

Juliana Florenzano

**“EXPOSIÇÃO PRECOCE AO POLUENTE 1,2-NAFTOQUINONA (1,2-NQ) E A
SUSCEPTIBILIDADE DIFERENCIAL À INFLAMAÇÃO PULMONAR EM
CAMUNDONGOS C57BL/6 MACHOS E FÊMEAS”**

Dissertação apresentada ao Departamento
de Farmacologia do Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo,
para obtenção do Título de Mestre em
Ciências.

Área de concentração: Farmacologia

Orientadora: Profa. Dra. Soraia Kátia
Pereira Costa

São Paulo
2011

RESUMO

Florenzano J. Exposição precoce ao poluente 1,2-naftoquinona (1,2-NQ) e a susceptibilidade diferencial à inflamação pulmonar em camundongos C57BL/6 machos e fêmeas [Dissertação (Mestrado em Farmacologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.

Evidências sugerem que fatores hormonais bem como ambientais parecem influenciar no grau de inflamação alérgica de indivíduos (ou da prole). Neste sentido, estudo prévio do grupo demonstrou que a exposição de camundongos neonatos ao poluente ambiental, 1,2-naftoquinona (1,2-NQ), encontrado nas partículas de exaustão do diesel (PED), potencializou a inflamação alérgica nas vias aéreas desses animais na fase adulta. Neste estudo, o objetivo foi avaliar a influência da exposição precoce ao poluente 1,2-NQ na resposta inflamatória alérgica em camundongos C57BL/6, na fase da puberdade, em ambos os gêneros, machos e fêmeas. Foram utilizados animais obtidos do Biotério Local mediante a aprovação do Comitê de Ética ICB/USP. Parâmetros funcionais e inflamatórios foram avaliados em diferentes grupos experimentais após 43 dias da exposição a 1,2-NQ. A exposição de camundongos fêmeas e machos a 1,2-NQ não promoveu diferenças na hiperreatividade (HR) nas vias aéreas destes frente à metacolina (MCh) quando comparado aos respectivos grupos controles. Porém, a HR foi maior nas fêmeas alérgicas, tanto na ausência quanto presença da 1,2-NQ. A exposição precoce de camundongos machos, mas não fêmeas, a 1,2-NQ + OVA/OVA, levou ao aumento significativo do influxo de leucócitos (eosinófilos) no pulmão, sangue e medula óssea em relação aos respectivos grupos controles do mesmo gênero e também das fêmeas. De forma semelhante, concentrações de IL-4, IL-5, IL-13 e INF- γ foram mensuradas no pulmão, enquanto IgE aumentado foi detectado no sangue periférico desses animais. Ademais, o aumento da atividade da enzima antioxidante catalase foi observada no grupo 1,2-NQ + OVA/OVA de animais fêmeas, mas não no respectivo grupo de machos. Considerando que o aumento da atividade da catalase está associado a ausência de exacerbação da resposta inflamatória em fêmeas jovens, mas não em machos, sugerindo que o aumento da atividade da catalase constitui um fator antioxidante de controle da exacerbação da resposta inflamatória alérgica frente a exposição neonatal ao poluente 1,2-NQ, o qual deve ser dependente de hormônios sexuais.

Palavras-chave: 1,2-naftoquinona, asma, hormônios sexuais, catalase, puberdade

ABSTRACT

Florenzano J. Early exposure to the pollutant 1,2-naphthoquinone (1,2-NQ) and differential susceptibility to lung inflammation in male and female C57BL / 6 mice [Masters thesis (Pharmacology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.

Evidence suggests that hormonal factors and environmental seem to influence the degree of allergic inflammation of adult individuals (or offspring). Previously, the group showed that exposure of neonatal mice to environmental pollutant, 1,2-naphthoquinone (1,2-NQ), found in diesel exhaust particles (PED), enhanced the allergic inflammation in the airways of these animals in adulthood. In this study, the aim was to evaluate the influence of early exposure to the pollutant 1,2-NQ in the allergic inflammatory response in C57BL / 6, during puberty in both males and females mice. Animals were obtained from the Local Animal House with the approval of Local Ethics Committee of ICB / USP. Functional and inflammatory parameters were assessed in different experimental groups after 43 days of exposure to 1,2-NQ. The exposure of female and male mice to 1,2-NQ did not influence the airways hyperreactivity (HR) evoked by methacholine (MCh) compared to respective control groups. However, HR was higher in allergic females mice in both the absence and presence of 1,2-NQ. Early exposure of male mice treated with 1,2-NQ + OVA / OVA, but not females, led to significant increase in the influx of leukocytes (eosinophils) in the lung, blood and bone marrow in comparison to respective control groups of the same gender and also females. Similarly, concentrations of IL-4, IL-5, IL-13 and INF- γ were measured in the lungs, while increased IgE was detected in peripheral blood of these animals. Furthermore, increased activity of the antioxidant enzyme catalase was found in female mice group treated with 1,2-NQ + OVA / OVA, but not males. Considering that increase of catalase activity is associated of exacerbation to inflammatory response in young females but not males, we suggest that increase activity of this enzyme may constitute a anti-oxidant factor to control the exacerbation of the allergic inflammatory response by previous exposure 1,2-NQ, which should be dependent on sex hormones.

Key words: 1.2-naphthoquinone, asthma, sex hormones, catalase, puberty

1 INTRODUÇÃO

1.1 Asma: papel dos hormônios sexuais

A asma é uma doença inflamatória crônica que atinge preferencialmente as vias aéreas inferiores: traquéia, brônquios e pulmões, cujas características principais incluem obstrução do fluxo de ar e hiperresponsividade brônquica (HRB). Ademais, são comuns as alterações no epitélio brônquico (descamação), alterações mesenquimais (ex.: espessamento da lâmina basal), hipersecreção mucosa, hipertrofia das glândulas mucosas e aumento das células caliciformes que, por fim, contribuem para o aumento de secreção intraluminal, e obstrução das vias por, também, excesso de muco e angiogênese (Pascual e Peters, 2005; Mauad et al., 2007; Boulet e Sterk, 2007; Rock et al., 2010). Tudo isto resulta de uma somatória de alterações celulares, vasculares e bioquímicas (alterações inflamatórias), que compreendem: vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular (congestão da microvascularização brônquica) e extravasamento plasmático dos vasos para o interstício e luz das vias aéreas (edema), intensa infiltração de células inflamatórias nos brônquios, predominantemente eosinófilos, linfócitos Th2 e células apresentadoras de antígeno (APCs), como as células dendríticas (CDs) e macrófagos. Além disto, os neutrófilos, linfócitos T CD4+, mastócitos e mediadores inflamatórios (ex.: histamina, citocinas do tipo Th1 e Th2, quimiocinas, prostaglandinas D2 [PGD2], tromboxanos A2 [TXA2] e cisteinil leucotrienos [LTC4, LTD4]) e fatores de crescimento, tais como o fator estimulante de colônia de macrófago/granulócito (GM-CSF) e o fator de transformação do crescimento beta (TGF- β) participam desse processo inflamatório (Garcia et al., 2005; Kallinich et al., 2005; Bradding et al., 2006; Kay, 2006).

Os mediadores inflamatórios exercem um papel crítico no desenvolvimento da asma, pois contribuem para promover lesões no epitélio brônquico e, por conseguinte, agravam o quadro de HRB, levando à disfunção das vias aéreas (Amin et al., 2000; Kay, 2005) e indução do processo de remodelamento (Global Initiative for Asthma, 1995; Cohn et al., 2004). Esse último ocorre em decorrência de repetidas lesões nas vias aéreas, podendo levar à metaplasia das células epiteliais, hipoplasia (incapacidade de diferenciar-se) de células basais ou hiperplasia de células caliciformes (Ordoñez et al.,

2001). Na vigência do processo de remodelamento, algumas proteínas como as proteínas da matriz extracelular (ECM), procolagenase III (precursor maduro para colágeno III), proteoglicanos (lumican) e glicoproteínas (tenascina) depositam-se na membrana basal reticular (Roche et al., 1989) e na mucosa brônquica (Wilson e Li, 1997; Roche et al., 1989; Jeffery et al., 1992; Laitinen et al., 1997; Huang et al., 1999) e, assim, influenciam a função celular no que se refere aos mecanismos de adesão, diferenciação e sobrevivência das células (Anwar et al., 1993; Murphy-Ullrich, 2001).

Os eosinófilos desempenham um papel relevante na asma brônquica. De fato, proteínas granulares eosinofílicas, assim como a proteína básica maior de eosinófilos e peroxidase eosinofílica, causam mudanças histopatológicas nas vias aéreas, dentre elas estreitamento reversível destas (HRB) (Gleich et al., 2000; Gleich, 2000). Adicionalmente, as células Th2 estimulam o influxo de eosinófilos via mecanismo dependente da liberação das citocinas interleucinas 4 e 5 (IL-4 e IL-5) (Garlisi et al., 1995). A IL-5 é o principal fator de crescimento dos eosinófilos, atua na diferenciação de precursores eosinofílicos (Sanderson, 1992) bem como na sensibilização (*priming*) destas (Sehmi et al., 1992). Ainda, ela favorece a sobrevivência dos eosinófilos nos tecidos (Rothenberg et al., 1989). A IL-4 também estimula o crescimento de mastócitos além de favorecer o crescimento e ativação dos eosinófilos (Kindt et al., 2007).

À semelhança dos eosinófilos, a imunoglobulina E (IgE) representa um indicador importante das doenças alérgicas (Peng, 2009 ; Rage et al., 2009), pois além de influenciar diretamente a iniciação e propagação da cascata e resposta inflamatória (Buhl, 2005), a IgE também atua como um regulador crítico de respostas Th2. Nesse caso, isso ocorre devido ao aumento de afinidade da IgE por receptores específicos (FcεRI) presentes na superfície da membrana de mastócitos e basófilos (Peng, 2009).

Em geral, a asma pode ser dividida em asma extrínseca (ou atópica) e intrínseca (ou não atópica): a forma extrínseca ocorre mediante a sensibilização inicial para antígenos inalatórios e químicos (Husain et al., 2007; Mathias et al., 2009) e, neste caso, depende da ativação de linfócitos Th2 e do aumento da gênese de IL-4 e IL-5 (Virchow et al., 1995; Humbert et al., 1996), as quais estimulam a produção de IgE pelas células B. Já na forma intrínseca, predomina a ativação de parâmetros distintos, que depende da produção de IL-5, IL-2 e interferon gama (INF- γ), mas não de IL-4, o qual é incompatível com parâmetros típicos de resposta Th2 (Walker et al., 1992, 1994).

Evidências experimentais e clínicas mostram que o aumento da biossíntese dessas citocinas na asma bem como das citocinas inflamatórias IL-1 β , IL-6, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e INF- γ (Lang et al., 2002) pode ser suprimida pela IL-10, cuja produção depende da ativação de monócitos e macrófagos ativados. Pode ser também produzida por células T auxiliares e por células B. Além disto, a IL-10 possui característica pleiotrópicas, ou seja, atua sobre muitos tipos celulares como agente imunossupressor na asma (Takanashi et al., 1999).

Curiosamente, vários, porém controversos, estudos mostram que a resposta inflamatória alérgica pode ser distinta entre os gêneros masculino e feminino nas diferentes fases da vida. Por exemplo, entre a idade de 2 a 17 anos, a asma prevalece no sexo masculino, enquanto após a puberdade, essa doença afeta, pelo menos três vezes mais, o sexo feminino (Balzano et al., 2001; Schatz et al., 2006). No entanto, Vink et al. (2010) observaram em ambos os sexos que, da infância até o início da puberdade (11 anos), as respostas inflamatórias alérgicas foram idênticas entre os gêneros feminino e masculino. Cabe ressaltar, porém, que após os 16 anos de idade, a taxa de incidência da asma foi maior no sexo feminino. Corroborando tais evidências, estudos experimentais em modelo animal de asma mostram que camundongos fêmea exibiram maior resposta inflamatória alérgica nas vias aéreas do que os machos (Corteling e Trifilieff, 2004; Melgert et al., 2005).

Aproximadamente 33 a 52% de mulheres asmáticas apresentam piora do quadro inflamatório antes ou durante a menstruação (Ensom et al., 1999). Acredita-se que os hormônios femininos (estrógeno e progesterona) potencializam indiretamente a resposta inflamatória, porque são capazes de estimular a diferenciação de linfócitos Th naïve para Th2 (Miyaura et al., 2002) bem como aumentam a biogênese de IL-4 e IL-5 (Piccinni et al., 1995; Lambert et al., 2005). Curiosamente, em camundongos macho alérgicos tratados com progesterona, a resposta inflamatória eosinofílica foi bem mais intensa do que em animais alérgicos não tratados (Hellings et al., 2003), reforçando assim o papel pró-inflamatório (protetor) dos hormônios femininos. De fato, outros autores observaram que quando camundongos fêmea ovariectomizadas foram sensibilizadas com ovalbumina (OVA), a inflamação alérgica pulmonar foi significativamente menor do que nos animais não operados. No entanto, na vigência do tratamento com o benzoato de estradiol, os animais exibiram resposta inflamatória alérgica parcial (Riffo-Vasquez et al., 2007). Isto sugere que a reposição hormonal

restaura a função fisiológica do mecanismo inflamatório nos animais. Cabe acrescentar que, em estudo *in vitro* de cultura de células endoteliais da mucosa nasal de pacientes com rinite alérgica, a adição de β -estradiol e progesterona a essa cultura aumentou a adesão e degranulação eosinofílica. Em contrapartida, a adição de testosterona à mesma cultura celular inibiu o efeito de maior adesão e degranulação.

No contexto da asma e a influência dos hormônios sexuais, cabe acrescentar o papel importante das citocinas (Oliveira et al., 2007). Achados desses pesquisadores mostram que ratas ovariectomizadas submetidas à inflamação alérgica experimental exibiram aumento da concentração de IL-10 no lavado broncoalveolar (LBA) e na medula óssea (MO). Por outro lado, as concentrações de IL-4 e das citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β e TNF- α) estavam reduzidas no LBA e MO, respectivamente. Na vigência do tratamento desses animais com o estradiol previamente ao estímulo alérgico, o influxo eosinofílico aumentou marcadamente no LBA. Quando o tratamento foi realizado com a progesterona, esses autores observaram o mesmo parâmetro anterior, ou seja, redução significativa do influxo de eosinófilos no LBA, mostrando claramente o papel diferencial de ambos hormônios femininos na inflamação alérgica pulmonar experimental.

1.2 A poluição e o seu impacto sobre a saúde de crianças e neonatos

A poluição do ar é o resultado da alteração das características físicas, químicas e biológicas normais da atmosfera, de forma a causar danos ao ser humano, à fauna, à flora, aos materiais, ou restringir o pleno uso e gozo da propriedade, ou afetar negativamente o bem-estar da população (<http://www.universoambiental.com.br>). Nesse sentido, agências reguladoras, dentro e fora do país, estabelecem níveis de referência, também denominado padrão de qualidade do ar, para diferenciar a atmosfera poluída da atmosfera não poluída. No Brasil, tais padrões são estabelecidos pelo órgão consultor do governo, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), com base na resolução nº 03, de 28 de junho de 1990.

É de conhecimento que, ao longo dos anos, a poluição atmosférica piorou no mundo todo, mas infelizmente, poucos países consideram isso como uma ameaça à saúde da população. Historicamente, os primeiros relatos do impacto lesivo da poluição

atmosférica resultante do uso extensivo da queima de carvão mineral sobre a saúde da população data do século XIII, na Inglaterra (Bartra et al., 2007). Relatos históricos anteriores, ano 79 (D.C.), mostram que a poluição ambiental oriunda da erupção vulcânica do Monte Vesúvio foi também responsável por danos à saúde e morte de indivíduos na Itália. No entanto, somente no final do século XIX surgiu na Inglaterra e Estados Unidos a primeira legislação para o controle da poluição do ar, primordialmente oriunda da queima do carvão mineral (Bartra et al., 2007).

Em contrapartida, com a redução da contaminação do ar pela queima do carvão mineral, introduzia-se mundialmente o emprego de derivados do petróleo, o qual dava origem a outro contaminante importante do meio ambiente, as partículas de exaustão do diesel (PEDs). Em tese, a queima do petróleo nos motores de combustão interna deveria produzir apenas dióxido de carbono (CO₂) e água. Porém, deficiências no processo de combustão do automóvel somado as impurezas no combustível, acabam levando à formação de vários poluentes que podem incorporar-se a outras substâncias químicas presentes no ar. Paralelo ao emprego difuso dos derivados de petróleo, em particular o diesel, o crescimento e desenvolvimento das indústrias automotivas e o surgimento das grandes metrópoles, que possuem em comum uma elevada frota de automóveis, foram também estimulados (Ring et al., 2001; Bartra et al., 2007).

Por seu turno, aumenta a incidência de doenças alérgicas na população dessas metrópoles / grandes cidades, tais como São Paulo, Cidade do México e outras (Sandström et al., 2005; Gina, 2008; Datasus, 2009). Desta feita, a poluição atmosférica vem sendo considerada atualmente uma das grandes vilãs responsáveis por elevar o custo de Saúde na rede Pública de inúmeros países, dentre eles o Brasil (Arshad, 2005; Ko et al., 2007). De fato, evidências epidemiológicas sugerem que a exposição de indivíduos ao material particulado (MP) fino ($\leq 2,5 \mu\text{m}$) está correlacionada ao maior número de internações por crises pulmonares agudas e obstrutivas crônicas e, conseqüentemente, maior número de casos de óbitos (Peters et al., 1997; Peters et al., 2001; McCreanor et al., 2007). Outro dado curioso, refere-se ao achado pré-clínico de Oberdörster (2002) e Nemmar et al. (2008), os quais mostram que o MP ultrafino transloca-se das vias aéreas de indivíduos para a corrente sanguínea, podendo causar efeitos oxidativos diretos sobre a função vascular. A China, apesar de ser apontada como um dos principais emissores de poluição, o país ainda não possui uma política de

controle de qualidade do ar adequada e, por conta disso, possui um dos maiores contingentes de indivíduos com doenças respiratórias do mundo (Wilson et al., 2008).

As partículas de interesse da poluição do ar possuem diâmetros entre 0,01 a 100 μm , sendo estas classificadas em MP ultrafino ($< 0,1 \mu\text{m}$), fino (0,1 - 2,5 μm) e grosso ($> 2,5 \mu\text{m}$) (Brunekreef e Forsberg, 2005). As PEDs pertencem ao grupo do MP fino (0,1 - 2,5 μm) e consistem numa complexa mistura de mais de 100 compostos químicos orgânicos e inorgânicos divididos entre as fases particuladas e gasosas, donde pelo menos 40 componentes apresentam alto poder tóxico na atmosfera, tais como os hidrocarbonetos poliaromáticos, hidrocarbonetos alifáticos e heterocíclicos (Agência de Proteção Ambiental EUA, 2002; U.S.E.P.A). As fases particuladas contêm núcleos carbônicos capazes de adsorverem hidrocarbonetos aromáticos e cetonas aromáticas policíclicas e aldeídos. Dentre esses, destaca-se a substância química 1,2-naftoquinona (1,2-NQ), cuja concentração química para cada grama de PED é, em média, 13,7 μg (Cho et al., 2004). Outras quinonas também foram identificadas na superfície dos MP (Schuetzle et al., 1981; Schuetzle, 1983; Bolton et al., 2000).

As quinonas são geradas via metabolismo de hidroquinonas e/ou catecois, sendo esses nomeados a partir de derivados de compostos aromáticos semelhantes, tais como, as benzoquinonas derivadas do benzeno. Já as naftoquinonas são derivadas do naftaleno (Bolton et al., 2000). A geração das naftoquinonas a partir do naftaleno constitui a principal causa dos efeitos citotóxicos e genotóxicos dessa substância sobre linfócitos e leucócitos mononucleares humanos (Wilson et al., 1996). De fato, evidências mostram que tanto as quinonas quanto seus produtos de redução (ex: hidroquinona, semiquinonas) são de particular interesse farmacológico e toxicológico, pois causam imunotoxicidade, carcinogênese (ex.: câncer de pulmão), reações de arilação eletrofílica de núcleos celulares, servem como agentes alquilantes e interagem com flavoproteínas para gerar espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais lesam membranas celulares (Monks et al., 1992; Bolton et al., 2000; Cho et al., 2004) e promovem a geração de radicais livres (Kumagai et al., 1995).

1.3 Farmacologia das partículas da exaustão do diesel e seus componentes

Em relação ao pouco conhecimento do papel antigênico do MP, outro aspecto importante diz respeito à compreensão exata dos mecanismos de ação envolvidos. Curiosamente, a glutathione reduzida (GSH), um dos principais antioxidantes do meio intracelular implicado na prevenção de doenças promovidas pelo excesso de radicais livres ou espécies reativas tóxicas de oxigênio, está presente em baixas concentrações no pulmão de animais expostos as PEDs (Dong et al., 2005).

Alguns estudos experimentais mostram que o dano celular, o processo inflamatório e apoptose de macrófagos podem ocorrer devido a exposição as PEDs e aos compostos nelas adsorvidos, como a 1,2-NQ. Por exemplo, segundo Lim et al. (1998), a administração intratraqueal (i.tr.) das PEDs em camundongos aumentou a atividade da enzima P450 redutase, a qual é responsável pelo aumento da produção de O_2^- . Outro estudo *in vitro* demonstrou que as PEDs diminuíram a atividade da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione e, paralelamente, reduziram a atividade da enzima antioxidante catalase. Isto resultou em menor produção de agentes oxidantes, indicando um dos mecanismos pelos quais as PEDs causam dano celular, possivelmente devido a capacidade dessas partículas neutralizarem agentes oxidantes ((Mori et al., 1996; Pandya et al., 2002).

Outro importante aspecto a ser mencionado diz respeito ao pouco conhecimento da toxicidade dos diferentes compostos químicos presentes nas fases particulada e gasosa das PEDs sobre o desenvolvimento da resposta inflamatória (alérgica ou não) em indivíduos neonatos e jovens nascidos de mães saudáveis. Embora ainda não exista um consenso reconhecido sobre o efeito direto da poluição atmosférica no desencadeamento da asma e outros efeitos adversos na saúde de infantes, a literatura epidemiológica e experimental sugere que as crianças são as mais afetadas e, principalmente, aquelas com doenças respiratórias (Nicolai, 2002; Ward e Ayres, 2004). Em parte, acredita-se que isto se deve ao fato das crianças não responderem satisfatoriamente ao tratamento farmacológico ou não aderirem a ele (Bush e Saglani, 2010). Ademais, os neonatos da espécie humana em comum com neonatos animais possuem a imunidade comprometida e, portanto, maior susceptibilidade ao efeito deletério da poluição ambiental sobre a função das vias aéreas e desenvolvimento pós-natal (Venn et al., 2001; Hamada et al., 2007; Hougaard et al., 2008). Cabe acrescentar que Strickland et al. (2009),

investigando a teratogenicidade das PEDs em bebês, verificou uma nítida correlação entre esses bebês com malformação no aparelho cardiovascular e a maior exposição de suas mães durante a gestação à poluição ambiental.

Por seu turno, Lichtenfels juntamente com o grupo do Prof. Saldiva (2007) demonstraram que ratas expostas à poluição ambiental de São Paulo, desde a fase neonatal, exibiram na fase adulta uma maior taxa de abortamento e menor taxa de fertilidade. Além disto, achados de Fedulov et al. (2008) mostram que camundongos fêmea (não alérgicas) prenhas, quando expostas a uma única aplicação i.tr. da suspensão de PEDs (ou de partículas imunologicamente inertes como o dióxido de titânio) induziram aumento da resposta inflamatória alérgica à OVA e HRB na prole, indicando que o estado de prenhez *per se* influencia na capacidade dessas partículas aumentarem a susceptibilidade da prole à tais estímulos. É bem possível que tais efeitos potencializadores da poluição atmosférica sejam devido a uma maior produção de mediadores inflamatórios, visto que estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que tanto as PEDs quanto alguns dos seus contaminantes químicos orgânicos estimulam a biossíntese de citocinas (Heo et al., 2001, Devouassoux et al., 2002; Takizawa, 2004; Yanagisawa et al., 2006; Inoue et al., 2007; Teles et al., 2010). De fato, evidências experimentais mostram que a exacerbação da inflamação alérgica pulmonar frente ao contato prévio de animais com as PEDs ocorre em virtude da maior estimulação de células Th2 (Takano et al., 1997, 1998; Ichinose et al., 1998). Além disto, acredita-se que a exposição às PEDs afeta mecanismos antioxidantes nas vias aéreas (Behndig et al., 2006) bem como aumenta as concentrações séricas de citocinas inflamatórias (IL-6 e TNF- α) (Törnqvist et al., 2007).

Segundo Hamada et al. (2007) a exposição de camundongos neonatos ao MP fino rico em metais de transição (ROFA) promoveu aumento da resposta inflamatória alérgica, das concentrações de IgE e IgG e HRB à metacolina (MCh) na fase juvenil desses animais, indicando um aumento da susceptibilidade destes ao desenvolvimento da asma, independentemente do estímulo antigênico. Isto é curioso e acresce à literatura que o MP fino atua como potente fator adjuvante ou co-fator para o início (ou aumento) da sensibilização à resposta alérgica, pois o conhecimento prévio de acordo com a literatura é que a asma materna e/ou a exposição materna à alergenos constituem os

principais fatores de risco para o desenvolvimento da asma na infância (Fujimaki et al., 1997; Jones, 2002; Liu et al., 2009).

Contudo, nesse contexto, um importante aspecto a ser questionado diz respeito ao pouco conhecimento da toxicidade dos diferentes compostos químicos presentes nas fases particulada e gasosa das PEDs sobre o desenvolvimento da resposta inflamatória alérgica ou não nas diferentes fases da vida. Nesse sentido, resultados do grupo mostraram que a co-injeção i.tr. de 1,2-NQ com as PEDs em vias aéreas de ratos adultos *in vivo* causou hiporreatividade na traquéia e brônquio isolados desses animais, bem como intensificou a inflamação nas vias aéreas (inferiores e superiores) quando comparado com o efeito das PEDs isoladas, sugerindo que a 1,2-NQ exerce um papel lesivo importante na composição das PEDs e, de acordo com os achado deste grupo, os efeitos observados dependem, pelo menos em parte, de mecanismos neurogênicos (Teles et al., 2010; Oliveira et al., 2007).

Ainda em relação ao efeito deletério da 1,2-NQ na composição das PEDs sobre a saúde de neonatos e jovens, os estudos são escassos até o presente momento. No entanto, recente estudo do nosso laboratório mostrou que a exposição aguda de camundongos neonatos ao poluente isolado 1,2-NQ promoveu na fase adulta desses animais aumento marcante da resposta alérgica frente à OVA. Ao contrário, quando animais adultos foram expostos ao mesmo poluente, a resposta inflamatória alérgica não foi potencializada. Isto sugere que a exposição previa de camundongos, na fase neonatal, induziu alteração na resposta imunológica desses animais. Tal resposta foi consistente com a elevação da biossíntese de células inflamatórias, citocinas Th2, INF- γ , LTB₄ e IgE bem como maior apresentação antigênica e aumento da população de CDs (CD11c+CD8a+) (Santos et al., 2009). Esses achados contribuem com a sugestão de que o contato de indivíduos, na fase neonatal e não somente no útero, com a poluição atmosférica e, em particular, com a 1,2-NQ, sensibilizou o sistema imunológico, de alguma forma, causando potencialização da resposta inflamatória nas vias aéreas e/ou tolerância neonatal do sistema imune desses animais, um fenômeno capaz de interferir grandemente com o balanço local e sistêmico da imunidade Th2, independentemente do estímulo antigênico prévio. Curiosamente, dados epidemiológicos revelaram que, muito embora a poluição do ar na Alemanha foi reduzida, os casos de doenças das vias aéreas (ex.: asma) em crianças foram mais frequentes nesse mesmo período (von Mutius,

1996), sugerindo que possivelmente na fase perinatal, as chances de se desenvolver doenças que dependem de fatores ambientais não podem ser ignoradas.

4 CONCLUSÕES

1. A exposição precoce (neonatal) de camundongos C57BL/6, do sexo masculino ou feminino, ao poluente 1,2-NQ não afetou significativamente a reatividade das vias aéreas destes frente à MCh na fase jovem dos animais (43 dias após); no entanto, promoveu resposta inflamatória nas vias aéreas das fêmeas;
2. Enquanto a exposição precoce (neonatal) de camundongos C57BL/6 de ambos os sexos ao poluente 1,2-NQ, na vigência do segundo estímulo (OVA), aumentou na fase jovem destes, a reatividade das vias aéreas frente à MCh de forma semelhante (a qual não diferiu dos respectivos grupos alérgicos), a inflamação nas vias aéreas foi potencializada somente no grupo de camundongos machos;
3. Paralelamente, a concentração da biossíntese pulmonar de citocinas Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13) e INF- γ foi maior no grupo de camundongos macho, mas não no grupo das fêmeas, expostos a 1,2-NQ + OVA/OVA. Em contrapartida, nas fêmeas, mas não nos machos desses grupos, as concentrações de TNF- α e IL-10 bem como a atividade de catalase aumentou significativamente no pulmão;
4. Conclui-se que, a ausência da resposta inflamatória no grupo de camundongos do sexo feminino exposto a 1,2-NQ e OVA, associado ao aumento de atividade da catalase, indica um possível papel anti-oxidante dessa enzima no controle da inflamação em fêmeas, possivelmente dependente de fatores hormônios.
5. Isto nos leva a sugestão que o impacto da poluição do ar com poluentes, como a 1,2-NQ, sobre neonatos pode colocar os indivíduos do sexo masculino, na fase juvenil, em maior risco de doenças respiratórias do que os do sexo feminino.

REFERÊNCIAS¹

Amin K, Lúdvíksdóttir D, Janson C, Nettelbladt O, Björnsson E, Roomans GM, Boman G, Sevés L, Venge P. Inflammation and structural changes in the airways of patients with atopic and nonatopic asthma. BHR Group. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 ;162(6):2295-301.

Anwar AR, Moqbel R, Walsh GM, Kay AB, Wardlaw AJ. Adhesion to fibronectin prolongs eosinophil survival. *J Exp Med*. 1993;177:839–843.

Arshad SH, Kurukulaaratchy RJ, Fenn M, Matthews S. Early life risk factors for current wheeze, asthma, and bronchial hyperresponsiveness at 10 years of age. *Chest*. 2005;127(2):502-8.

Backus GS, Howden R, Fostel J, Bauer AK, Cho HY, Marzec J, Peden DB, Kleeberger SR. Protective role of interleukin-10 in ozone-induced pulmonary inflammation. *Environ Health Perspect*. 2010;118(12):1721-7.

Balzano G, Fuschillo S, Melillo G, Bonini S. Asthma and sex hormones. *Allergy*. 2001;56(1):13-20.

Barton GM, Medzhitov R. Tolllike receptor signaling pathways. *Sciences* 2003;300:1524–5.

Bartra J, Mullol J, del Cuvillo A, Dávila I, Ferrer M, Jáuregui I, Montoro J, Sastre J, Valero A. Air pollution and allergens. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2007;17 (Suppl 2):3-8.

Behndig AF, Mudway IS, Brown JL, Stenfors N, Helleday R, Duggan ST, Wilson SJ, Boman C, Cassee FR, Frew AJ, Kelly FJ, Sandström T, Blomberg A. Airway antioxidant and inflammatory responses to diesel exhaust exposure in healthy humans. *Eur Respir J*. 2006;27(2):359-65.

¹ De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. Available from: <http://www.icmje.org> [2007 May 22].

Bolton JL, Trush MA, Penning TM, Dryhurst G, Monks TJ. Role of quinones in toxicology. *Chem Res Toxicol*. 2000;13(3):135-60.

Boulet LP, Sterk PJ. Airway remodeling: the future. *Eur Respir J*. 2007;30:831-4.

Bradding P, Walls AF, Holgate ST. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117:1277-84.

Brunekreef B, Forsberg B. Epidemiological evidence of effects of coarse airborne particles on health. *Eur Respir J*. 2005;26(2):309-18.

Buhl R. Anti-IgE antibodies for the treatment of asthma. *Curr Opin Pulm Med*. 2005;11(1):27-34.

Bush A, Saglani S. Management of severe asthma in children. *Lancet*. 2010;376(9743):814-25. Review.

Cho AK, Schmitz DA, You Y, Rodriguez CE, Distefano E, Kumagai Y, Miguel AH, Figuren A, Kobayashi T, Avol EL, Froines JR. Determination of four quinones in Diesel exhaust particles, SRM1649A and atmospheric 2.5. *Aerosol Sci Technol*. 2004;38:1-14.

Corteling R, Trifilieff A. Gender comparison in a murine model of allergen-driven airway inflammation and the response to budesonide treatment. *BMC Pharmacol*. 2004;4:4.

de Oliveira AP, Domingos HV, Cavriani G, Damazo AS, Dos Santos Franco AL, Oliani SM, Oliveira-Filho RM, Vargaftig BB, de Lima WT. Cellular recruitment and cytokine generation in a rat model of allergic lung inflammation are differentially modulated by progesterone and estradiol. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007;293(3):C1120-8.

Denburg JA, Sehmi R, Saito H, Pil-Seob J, Inman MD, O'Byrne PM. Systemic aspects of allergic disease: bone marrow responses. *J Allergy Clin Immunol*. 2000; 106(5 Suppl): S242-246.

Departamento de Informática do SUS. Gastos por doenças crônicas, São Paulo, Brasil - 2008. Fonte: Departamento de Informática do SUS, órgão da Secretaria Executiva do Ministério da Saúde. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br> [2009 fev. 14].

Devouassoux G, Brambilla C. Effect of diesel particles on allergic inflammatory response: cellular targets and molecular mechanisms. *Rev Mal Respir.* 2002;19(4):467-79.

Dong CC, Yin XJ, Ma JY, Millecchia L, Wu ZX, Barger MW, Roberts JR, Antonini JM, Dey RD, Ma JK. Effect of diesel exhaust particles on allergic reactions and airway responsiveness in ovalbumin-sensitized brown Norway rats. *Toxicol Sci.* 2005;88(1):202-12.

Elekes K, Helyes Z, Kereskai L, Sándor K, Pintér E, Pozsgai G, Tékus V, Bánvölgyi A, Németh J, Szuts T, Kéri G, Szolcsányi J. Inhibitory effects of synthetic somatostatin receptor subtype 4 agonist on acute and chronic airway inflammation and hyperreactivity in the mouse. *Eur J Pharmacol.* 2008;578(2-3):313-22.

Ensom MH, Chong E, Carter D. Premenstrual symptoms in women with premenstrual asthma. *Pharmacotherapy.* 1999;19(4):374-82.

Fedulov AV, Leme A, Yang Z, Dahl M, Lim R, Mariani TJ, Kobzik L. Pulmonary exposure to particles during pregnancy causes increased neonatal asthma susceptibility. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2008;38(1):57-67.

Flood-Page PT, Menzies-Gow AN, Kay AB, Robinson DS. Eosinophil's role remains uncertain as antiinterleukin-5 only partially depletes numbers in asthmatic airway. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003a;167:199-204.

Fujimaki H, Saneyoshi K, Shiraishi F, Imai T, Endo T. Inhalation of diesel exhaust enhances antigen-specific IgE antibody production in mice. *Toxicology.* 1997;116(1-3):227-33.

Garcia G, Godot V, Humbert M. New chemokine targets for asthma therapy. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2005;5:155-160.

Garlisi CG, Falcone A, Kung TT, Stelts D, Pennline KJ, Beavis AJ, et al. T cells are necessary for Th2 cytokine production and eosinophil accumulation in airways of antigenchallenged allergic mice. *Clin Immunol Immunopathol* 1995; 75:75e83.

Gleich GJ, Adolphson CR, Kita H. The eosinophil and asthma. In: Busse WW, Holgate ST, editors. *Asthma and rhinitis.* 2nd ed. Oxford, England: Blackwell Science Ltd; 2000. vol. 1. p.429e79.

Gleich GJ. Mechanisms of eosinophil-associated inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;105:651e63.

Global Initiative for Asthma, 1995; Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:789-815.

Global initiative for asthma. Global strategy for asthma management and prevention. Update: 2008. Available from: <http://www.ginasthma.com> [2009 fev. 16].

Hamada K, Suzaki Y, Leme A, Ito T, Miyamoto K, Kobzik L, Kimura H Exposure of pregnant mice to an air pollutant aerosol increases asthma susceptibility in offspring. *J Toxicol Environ Health A.* 2007;70(8):688-95.

Hamano N, Terada N, Maesako K, Hohki G, Ito T, Yamashita T, Konno A. Effect of female hormones on the production of IL-4 and IL-13 from peripheral blood mononuclear cells. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1998;537:27-31.

Hamelmann E, Schwarze J, Takeda K, Oshiba A, Larsen GL, Irvin CG, Gelfand EW. Noninvasive measurement of airway responsiveness in allergic mice using barometric plethysmography. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156:766-75.

Hammad H, Lambrecht BN. Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(3):193-204. Review.

Hellings PW, Vandekerckhove P, Claeys R, Billen J, Kasran A, Ceuppens JL. Progesterone increases airway eosinophilia and hyper-responsiveness in a murine model of allergic asthma. *Clin Exp Allergy.* 2003;33(10):1457-63.

Heo Y, Saxon A, Hankinson O. Effect of diesel exhaust particles and their components on the allergen-specific IgE and IgG1 response in mice. *Toxicology.* 2001;159(3):143-58.

Hougaard KS, Jensen KA, Nordly P, Taxvig C, Vogel U, Saber AT, Wallin H. Effects of prenatal exposure to diesel exhaust particles on postnatal development, behavior, genotoxicity and inflammation in mice. *Part Fibre Toxicol.* 2008;5:3.

Huang J, Olivenstein R, Taha R, Hamid Q, Ludwig M. Enhanced proteoglycan deposition in the airway wall of atopic asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:725-9.

Humbert M, Durham SR, Ying S, Kimmitt P, Barkans J, Assoufi B, et al. IL-4 and IL-5 mRNA and protein in bronchial biopsies from patients with atopic and nonatopic asthma: evidence against “intrinsic” asthma being a distinct immunopathologic entity. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;154:1497e504.

Husain A, Loehle JA, Hein DW. Clinical pharmacogenetics in pediatric patients. *Pharmacogenomics*. 2007;8(10):1403-11.

Hutchison S, Choo-Kang BS, Gibson VB, Bundick RV, Leishman AJ, Brewer JM, McInnes IB, Garside P. An investigation of the impact of the location and timing of antigen-specific T cell division on airways inflammation. *Clin Exp Immunol*. 2009;155(1):107-16.

Ichinose T, Takano H, Miyabara Y, Sagai M. Long-term exposure to diesel exhaust enhances antigen-induced eosinophilic inflammation and epithelial damage in the murine airway. *Toxicol Sci*. 1998;44(1):70-9.

Inoue K, Takano H, Yanagisawa R, Sakurai M, Abe S, Yoshino S, Yamaki K, Yoshikawa T. Effects of components derived from diesel exhaust particles on lung physiology related to antigen. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2007;29(3-4):403-12.

Jeffery PK, Godfrey RW, Adelroth E, Nelson F, Rogers A, Johansson SA. Effects of treatment on airway inflammation and thickening of basement membrane reticular collagen in asthma. A quantitative light and electron microscopic study. *Am Rev Respir Dis*. 1992;145(4 Pt 1):890-9.

Jones M. Childhood coughs and colds. *J Fam Health Care*. 2002;12(2):39-41.

Kallinich T, Schmidt S, Hamelmann E. Chemokine-receptor expression on T cells in lung compartments of challenged asthmatic patients. *Clin Exp Allergy*. 2005;35: 26–33.
Kay AB. The role of eosinophils in the pathogenesis of asthma. *Trends Mol Med*. 2005;11(4):148-52.

Kay AB. The role of T lymphocytes in asthma. *Chem Immunol Allergy*. 2006;91: 59–75.

Kikuno S, Taguchi K, Iwamoto N, Yamano S, Cho AK, Froines JR, Kumagai Y. 1,2-Naphthoquinone activates vanilloid receptor 1 through increased protein tyrosine phosphorylation, leading to contraction of guinea pig trachea. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006;210(1-2):47-54.

King MR, Ismail AS, Davis LS, Karp DR. Oxidative Stress Promotes Polarization of Human T Cell Differentiation Toward a T Helper 2 Phenotype 1. *J Immunol.* 2006;176:2765-2772.

Ko FW, Tam W, Wong TW, Lai CK, Wong GW, Leung TF, Ng SS, Hui DS. Effects of air pollution on asthma hospitalization rates in different age groups in Hong Kong. *Clin Exp Allergy.* 2007;37(9):1312-9.

Kool M, Lambrecht BN. Dendritic cells in asthma and COPD: opportunities for drug development. *Curr Opin Immunol.* 2007;19(6):701-10.

Kumagai Y, Taira J, Sagai M. Apparent inhibition of superoxide dismutase activity in vitro by diesel exhaust particles. *Free Radic Biol Med.* 1995;18(2):365-71.

Laitinen A, Altraja A, Kämpe M, Linden M, Virtanen I, Laitinen LA. Tenascin is increased in airway basement membrane of asthmatics and decreased by an inhaled steroid. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156(3 Pt 1):951-8.

Lambert KC, Curran EM, Judy BM, Milligan GN, Lubahn DB, Estes DM. Estrogen receptor alpha (ERalpha) deficiency in macrophages results in increased stimulation of CD4+ T cells while 17beta-estradiol acts through ERalpha to increase IL-4 and GATA-3 expression in CD4+ T cells independent of antigen presentation. *J Immunol.* 2005;175(9):5716-23.

Lang R, Rutschman RL, Greaves DR, Murray PJ. Autocrine deactivation of macrophages in transgenic mice constitutively overexpressing IL-10 under control of the human CD68 promoter. *J Immunol.* 2002;168(7):3402-11.

Lichtenfels AJ, Gomes JB, Pieri PC, El Khouri Miraglia SG, Hallak J, Saldiva PH. Increased levels of air pollution and a decrease in the human and mouse male-to-female ratio in São Paulo, Brazil. *Fertil Steril.* 2007;87(1):230-2.

Liu L, Poon R, Chen L, Frescura AM, Montuschi P, Ciabattoni G, Wheeler A, Dales R. Acute effects of air pollution on pulmonary function, airway inflammation, and oxidative stress in asthmatic children. *Environ Health Perspect*. 2009;71(1):51-9.

Marcondes FK, Miguel KJ, Melo LL, Spadari-Bratfisch RC. Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test. *Physiol Behav*. 2001;74(4-5):435-40.

Mathias CB, Freyschmidt EJ, Oettgen HC. Immunoglobulin E antibodies enhance pulmonary inflammation induced by inhalation of a chemical hapten. *Clin Exp Allergy*. 2009;39(3):417-25.

Mauad T, Bel EH, Sterk PJ. Asthma therapy and airway remodeling. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:997-1009.

McCreanor J, Cullinan P, Nieuwenhuijsen MJ, Stewart-Evans J, Malliarou E, Jarup L, Harrington R, Svartengren M, Han IK, Ohman-Strickland P, Chung KF, Zhang J. Respiratory effects of exposure to diesel traffic in persons with asthma. *N Engl J Med*. 2007;357(23):2348-58.

Melgert BN, Postma DS, Kuipers I, Geerlings M, Luinge MA, van der Strate BW, Kerstjens HA, Timens W, Hylkema MN. Female mice are more susceptible to the development of allergic airway inflammation than male mice. *Clin Exp Allergy*. 2005;35(11):1496-503.

Miyaura H, Iwata M. Direct and indirect inhibition of Th1 development by progesterone and glucocorticoids. *J Immunol*. 2002;168(3):1087-94.

Monks TJ, Hanzlik RP, Cohen GM, Ross D, Graham DG. Quinone chemistry and toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1992;112(1):2-16.

Murphy-Ullrich JE. The de-adhesive activity of matricellular proteins: is intermediate cell adhesion an adaptive state? *J Clin Invest*. 2001;107:785-90.

Nakajima H, Takatsu K. Role of cytokines in allergic airway inflammation. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;142(4):265-73.

Nemmar A, Inuwa IM. Diesel exhaust particles in blood trigger systemic and pulmonary morphological alterations. *Toxicol Lett*. 2008;176(1):20-30.

Nicolai T. Pollution, environmental factors and childhood respiratory allergic disease. *Toxicology*. 2002;181-182:317-21.

Oberdörster G. Toxicokinetics and effects of fibrous and nonfibrous particles. *Inhal Toxicol*. 2002;14(1):29-56.

Oliveira JF, Teles AM, Yshii LM, Lima WT, Teixeira SA, Lima C, Barreto MAA, Muscará MN, Costa SKP. Does acute pulmonary exposure to both diesel exhaust particles (DEP) and quinones cause systemic effects?. In: 8th World Congress on Inflammation; 2007; Copenhagen. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag; 2007. vol. 56. p. S343-S514.

Ordoñez CL, Khashayar R, Wong HH, Ferrando R, Wu R, Hyde DM, Hotchkiss JA, Zhang Y, Novikov A, Dolganov G, Fahy JV. Mild and moderate asthma is associated with airway goblet cell hyperplasia and abnormalities in mucin gene expression. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163(2):517-23.

Pajović SB, Saicić ZS. Modulation of antioxidant enzyme activities by sexual steroid hormones. *Physiol Res*. 2008;57(6):801-11.

Pandya RJ, Solomon G, Kinner A, Balmes JR. Diesel exhaust and asthma: hypotheses and molecular mechanisms of action. *Environ Health Perspect*. 2002;110 Suppl 1:103-12.

Pascual RM, Peters SP. Airway remodeling contributes to the progressive loss of lung function in asthma: an overview. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:477-86.

Peng Z. Vaccines targeting IgE in the treatment of asthma and allergy. *Hum Vaccin*. 2009;5(5):302-9.

Peters A, Dockery DW, Muller JE, Mittleman MA. Increased particulate air pollution and the triggering of myocardial infarction. *Circulation*. 2001;103(23):2810-5.

Peters A, Wichmann HE, Tuch T, Heinrich J, Heyder J. Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;155(4):1376-83.

Phipps S, Flood-Page P, Menzies-Gow A, Ong YE, Kay AB. Intravenous anti-IL-5 monoclonal antibody reduces eosinophils and tenascin deposition in allergic-challenged human atopic skin. *J Invest Dermatol*. 2004;122:1406-12.

Piccinni MP, Giudizi MG, Biagiotti R, Beloni L, Giannarini L, Sampognaro S, Parronchi P, Manetti R, Annunziato F, Livi C, et al. Progesterone favors the development of human T helper cells producing Th2-type cytokines and promotes both IL-4 production and membrane CD30 expression in established Th1 cell clones. *J Immunol*. 1995;155(1):128-33.

Rage E, Jacquemin B, Nadif R, Oryszczyn MP, Siroux V, Aguilera I, Kauffmann F, Künzli N; Epidemiological Study on the Genetics Environment of Asthma (EGEA). Total serum IgE levels are associated with ambient ozone concentration in asthmatic adults. *Allergy*. 2009;64(1):40-6.

Reck CL, Fiterman-Molinari D, Barreto SS, Fiterman J. Poor perception of dyspnea following methacholine challenge test in patients with asthma. *J Bras Pneumol*. 2010;36(5):539-44.

Riffo-Vasquez Y, Ligeiro de Oliveira AP, Page CP, Spina D, Tavares-de-Lima W. Role of sex hormones in allergic inflammation in mice. *Clin Exp Allergy*. 2007;37(3):459-70.

Ring J, Eberlein-Koenig B, Bherendt H. Environmental pollution and allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2001;87:2-6.

Roche WR, Beasley R, Williams JH, Holgate ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet*. 1989;1:520-4.

Rock JR, Randell SH, Hogan BL. Airway basal stem cells: a perspective on their roles in epithelial homeostasis and remodeling. *Dis Model Mech*. 2010;3(9-10):545-56.

Rothenberg ME, Petersen J, Stevens RL, Silberstein DS, McKenzie DT, Austen KF, Owen WF Jr. IL-5-dependent conversion of normodense human eosinophils to the hypodense phenotype uses 3T3 fibroblasts for enhanced viability, accelerated hypodensity, and sustained antibody-dependent cytotoxicity. *J Immunol*. 1989;143(7):2311-6.

Sagai M, Furuyama A, Ichinose T. Biological effects of diesel exhaust particles (DEP). III: Pathogenesis of asthma like symptoms in mice. *Free Radic Biol Med*. 1996;21(2):199–209.

Sagai M, Saito H, Ichinose T, Kodama M, Mori Y. Biological effects of diesel exhaust particles. I: In vitro production of superoxide and *in vivo* toxicity in mouse. *Free Radic Biol Med*. 1993;14:37–47.

Sampson AP. The role of eosinophils and neutrophils in inflammation. *Clin Exp Allergy*. 2000;30(Suppl 1)22-27.

Sandström T, Nowak D, van Bree L. Health effects of coarse particles in ambient air: messages for research and decision-making. *Eur Respir J*. 2005;26(2):187-8.

Sanderson CJ. Interleukin-5, eosinophils, and disease. *Blood*. 1992;79(12):3101-9.

Santos KT, Florenzano J, Peron JP, Oliveira APL, Favaro R, Muscará MN, Costa SKP. High susceptibility of mice to asthma due to neonatal exposure to the environmental pollutant 1,2-naphthoquinone. In: III Iberoamerican congress of neuroimmunomodulation; 2009; Buenos Aires. Rio de Janeiro : KARGER; 2009. vol. 3. p. 50.

Schatz M, Clark S, Camargo CA Jr. Sex differences in the presentation and course of asthma hospitalizations. *Chest*. 2006;129(1):50-5.

Schuetzle D, Lee FS, Prater TJ. The identification of polynuclear aromatic hydrocarbon (PAH) derivatives in mutagenic fractions of diesel particulate extracts. *Int J Environ Anal Chem*. 1981;9(2):93-144.

Schuetzle D. Sampling of vehicle emissions for chemical analysis and biological testing. *Environ Health Perspect*. 1983;47:65-80.

Sehmi R, Wardlaw AJ, Cromwell O, Kurihara K, Waltmann P, Kay AB. Interleukin-5 selectively enhances the chemotactic response of eosinophils obtained from normal but not eosinophilic subjects. *Blood*. 1992;79(11):2952-59.

Stämpfli MR, Cwiartka M, Gajewska BU, Alvarez D, Ritz SA, Inman MD, Xing Z, Jordana M. Interleukin-10 gene transfer to the airway regulates allergic mucosal sensitization in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1999;21(5):586-96.

Strickland MJ, Klein M, Correa A, Reller MD, Mahle WT, Riehle-Colarusso TJ, Botto LD, Flanders WD, Mulholland JA, Siffel C, Marcus M, Tolbert PE. Ambient air pollution and cardiovascular malformations in Atlanta, Georgia, 1986-2003. *Am J Epidemiol.* 2009;169(8):1004-14.

Su L, Sun Y, Ma F, Lü P, Huang H, Zhou J. Progesterone inhibits Toll-like receptor 4-mediated innate immune response in macrophages by suppressing NF-kappaB activation and enhancing SOCS1 expression. *Immunol Lett.* 2009;125(2):151-5.

Szekeres-Bartho J, Wegmann TG. A progesterone-dependent immunomodulatory protein alters the Th1/Th2 balance. *J Reprod Immunol.* 1996;31(1-2):81-95.

Takanashi S, Hasegawa Y, Kanehira Y, Yamamoto K, Fujimoto K, Satoh K, Okamura K. Interleukin-10 level in sputum is reduced in bronchial asthma, COPD and in smokers. *Eur Respir J.* 1999;14(2):309-14.

Takano H, Ichinose T, Miyabara Y, Yoshikawa T, Sagai M. Diesel exhaust particles enhance airway responsiveness following allergen exposure in mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 1998;20(2):329-36.

Takano H, Yoshikawa T, Ichinose T, Miyabara Y, Imaoka K, Sagai M. Diesel exhaust particles enhance antigen-induced airway inflammation and local cytokine expression in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156(1):36-42.

Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003;21:335–76.

Teles AM, Costa SK, Kumagai Y, Brain SD, Teixeira SA, Varriano AA, Barreto MA, de Lima WT, Antunes E, Muscará MN, Costa SK. Involvement of sensory nerves and TRPV1 receptors in the rat airway inflammatory response to two environment pollutants: diesel exhaust particles (DEP) and 1,2-naphthoquinone (1,2-NQ). *Arch Toxicol.* 2010;84(2):109-17.

Törnqvist H, Mills NL, Gonzalez M, Miller MR, Robinson SD, Megson IL, Macnee W, Donaldson K, Söderberg S, Newby DE, Sandström T, Blomberg A. Persistent endothelial dysfunction in humans after diesel exhaust inhalation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;176(4):395-400.

U.S. Environmental Protection Agency. A Comprehensive Analysis of Biodiesel Impacts on Exhaust Emissions. EPA420-P-02-001. Washington DC: U.S.Environmental Protection Agency; 2002a.

Universo Ambiental. Disponível em: <http://www.universoambiental.com.br> [16 abr. 2010].

van Rijt LS, Lambrecht BN. Dendritic cells in asthma: a function beyond sensitization. *Clin Exp Allergy*. 2005;35(9):1125-34.

Venn AJ, Lewis SA, Cooper M, Hubbard R, Britton J. Living near a main road and the risk of wheezing illness in children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(12):2177-80.

Virchow Jr JC, Walker C, Hafner D, Kortsik C, Werner P, Matthys H, et al. T cells and cytokines in bronchoalveolar lavage fluid after segmental allergen provocation in atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;151(4):960-8.

von Mutius E. Progression of allergy and asthma through childhood to adolescence. *Thorax*. 1996;51 (Suppl 1):S3-6.

Walker C, Bauer W, Braun RK, Menz G, Braun P, Schwarz F, et al. Activated T cells and cytokines in bronchoalveolar lavages from patients with various lung diseases associated with eosinophilia. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;150: 1038e48.

Walker C, Bode E, Boer L, Hansel TT, Blaser K, Virchow Jr JC, et al. Allergic and nonallergic asthmatics have distinct patterns of T-cell activation and cytokine production in peripheral blood and bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis*. 1992;146: 109e15.

Ward DJ, Ayres JG. Particulate air pollution and panel studies in children: a systematic review. *Occup Environ Med*. 2004;61(4):e13.

Weiner P, Magadle R, Massarwa F, Beckerman M, Berar-Yanay N. Influence of gender and inspiratory muscle training on the perception of dyspnea in patients with asthma. *Chest*. 2002;122(1):197-201.

Weiner P, Massarwa F. The influence of gender on the perception of dyspnea in patients with mild-moderate asthma [Article in Hebrew] [Abstract]. *Harefuah*. 2002;141(6):515-8, 579.

Wilson AS, Davis CD, Williams DP, Buckpitt AR, Pirmohamed M, Park BK. Characterisation of the toxic metabolite(s) of naphthalene. *Toxicology*. 1996;114(3):233-42.

Wilson D, Takahashi K, Pan G, Chan CC, Zhang S, Feng Y, Hoshuyama T, Chuang KJ, Lin RT, Hwang JS. Respiratory symptoms among residents of a heavy-industry province in China: prevalence and risk factors. *Respir Med*. 2008;102(11):1536-44.

Wilson JW, Li X. The measurement of reticular basement membrane and submucosal collagen in the asthmatic airway. *Clin Exp Allergy*. 1997;27(4):363-71.

Yanagisawa R, Takano H, Inoue KI, Ichinose T, Sadakane K, Yoshino S, Yamaki K, Yoshikawa T, Hayakawa K. Components of diesel exhaust particles differentially affect Th1/Th2 response in a murine model of allergic airway inflammation. *Clin Exp Allergy*. 2006;36(3):386-95.