>>.

ELIES, Jacobo; SCRAGG, Jason L.; BOYLE, John P.; GAMPER, Nikita; PEERS, Chris. Regulation of the T-type Ca²⁺ channel Cav3.2 by hydrogen sulfide: emerging controversies concerning the role of H₂S in nociception. **Journal of Physiology**, v. 594, n. 15, p. 4119-4129, 2016.

ENOKIDO, Yasushi; SUZUKI, Eri; IWASAWA, Kazu; NAMEKATA, Kazuhiko; OKAZAWA, Hitoshi; KIMURA, Hideo. Cystathionine β -synthase, a key enzyme for homocysteine metabolism, is preferentially expressed in the radial glia/astrocyte lineage of developing mouse CNS. **The FASEB Journal**, v. 19, n. 13, p. 1854-1856, 2005.

FAZIO, Domenico; CRISCUOLO, Emanuele; PICCOLI, Alessandra; BARBONI, Barbara; FEZZA, Filomena; MACCARRONE, Mauro. Advances in the discovery of fatty acid amide hydrolase inhibitors: what does the future hold?. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 15, n. 7, p. 765-778, 2020.

FEDOROVA, Maria; BOLLINENI, Ravi Chand; HOFFMANN, Ralf. Protein carbonylation as a major hallmark of oxidative damage: Update of analytical strategies. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 33, n. 2, p. 79-97, 2014.

FENG, Xingmei; ZHOU, You Lang; MENG, Xiaowen; QI, Fei Hu; CHEN, Wei; JIANG, Xinghong; XU, Guang Yin. Hydrogen sulfide increases excitability through suppression of sustained potassium channel currents of rat trigeminal ganglion

neurons. **Molecular Pain**, v. 9, p. 1744-8069-9-4, 2013.

FENTON, Bradford W.; SHIH, Elim; ZOLTON, Jessica. The neurobiology of pain perception in normal and persistent pain. **Pain management**, v. 5, n. 4, p. 297-317, 2015.

FILIPOVIC, Milos R.; MILJKOVIC, Jan; ALLGÄUER, Andrea; CHAURIO, Ricardo; SHUBINA, Tatyana; HERRMANN, Martin; IVANOVIC-BURMAZOVIC, Ivana. Biochemical insight into physiological effects of H₂S: Reaction with peroxyxynitrite and formation of a new nitric oxide donor, sulfinyl nitrite. **Biochemical Journal**, v. 441, n. 2, p. 609-621, 2012.

FINN, David P.; HAROUTOUNIAN, Simon; HOHMANN, Andrea G.; KRANE, Elliot; SOLIMAN, Nadia; RICE, Andrew S. C. Cannabinoids, the endocannabinoid system, and pain: a review of preclinical studies. **Pain**, v. 162, n. Suppl 1, p. S5, 2021.

FLOHÉ, Leopold; GÜNZLER, Wolfgang A. [12] Assays of Glutathione Peroxidase. **Methods in Enzymology**, Academic Press, 1984. p. 114-120.

FLORENCE, Curtis S.; ZHOU, Chao; LUO, Feijun; XU, Likang. The Economic Burden of Prescription Opioid Overdose, Abuse, and Dependence in the United States, 2013. **Medical Care**, v. 54, n. 10, p. 901–906, 2016.

FOSSATI, P.; PRENCIPE, L.; BERTI, G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. **Clinical Chemistry**, v. 26, n. 2, p. 227-231, 1980.

GABRIEL, Rodney A.; SWISHER, Matthew W.; SZTAIN, Jacklynn F.; FURNISH, Timothy J.; ILFELD, Brian M.; SAID, Engy T. State of the art opioid-sparing strategies for post-operative pain in adult surgical patients. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 20, n. 8, p. 949–961, 2019.

GAN, Tong J. Poorly controlled postoperative pain: prevalence, consequences, and prevention. **Journal of Pain Research**, v. Volume 10, p. 2287–2298, 2017.

GAN, Tong J.; HABIB, Ashraf S.; MILLER, Timothy E.; WHITE, William; APFELBAUM, Jeffrey L. Incidence, patient satisfaction, and perceptions of post-surgical pain: results from a US national survey. **Current Medical Research and Opinion**, v. 30, n. 1, p. 149–160, 2014.

GANGADHARAN, Vijayan; KUNER, Rohini. Pain hypersensitivity mechanisms at a glance. **Disease Models & Mechanisms**, v. 6, n. 4, p. 889–895, 2013.

GARATTINI, Emanuela G.; SANTOS, Bruna M.; FERRARI, Daniele P.; CAPEL, Camila P.; FRANCESCATO, Heloísa D. C.; COIMBRA, Terezila M.; LEITE-PANISSI, Christie R. A.; BRANCO, Luiz G. S.; NASCIMENTO, Glauce C. Propargylglycine decreases neuro-immune interaction inducing pain response in temporomandibular joint inflammation model. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, v. 93, p. 90-101, 2019.

GARATTINI, Emanuela G.; SANTOS, Bruna M.; FERRARI, Daniele P.; CAPEL, Camila P.; FRANCESCATO, Heloísa D. C.; COIMBRA, Terezila M.; LEITE-PANISSI, Christie R. A.; BRANCO, Luiz G. S.; NASCIMENTO, Glaucé C. Propargylglycine decreases neuro-immune interaction inducing pain response in temporomandibular joint inflammation model. **Nitric Oxide**, v. 93, p. 90–101, 2019.

GEMICI, Burcu; ELSHEIKH, Wagdi; FEITOSA, Karla B.; COSTA, Soraia K. P.; MUSCARA, Marcelo N.; WALLACE, John L. H₂S-releasing drugs: Anti-inflammatory, cytoprotective and chemopreventative potential. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, v. 46, p. 25-31, 2015.

GEPPETTI, Pierangelo; VELDHUIS, Nicholas A.; LIEU, Tina Marie; BUNNETT, Nigel W. G Protein-Coupled Receptors: Dynamic Machines for Signaling Pain and Itch. **Neuron**, v. 88, n. 4, p. 635-649, 2015.

GERMANÒ, M. P.; D'ANGELO, V.; MONDELLO, M. R.; PERGOLIZZI, Simona; CAPASSO, Francesco; CAPASSO, Raffaele; IZZO, Angelo A.; MASCOLO, Nicola; DE PASQUALE, R. Cannabinoid CB₁-mediated inhibition of stress-induced gastric ulcers in rats. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 363, p. 241-244, 2001.

GIRARD, Philippe; VERNIERS, Danielle; COPPÉ, Marie Claude; PANSART, Yannick; GILLARDIN, Jean Marie. Nefopam and ketoprofen synergy in rodent models of antinociception. **European Journal of Pharmacology**, v. 584, n. 2-3, p. 263-271, 2008.

GLARE, Paul; AUBREY, Karin R.; MYLES, Paul S. Transition from acute to chronic pain after surgery. **The Lancet**, v. 393, n. 10180, p. 1537–1546, 2019.

GŁOWACKA, Urszula *et al.* Microbiome Profile and Molecular Pathways Alterations in Gastrointestinal Tract by Hydrogen Sulfide-Releasing Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug (ATB-352): Insight into Possible Safer Polypharmacy. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 36, n. 4-6, p. 189-210, 2022.

GOJON, Gabriel. On H₂S Prodrugs. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 33, n. 14, p. 999-1002, 2020.

GONÇALVES DOS SANTOS, Gilson; DELAY, Lauriane; YAKSH, Tony L.; CORR, Maripat. Neuraxial Cytokines in Pain States. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 2020.

GOODMAN, Michael C.; XU, Shu; ROUZER, Carol A.; BANERJEE, Surajit; GHEBRESELASIE, Kebreab; MIGLIORE, Marco; PIOMELLI, Daniele; MARNETT, Lawrence J. Dual cyclooxygenase-fatty acid amide hydrolase inhibitor exploits novel binding interactions in the cyclooxygenase active site. **Journal of Biological Chemistry**, v. 293, n. 9, p. 3028-3038, 2018.

GOREN, Itamar; KÖHLER, Yvette; AGLAN, Ahmed; PFEILSCHIFTER, Josef; BECK, Karl Friedrich; FRANK, Stefan. Increase of cystathionine-γ-lyase (CSE) during late wound repair: Hydrogen sulfide triggers cytokeratin 10 expression in keratinocytes.

Nitric Oxide - Biology and Chemistry, v. 87, p. 31-42, 2019.

GREINER, Romy; PÁLINKÁS, Zoltán; BÄSELL, Katrin; BECHER, Dörte; ANTELMANN, Haike; NAGY, Péter; DICK, Tobias P. Polysulfides Link H₂S to Protein Thiol Oxidation. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 19, n. 15, p. 1749–1765, 2013. DOI: 10.1089/ars.2012.5041.

GRIM, Travis W.; GHOSH, Sudeshna; HSU, Ku Lung; CRAVATT, Benjamin F.; KINSEY, Steven G.; LICHTMAN, Aron H. Combined inhibition of FAAH and COX produces enhanced anti-allodynic effects in mouse neuropathic and inflammatory pain models. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 124, p. 405-411, 2014.

GUGLIANDOLO, Enrico; FUSCO, Roberta; D'AMICO, Ramona; MILITI, Angela; OTERI, Giacomo; WALLACE, John L.; DI PAOLA, Rosanna; CUZZOCREA, Salvatore. Anti-inflammatory effect of ATB-352, a H₂S –releasing ketoprofen derivative, on lipopolysaccharide-induced periodontitis in rats. **Pharmacological Research**, v. 132, p. 220-231, 2018.

GUI, Yulong; LI, Aiyuan; QIU, Bihui; CHEN, Feng; CHEN, Liang; LIU, Daming; CHEN, Shuxian; ZHOU, Wei; ZHOU, Hong. Endogenous CBS–H₂S Pathway Contributes to the Development of CCI-Induced Neuropathic Pain. **Neurochemical Research**, v. 41, p. 1381-1389, 2016.

GULUR, Padma; NELLI, Amanda. Persistent postoperative pain. **Current Opinion in Anaesthesiology**, v. 32, n. 5, p. 668–673, 2019.

GUO, Jie; LI, Gaofeng; YANG, Le. Role of H₂S in pain: Growing evidences of mystification. **European Journal of Pharmacology**, v. 883, p. 173322, 2020.

GUPTA, Anita; BAH, Maimouna. NSAIDs in the Treatment of Postoperative Pain. **Current Pain and Headache Reports**, v. 20, n. 11, p. 62, 2016.

GYIRES, Klára; S. ZÁDORI, Zoltán. Role of Cannabinoids in Gastrointestinal Mucosal Defense and Inflammation. **Current Neuropharmacology**, v. 14, n. 8, p. 935-951, 2016.

HABIB, Abdella M. *et al.* Microdeletion in a FAAH pseudogene identified in a patient with high anandamide concentrations and pain insensitivity. **British Journal of Anaesthesia**, v. 123, n. 2, p. e249-e253, 2019.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 249, n. 22, p. 7130-7139, 1974.

HANAOKA, Kenjiro *et al.* Discovery and Mechanistic Characterization of Selective Inhibitors of H₂S-producing Enzyme: 3-Mercaptopyruvate Sulfurtransferase (3MST) Targeting Active-site Cysteine Persulfide. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 40227, 2017.

HARBAUGH, Calista M.; LEE, Jay S.; HU, Hsou Mei; MCCABE, Sean Esteban;

VOEPEL-LEWIS, Terri; ENGLISBE, Michael J.; BRUMMETT, Chad M.; WALJEE, Jennifer F. Persistent Opioid Use Among Pediatric Patients After Surgery. **Pediatrics**, v. 141, n. 1, 2018.

HATAKEYAMA, Yukari; TAKAHASHI, Kenji; TOMINAGA, Makoto; KIMURA, Hideo; OHTA, Toshio. Polysulfide Evokes Acute Pain through the Activation of Nociceptive TRPA1 in Mouse Sensory Neurons. **Molecular Pain**, v. 11, p. s12990- 015–0023, 2015.

HENSCHKE, Nicholas; KAMPER, Steven J.; MAHER, Chris G. The Epidemiology and Economic Consequences of Pain. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 90, n. 1, p. 139–147, 2015.

HERRERA, Bruno Schneider; COIMBRA, Leila Santana; DA SILVA, Agatha Ribeiro; TEIXEIRA, Simone Aparecida; COSTA, Soraia Katia Pereira; WALLACE, John Lawrence; SPOLIDORIO, Luis Carlos; MUSCARA, Marcelo Nicolas. The H₂S-releasing naproxen derivative, ATB-346, inhibits alveolar bone loss and inflammation in rats with ligature-induced periodontitis. **Medical Gas Research**, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2015.

HERRERO, J. F.; PARRADO, A.; CERVERO, F. Central and peripheral actions of the NSAID ketoprofen on spinal cord nonnociceptive reflexes. **Neuropharmacology**, v. 36, n. 10, p. 1425-1431, 1997.

HILL, Maureen V.; MCMAHON, Michelle L.; STUCKE, Ryland S.; BARTH, Richard J. Wide Variation and Excessive Dosage of Opioid Prescriptions for Common General Surgical Procedures. **Annals of Surgery**, v. 265, n. 4, p. 709–714, 2017.

HINE, Christopher *et al.* Endogenous hydrogen sulfide production is essential for dietary restriction benefits. **Cell**, v. 160, n. 1, p. 132-144, 2015.

HIRAMOTO, Shiori *et al.* Cystitis-Related Bladder Pain Involves ATP-Dependent HMGB1 Release from Macrophages and Its Downstream H₂S/Cav3.2 Signaling in Mice. **Cells**, v. 9, n. 8, p. 1748, 2020.

HUNSKAAR, Steinar; BERGE, Odd-Geir; HOLE, Kjell. A modified hot-plate test sensitive to mild analgesics. **Behavioural Brain Research**, v. 21, n. 2, p. 101–108, 1986.

I., Dalle-Donne; R., Rossi; D., Giustarini; A., Milzani; R., Colombo. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. **Clinica Chimica Acta**, v. 329, n. 1-2, p. 23-38, 2003.

IBSEN, Mikkel Søres; CONNOR, Mark; GLASS, Michelle. Cannabinoid CB1 and CB2 Receptor Signaling and Bias. **Cannabis and cannabinoid research**, v. 2, n. 1, p. 48-60, 2017.

JAMALI, Fakhreddin; BROCKS, Dion R. Clinical Pharmacokinetics of Ketoprofen and Its Enantiomers. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 19, n. 3, p. 197-217, 1990.

JAYAMANNE, Angelo; GREENWOOD, Ruth; MITCHELL, Vanessa A.; ASLAN, Sevda; PIOMELLI, Daniele; VAUGHAN, Christopher W. Actions of the FAAH inhibitor URB597 in neuropathic and inflammatory chronic pain models. **British Journal of Pharmacology**, v. 147, n. 3, p. 281-288, 2006.

JESUS, Carlos Henrique Alves *et al.* Cannabidiol attenuates mechanical allodynia in streptozotocin-induced diabetic rats via serotonergic system activation through 5-HT1A receptors. **Brain Research**, v. 1715, p. 156-164, 2019.

JIANG, Zheng; LI, Chun; MANUEL, Morganne L.; YUAN, Shuai; KEVIL, Christopher G.; MCCARTER, Kimberly D.; LU, Wei; SUN, Hong. Role of hydrogen sulfide in early blood-brain barrier disruption following transient focal cerebral ischemia. **PLoS ONE**, v. 10, n. 2, p. e0117982, 2015.

JIN, Sheng *et al.* Cardiac H₂S generation is reduced in ageing diabetic mice. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2015.

JULIUS, David. TRP Channels and Pain. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 29, n. 1, p. 355–384, 2013.

KANG, Sinyoung; LEE, Dongchul; THEUSCH, Brett E.; ARPEY, Christopher J.; BRENNAN, Timothy J. Wound hypoxia in deep tissue after incision in rats. **Wound Repair and Regeneration**, v. 21, n. 5, p. 730–739, 2013.

KEHLET, Henrik. Postoperative pain, analgesia, and recovery—bedfellows that cannot be ignored. **Pain**, v. 159, n. 1, p. S11–S16, 2018.

KELLEY, Nathan; JELTEMA, Devon; DUAN, Yanhui; HE, Yuan. The NLRP3 inflammasome: An overview of mechanisms of activation and regulation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 13, p. 3328, 2019.

KIDA, Kotaro; MARUTANI, Eizo; NGUYEN, Rebecca K.; ICHINOSE, Fumito. Inhaled hydrogen sulfide prevents neuropathic pain after peripheral nerve injury in mice. **Nitric Oxide**, v. 46, p. 87–92, 2015.

KIDO, Kanta; GAUTAM, Mamta; BENSON, Christopher J.; GU, He; BRENNAN, Timothy J. Effect of Deep Tissue Incision on pH Responses of Afferent Fibers and Dorsal Root Ganglia Innervating Muscle. **Anesthesiology**, v. 119, n. 5, p. 1186–1197, 2013.

KIM, Tae Jung; FREML, Luke; PARK, Soo Seog; BRENNAN, Timothy J. Lactate Concentrations in Incisions Indicate Ischemic-like Conditions May Contribute to Postoperative Pain. **The Journal of Pain**, v. 8, n. 1, p. 59–66, 2007.

KIMURA, Hideo. Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system. **Neurochemistry International**, v. 63, n. 5, p. 492–497, 2013.

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0197018613002295>.

KIMURA, Hideo. Hydrogen Sulfide and Polysulfide Signaling. **Antioxidants & Redox**

Signaling, v. 27, n. 10, p. 619–621, 2017.

KIMURA, Hideo. Signalling by hydrogen sulfide and polysulfides via protein S - sulfuration. **British Journal of Pharmacology**, v. 177, n. 4, p. 720–733, 2020.

KIMURA, Hideo. Hydrogen Sulfide (H₂S) and Polysulfide (H₂Sn) Signaling: The First 25 Years. **Biomolecules**, v. 11, n. 6, p. 896, 2021.

KIMURA, Yuka; KIMURA, Hideo. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. **The FASEB Journal**, n. 71, p. e88, 2011.

KLAFKE, J. Z. *et al.* Acute and chronic nociceptive phases observed in a rat hind paw ischemia/reperfusion model depend on different mechanisms. **Pflugers Archiv European Journal of Physiology**, v. 468, p. 229-241, 2016.

KLUEH, Michael P. *et al.* Transitions of Care for Postoperative Opioid Prescribing in Previously Opioid-Naïve Patients in the USA: a Retrospective Review. **Journal of General Internal Medicine**, v. 33, n. 10, p. 1685–1691, 2018.

KONČIČ, Marijana; RAJIČ, Zrinka; PETRIČ, Neva; ZORC, Branka. Antioxidant activity of NSAID hydroxamic acids. **Acta Pharmaceutica**, v. 59, n. 2, p. 235-242, 2009.

KOROLEVA, Kseniya; MUSTAFINA, Alsu; YAKOVLEV, Aleksey; HERMANN, Anton; GINIATULLIN, Rashid; SITDIKOVA, Guzel. Receptor mechanisms mediating the pro-nociceptive action of hydrogen sulfide in rat trigeminal neurons and meningeal afferents. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 11, p. 226, 2017.

KUCZYŃSKA, Joanna; NIERADKO-IWANICKA, Barbara. Future prospects of ketoprofen in improving the safety of the gastric mucosa. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 139, p. 111608, 2021.

KUNER, Rohini; FLOR, Herta. Structural plasticity and reorganisation in chronic pain. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 18, n. 1, p. 20-30, 2017.

KUNER, Rohini; KUNER, Thomas. Cellular circuits in the brain and their modulation in acute and chronic pain. **Physiological Reviews**, 2021.

LANDONI, M. F.; FOOT, R.; FREAN, S.; LEES, P. Effects of flunixin, tolfenamic acid, R(-) and S(+) ketoprofen on the response of equine synoviocytes to lipopolysaccharide stimulation. **Equine Veterinary Journal**, v. 28, n. 6, p. 468-475, 1996.

LANZA, Frank L.; CODISPOTI, Joseph R.; NELSON, Edward B. An endoscopic comparison of gastroduodenal injury with over-the-counter doses of ketoprofen and acetaminophen. **American Journal of Gastroenterology**, v. 93, n. 7, p. 1051-1054, 1998.

LAVAND'HOMME, Patricia. Transition from acute to chronic pain after surgery. **Pain**, v. 158, n. 1, p. S50–S54, 2017.

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

LEE, Moonhee; SCHWAB, Claudia; YU, Sheng; MCGEER, Edith; MCGEER, Patrick L. Astrocytes produce the antiinflammatory and neuroprotective agent hydrogen sulfide. **Neurobiology of Aging**, v. 30, n. 10, p. 1523-1534, 2009

LI, Tong *et al.* Neuroprotective roles of L-cysteine in attenuating early brain injury and improving synaptic density via the CBS/H₂S pathway following subarachnoid hemorrhage in rats. **Frontiers in Neurology**, v. 8, p. 176, 2017.

LIANG, De-Yong; LI, XiangQi; LI, Wen-Wu; FIORINO, Dennis; QIAO, Yanli; SAHBAIE, Peyman; YEOMANS, David C.; CLARK, J. David. Caspase-1 Modulates Incisional Sensitization and Inflammation. **Anesthesiology**, v. 113, n. 4, p. 945–956, 2010.

LIN, Jian-qing; LUO, Hui-qin; LIN, Cai-zhu; CHEN, Jin-zhuan; LIN, Xian-zhong. Sodium Hydrosulfide Relieves Neuropathic Pain in Chronic Constriction Injured Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 1–7, 2014.

LIN, Zhe *et al.* Hydrogen sulfide attenuates oxidative stress-induced NLRP3 inflammasome activation via S-sulhydrating c-Jun at Cys269 in macrophages. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1864, n. 9, p. 2890-2900, 2018.

LÓPEZ-MUÑOZ, Francisco Javier; VENTURA, Rosa; DÍAZ, M. Irene; FERNÁNDEZ-GUASTI, Alonso; TOST, Digna; CABRÉ, Francesc; MAULEÓN, David. Antinociceptive Effects of S(+)-Ketoprofen and Other Analgesic Drugs in a Rat Model of Pain Induced Uric Acid. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 38, n. S1, p. 11S-21S, 1998.

LOVICH-SAPOLA, Jessica; SMITH, Charles E.; BRANDT, Christopher P. Postoperative Pain Control. **Surgical Clinics of North America**, v. 95, n. 2, p. 301–318, 2015.

LU, Hui Chen; MACKIE, Ken. Review of the Endocannabinoid System. **Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging**, v. 6, n. 6, p. 607-615, 2021.

MAGIEROWSKI, Marcin; MAGIEROWSKA, Katarzyna; KWIECIEN, Slawomir; BRZOZOWSKI, Tomasz. Gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulfide in the mechanism of gastrointestinal integrity, protection and ulcer healing. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 9099-9123, 2015.

MAIA, Lucas O.; DALDEGAN-BUENO, Dimitri; FISCHER, Benedikt. Opioid use, regulation, and harms in Brazil: a comprehensive narrative overview of available data and indicators. **Substance Abuse: Treatment, Prevention, and Policy**, v. 16, n. 1,

p. 1–10, 2021.

MALDONADO, Rafael; BAÑOS, Josep Eladi; CABAÑERO, David. The endocannabinoid system and neuropathic pain. **Pain**, v. 157, p. S23-S32, 2016.

MANNILA, Anne; KOKKI, Hannu; HEIKKINEN, Marja; LAISALMI, Merja; LEHTONEN, Marko; LOUHISTO, Hanna L.; JÄRVINEN, Tomi; SAVOLAINEN, Jouko. Cerebrospinal fluid distribution of ketoprofen after intravenous administration in young children. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 45, p. 737-743, 2006.

MARCU, Jahan P.; SCHECHTER, Jason B. Molecular pharmacology of CB1 and CB2 cannabinoid receptors. In: **Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse**. Academic Press, 2016. p. 713-721.

MASSA, Federico; STORR, Martin; LUTZ, Beat. The endocannabinoid system in the physiology and pathophysiology of the gastrointestinal tract. **Journal of Molecular Medicine**, v. 83, p. 944-954, 2005.

MATSUMIYA, Lynn C. et al. Using the Mouse Grimace Scale to reevaluate the efficacy of postoperative analgesics in laboratory mice. **Journal of the American association for laboratory animal science**, v. 51, n. 1, p. 42-49, 2012.

MATSUNAMI, Maho *et al.* Involvement of the endogenous hydrogen sulfide/Cav3.2 T-type Ca²⁺ channel pathway in cystitis-related bladder pain in mice. **British Journal of Pharmacology**, v. 167, n. 4, p. 917-928, 2012.

MAZZA, Rosa; PASQUA, Teresa; CERRA, Maria Carmela; ANGELONE, Tommaso; GATTUSO, Alfonsina. Akt/eNOS signaling and PLN S-sulfhydration are involved in H₂S-dependent cardiac effects in frog and rat. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 305, n. 4, p. R443-R451, 2013.

MCKINNEY, Michele K.; CRAVATT, Benjamin E. Structure and function of fatty acid amide hydrolase. **Annual Review of Biochemistry**, v. 74, p. 411-432, 2005.

MEARA, John G. *et al.* Global Surgery 2030: Evidence and solutions for achieving health, welfare, and economic development. **International Journal of Obstetric Anesthesia**, v. 386, n. 9993, p. 569-624, 2015.

MELO, Ivo S. F. *et al.* 4-Methylbenzenecarbothioamide, a hydrogen sulfide donor, inhibits tumor necrosis factor- α and CXCL1 production and exhibits activity in models of pain and inflammation. **European Journal of Pharmacology**, v. 856, p. 172404, 2019.

MIAO, Xiuhua; MENG, Xiaowen; WU, Geping; JU, Zhong; ZHANG, Hong Hong; HU, Shufen; XU, Guang Yin. Upregulation of cystathionine- β -synthetase expression contributes to inflammatory pain in rat temporomandibular joint. **Molecular Pain**, v. 10, p. 1744-8069-10-9, 2014.

MIDDLETON, Steven J. *et al.* Studying human nociceptors: From fundamentals to

clinic. **Brain**, v. 144, n. 5, p. 1312-1335, 2021.

MIGLIORE, Marco; HABRANT, Damien; SASSO, Oscar; ALBANI, Clara; BERTOZZI, Sine Mandrup; ARMIROTTI, Andrea; PIOMELLI, Daniele; SCARPELLI, Rita. Potent multitarget FAAH-COX inhibitors: Design and structure-activity relationship studies. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 109, p. 216-237, 2016.

MILENI, Mauro *et al.* Structure-guided inhibitor design for human FAAH by interspecies active site conversion. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 35, p. 12820-12824, 2008.

MILENI, Mauro; GARFUNKLE, Joie; EZZILI, Cyrine; CRAVATT, Benjamin F.; STEVENS, Raymond C.; BOGER, Dale L. Fluoride-mediated capture of a noncovalent bound state of a reversible covalent enzyme inhibitor: X-ray crystallographic analysis of an exceptionally potent α -ketoheterocycle inhibitor of fatty acid amide hydrolase. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, n. 11, p. 4092-4100, 2011.

MILLS, Sarah E. E.; NICOLSON, Karen P.; SMITH, Blair H. Chronic pain: a review of its epidemiology and associated factors in population-based studies. **British Journal of Anaesthesia**, v. 123, n. 2, p. e273-e283, 2019.

MIN, Xiaoshan *et al.* Discovery and molecular basis of potent noncovalent inhibitors of fatty acid amide hydrolase (FAAH). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 18, p. 7379-7384, 2011.

MIRANDA, H. F.; LOPEZ, J.; SIERRALTA, F.; CORREA, A.; PINARDI, G. NSAID antinociception measured in a chemical and a thermal assay in mice. **Pain Research and Management**, v. 6, p. 190-196, 2001.

MULLACHERY, Pricila H.; LIMA-COSTA, Maria Fernanda; DE LOYOLA FILHO, Antônio Ignácio. Prevalence of pain and use of prescription opioids among older adults: results from the Brazilian Longitudinal Study of Aging (ELSI-Brazil). **Lancet Regional Health - Americas**, v. 20, p. 100459, 2023.

MUSTAFA, Asif K. *et al.* Hydrogen sulfide as endothelium-derived hyperpolarizing factor sulfhydrates potassium channels. **Circulation Research**, v. 109, n. 11, p. 1259-1268, 2011.

NASI, Sonia; EHIRCHIOU, Driss; CHATZIANASTASIOU, Athanasia; NAGAHARA, Noriyuki; PAPAPETROPOULOS, Andreas; BERTRAND, Jessica; CIRINO, Giuseppe; SO, Alexander; BUSSO, Nathalie. The protective role of the 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (3-MST)-hydrogen sulfide (H₂S) pathway against experimental osteoarthritis. **Arthritis Research & Therapy**, v. 22, n. 1, p. 49, 2020.

NETTER, P.; LAPICQUE, F.; BANNWARTH, B.; TAMISIER, J. N.; THOMAS, P.; ROYER, R. J. Diffusion of intramuscular ketoprofen into the cerebrospinal fluid. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 29, p. 319-321, 1985.

NIKOLENKO, Vladimir N.; SHELOMENTSEVA, Ekaterina M.; TSVETKOVA, Maria

M.; ABDEEVA, Elina I.; GILLER, Dmitriy B.; BABAYEVA, Juliya V.; ACHKASOV, Evgeny E.; GAVRYUSHOVA, Liliya V.; SINELNIKOV, Mikhail Y. Nociceptors: Their Role in Body's Defenses, Tissue Specific Variations and Anatomical Update. **Journal of Pain Research**, p. 867-877, 2022.

OKUBO, Kazumasa; MATSUMURA, Midori; KAWAISHI, Yudai; AOKI, Yuka; MATSUNAMI, Maho; OKAWA, Yasumasa; SEKIGUCHI, Fumiko; KAWABATA, Atsufumi. Hydrogen sulfide-induced mechanical hyperalgesia and allodynia require activation of both Cav3.2 and TRPA1 channels in mice. **British Journal of Pharmacology**, v. 166, n. 5, p. 1738-1743, 2012.

OLAS, B. Hydrogen sulfide as a "double-faced" compound: one with pro-and antioxidant effect. **Advances in clinical chemistry**, v. 78, p. 187-196, 2017.

OLIVEIRA, Janaíne Prata; COSTA, Soraia Katia Pereira. PAPEL DO SULFETO DE HIDROGÊNIO NA RESPOSTA NOCICEPTIVA OROFACIAL: caracterização de mecanismos central e periférico. 2021. Qualificação de Doutorado. Universidade de São Paulo.

OLIVEIRA, Sara M.; SILVA, Cássia R.; FERREIRA, Juliano. Critical role of protease-activated receptor 2 activation by mast cell tryptase in the development of postoperative pain. **Anesthesiology**, v. 118, n. 3, p. 679-690, 2013.

OLIVEIRA, Sara Marchesan; DREWES, Carine Cristiane; SILVA, Cássia Regina; TREVISAN, Gabriela; BOSCHEN, Suelen Lucio; MOREIRA, Camila Guimaraes; DE ALMEIDA CABRINI, Daniela; DA CUNHA, Claudio; FERREIRA, Juliano. Involvement of mast cells in a mouse model of postoperative pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 672, n. 1-3, p. 88-95, 2011.

OLSON, Kenneth R.; STRAUB, Karl D. The role of hydrogen sulfide in evolution and the evolution of hydrogen sulfide in metabolism and signaling. **Physiology**, v. 31, n. 1, p. 60-72, 2016.

OSSIPOV, Michael H.; MORIMURA, Kozo; PORRECA, Frank. Descending pain modulation and chronification of pain. **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, v. 8, n. 2, p. 143, 2014.

PALERMO, Giulia; BAUER, Inga; CAMPOMANES, Pablo; CAVALLI, Andrea; ARMIROTTI, Andrea; GIROTTO, Stefania; ROTH LISBERGER, Ursula; DE VIVO, Marco. Keys to Lipid Selection in Fatty Acid Amide Hydrolase Catalysis: Structural Flexibility, Gating Residues and Multiple Binding Pockets. **PLoS Computational Biology**, v. 11, n. 6, p. e1004231, 2015.

PALERMO, Giulia; FAVIA, Angelo D.; CONVERTINO, Marino; DE VIVO, Marco. The Molecular Basis for Dual Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH)/Cyclooxygenase (COX) Inhibition. **ChemMedChem**, v. 11, n. 12, p. 1252-1258, 2016.

PÁLINKÁS, Zoltán *et al.* Interactions of hydrogen sulfide with myeloperoxidase. **British Journal of Pharmacology**, v. 172, n. 6, p. 1516-1532, 2015.

PAN, Li Long; LIU, Xin Hua; GONG, Qi Hai; WU, Dan; ZHU, Yi Zhun. Hydrogen sulfide attenuated tumor necrosis factor- α -induced inflammatory signaling and dysfunction in vascular endothelial cells. **PLoS ONE**, v. 6, n. 5, p. e19766, 2011.

PEH, Meng Teng; ANWAR, Azzahra Binti; NG, David S. W.; SHIRHAN BIN MOHAMED ATAN, Mohamed; KUMAR, Srinivasan Dinesh; MOORE, Philip K. Effect of feeding a high fat diet on hydrogen sulfide (H₂S) metabolism in the mouse. **Nitric Oxide - Biology and Chemistry**, v. 41, p. 138-145, 2014.

PEIRS, Cedric; SEAL, Rebecca P. Neural circuits for pain: Recent advances and current views. **Science**, v. 354, n. 6312, p. 578–584, 2016.

PENPRASE, Barbara; BRUNETTO, Elisa; DAHMANI, Eman; FORTHOFFER, Jola Janaqi; KAPOOR, Samantha. The Efficacy of Preemptive Analgesia for Postoperative Pain Control: A Systematic Review of the Literature. **AORN Journal**, v. 101, n. 1, p. 94- 105.e8, 2015.

PETTERSEN, Eric F.; GODDARD, Thomas D.; HUANG, Conrad C.; COUCH, Gregory S.; GREENBLATT, Daniel M.; MENG, Elaine C.; FERRIN, Thomas E. UCSF Chimera - A visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605-1612, 2004.

PINHO-RIBEIRO, Felipe A.; VERRI, Waldiceu A.; CHIU, Isaac M. Nociceptor Sensory Neuron–Immune Interactions in Pain and Inflammation. **Trends in Immunology**, v. 38, n. 1, p. 5-19, 2017.

POGATZKI-ZAHN, Esther M.; SEGELCKE, Daniel; SCHUG, Stephan A. Postoperative pain—from mechanisms to treatment. **PAIN Reports**, v. 2, n. 2, p. e588, 2017.

POGATZKI-ZAHN, Esther; SEGELCKE, Daniel; ZAHN, Peter. Mechanisms of acute and chronic pain after surgery. **Current Opinion in Anaesthesiology**, v. 31, n. 5, p. 575–585, 2018.

POGATZKI, Esther M.; RAJA, Srinivasa N. A Mouse Model of Incisional Pain. **Anesthesiology**, v. 99, n. 4, p. 1023–1027, 2003.

POWELL, Chadwick R.; DILLON, Kearsley M.; MATSON, John B. A review of hydrogen sulfide (H₂S) donors: Chemistry and potential therapeutic applications. **Biochemical Pharmacology**, v. 149, p. 110–123, 2018.

POZSGAI, Gábor; BÁTAL, István Zoárd; PINTÉR, Erika. Effects of sulfide and polysulfides transmitted by direct or signal transduction-mediated activation of TRPA1 channels. **British Journal of Pharmacology**, v. 176, n. 4, p. 628–645, 2019.

PRADO, W. A.; PONTES, R. M. C. Presurgical ketoprofen, but not morphine, dipyrone, diclofenac or tenoxicam, preempts post-incisional mechanical allodynia in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 1, p. 111–119, 2002. DOI: 10.1590/S0100-879X2002000100016. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2002000100016&lng=en&tlng=en.

PSOMAS, George. Copper(II) and zinc(II) coordination compounds of non-steroidal anti-inflammatory drugs: Structural features and antioxidant activity. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 412, p. 213259, 2020.

QABAZARD, Bedoor; MASOCHA, Willias; KHAJAH, Maitham; PHILLIPS, Oludotun Adebayo. H₂S donor GYY4137 ameliorates paclitaxel-induced neuropathic pain in mice. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 127, p. 110210, 2020.

QI, Feihu; ZHOU, Youlang; XIAO, Ying; TAO, Jin; GU, Jianguo; JIANG, Xinghong; XU, Guang Yin. Promoter demethylation of cystathionine- β -synthetase gene contributes to inflammatory pain in rats. **Pain**, v. 154, n. 1, p. 34-45, 2013.

QIN, Ming; LONG, Fen; WU, Weijun; YANG, Di; HUANG, Mengwei; XIAO, Chenxi; CHEN, Xu; LIU, Xinhua; ZHU, Yi Zhun. Hydrogen sulfide protects against DSS-induced colitis by inhibiting NLRP3 inflammasome. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 137, p. 99-109, 2019.

QIU, Hai Xia; LIU, Jin; KONG, Hui; LIU, Yan; MEI, Xing guo. Isobolographic analysis of the antinociceptive interactions between ketoprofen and paracetamol. **European Journal of Pharmacology**, v. 557, n. 2-3, p. 141-146, 2007.

QUIÑONEZ-BASTIDAS, Geovanna Nallely; PALOMINO-HERNÁNDEZ, Oscar; LÓPEZ-ORTÍZ, Manuel; ROCHA-GONZÁLEZ, Héctor Isaac; GONZÁLEZ-ANDUAGA, Gloria Melisa; REGLA, Ignacio; NAVARRETE, Andrés. Antiallodynic effect of PhAR-DBH-Me involves cannabinoid and TRPV1 receptors. **Pharmacology Research & Perspectives**, v. 8, n. 5, 2020.

RAJA, Srinivasa N. *et al.* The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, v. 161, n. 9, p. 1976–1982, 2020.

RAWAL, Narinder. Current issues in postoperative pain management. **European Journal of Anaesthesiology**, v. 33, n. 3, p. 160–171, 2016.

REIFFENSTEIN, R. J.; HULBERT, William C.; ROTH, Sheldon H. Toxicology of Hydrogen Sulfide. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 32, n. 1, p. 109–134, 1992.

RITTNER, H. L.; HACKEL, D.; YAMDEU, R. S.; MOUSA, S. A.; STEIN, C.; SCHÄFER, M.; BRACK, A. Antinociception by neutrophil-derived opioid peptides in noninflamed tissue—Role of hypertonicity and the perineurium. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 23, n. 4, p. 548–557, 2009.

ROBINSON, C. E.; KESHAVARZIAN, A.; PASCO, D. S.; FROMMEL, T. O.; WINSHIP, D. H.; HOLMES, E. W. Determination of protein carbonyl groups by immunoblotting. **Analytical Biochemistry**, v. 266, n. 1, p. 48-57, 1999.

RODRIGUES, L. *et al.* Protective effects of exogenous and endogenous hydrogen sulfide in mast cell-mediated pruritus and cutaneous acute inflammation in mice. **Pharmacological Research**, v. 115, p. 255–266, 2017.

RODRIGUES, Leandro; COSTA, Soraia Katia Pereira. Efeito de doadores de H2S no controle do prurido e inflamação cutânea em camundongos. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42136/tde-18092012-093925/pt-br.php>>.

ROMERO-SANDOVAL, Alfonso; EISENACH, James C. Spinal cannabinoid receptor type 2 activation reduces hypersensitivity and spinal cord glial activation after paw incision. **Anesthesiology**, v. 106, n. 4, p. 787-794, 2007.

RUDD, Rose A.; ALESHIRE, Noah; ZIBBELL, Jon E.; GLADDEN, R. Matthew. Increases in Drug and Opioid Overdose Deaths — United States, 2000–2014. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 64, n. 50–51, p. 1378–1382, 2016.

SAHBAIE, Peyman; LI, Xiangqi; SHI, Xiaoyou; CLARK, J. David. Roles of Gr-1+Leukocytes in Postincisional Nociceptive Sensitization and Inflammation. **Anesthesiology**, v. 117, n. 3, p. 602–612, 2012.

SANDER, Hannah; WALLACE, Samantha; PLOUSE, Rachel; TIWARI, Shuchita; GOMES, Aldrin V. Ponceau S waste: Ponceau S staining for total protein normalization. **Analytical Biochemistry**, v. 575, p. 44-53, 2019.

SANTIAGO, Bruno Vitor Martins; OLIVEIRA, Ana Beatriz Garcez De; SILVA, Gabriel Machado Romão Da; SILVA, Maxuel de Freitas Da; BERGAMO, Pedro Ernandes; PARISE, Maud; VILLELA, Nivaldo Ribeiro. Prevalence of chronic pain in Brazil: A systematic review and meta-analysis. **Clinics**, v. 78, n. September 2022, p. 1–8, 2023.

SANTOS, Bruna M.; GARATTINI, Emanuela G.; BRANCO, Luiz G. S.; LEITE-PANISSI, Christie R. A.; NASCIMENTO, Glauce C. The therapeutic potential of cystathionine gamma-lyase in temporomandibular inflammation-induced orofacial hypernociception. **Physiology and Behavior**, v. 188, p. 128-133, 2018.

SARZI-PUTTINI, P.; ATZENI, F.; LANATA, L.; BAGNASCO, M.; COLOMBO, M.; FISCHER, F.; D'IMPORZANO, M. Pain and ketoprofen: what is its role in clinical practice? **Reumatismo**, v. 62, n. 3, 2011.

SASSO, Oscar; BERTORELLI, Rosalia; BANDIERA, Tiziano; SCARPELLI, Rita; COLOMBANO, Giampiero; ARMIROTTI, Andrea; MORENO-SANZ, Guillermo; REGGIANI, Angelo; PIOMELLI, Daniele. Peripheral FAAH inhibition causes profound antinociception and protects against indomethacin-induced gastric lesions. **Pharmacological Research**, v. 65, n. 5, p. 553–563, 2012.

SASSO, Oscar; MIGLIORE, Marco; HABRANT, Damien; ARMIROTTI, Andrea; ALBANI, Clara; SUMMA, Maria; MORENO-SANZ, Guillermo; SCARPELLI, Rita; PIOMELLI, Daniele. Multitarget Fatty acid amide hydrolase/cyclooxygenase blockade suppresses intestinal inflammation and protects against nonsteroidal anti-inflammatory drug-dependent gastrointestinal damage. **FASEB Journal**, v. 29, n. 6, p. 2616, 2015.

SCHURMAN, Lesley D. et al. Molecular mechanism and cannabinoid pharmacology. **Substance Use Disorders: From Etiology to Treatment**, p. 323-353, 2020.

SEN, Nilkantha; PAUL, Bindu D.; GADALLA, Moataz M.; MUSTAFA, Asif K.; SEN, Tanusree; XU, Risheng; KIM, Seyun; SNYDER, Solomon H. Hydrogen Sulfide-Linked Sulfhydration of NF- κ B Mediates Its Antiapoptotic Actions. **Molecular Cell**, v. 45, n. 1, p. 13–24, 2012.

SHAHBAZI, Fred; GRANDI, Victoria; BANERJEE, Abhinandan; TRANT, John F. Cannabinoids and Cannabinoid Receptors: The Story so Far. **iScience**, v. 23, n. 7, 2020.

SHEFA, Ulfuara; KIM, Min Sik; JEONG, Na Young; JUNG, Junyang. Antioxidant and Cell-Signaling Functions of Hydrogen Sulfide in the Central Nervous System. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, 2018.

SHIGETOMI, Eiji; JACKSON-WEAVER, Olan; HUCKSTEPP, Robert T.; O'DELL, Thomas J.; KHAKH, Baljit S. TRPA1 Channels Are Regulators of Astrocyte Basal Calcium Levels and Long-Term Potentiation via Constitutive D-Serine Release. **Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 24, p. 10143–10153, 2013.

SMID, Scott D. Gastrointestinal endocannabinoid system: multifaceted roles in the healthy and inflamed intestine. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 35, n. 11, p. 1383-1387, 2008.

SOUZA, Juliana Barcellos De; GROSSMANN, Eduardo; PERISSINOTTI, Dirce Maria Navas; OLIVEIRA JUNIOR, Jose Oswaldo De; FONSECA, Paulo Renato Barreiros Da; POSSO, Irimar De Paula. Prevalence of Chronic Pain, Treatments, Perception, and Interference on Life Activities: Brazilian Population-Based Survey. **Pain Research and Management**, v. 2017, 2017.

SPOFFORD, Christina M.; ASHMAWI, Hazem; SUBIETA, Alberto; BUEVICH, Fatima; MOSES, Arikha; BAKER, Max; BRENNAN, Timothy J. Ketoprofen produces modality-specific inhibition of pain behaviors in rats after plantar incision. **Anesthesia and Analgesia**, v. 109, n. 6, p. 1992, 2009.

SPOFFORD, Christina M.; BRENNAN, Timothy J. Gene Expression in Skin, Muscle, and Dorsal Root Ganglion after Plantar Incision in the Rat. **Anesthesiology**, v. 117, n. 1, p. 161–172, 2012.

STANIASZEK, L. E.; NORRIS, L. M.; KENDALL, D. A.; BARRETT, D. A.; CHAPMAN, V. Effects of COX-2 inhibition on spinal nociception: The role of endocannabinoids. **British Journal of Pharmacology**, v. 160, n. 3, p. 669-676, 2010.

STEWART, James J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods VI: More modifications to the NDDO approximations and re-optimization of parameters. **Journal of Molecular Modeling**, v. 19, p. 1-32, 2013.

STEWART, James J. P. **MOPAC 2016 Stewart Computational Chemistry**, 2016.

STIPANUK, M. H.; BECK, P. W. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. **The Biochemical journal**, v. 206, n. 2, p. 267-277, 1982.

STUBBERT, Daniel; PRYSYAZHNA, Oleksandra; RUDYK, Olena; SCOTCHER, Jenna; BURGOYNE, Joseph R.; EATON, Philip. Protein kinase G α oxidation paradoxically underlies blood pressure lowering by the reductant hydrogen sulfide. **Hypertension**, v. 64, n. 6, p. 1344-1351, 2014.

STUCKY, Cheryl L.; MIKESELL, Alexander R. Cutaneous pain in disorders affecting peripheral nerves. **Neuroscience Letters**, v. 765, p. 136233, 2021.

SUGIYAMA, Daisuke; KANG, Sinyoung; BRENNAN, Timothy J. Muscle Reactive Oxygen Species (ROS) Contribute to Post-Incisional Guarding via the TRPA1 Receptor. **PLOS ONE**, v. 12, n. 1, p. e0170410, 2017.

SUN, Qingxiang *et al.* Structural basis for the inhibition mechanism of human cystathionine γ -lyase, an enzyme responsible for the production of H₂S. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 5, p. 3076-3085, 2009.

SUN, Yang; YANG, Mingmin; TANG, Hao; MA, Zhongfu; LIANG, Yanbing; LI, Zhenyu. The over-production of TNF- α via Toll-like receptor 4 in spinal dorsal horn contributes to the chronic postsurgical pain in rat. **Journal of Anesthesia**, v. 29, n. 5, p. 734–740, 2015.

SUNZINI, Flavia; DE STEFANO, Susanna; CHIMENTI, Maria Sole; MELINO, Sonia. Hydrogen sulfide as potential regulatory neurotransmitter in arthritic diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 4, p. 1180, 2020.

SWANSON, Karen V.; DENG, Meng; TING, Jenny P. Y. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. **Nature Reviews Immunology**, v. 19, n. 8, p. 477-489, 2019.

SYHR, Katharina M. J. *et al.* The H₂S-producing enzyme CSE is dispensable for the processing of inflammatory and neuropathic pain. **Brain Research**, v. 1624, p. 380-389, 2015.

SZABO, Csaba; PAPAPETROPOULOS, Andreas. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CII: Pharmacological Modulation of H₂S Levels: H₂S Donors and H₂S Biosynthesis Inhibitors. **Pharmacological Reviews**, v. 69, n. 4, p. 497–564, 2017.

TANG, Guanghua; WU, Lingyun; WANG, Rui. Interaction of hydrogen sulfide with ion channels. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 37, n. 7, p. 753-763, 2010.

TOCZEK, Marek; MALINOWSKA, Barbara. Enhanced endocannabinoid tone as a potential target of pharmacotherapy. **Life Sciences**, v. 204, p. 20-45, 2018.

TRACEY, W. Daniel. Nociception. **Current Biology**, v. 27, n. 4, p. R129-R133, 2017.

TRIPATHI, Rati Kailash Prasad. A perspective review on fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitors as potential therapeutic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2020, v. 188, p. 111953, 2020.

TROUVIN, Anne Priscille; PERROT, Serge. New concepts of pain. **Best Practice and Research: Clinical Rheumatology**, v. 33, n. 3, p. 101415, 2019.

TSUHAKO, Maria Heloisa; AUGUSTO, Ohara; LINARES, Edlaine; CHADI, Gerson; GIORGIO, Selma; PEREIRA, Carlos A. Tempol ameliorates murine viral encephalomyelitis by preserving the blood-brain barrier, reducing viral load, and lessening inflammation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 48, n. 5, p. 704-712, 2010.

UHELSKI, Megan L.; KHASABOVA, Iryna A.; SIMONE, Donald A. Inhibition of anandamide hydrolysis attenuates nociceptor sensitization in a murine model of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. **Journal of Neurophysiology**, v. 113, n. 5, p. 1501-1510, 2015.

UKEDA, Hiroyuki; HASEGAWA, Yuko; ISHI, Toshinao; SAWAMURA, Masayoshi. Inactivation of Cu, Zn-superoxide dismutase by intermediates of Maillard reaction and glycolytic pathway and some sugars. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 61, n. 12, p. 2039-2042, 1997.

UPP, Lily A.; WALJEE, Jennifer F. The Opioid Epidemic. **Clinics in Plastic Surgery**, v. 47, n. 2, p. 181-190, 2020.

URQUHART, P.; NICOLAOU, A.; WOODWARD, D. F. Endocannabinoids and their oxygenation by cyclo-oxygenases, lipoxygenases and other oxygenases. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1851, n. 4, p. 366-376, 2015.

VAAMONDE-GARCÍA, Carlos; BURGUERA, Elena F.; VELA-ANERO, Ángela; HERMIDA-GÓMEZ, Tamara; FILGUEIRA-FERNÁNDEZ, Purificación; FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, Jennifer A.; MEIJIDE-FAÍLDE, Rosa; BLANCO, Francisco J. Intraarticular Administration Effect of Hydrogen Sulfide on an In Vivo Rat Model of Osteoarthritis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 19, p. 7421, 2020.

VADIVELU, Nalini; KAI, Alice M.; KODUMUDI, Vijay; SRAMCIK, Julie; KAYE, Alan D. The Opioid Crisis: a Comprehensive Overview. **Current Pain and Headache Reports**, v. 22, n. 3, p. 16, 2018.

VASCONCELOS, Fernando Holanda; ARAÚJO, Gessi Carvalho De. Prevalence of chronic pain in Brazil: a descriptive study. **Brazilian Journal Of Pain**, v. 1, p. 176-179, 2018.

VELLY, Ana Miriam; MOHIT, Shrisha. Epidemiology of pain and relation to

psychiatric disorders. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 87, p. 159–167, 2018.

VUČKOVIĆ, Sonja; SREBRO, Dragana; VUJOVIĆ, Katarina Savić; VUČETIĆ, Čedomir; PROSTRAN, Milica. Cannabinoids and Pain: New Insights From Old Molecules. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, 2018.

WALLACE, John L. *et al.* Anti-inflammatory and cytoprotective actions of hydrogen sulfide: Translation to therapeutics. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 22, n. 5, p. 398-410, 2015.

WALLACE, John L.; IANARO, Angela; DE NUCCI, Gilberto. Gaseous Mediators in Gastrointestinal Mucosal Defense and Injury. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 62, p. 2223-2230, 2017.

WALLACE, John L.; NAGY, Peter; FEENER, Troy D.; ALLAIN, Thibault; DITRÓI, Tamás; VAUGHAN, David J.; MUSCARA, Marcelo N.; DE NUCCI, Gilberto; BURET, Andre G. A proof-of-concept, Phase 2 clinical trial of the gastrointestinal safety of a hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drug. **British Journal of Pharmacology**, v. 177, n. 4, p. 769-777, 2020.

WALLACE, John L.; VAUGHAN, David; DICAY, Michael; MACNAUGHTON, Wallace K.; DE NUCCI, Gilberto. Hydrogen Sulfide-Releasing Therapeutics: Translation to the Clinic. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 28, n. 16, p. 1533-1540, 2018.

WALLACE, John L.; WANG, Rui. Hydrogen sulfide-based therapeutics: exploiting a unique but ubiquitous gasotransmitter. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 5, p. 329–345, 2015.

WANG, Honggang; SHI, Xingzhuo; QIU, Mengyuan; LV, Shuangyu; ZHENG, Hong; NIU, Baohua; LIU, Huiyang. Hydrogen sulfide plays an important role by influencing NLRP3 inflammasome. **International Journal of Biological Sciences**, 2 v. 16, n. 14, p. 2752, 2020.

WANG, Rui. Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? . **The FASEB Journal**, v. 16, n. 13, p. 1792-1798, 2002.

WANG, Rui. Physiological Implications of Hydrogen Sulfide: A Whiff Exploration That Blossomed. **Physiological Reviews**, v. 92, n. 2, p. 791–896, 2012.

WANG, Victor C.; MULLALLY, William J. Pain Neurology. **The American Journal of Medicine**, v. 133, n. 3, p. 273–280, 2020.

WANG, Wenfu *et al.* Endogenous H₂S sensitizes PAR4-induced bladder pain. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 314, n. 6, p. F1077-F1086, 2018.

WANG, Xue Long; TIAN, Bin; HUANG, Ya; PENG, Xiao Yan; CHEN, Li Hua; LI, Jun Cheng; LIU, Tong. Hydrogen sulfide-induced itch requires activation of Cav3.2 T-type calcium channel in mice. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 16768, 2015.

WANG, Y.; WU, J.; GUO, R.; ZHAO, Y.; WANG, Y.; ZHANG, M.; CHEN, Z.; WU, A.; YUE, Y. Surgical incision induces phosphorylation of AMPA receptor GluR1 subunits at Serine-831 sites and GluR1 trafficking in spinal cord dorsal horn via a protein kinase C γ -dependent mechanism. **Neuroscience**, v. 240, p. 361-370, 2013.

WANG, Yanfei *et al.* Role of hydrogen sulfide in the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein e knockout mice. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 29, n. 2, p. 173-179, 2009.

WANG, Ying; BRANICKY, Robyn; NOË, Alycia; HEKIMI, Siegfried. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. **Journal of Cell Biology**, v. 217, n. 6, p. 1915-1928, 2018 b.

WANG, Yongmeng; QU, Ruobing; HU, Shufen; XIAO, Ying; JIANG, Xinghong; XU, Guang Yin. Upregulation of Cystathionine β -Synthetase Expression Contributes to Visceral Hyperalgesia Induced by Heterotypic Intermittent Stress in Rats. **PLoS ONE**, 2012. v. 7, n. 12, p. e53165, 2012.

WATERHOUSE, Andrew *et al.* SWISS-MODEL: Homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic Acids Research**, 2018. v. 46, n. W1, p. W296-W303, 2018.

WHITEMAN, Matthew; LI, Ling; KOSTETSKI, Iouri; CHU, Siew Hwa; SIAU, Jia Ling; BHATIA, Madhav; MOORE, Philip K. Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulphide. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 2 v. 343, n. 1, p. 303-310, 2006.

WHITEMAN, Matthew; LI, Ling; ROSE, Peter; TAN, Choon-Hong; PARKINSON, David B.; MOORE, Philip K. The Effect of Hydrogen Sulfide Donors on Lipopolysaccharide-Induced Formation of Inflammatory Mediators in Macrophages. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 12, n. 10, p. 1147–1154, 2010.

WOLLER, Sarah A.; EDDINGER, Kelly A.; CORR, Maripat; YAKSH, Tony L. An overview of pathways encoding nociception. **Clinical and experimental rheumatology**, v. 35 Suppl 1, n. 5, p. 40–46, 2017.

WOO, Young Cheol; PARK, Soo Seog; SUBIETA, Alberto R.; BRENNAN, Timothy J. Changes in Tissue pH and Temperature after Incision Indicate Acidosis May Contribute to Postoperative Pain. **Anesthesiology**, v. 101, n. 2, p. 468–475, 2004.

WOODHAMS, S. G.; SAGAR, D. R.; BURSTON, J. J.; CHAPMAN, V. The role of the endocannabinoid system in pain. **Handbook of Experimental Pharmacology**, p. 119-143, 2015.

WOODHAMS, Stephen G.; CHAPMAN, Victoria; FINN, David P.; HOHMANN, Andrea G.; NEUGEBAUER, Volker. The cannabinoid system and pain. **Neuropharmacology**, v. 124, p. 105-120, 2017.

WU, Christopher L.; RAJA, Srinivasa N. Treatment of acute postoperative pain. **The Lancet**, v. 377, n. 9784, p. 2215–2225, 2011.

XIE, Zhi Zhong; LIU, Yang; BIAN, Jin Song. Hydrogen Sulfide and Cellular Redox Homeostasis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2016.

XU, Jun; BRENNAN, Timothy J. Guarding Pain and Spontaneous Activity of Nociceptors after Skin versus Skin Plus Deep Tissue Incision. **Anesthesiology**, v. 112, n. 1, p. 153–164, 2010.

YAMAKITA, Shunsuke; HORII, Yasuhiko; TAKEMURA, Hitomi; MATSUOKA, Yutaka; YAMASHITA, Ayahiro; YAMAGUCHI, Yosuke; MATSUDA, Megumi; SAWA, Teiji; AMAYA, Fumimasa. Synergistic activation of ERK1/2 between A-fiber neurons and glial cells in the DRG contributes to pain hypersensitivity after tissue injury. **Molecular Pain**, v. 14, p. 1744806918767508, 2018.

YAMAKITA, Shunsuke; MATSUDA, Megumi; YAMAGUCHI, Yosuke; SAWA, Teiji; AMAYA, Fumimasa. Dexmedetomidine prolongs levobupivacaine analgesia via inhibition of inflammation and p38 MAPK phosphorylation in rat dorsal root ganglion. **Neuroscience**, v. 361, p. 58-68, 2017.

YAN, Jun; HU, Shufen; ZOU, Kang; XU, Min; WANG, Qianliang; MIAO, Xiuhua; YU, Shan Ping; XU, Guang Yin. Inhibition of cystathionine β -synthetase suppresses sodium channel activities of dorsal root ganglion neurons of rats with lumbar disc herniation. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 38188, 2016.

YANG, Guangdong; ZHAO, Kexin; JU, Youngjun; MANI, Sarathi; CAO, Qihui; PUUKILA, Stephanie; KHAPER, Neelam; WU, Lingyun; WANG, Rui. Hydrogen sulfide protects against cellular senescence via s-sulfhydration of keap1 and activation of Nrf2. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 18, n. 15, p. 1906-1919, 2013.

ZAHN, P. Effect of blockade of nerve growth factor and tumor necrosis factor on pain behaviors after plantar incision. **The Journal of Pain**, v. 5, n. 3, p. 157–163, 2004.

ZAHN, Peter K.; POGATZKI-ZAHN, Esther M.; BRENNAN, Timothy J. Spinal administration of MK-801 and NBQX demonstrates NMDA-independent dorsal horn sensitization in incisional pain. **Pain**, v. 114, n. 3, p. 499-510, 2005.

ZANARDO, Renata C. O. *et al.* Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. **The FASEB Journal**, v. 20, n. 12, p. 2118–2120, 2006.

ZAORSKA, Ewelina; TOMASOVA, Lenka; KOSZELEWSKI, Dominik; OSTASZEWSKI, Ryszard; UFNAL, Marcin. Hydrogen sulfide in pharmacotherapy, beyond the hydrogen sulfide-donors. **Biomolecules**, v. 10, n. 2, p. 323, 2020.

ZHANG, Honghua *et al.* Hydrogen sulfide donors: Therapeutic potential in anti-atherosclerosis. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 205, p. 112665, 2020.

ZHANG, Mingyang *et al.* Dynamic change of hydrogen sulfide after traumatic brain injury and its effect in mice. **Neurochemical Research**, v. 38, p. 714-725, 2013.

ZHANG, Minjie *et al.* The cystathionine β -synthase/hydrogen sulfide pathway contributes to microglia-mediated neuroinflammation following cerebral ischemia. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 66, p. 332-346, 2017.

ZHAO-FLEMING, Hannah; HAND, Audrey; ZHANG, Kelly; POLAK, Robert; NORTHCUT, Armand; JACOB, Daron; DISSANAIKE, Sharmila; RUMBAUGH, Kendra P. Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on post-surgical complications against the backdrop of the opioid crisis. **Burns & Trauma**, v. 6, 2018.

ZHAO, Huichen; LU, Shengxia; CHAI, Jiachao; ZHANG, Yuchao; MA, Xiaoli; CHEN, Jicui; GUAN, Qingbo; WAN, Meiyang; LIU, Yuantao. Hydrogen sulfide improves diabetic wound healing in ob/ob mice via attenuating inflammation. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 31, n. 9, p. 1363-1369, 2017.

ZHAO, Shuang; LIU, Fei Fei; WU, Yu Ming; JIANG, Yu Qing; GUO, Yue Xian; WANG, Xiu Li. Upregulation of spinal NMDA receptors mediates hydrogen sulfide-induced hyperalgesia. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 363, p. 176-181, 2016.

ZHAO, Yu; BIGGS, Tyler D.; XIAN, Ming. Hydrogen sulfide (H₂S) releasing agents: Chemistry and biological applications. **Chemical Communications**, v. 50, n. 80, p. 11788-11805, 2014.

ZHONG, Huiqin; YIN, Huiyong. Role of lipid peroxidation derived 4-hydroxynonenal (4-HNE) in cancer: Focusing on mitochondria. **Redox Biology**, v. 4, p. 193–199, 2015.

ZUHRA, Karim; AUGSBURGER, Fiona; MAJTAN, Tomas; SZABO, Csaba. Cystathionine- β -synthase: Molecular regulation and pharmacological inhibition. **Biomolecules**, v. 10, n. 5, p. 697, 2020.