

BEATRIZ GOLEGÃ ACCETTURI

**AVALIAÇÃO DO PAPEL DOS HORMÔNIOS SEXUAIS
FEMININOS EM MODELO MURINO DE ASMA
EXPERIMENTAL**

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: Prof. Dr. Wothan Tavares de Lima

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)

São Paulo
2014

RESUMO

ACCETTURI, B. G. **Avaliação do papel dos hormônios sexuais femininos em modelo murino de asma experimental.** 2014. 111 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

A asma é uma doença inflamatória pulmonar crônica cujo envolvimento do sistema imune e citocinas derivadas dos linfócitos Th2 é bem estabelecido. Os hormônios sexuais femininos (HSF) alteram o curso da asma e parecem interferir com a apresentação de antígenos, com o recrutamento de células inflamatórias para o pulmão, com a produção de mediadores e com a função pulmonar. Levando em consideração que mulheres asmáticas na pós-menopausa podem apresentar piora dos sintomas da asma, neste trabalho investigamos o papel dos HSF na modulação da inflamação pulmonar alérgica experimental previamente instalada. Avaliamos o recrutamento e a mobilização celular para os pulmões, as alterações histológicas dos pulmões, a reatividade das vias aéreas *in vitro*, a mecânica respiratória e quantificamos citocinas em amostras de explante pulmonar. Numa série paralela de estudos, os animais alérgicos OVx foram submetidos ao tratamento com estrógeno, com progesterona ou ambos e todos os parâmetros também foram avaliados. Os dados obtidos mostraram que a re-exposição ao antígeno causou exacerbação da inflamação alérgica pulmonar nos animais alérgicos OVx. Entretanto, estes animais apresentaram valores de reatividade traqueal semelhante ao observado nos animais alérgicos Sham/OVx. O tratamento dos animais alérgicos OVx com estrógeno seguido do re-desafio causou exacerbação adicional da inflamação pulmonar, mas, por outro lado, atenuou a reatividade traqueal e também a mecânica pulmonar. O tratamento com progesterona não alterou o número de células do lavado broncoalveolar e também atenuou a reatividade traqueal e a mecânica pulmonar, apesar destes animais estarem com a produção de muco e colágeno acentuada. O tratamento com estrógeno em associação com a progesterona atenuou a inflamação pulmonar aos valores encontrados nos animais alérgicos Sham/OVx. Os dados obtidos até o momento permitem sugerir que a carência dos HSF contribui para a exacerbação da inflamação pulmonar alérgica, da reatividade das vias aéreas e da liberação de mediadores inflamatórios. De modo geral, o tratamento com estrógeno ou progesterona modula positivamente a inflamação alérgica pulmonar e negativamente a reatividade das vias aéreas, e o tratamento com ambos os hormônios modula negativamente a inflamação pulmonar. Diante do exposto, nossos estudos apontam para uma resposta inflamatória mediada por diferentes mecanismos inflamatórios, além da possível dissociação entre os efeitos moduladores dos hormônios sexuais femininos sobre a resposta inflamatória, notadamente no recrutamento celular e as alterações de mecânica respiratória.

Palavras-chave: Hormônios sexuais femininos. Asma. Reatividade das vias aéreas. Mecânica pulmonar. Camundongos.

ABSTRACT

ACCETTURI, B. G. **Evaluation of the role of female sex hormones in a murine model of experimental asthma.** 2014. 111 p. Ph. D. thesis (Pharmacology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Asthma is a chronic inflammatory lung disease, and the involvement of the immune system and Th2 cytokines derived from lymphocytes is well established. Female sex hormones (FSH) alter the course of asthma and appear to interfere with antigen presentation, with the recruitment of inflammatory cells to the lung, with the production of mediators and pulmonary function. Since asthmatic women in pre-menstrual period or post-menopausal may experience worsening of asthma symptoms, we investigated the role of FSH in the modulation of experimental allergic lung inflammation previously installed. We evaluated the recruitment and cell mobilization into the lungs, the histological changes in the lungs, reactivity of the airways and quantify cytokines in samples of lung explants. In a parallel series of studies, allergic OVx animals were subjected to treatment with estrogen, progesterone, or both, and all parameters were also evaluated. The data showed that re-exposure to antigen caused exacerbation of allergic lung inflammation in allergic animals OVx. However, these animals showed values of pulmonary reactivity similar to that observed in allergic animals Sham/OVx. Treatment of allergic OVx animals with estrogen followed by re-challenge caused exacerbated pulmonary inflammation, but on the other hand, attenuated tracheal reactivity and lung mechanics. The progesterone treatment did not alter the number of cells in the bronchoalveolar fluid and also attenuated tracheal reactivity and lung mechanics, though the production of mucus and collagen was increased. Treatment with estrogen in combination with progesterone attenuated lung inflammation to the values found in allergic Sham/OVx. The data suggests that the lack of FSH contributes to exacerbation of allergic lung inflammation, airway reactivity and release of inflammatory mediators. In The treatment with estrogen or progesterone positively modulates the allergic lung inflammation and negative modulates the airways reactivity, and treatment with both hormones negatively modulates airway inflammation. Our studies point to an inflammatory response mediated by different inflammatory mechanisms, beyond the possible dissociation between the modulatory effects of female sex hormones on the inflammatory response, especially cell recruitment and alterations in respiratory mechanics.

Keywords: Female sex hormones. Asthma. Airways reactivity. Lung mechanics. Mice.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Fisiopatologia da asma

A asma é uma doença inflamatória pulmonar crônica, caracterizada por episódios reversíveis de broncoconstrição, recrutamento de células inflamatórias para o pulmão, tais como macrófagos, neutrófilos e eosinófilos e pelo desenvolvimento de hiperreatividade das vias aéreas (GINA, 2014; HOLGATE, 2009; VAN DEN BERGE et al., 2009).

Recentes dados acerca da sua distribuição indicam que a asma é um problema de saúde pública com aproximadamente 300 milhões de indivíduos afetados em todo o mundo. De fato, a asma acomete pessoas de todas as idades, e quando não controlada pode deteriorar a qualidade de vida do paciente (ENFUMOSA, 2012; GINA, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2007).

No Brasil, a incidência da asma é bastante significativa (cerca de 18 milhões de pessoas), e é responsável por elevada parcela de absenteísmo ao trabalho (BIRNBAUN et al., 2002). Conforme os últimos dados do DATASUS, de janeiro a novembro de 2013, a asma foi a 2ª causa de internação hospitalar no “ranking” das internações relacionadas ao trato respiratório e 4ª causa de internação hospitalar geral pelo SUS, levando a aproximadamente 122 mil internações e gerando um custo anual estimado em R\$ 120 milhões à rede pública de saúde (DATASUS, 2014).

Dentre os fatores que concorrem para o desencadeamento ou agravamento da asma destacam-se os fatores predisponentes (p.e. síntese exacerbada de IgE), causais (p. e. exposição ao pólen, ácaros, fungos, poluentes) e de contribuição, tais como a exposição à fumaça de cigarro, infecções virais e a oscilação dos níveis de hormônios sexuais femininos durante o ciclo sexual (GINA, 2014; PEREIRA-VEGA et al., 2012; WU; CHU, 2009).

Avaliando as características fisiopatológicas da asma é possível distinguir duas fases, que são designadas imediata e tardia. A fase imediata ocorre quando indivíduos sensibilizados são expostos ao alérgeno e desenvolvem desconforto respiratório que se inicia no período de 5 a 10 minutos (KUNG et al., 1990; SCHLEIMER et al., 1986). Neste período, observa-se desgranulação de mastócitos e ampla liberação de mediadores inflamatórios, cujos efeitos estão envolvidos com a broncoconstrição, o aumento da permeabilidade vascular e a secreção de muco (GINA, 2012). Como consequência dos mediadores inflamatórios liberados, advém, após algumas horas, a fase tardia, onde observamos aumento do recrutamento de linfócitos, neutrófilos e eosinófilos para o pulmão. Estes eventos pulmonares, quando recorrentes,

contribuem para o desenvolvimento do quadro inflamatório pulmonar crônico, onde se verifica lesão epitelial brônquica com exposição das fibras sensoriais, hiperplasia das células de Goblet, aumento da secreção de muco e hiperreatividade das vias aéreas (CARRILLO DIAZ et al., 2006; MEHROTRA et al., 2009, SHUM et al., 2008). Em condições mais graves observam-se distúrbios dos mecanismos fisiológicos de reparo das vias aéreas que resultam no remodelamento, o qual pode se caracterizar pela deposição de colágeno, hipertrofia e hiperplasia das células musculares lisas de bronquíolos e brônquios e pelo aprisionamento de células inflamatórias (MURPHY; O'BRINE, 2010). Observam-se também alterações estruturais do citoesqueleto e das paredes bronquiolares (MEHROTRA et al., 2009). Em conjunto estas alterações podem comprometer a qualidade e a capacidade de contração e relaxamento das vias aéreas e conseqüentemente, sua atividade funcional (MURPHY; O'BYRNE, 2010; YING, 2006).

A agressão repetida ou intensa ao epitélio das vias aéreas causada pela contínua exposição ao antígeno associada à inflamação parece ser evento chave para o distúrbio dos mecanismos de reparo tecidual na asma. Nesse sentido, do ponto de vista de indução da asma, a sensibilização das vias aéreas como aquela observada na reação de hipersensibilidade imediata (tipo I) é passo inicial para o desenvolvimento da resposta imune associada à asma (BOCHER; BUSSE, 2005; GEISSMAN et al., 2010; KOBAYASHI et al., 2009).

O processo de sensibilização de um indivíduo tem início a partir do reconhecimento do antígeno pelas células apresentadoras de antígeno (APCs) tais como as células dendríticas (DCs) e macrófagos (VILLADANGOS; YOUNG, 2008). A dinâmica do processo de apresentação do antígeno inicialmente envolve sua fagocitose pela APC. Para tanto, as APCs migram para o linfonodo drenante, processam a estrutura do antígeno para peptídeos e o expõem para as células T (CHIEPPA et al., 2006; VILLADANGOS; YOUNG, 2008). Portanto, no contexto da indução da resposta imune adquirida, as células dendríticas ocupam lugar de destaque (AKIRA; TAKEDA, 2008; GEISSMANN, 2010; PALGAN et al., 2009; STEINMANN; COHN, 2007).

Os progenitores das DCs têm origem na medula óssea e seus precursores circulantes são denominados células dendríticas imaturas (BANCHEREAU et al., 2000). Estas células, quando estão localizadas em órgãos não linfóides (por exemplo, no pulmão), capturam e processam antígenos, todavia sem capacidade para apresentá-los às células T naive. Após a captação do antígeno as DCs imaturas sofrem alterações no seu padrão morfológico e funcional que resultam num estado de transição de uma célula captadora para uma célula apresentadora de antígeno (KELLER, 2001). É interessante notar que as DCs imaturas são

potentes em fagocitar, mas apresentam baixos níveis de expressão de MHC de classe II e de moléculas co-estimuladoras (CD-40, CD-80, CD-86). Por outro lado, quando atingem seu estado maduro, as DCs alteram seu estado conformacional, aumentam a expressão de receptores para quimiocinas, superexpressam moléculas como o MHC de classe II, CD 40, CD 80 e CD 86 e tornam-se aptas a estimular células T naive (FRICK et al., 2010; REIS E SOUZA, 2006; WILSON et al., 2004).

A interação das células dendríticas com os linfócitos T naive é evento essencial na montagem da resposta imunológica. Antígenos uma vez processados podem implicar na liberação de citocinas pelas células dendríticas, as quais medeiam a diferenciação da célula T naive para, no caso da asma, um perfil Th2 (AKIRA; UEMATSU; TAKEUCHI, 2006; RADHAKRISHNAN et al., 2007; WILLART; HAMMAD, 2010).

O direcionamento das respostas Th1/Th2 é um importante fator durante processo alérgico observado em pacientes asmáticos. Nesse contexto, linfócitos Th1 são capazes de gerar citocinas (como o $IFN\ \gamma$) contra patógenos intracelulares, que podem suprimir a função das células Th2. Contrariamente, citocinas derivadas de linfócitos Th2 como a IL-4 e a IL-13 são capazes de suprimir a resposta Th1 (KIM et al., 2013).

As citocinas são glicoproteínas que regulam processos como crescimento e a diferenciação celular, o processo inflamatório, a resposta imunológica e o reparo tecidual (NICOD, 1993; SCHUIJS et al., 2013). Na inflamação de origem alérgica, as citocinas IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 ocupam lugar de destaque (SCHUIJS et al., 2013)

A IL-1 β é uma citocina inflamatória implicada na ativação das células T e B, na indução de outras citocinas regulatórias e induz a formação de moléculas de adesão endotelial, mecanismo essencial para migração celular nos tecidos inflamados (DINARELLO, 2011; QAMAR; RADER, 2012).

O TNF- α é liberado rapidamente após o estímulo inflamatório e tem importante papel na adesão de leucócitos a células endoteliais, no recrutamento celular e na indução de hiperreatividade das vias aéreas. É produzido principalmente por fagócitos mononucleares, células NK e células T (DINARELLO, 2011).

A liberação de mediadores como a IL-1 β e o TNF- α durante o processo inflamatório provoca estímulos que são transmitidos ao sistema nervoso central e causam a liberação de Ach, a qual se liga a receptores nicotínicos presentes nas células inflamatórias e inibem a síntese de citocinas pró-inflamatórias. É a chamada via colinérgica anti-inflamatória (JONHSTON; WEBSTER, 2009; WANG et al., 2009).

A IL-5 está relacionada à inflamação mediada por eosinófilos. Sabe-se que a IL-5 atua na diferenciação, recrutamento, ativação e sobrevivência destas células (KOTSIMBOS, 1997; SCHUIJS et al., 2013).

A IL-13 também é sintetizada por diversos tipos celulares como células T, mastócitos entre outras, e está associada a produção de IgE e hiperreatividade das vias aéreas (HOLGATE, 2009).

Por fim, a IL-10 é produzida por monócitos, macrófagos, células NK, células dendríticas, eosinófilos, células B, células T e apresenta potente função anti-inflamatória ao inibir a síntese de diversas citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (HEDRICH; BREM, 2010).

Em condições alérgicas, quando citocinas inflamatórias como a IL-4, IL-5 e IL-13 são liberadas pelos linfócitos Th2, interagem com linfócitos B, promovem o “switching” e desencadeiam a síntese/liberação de imunoglobulina do tipo E (IgE) (O'BYRNE, 2013; para revisão ver GEHA, 2003). A IgE é reconhecidamente um anticorpo anafilático que se acopla a receptores FcεRI presentes na membrana de mastócitos, tornando-os sensibilizados (BLANK et al., 2003; para revisão ver GEHA, 2003).

Uma vez sensibilizados, um segundo contato do organismo com o antígeno resulta na ativação dos mastócitos e consequente liberação de amplo espectro de mediadores inflamatórios tais como aminas vasoativas, mediadores lipídicos, citocinas, proteases, quimases, óxido nítrico, entre outros, cujos efeitos se associam ao aumento de permeabilidade vascular, broncoconstrição, secreção de muco, aumento da expressão de moléculas de adesão e recrutamento celular para o pulmão e hiperreatividade das vias aéreas. Tais eventos, em maior ou menor magnitude, são observados na fase inicial da resposta asmática e podem participar dos mecanismos envolvidos com o fenótipo da resposta inflamatória pulmonar crônica (LINDSTEDT; KOVANEN, 2006; NIJKAMP; FOLKERTS, 1995; TAVARES DE LIMA et al., 1989).

No contexto da hiperreatividade das vias aéreas, vale lembrar que os eventos que contribuem para exacerbação da contração do músculo liso das vias aéreas são muitas vezes assistidos pela liberação de mediadores pró-inflamatórios (tais como histamina, leucotrienos, endotelina-1) ou neurotransmissores (como neuropeptídeos e, principalmente, ACh), (MEURS et al., 2008). O processo inflamatório pode induzir alterações importantes na microestrutura do parênquima pulmonar, e modificar a mecânica ventilatória e o funcionamento do sistema respiratório como um todo (MEURS et al., 2008).

O sistema nervoso autônomo parassimpático é um importante regulador da contratilidade das vias aéreas. No pulmão a inervação parassimpática se dá principalmente pelo nervo vago, e seu principal neurotransmissor é a acetilcolina (ACh). A acetilcolina se acopla a receptores muscarínicos, notadamente nos receptores do tipo M3 promovendo broncoconstrição, por isso, antagonistas muscarínicos são amplamente utilizados como broncodilatadores (GOSENS et al., 2008).

Em suma, o tônus colinérgico pode ser alterado pelo aumento da estimulação aferente por meio de mediadores inflamatórios, pelo aumento da liberação de acetilcolina pelas terminações nervosas colinérgicas e pela expressão alterada dos receptores muscarínicos e/ou redução dos neurotransmissores inibitórios (KANAZAWA, 2006).

Além do parassimpático, a contração do músculo liso das vias aéreas também pode ser modulada pelo sistema NANC (sistema não adrenérgico não colinérgico). As ações excitatórias (eNANC) são efetuadas por meio de neurotransmissores como a substância p (SP) e a Neurocinina A (NKA), e ações inibitórias (iNANC) são mediadas por neurotransmissores como óxido nítrico e o peptídeo intestinal vasoativo (VIP) (ALMEIDA et al., 2004; PRADO et al., 2005).

No que diz respeito à contração muscular das vias aéreas mediada pelo sistema não-adrenérgico não-colinérgico (NANC), o papel do óxido nítrico (NO) como neurotransmissor endógeno e potente mediador da resposta inflamatória ocupa lugar de destaque (FISCHER et al., 2002; JOOS et al., 2000; RICHARDSON et al., 1976).

Nas vias aéreas, o óxido nítrico está relacionado a eventos ligados à manutenção do tônus vascular, do tônus brônquico, e exsudação plasmática, dentre outras funções fisiológicas, como neurotransmissão, regulação da pressão sanguínea, prevenção da agregação plaquetária, inibição da adesão de leucócitos ao endotélio, efeito antioxidante e defesa do organismo (BARNES, 1995; BISHOP; ANDERSON, 2005).

O óxido nítrico é um gás altamente difusível, sintetizado a partir do aminoácido L-Arginina, substrato também utilizado na via da arginase. As vias da arginase e do óxido nítrico podem, portanto, interferir uma com a outra em competição pelo substrato. Durante a asma, o aumento de citocinas inflamatórias resulta na amplificação da via arginase-dependente e em consequência, a supressão de óxido nítrico endógeno. Isso conduz a hiperreatividade brônquica, aumento da secreção de muco e, conforme o aumento da frequência de exposição ao antígeno, piora da função pulmonar (BARNES, 1995; NIJCAMP; FOLKERTS, 1995; STARLING et al., 2009).

Alguns modelos matemáticos relacionam valores de fluxo e pressão e oferecem parâmetros para o estudo da função pulmonar; para tanto, diversos ventiladores mecânicos foram criados e, em conjunto, fornecem os dados que nos permitem estudar a função pulmonar.

O flexiVent (SCIREQ®, Montreal, Quebec, Canadá) é um ventilador mecânico utilizado na prática experimental para medir parâmetros de resistência das vias aéreas e elastância pulmonar *in vivo*, em pequenos animais. De modo simplificado, o flexiVent injeta no pulmão do animal, por meio de uma cânula endotraqueal, um volume de gás (ar atmosférico) conhecido, onde o fluxo desse gás é obtido, matematicamente, pela derivada do volume. A pressão gerada por esse volume é adquirida na entrada das vias aéreas do animal. Logo, com estes três parâmetros conhecidos, os valores de resistência e elastância do sistema respiratório podem ser calculados pelo equipamento.

O estudo dos mecanismos que regulam a inflamação pulmonar, notadamente das ações do óxido nítrico, da reatividade *in vitro* e da mecânica pulmonar permitem uma compreensão adicional da engrenagem envolvida na regulação da inflamação alérgica pulmonar e pode contribuir para novas descobertas de intervenções terapêuticas que possam melhorar a qualidade de vida de asmáticos.

1.2 Hormônios sexuais femininos e inflamação pulmonar

Dentre os fatores que concorrem para o agravamento dos sintomas da asma, a oscilação dos hormônios sexuais femininos durante o ciclo sexual ocupa lugar de destaque (PEREIRA-VEGA et al., 2012; VAN DEN BERGE et al., 2009). Existem estudos evidenciando que, em crianças, os episódios de crise asmática são mais prevalentes em meninos quando comparados ao observado em meninas. Por outro lado, este quadro se inverte após a puberdade, quando se observa piora da asma em mulheres quando comparada a homens (ANTUNES et al., 2010; CHEN, 2008; HODYL et al., 2010).

Estudo realizado por Chandler et al. (1997), estimou que 33 a 52% das mulheres asmáticas desencadeiam piora dos seus sintomas no período pré-menstrual. Ainda, 22% das mulheres asmáticas apresentam piora dos sintomas durante a menstruação (CHANDLER et al., 1997, MURPHY; GIBSON 2008). Mais recentemente, Pereira-Vega et al (2010), mostraram que mulheres adultas e de qualquer raça apresentam maior morbidade e mortalidade por asma quando comparadas a homens, e respondem por 75% das internações hospitalares e 65% das visitas a serviços de emergência.

Embora a relação entre a concentração dos hormônios sexuais femininos e piora da asma no período pré-menstrual seja amplamente discutida na literatura, há poucos trabalhos que fazem relatos a incidência ou piora dos sintomas da asma em mulheres após a menopausa.

Uma pesquisa realizada por Real et al. (2008), analisou a função pulmonar de aproximadamente mil mulheres, que também responderam a um questionário sobre a saúde respiratória. Os cientistas mediram ainda a concentração dos hormônios sexuais nas mulheres que tinham entre 45 e 56 anos. Os resultados apontaram que as mulheres na pós-menopausa apresentaram piora da função pulmonar e outros sintomas de problemas respiratórios.

Nesse mesmo sentido, Jensen-Jarolim e Untersmayr (2008), sugeriram que mulheres na pós-menopausa teriam aumento na incidência de episódios de asma e que estes episódios poderiam ser amplificados na vigência de terapia de reposição hormonal.

A terapia de reposição hormonal vem sendo utilizada por milhões de mulheres em todo o mundo com o intuito de melhorar os sintomas da menopausa e realmente têm-se provado benefícios com relação à função sexual, à saúde do trato urinário, osteoporose, dentre outros (SCHIMIDT, 2012); mas relativamente pouca atenção tem sido dada ao impacto da terapia de reposição hormonal sobre doenças respiratórias, com exceção do câncer de pulmão (OH et al., 2010; TICCONI et al., 2013).

A percepção do envolvimento dos hormônios sexuais femininos na asma também é referida pelos pesquisadores do Instituto Nacional de Saúde Pública do México e do Instituto Gustave Roussy, da França, em um estudo realizado com 58 mil mulheres durante 12 anos. Neste estudo observou-se que mulheres na pós-menopausa, sob terapia de reposição hormonal, apresentaram maior risco para o desenvolvimento de asma, sendo o risco ainda maior (54%) entre as mulheres sob terapia com apenas estrógeno (oglobo.globo.com, 2010).

Historicamente, os primeiros relatos acerca do papel dos hormônios sexuais femininos na asma foram apresentados por Frank, em 1931. Este autor introduziu o conceito de asma pré-menstrual ao reconhecer que a piora dos sintomas da asma poderia decorrer da variação dos níveis dos hormônios circulantes observada durante o ciclo sexual feminino. Frank observou também maior incidência de dores de cabeça, irritabilidade, agressividade e aumento na variabilidade do pico de fluxo expiratório (PFE) no período de 2 a 3 dias que antecedem a menstruação e identificou que a piora dos sintomas se correlacionou com a redução dos níveis circulantes de hormônios sexuais e na urina durante o período pré-menstrual.

A partir dos achados de Frank em 1931, estudos adicionais documentaram o agravamento dos sintomas da asma e da função pulmonar durante os períodos pré e intra-menstrual em mulheres asmáticas (MURPHY; GIBSON, 2008; ROSSOLINI; CHIEFFI, 1964; STANFORD et al., 2006; TAKEDA et al., 2013; TURNER et al., 1981; UKENA et al., 1990). Apesar do mencionado, os mecanismos envolvidos com a piora da asma em decorrência das variações dos hormônios sexuais femininos durante as fases do ciclo sexual não estão totalmente elucidados (HODYL, et al., 2010; OKUYAMA et al., 2008; TAKEDA et al., 2013; VAN DEN BERGE, 2009).

Resumidamente, o ciclo sexual humano dura cerca de vinte e oito dias e é dividido em 2 fases: a fase folicular, caracterizada pelo aumento crescente da concentração de estradiol e a fase lútea, caracterizada pelo declínio da concentração de estradiol e aumento da síntese e liberação de progesterona. No período tardio da fase lútea, em que os níveis de progesterona também começam a diminuir, ocorre a menstruação, fechando o ciclo (HANLEY, 1981).

Em camundongos, o ciclo reprodutivo tem duração 4 a 5 dias e é bem descrito na literatura (GOLDMAN et al., 2007). Caracteriza-se por 4 fases bem típicas: proestro, estro, metaestro (diestro I) e diestro (diestro II) (FREEMAN, 1988; LONG; EVANS, 1992), sendo que a ovulação inicia-se no proestro e termina no estro (GOLDMAN et al., 2007; LONG; EVANS, 1992; SCHWARTZ, 1964; YOUNG et al., 1941).

Nosso laboratório investiga a participação dos hormônios sexuais femininos na modulação da inflamação pulmonar de origem alérgica (ACCETTURI, 2009; GIMENES-JÚNIOR, 2013; LIGEIRO DE OLIVEIRA et al., 2004; LINO-DOS-SANTOS-FRANCO et al., 2013; MARTINS, 2013; RIFFO-VASQUEZ et al., 2007) e não alérgica (BREITHAUPT-FALOPPA; FANTOZZI; VITORETTI, 2014). No que tange a inflamação alérgica, os estudos começaram a ser conduzidos em ratas a partir de 2000, e mais recentemente em camundongos (ACCETTURI, 2009; DE OLIVEIRA et al., 2010; LIGEIRO DE OLIVEIRA et al., 2004; LIGEIRO DE OLIVEIRA, 2000; OLIVEIRA et al., 2013; RIFFO-VASQUEZ et al., 2007; ROCHA DA LAPA et al., 2013; RODRIGUES-SOARES, 2010). Para tanto, usamos o modelo de imunização dos animais com o antígeno (ovoalbumina) em distintos períodos após a remoção cirúrgica dos ovários. Nossos dados mostram que existe relação entre a concentração circulante dos hormônios sexuais femininos e o momento em que ocorre a sensibilização dos animais ao antígeno. Assim, a sensibilização de animais 1 dia após a remoção dos ovários, onde a concentração dos hormônios sexuais femininos circulante está dentro dos padrões normais, acarreta no aumento da inflamação alérgica pulmonar (LIGEIRO DE OLIVEIRA et al., 2007). Por outro lado, quando a sensibilização ao antígeno ocorre 7

dias após a remoção dos ovários, condição onde a concentração circulante de hormônios sexuais femininos está abaixo de valores normais, não há desenvolvimento da inflamação pulmonar alérgica (DE OLIVEIRA et al., 2007; LIGEIRO DE OLIVEIRA et al., 2004). Além disso, nossos estudos também mostraram que camundongos fêmeas quando imunizados na presença de reduzidos níveis circulantes de hormônios sexuais femininos (causados pela ovariectomia), tiveram redução da resistência pulmonar (RIFFO-VASQUEZ et al., 2007). As observações acerca do envolvimento dos hormônios sexuais femininos no momento da sensibilização dos animais poderiam sugerir importante influência sobre as células dendríticas e moléculas co-estimuladoras durante o processo de sensibilização ao antígeno. Nesse sentido, estudos do nosso grupo (ACCETTURI, 2009) indicaram aumento de CD80, CD86, CD40 e MHC de classe II nas células dendríticas de animais não alérgicos com 7 dias de ovariectomia. Ainda, tais parâmetros não alteraram quando os animais ovariectomizados foram sensibilizados e desafiados com o antígeno. Vale lembrar que nestas condições os animais OVx alérgicos não desenvolveram inflamação alérgica pulmonar (ACCETTURI, 2009). Por outro lado, animais falsamente operados, portanto com os ovários intactos, não apresentaram alteração na expressão de moléculas co-estimuladoras após 7 dias da falsa manipulação cirúrgica, todavia desenvolveram significativo aumento da expressão de moléculas co-estimuladoras após o desafio antigênico, fato que foi acompanhado pelo desenvolvimento de inflamação alérgica pulmonar. Visto a participação das moléculas co-estimuladoras para o processamento de antígenos e desencadeamento da resposta imune, então é possível que outros parâmetros da resposta alérgica pulmonar possam ser mediados pelas mesmas, e que estejam sob influência dos hormônios sexuais femininos.

A análise geral dos dados obtidos em relação à interação dos hormônios sexuais femininos com as moléculas co-estimuladoras presentes na superfície das células dendríticas permitiu sugerir que a população e o processo de maturação de células dendríticas podem ser mediados pelos hormônios sexuais femininos. Ainda, os mecanismos envolvendo o aumento da expressão de moléculas co-estimuladoras no baço (CD80, CD86, CD40 e MHC de classe II), linfonodo (CD80, CD86, CD40 e MHC de classe II) e no lavado broncoalveolar (CD80, CD86, CD40 e MHC de classe II) após o desafio antigênico dos animais aparentemente não medeiam o recrutamento de células para o pulmão durante o processo inflamatório. Vale lembrar que estes estudos foram conduzidos em animais ovariectomizados que posteriormente foram imunizados e desafiados. Portanto, o aumento da expressão de moléculas co-estimuladoras causado pela OVx anterior ao estímulo sensibilizante não deve se associar ao

desenvolvimento da IAP. Neste contexto, é possível que os hormônios sexuais femininos mediem o curso da doença inflamatória já instalada.

É importante salientar que em cultura de células dendríticas provenientes de camundongos fêmeas *naive*, a progesterona exerce efeito anti-inflamatório, enquanto o estrógeno revela ter efeito pró-inflamatório, sugerindo um controle hormonal da atividade funcional dessas células (JENSEN-JAROLIM; UNTERSMAYR, 2008). De fato, estudos realizados em nosso laboratório mostraram que a progesterona atenua, enquanto o estradiol exacerba a desgranulação de mastócitos obtidos de ratas alérgicas ovariectomizadas (DE OLIVEIRA et al., 2007).

Em modelo onde os animais foram primeiramente ovariectomizados (ou falsamente ovariectomizados) e sensibilizados após 7 dias do ato cirúrgico, nossos dados revelaram aumento de citocinas anti-inflamatórias (IL-10) no explante pulmonar dos animais ovariectomizados e aumento da geração de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-4, IL-13 e TNF- α) no explante pulmonar de camundongos fêmeas com os ovários intactos, (ACCETTURI, 2009).

Sabe-se que estas citocinas estão implicadas com o desenvolvimento da inflamação alérgica pulmonar, remodelamento das vias aéreas, e nas alterações funcionais observadas no pulmão de asmáticos. Ainda, estas citocinas favorecem a produção de anticorpos, particularmente a IgE, contribuem para a proliferação de eosinófilos e para a ativação e migração de mastócitos (MOSMANN et al., 1996; VENKAYYA et al., 2002; WANG et al., 2010; WALTER et al., 2001).

É bem estabelecido que o estrógeno e a progesterona exercem seus papéis regulatórios ligando-se a receptores específicos, conhecidos como receptores de estrógeno alfa e beta (ER- α e ER- β) e receptores de progesterona (PR-A e PR-B) (ELLMAN, 2009; HEWITT et al., 2005).

Além do trato reprodutivo, os receptores de estrógeno e de progesterona são encontrados expressos em outros tecidos como mamas, ossos, coração, cérebro, pulmão (COUSE et al., 1997; KEOHLER et al., 2005). Esta observação torna-se relevante em virtude do mecanismo de ação de alguns moduladores seletivos de receptores de estrógeno como o tamoxifeno, os quais podem atuar como antagonistas nos pulmões e agonistas em outros tecidos, como por exemplo, nos ossos (BROSENS, 2004; SMITH, 1993).

Sabe-se que os dois subtipos de receptores de estrógeno (ER- α e ER- β) são expressos nos pulmões, embora a expressão e o papel específico de cada um deles pareça ser diferente. O receptor de estrógeno α parece regular a formação dos alvéolos em número e tamanho

(MASSARO; MASSARO, 2006), enquanto o receptor β , que é encontrado em maior densidade nos brônquios, controla a composição da matriz extracelular que, por sua vez, é responsável pela elasticidade alveolar (IVANOVA et al., 2009).

A literatura ainda é carente quando se trata dos receptores de progesterona. Sabe-se que tanto o PR-A quanto PR-B possuem as mesmas afinidades pela progesterona, embora o PR-A tenha revelado efeito inibidor e o PR-B efeito ativador junto ao DNA (BROSENS, 2004; NISWENDER et al., 2002).

No que diz respeito aos receptores de estrógeno, até pouco tempo apenas receptores nucleares haviam sido descritos, entretanto, receptores de estrógeno acoplados a proteína G também foram identificados (JALA et al., 2012; LEVIN, 2011). Acredita-se que da ligação do estrógeno a estes receptores de membrana advém a resposta celular não genômica, modulando um dos mecanismos mais importantes para contração do músculo liso, que é o influxo de Ca^{2+} (LEVIN, 2011).

Resumidamente, em condições asmáticas, a acetilcolina liberada pelas terminações nervosas colinérgicas liga-se ao receptor de membrana da célula muscular lisa, criando um potencial pós-sináptico excitatório na fibra muscular. A geração de potenciais de ação tem como evento final a liberação de Ca^{2+} no meio intracelular. O Ca^{2+} se liga com a troponina e desencadeia uma alteração na conformação do complexo troponina/tropomiosina, levando à ativação do ATP e ao acoplamento físico-química entre actina e miosina. Ocorre então o deslizamento dos filamentos finos (actina) sobre os filamentos grossos (miosina) culminando na contração da célula muscular lisa (MURRAY et al., 2013). Durante processo de relaxamento, entretanto, há o aumento de AMP cíclico (cAMP) que estimula a PKA (“quinase da proteína A”), estimula a PKG (“quinase da proteína G”) e diminui o Ca^{+} intracelular, levando ao relaxamento (KANAZAWA, 2006).

De acordo com Townsend et al. 2012, ao se ligar em seu receptor de membrana, o estrógeno pode interferir com a via do AMPc, reduzir de forma não genômica o influxo de Ca^{+} e promover broncodilatação.

Em suma, a literatura aponta que o estrógeno pode alterar, por meio de receptores nucleares e/ou via receptores de membrana, diversas etapas do curso da inflamação alérgica pulmonar como, a migração celular, a geração de mediadores e também a reatividade das vias aéreas (CARDOSO et al., 2010).

Estudos da década de 1980 e 1990 revelaram que o estradiol inibe a apresentação de antígenos por células epiteliais e macrófagos, enquanto a progesterona exerce efeito contrário. Ainda, observou-se que o estradiol também exerce efeito pró-inflamatório em condições

alérgicas (DE OLIVEIRA et al., 2007; KAGNOFF, 1996; MATSUBARA et al., 2008; WIRA et al., 2000). Wira et al. (2000), mostraram em cultura celular que o estradiol diminui a apresentação de antígenos pelas células dendríticas, enquanto a progesterona induz maturação e diferenciação dessas células. Nalbadian et al. (2005), indicaram que o tratamento de camundongos fêmeas com moduladores seletivos de receptores de estrógeno (raloxifeno e tamoxifeno) implica na maturação e ativação de células dendríticas. Em contraste, Bengtsson et al (2004), revelaram que o estradiol estimula as células dendríticas de maneira a causar liberação de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 e IL-4. Rettew et al. (2009), demonstraram que o bloqueio da ligação do estrógeno a seu receptor diminui a produção das citocinas pró-inflamatórias. Além disso, Douin-Echinard et al. (2008), mostraram que animais deficientes de receptores de estrógeno do tipo α apresentam reduzida expressão de MHC de classe II e da molécula co-estimuladora CD86. Estes dados reforçam o potencial papel destes esteróides na modulação da função das células dendríticas e na produção de mediadores. Neste sentido, fortalece-se o conceito de que os hormônios sexuais femininos influenciam a resposta funcional da célula T e conseqüentemente a resposta inflamatória (HAMMAD; LAMBRECHT, 2008; VÉLEZ-ORTEGA et al., 2013).

É interessante notar que realmente, o envolvimento dos hormônios sexuais femininos na atividade do sistema imune é fortalecido pelos achados de Fish (2008). Esta autora mostra que a variação dos níveis de estrógeno e progesterona durante as diferentes fases do ciclo menstrual interfere com o padrão das populações de linfócitos T. Segundo a autora, durante a fase folicular do ciclo sexual, quando o nível circulante de estrógeno está elevado, observa-se aumento do número de células T reguladoras e predomínio de resposta Th2. Em contrapartida, durante a fase lútea, quando os níveis de estrógeno estão baixos, verifica-se predomínio da resposta Th1 (figura 1).

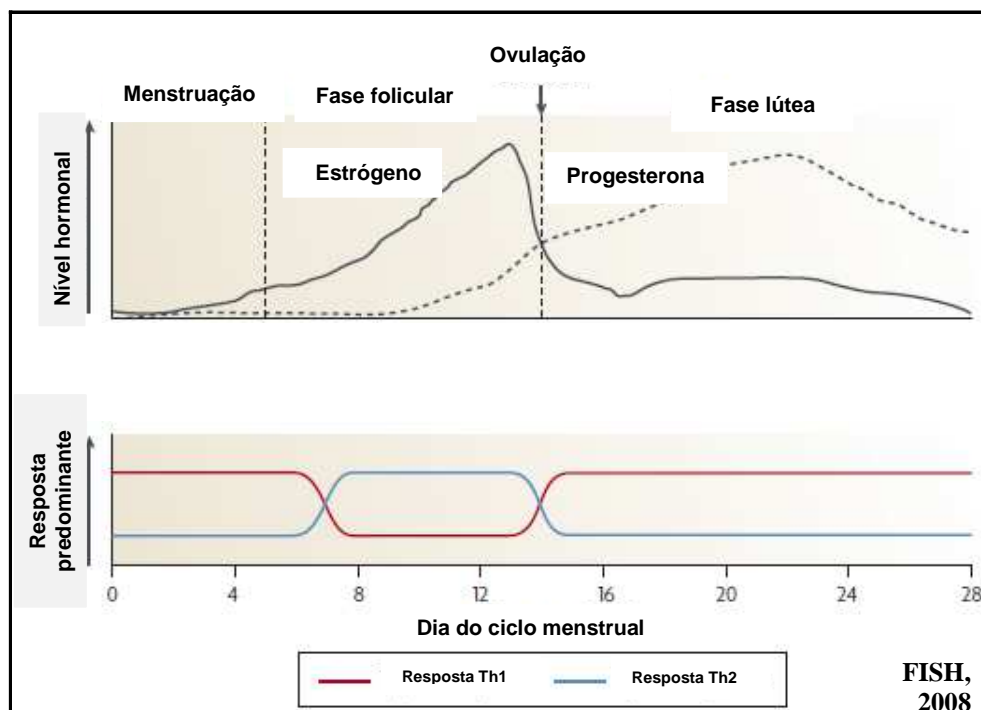


Figura 1- Envolvimento dos hormônios sexuais femininos na atividade do sistema imune

Embora os dados apresentados na literatura sobre a modulação dos hormônios sexuais femininos no desenvolvimento da inflamação pulmonar ainda sejam conflitantes, ora mostrando indução e ora mostrando atenuação da inflamação, é perceptível a participação modulatória do estrógeno e da progesterona no desenvolvimento da resposta inflamatória pulmonar. À luz destas evidências e considerando que a piora da função pulmonar é consequência da asma, no presente estudo investigamos as repercussões da re-exposição ao antígeno após a remoção dos ovários de animais com a asma experimental já desencadeada. O estudo poderá fornecer subsídios para a compreensão dos mecanismos que medeiam a piora da inflamação alérgica pulmonar em mulheres na fase pré-menstrual ou na pós-menopausa, bem como permitirão, no futuro, propor alternativas terapêuticas para esta importante doença.

2 CONCLUSÕES

- O re-desafio com OVA em camundongos fêmeas alérgicas OVx elevou o desenvolvimento da inflamação pulmonar alérgica da resposta contrátil das vias aéreas,
- O tratamento com estrógeno parece piorar a inflamação pulmonar alérgica com influência na resposta geradora de citocinas no pulmão, enquanto o tratamento com progesterona piora a produção de muco e colágeno
- O tratamento com estrógeno em associação com progesterona parece ter efeito protetor sobre a inflamação pulmonar neste modelo,
- O desencadeamento da resposta inflamatória parece se desenvolver por diferentes mecanismos,
- Há uma possível dissociação entre os mecanismos inflamatórios e a magnitude da mecânica respiratória.

REFERÊNCIAS¹

ABARCA-ROJANO, E.; PACHECO-YÉPEZ, J.; DRAGO-SERRANO, M. E.; CAMPOS-RODRÍGUEZ, R. Glucocorticoids and estrogens modulate the NF- κ B pathway differently in the micro- and microvasculature. **Medical Hypotheses**, v. 81, n. 6, p. 1078-1082, 2013.

ACCETTURI, B. G. **Avaliação da expressão de moléculas co-estimuladoras na superfície de células dendríticas de fêmeas ovariectomizadas em modelo murino de asma**. 2009. 122 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

AGACHE, I. O. From phenotypes to endotypes to asthma treatment. **Curr. Opin. Allergy Clinical Immunology**, v. 3, p. 249-256, 2013.

AKIRA, S.; TAKEDA, K. Toll-like receptor signaling. **Nature Reviews Immunology**, v. 4, p. 499-511, 2008.

AKIRA, S.; UEMATSU, S.; TAKEUCHI, O. Pathogen recognition and innate immunity. **Cell**, v. 124, p. 783-801, 2006.

ALMEIDA, T. A.; ROJO, J.; NIETO, P. M.; PINTO, F. M.; HERNANDEZ, M.; MARTÍN, J. D.; CANDENAS, M. L. Tachykinins and tachykinin receptors: structure and activity relationships. **Current Medicine Chemistry**, v. 15, p. 2045-2081, 2004.

ARNAL, J. F.; LAURELL, H.; FONTAINE, C.; GOURDY, P. Estrogen receptor actions on vascular biology and inflammation: implications on vascular pathophysiology. **Climacteric**, v. 12, p. 12-17, 2009.

BARNES, P. J.; ADCOCK, I. M. How do corticosteroids work in asthma. **Annual of Internal medicine**, v. 139, p. 356-359, 2003.

BARNES, P. J.; LIEW, F. Y. Nitric oxide and asthmatic inflammation. **Immunology Today**, v. 16, n. 3, p. 128-130, 1995.

BERGERON, C.; PAGE, N.; JOUBERT, P.; BARBEAU, B.; HAMID, Q.; CHAKIR, J. Regulation of procollagen I (alpha1) by interleukin-4 in human bronchial fibroblasts: a possible role in airway remodelling in asthma. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 33, p. 1389-1397, 2003.

BERNARD, G. R.; ARTIGAS, A.; BRIGHAM, K. L.; CARLET, J.; FALKE, K.; HUDSON, L.; LAMY, M.; LEGALL, J. R.; MORRIS, A.; SPRAGG, R. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 149, p. 818-24, 1994.

BEUTLER, B. e RIETSCHER, E. T. Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. **Nature Reviews Immunology**, v. 3, p. 169-76, 2003.

¹ De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002

BREITHAUPT-FALOPPA, A. C.; FANTOZZI, E. T.; ASSIS-RAMOS, M. M.; VITORETTI, L. B.; COUTO, G. K.; ROSSONI, L. V.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; VARGAFTIG, B. B.; TAVARES-DE-LIMA, W. Protective effect of estradiol on acute lung inflammation induced by an intestinal ischemic insult is dependent on nitric oxide. **Shock**, v. 40, n. 3, p. 203-209, 2013.

BISHOP, A.; ANDERSON, J. E. NO signaling in the CNS: from the physiological to the pathological. **Toxicology**, v. 208, n. 2, p. 193-205, 2005.

BORNELÖV, S.; SÄÄF, A.; MELÉN, E.; BERGSTRÖM, A.; MOGHADAM, B. T.; VILLE PULKKINEN, V.; ACEVEDO, N.; PIETRAS, O. C. Rule-Based. Models of the Interplay between Genetic and Environmental Factors in Childhood Allergy. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. 129-133, 2013.

BREITHAUPT-FALOPPA, A. C.; FANTOZZI, E. T.; ASSIS-RAMOS, M. M.; et al. Protective effect of estradiol on acute lung inflammation induced by an intestinal ischemic insult is dependent on nitric oxide. **Shock** (Augusta, Ga.), v. 40, n. 3, p. 203-209, 2013.

BRIGHAM, K. L. and MEYRICK, B. Endotoxin and lung injury. **The American Review of Respiratory Disease**, v. 133, p. 913-927, 1986.

BROSENS, J. J.; TULLET, J.; VARSHOCHI, R.; LAM, E. W. F. Steroid receptor action. **Best practice & Research. Clinical obstetrics & gynaecology**, v. 18, n. 2, p. 265-283, 2004.

CAI, Y.; ZHOU, J.; WEBB, D. C. Estrogen stimulates Th2 cytokine production and regulates the compartmentalisation of eosinophils during allergen challenge in a mouse model of asthma **International Archives of Allergy and Immunology**, v.158, n. 3, p. 252-260, 2012.

CARD, J. W.; CAREY, M. A.; BRADBURY, J. A.; DEGRAFF, L. M.; MORGAN, D. L.; MOORMAN, M. P.; FLAKE, G. P.; ZELDIN, D. C. Gender differences in murine airway responsiveness and lipopolysaccharide-induced inflammation. **The Journal of Immunology**, v. 177, p. 621-630, 2006.

CARDOSO, C. C.; RICARDO, V. P.; FRUSSA-FILHO, R. SEGRETI PORTO, C.; ABDALLA, F. M. F. Effects of 17 β -estradiol on expression of muscarinic acetylcholine receptor subtypes and estrogen receptor α in rat hippocampus. **European Journal of Pharmacology**, v. 634, p. 192–200, 2010.

CAREY, M. A.; CARD, J. W.; BRADBURY, J. A.; MOORMAN, M. P.; HAYKAL-COATES, N.; GAVETT, S. H.; GRAVES, J. P.; WALKER, V. R.; FLAKE, G. P.; VOLTZ, J. W.; ZHU, D.; JACOBS, E. R.; DAKHAMA, A.; LARSEN, G. L.; LOADER, J. E.; GELFAND, E. W.; GERMOLEC, D. R.; KORACH, K. S.; ZELDIN, D. C. Spontaneous airway hyperresponsiveness in estrogen receptor-alpha-deficient mice. **American Journal of Respiratory Critical Care Medicine**, v. 175, n. 2, p.126-135, 2006.

CAROFF, M. and KARIBIAN, D. Structure of bacterial lipopolysaccharides. **Carbohydrate Research**, v. 338, p. 2431-2434, 2003.

CAVRIANI, G.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; TREZENA, A. G.; et al. Lung microvascular permeability and neutrophil recruitment are differently regulated by nitric oxide in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion. **European journal of pharmacology**, v. 494, n. 2, p. 241-249, 2004.

CHEN, W; MEMPEL, M.; SCHOBER, W.; BEHRENDT, H.; RING, J. Gender difference, sex hormones, and immediate type hypersensitivity reactions. **Allergy**. v.63, n. 11, p. 1418-1427, 2008.

CID, M. C.; SCHNAPER, W. H.; KLEINMAN, K. W. Estrogens and the Vascular Endothelium. **Annals of N. Y. Academy Science**, v. 66, p.143-157, 2002.

COELHO, F. R.; CAVRIANI, G.; SOARES, A. L.; et al. Lymphatic-borne IL-1beta and the inducible isoform of nitric oxide synthase trigger the bronchial hyporesponsiveness after intestinal ischemia/reperfusion in rats. **Shock**, v. 28, n. 6, p. 694-699, 2007.

CORTELING, R.; WYSS, D.; TRIFILIEFF, A. *In vivo* models of lung neutrophil activation. Comparison of mice and hamsters. **BMC Pharmacology**, v. 2, p. 1-8, 2002.

CUZZOCREA, S.; MAZZON, E.; SAUTEBIN, L.; SERRAINO, I.; DUGO, L.; CALABRO, G.; CAPUTI, A. P.; MAGGI, A. The protective role of endogenous estrogens in carrageenan-induced lung injury in the rat. **Molecular Medicine**, v. 7, p. 478-487, 2001.

DATASUS. Banco de Dados do Sistema Único de Saúde. www.datasus.gov.br.

DE BIE, J. J.; HESSEL, E. M.; VAN ARK, I.; VAN ESCH, B.; HOFMAN, G.; NIJKAMP, F. P.; VAN OOSTERHOUT, A. J. M. Effect of dexamethasone and endogenous corticosterone on airway hyperresponsiveness and eosinophilia in the mouse. **British Journal of Pharmacology**, v. 119, p. 1484-1490, 1996.

DECATANZARO, D.; KHAN, A.; BERGER, R.G.; LEWIS, E. Exposure to developing females induces polyuria, polydipsia, and altered urinary levels of creatinine, 17 beta-estradiol, and testosterone in adult male mice (*Mus musculus*). **Hormones Behavior**, v. 55, n. 1, p. 240-247, 2009.

DEGANO, B.; PRÉVOST, M.C.; BERGER, P.; MOLIMARD, M.; PONTIER, S.; RAMI, J.; ESCAMILLA, R. Estradiol decreases the acetylcholine-elicited airway reactivity in ovariectomized rats through an increase in epithelial acetylcholinesterase activity. **American Journal of Respiratory Critical Care Medicine**, v.164, n. 10, p. 1849-1854, 2001.

DE OLIVEIRA, A. P. L.; DOMINGOS, H. V.; CAVRIANI, G.; DAMAZO, A. S.; DOS SANTOS FRANCO, A. L.; OLIANI, S. M.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; VARGAFTIG, B. B.; DE LIMA, W. T. Cellular recruitment and cytokine generation in a rat model of allergic lung inflammation are differentially modulated by progesterone and estradiol. **American Journal of Physiology. Cellular Physiology**, v. 293, p. 1120-1128, 2007.

DE OLIVEIRA, A. P.; PERON, J. P.; DAMASO, A. S.; FRANCO, A. L.; DOMINGOS, H. V.; OLIANI, S. M.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; VARGAFTIG, B. B.; TAVARES-DE-LIMA, W. Female sex hormones mediate the allergic lung reaction by regulating the release of inflammatory mediators and the expression of lung E-selectin in rats. **Respiratory Research**, v. 11, p. 72-76, 2010.

DIMITROPOULOU, C. I.; DRAKOPANAGIOTAKIS, F.; CHATTERJEE, A.; SNEAD, C.; CATRAVAS, J. D. Estrogen replacement therapy prevents airway dysfunction in a murine model of allergen-induced asthma. **Lung**, v. 187, n. 2, p. 116-127, 2009.

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

ELLMANN, S.; STICHT, H.; THIEL, F.; BECKMANN, M. W.; STRICK, R.; STRISSEL, P. L. Estrogen and progesterone receptors: from molecular structures to clinical targets. **Cell Molecular Life Science**, v. 66, p. 2405- 2416, 2009.

FARHA, S.; ASOSINGH, K.; LASKOWSKI, J.; HAMMEL, J.; DWEIK, R.A.; WIEDEMANN, H.P.; ERZURUM, S.C. Effects of the menstrual cycle on lung function variables in women with asthma. **American Journal of Respiratory Critical Care Medicine**, v. 180, p. 304-310, 2009.

FISH, E. N. The X-files in immunity: sex-based differences predispose immune responses. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, p. 737-744, 2008.

FISCHER, A.; FOLKERTS, G.; GEPPETTI, P.; GRONEBERG, D.A. Mediators of asthma: nitric oxide. **Pulmonary Pharmacology Therapy**, v. 15, n. 2, p. 73-81, 2002.

FREEMAN, M. E. The ovarian cycle of the rat. **Physiology of reproduction**, v. 12, p. 1893-1928, 1988.

GALLI, S. J.; TSAI, M.; PILIPONSKI, A. M. The development of allergic inflammation. **Nature**, v. 454, n. 7203, p. 445-454, 2008.

GEHA, R.S.; JABARA, H.H.; BRODEUR, S.R. The regulation of immunoglobulin E class-switch recombination. **Nature Reviews Immunology**, v. 3, n. 9, p. 721-732, 2003.

GEORÉN, S.; AHNBLAD, P.; STJÄRNE, P.; WIKSTRÖM, A. C.; STIERNA, P. Significance of endogenous glucocorticoid sensitivity for airway eosinophilia in a murine model of allergy. **Acta Otolaryngology**, v. 125, n. 4, p. 378-385, 2005.

GIBSON, P. G.; SIMPSON, J. L.; SALTOS, N. Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma: evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8. **Chest**, v. 119, n. 1329-1336, 2011.

GIMENES-JÚNIOR, J. A. **Papel dos hormônios sexuais femininos na inflamação pulmonar aguda e na reatividade das vias aéreas após instilação nasal de LPS em camundongos**. 2013. 161 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

GINA. 2014. Global initiative for asthma. Disponível em: <<http://www.ginasthma.org>>. Acesso em: 10 out. 2013.

GOLDMAN, J. N.; MURR, A. S.; COOPER, R. L. The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. **Developmental and Reproduction Toxicology**, v. 80, n. 2, p. 84-97, 2007.

GOSENS, R.; ROSCIONI, S. S.; DEKKERS, B. G.; PERA, T.; SCHMIDT, M.; SCHAAFSMA, D.; ZAAGSMA, J.; MEURS, H. Pharmacology of airway smooth muscle proliferation. **European Journal of Pharmacology**, v. 585, n. 2, p. 385-397, 2008.

HALL, J. M.; MCDONNELL, D. P. The Estrogen Receptor β -Isoform (ER β) of the human estrogen receptor modulates ER α transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens. **Endocrinology**, v. 140, n. 12, p. 566-578, 1999.

HAMANO, N.; TERADA, N.; MAESAKO, K.; NUMATA, T.; KONNO, A. Effect of sex hormones on eosinophilic inflammation in nasal mucosa. **Allergy Asthma Proceedings**, v. 5, p. 263-269, 1998.

HANLEY, S. P. Asthma variation with menstruation. **British Journal Dis. Chest**, v. 75, p. 306-308, 1981.

HEDRICH, C. M.; BREAM, J. H. Cell type-specific regulation of IL-10 expression in inflammation and disease. **Immunologic Research**, v. 47, n. 1-3, p. 185-206, 2010.

HEWITT, S. C.; HARRELL, J. C.; KORACH, K. S. Lessons in estrogen biology from knockout and transgenic animals. **Annual Review of Physiology**, v. 67, p. 285-308, 2005.

HELLINGS, P. W.; VANDEKERCKHOVE, P.; CLAEYS, R.; BILLEN, J.; KASRAN, A.; CEUPPENS, J.L. Progesterone increases airway eosinophilia and hyper-responsiveness in a murine model of allergic asthma. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 33, n. 10, p. 1457-1463, 2003.

HOLGATE, T. S. Novel targets of therapy in asthma. **Current Opinion Pulmonary Medicine**, v. 15, p. 63-71, 2009.

HUA, X.; KELLY, D.; JANKI, Y.; PATEL, L.; WARREN, C.; NASELSKY, L.; STEPHEN, L.; TILLEY, L. IL-4 Amplifies the Pro-Inflammatory Effect of Adenosine in Human Mast Cells by Changing Expression Levels of Adenosine Receptors. **PLoS One**, v. 6, n. 9, p. 254-259, 2011.

IVANOVA, M. M.; MAZHAWIDZA, W.; DOUGHERTY, S. M.; MINNA, J. D.; KLINGE, C. M. Activity and intracellular location of estrogen receptors α and β in human bronchial epithelial cells. **Molecular Cell Endocrinology**, v. 305, p. 12-21, 2009.

JALA, V. R.; RADDE, B. N.; BODDULURI HARIBABU, B.; KLINGE, C. M. Enhanced expression of G-protein coupled estrogen receptor (GPER/GPR30) in lung cancer. **BMC Cancer**, v. 12, p. 12-15, 2012.

JANEWAY, C. A.; MEDZHITOV, R. Innate immune recognition. **Annual Review of Immunology**, v. 20, p. 197-216, 2002.

JOHNSTON, G. R.; WEBSTER, N. R. Cytokines and the immunomodulatory function of the vagus nerve. **British Journal Anaesthesiology**, v. 102, n. 4, p. 453-462, 2009.

JOOS, G. F.; GERMONPRÉ, P. R.; PAUWELS, R. A. Neural mechanisms in asthma. **Clinical Experimental Allergy**, v. 1, p. 60-65, 2000.

KAHKHOVENG, E.; WISSINK, S.; VAN DEN SAAG, P. T.; VAN DEN BURG, B. Negative interaction between the REL A subunit of nfkb and progesterone receptor. **Biological Chemistry**, v. 271, p. 213-217, 2011.

KANAZAWA, H. Anticholinergic agents in asthma: chronic bronchodilator therapy, relief of acute severe asthma, reduction of chronic viral inflammation and prevention of airway remodeling. **Current Opinion Pulmonary Medicine**, v. 1, p. 60-67, 2006. Revisão.

KIM, Y.; LEE, S.; KIM, Y.S.; LAWLER, S.; GHO, Y.S.; KIM, Y.K.; HWANG, H.J. Regulation of Th1/Th2 cells in asthma development: a mathematical model. **Mathematical Bioscience Engineering**, v. 10, n. 4, p. 1095-1113, 2013.

KIPS, J. C.; TAVERNIER, J. H.; JOOS, G. F.; PELEMAN, R. A.; PAUWELS, R. A. The potential role of tumour necrosis factor alpha in asthma. **Clinical Experimental Allergy**, v. 23, n. 4, p. 247-250, 1993.

KOEHLER, F. K.; NILSSON, S. Oestrogen Receptors and Selective Oestrogen Receptor Modulators: Molecular and Cellular Pharmacology. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 96, n. 1, p. 15-25, 2005.

KOTSIMBOS, A. T.; HAMID, Q. IL-5 and IL-5 receptor in asthma. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v.2, p. 75-91, 1997.

KROEGEL, C.; VIRCHOW, J. C.; LUTTMANN, W.; WALKER, C.; WARNER, J. A. Pulmonary immune cells in health and disease: the eosinophil leucocyte (Part I). **European Respiratory Journal**, v. 7 n. 3, p. 519-543, 1994.

KYNYK, J. A.; MASTRONARDE, J. G.; MCCALLISTER, J. W. Asthma, the sex difference. **Current Opinion Pulmonary Medicine**, v. 17, n. 1, p. 6-11, 2011.

KUMAGAI, Y.; TAKEUCHI, O.; AKIRA, S. Pathogen recognition by innate receptors. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 14, p. 86-92. 2008.

LAPPALAINEN, U.; WHITSETT, J. A.; WERT, S. E.; TICHELAR, J. W.; BRY, K. Interleukin-1 Causes Pulmonary Inflammation, Emphysema, and Airway Remodeling in the Adult Murine Lung **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 32, n. 4, p. 311-318, 2005.

LEVIN, E. R. Minireview: extranuclear steroid receptors: roles in modulation of cell functions. **Molecular Endocrinology**, v. 25, p. 377-384, 2011.

LI, P. C.; SHAW, C. F.; KUO, T. F.; CHIEN, C. T. Inducible nitric oxide synthase evoked nitric oxide counteracts capsaicin-induced airways smooth muscle contraction, but exacerbates plasma extravasation. **Neuroscience Letters**, v. 378, p. 117–122, 2005.

LI, T.; XIAO, X.; ZHANG, J.; ZHU, Y.; HU, Y.; ZANG, J.; LU, K.; YANG, T.; GE, H.; PENG, X.; LAN, D.; LIU, L. Age- and sex-differences in vascular responsiveness in healthy and trauma patients: contribution of estrogen receptor-mediated Rho kinase and PKC pathways. **American Journal of Physiology Heart Circulatory Physiology**, 2014. [Epub ahead of print].

LIGEIRO DE OLIVEIRA, A. P.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; DA SILVA, Z. L.; BORELLI, P.; TAVARES DE LIMA, W. Regulation of allergic lung inflammation in rats: interaction between estradiol and corticosterone. **Neuroimmunomodulation**, v. 11, p. 20-27, 2004.

LINO DOS SANTOS FRANCO, A.; DAMAZO, A. S.; BERALDO DE SOUZA, H. R.; DOMINGOS, H. V.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; OLIANI, S. M.; COSTA, S. K.; TAVARES DE LIMA, W. Pulmonary neutrophil recruitment and bronchial reactivity in formaldehyde-exposed rats are modulated by mast cells and differentially by neuropeptides and nitric oxide. **Toxicology Applied Pharmacology**, v. 214, p. 35-42, 2006.

LINO-DOS-SANTOS-FRANCO, A.; GIMENES-JÚNIOR, J. A.; LIGEIRO-DE-OLIVEIRA, A. P.; BREITHAUPT-FALOPPA, A. C.; ACCETURI, B. G.; VITORETTI, L. B.; MACHADO, I. D.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; FARSKY, S. H.; MORIYA, H. T.; TAVARES-DE-LIMA, W. **Food and Chemical Toxicology**, v. 59, p. 731-738. 2013.

LOUTSIOS, C.; FARAHI, N.; PORTER, L.; LOCK, L. S. Biomarkers of eosinophilic inflammation in asthma. **Expert Reviews Respiratory Medicine**, v. 2, p. 143-150. 2014.

LOTVALL, J.; AKDIS, C. A.; BACHARIER, L. B.; BJERMER, L.; CASALE, T. B.; ADNAN CUSTOVIC, A.; ROBERT F. LEMANSKE, R. F.; ANDREW J. WARDLAW, A. J.; WENZEL, S. E.; GREENBERGER, P. A. Asthma endotypes: A new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 127, n. 2, p. 355-360, 2011.

LUH, S. P.; CHIANG, C. H. Acute lung injury/acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS): the mechanism, present strategies and future perspectives of therapies. **Journal of Zhejiang University. Science**, v. 8, p. 60-69, 2007.

LUND, V. J. Nasal physiology: Neurochemical receptors, nasal cycle, and ciliary action. **Allergy Asthma Proceedings**, v. 17, n. 4, p. 179-184, 1996.

MARRIOTT, I.; BOST, K. L.; HUET-HUDSON, Y. M. Sexual dimorphism in expression of receptors for bacterial lipopolysaccharides in murine macrophages: a possible mechanism for gender-based differences in endotoxin shock susceptibility. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 71, p. 12-27, 2006.

MARTINS, I. O. **Influência dos hormônios sexuais femininos no remodelamento e na reatividade das vias aéreas em modelo murino de inflamação pulmonar alérgica crônica**. 2013. 105 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

MASSARO, D.; MASSARO, G. D. Estrogen receptor regulation of pulmonary alveolar dimensions: alveolar sex dimorphism in mice. **American Journal of Physiology. Lung Cell Molecular Physiology**, v. 290, p. 866-870, 2006.

MATSUBARA, S.; SWASEY, C.; LOADER, J.; DAKHAMA, A.; JOETHAM, A.; OHNISHI, H.; BALHORN, A.; MIYAHARA, N.; TAKEDA, K. AND GELFAND, E. Estrogen Determines Sex Differences in Airway Responsiveness after Allergen Exposure. **American Journal of Respiratory Cell Molecular Biology**, v. 38, p. 501-508, 2008.

MAUAD, T.; LOPES DE SOUZA, A.; SALDIVA, P.; DOLHNIKOFF, M. **Journal of Pneumology**, v. 26, n. 2, p. 284-288, 2000.

MEDZHITOV, R.; PRESTON-HURLBURT, P.; JANEWAY, C. A. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. **Nature**, v. 388, p. 394-397, 1997.

MEURS, H.; GOSENS, R.; ZAAGSMA, J. Airway hyperresponsiveness in asthma: lessons from in vitro model systems and animal models. **The European Respiratory Journal**, v. 32, n. 2, p. 487-502, 2008.

MIRAGLIA DEL GIUDICE, M.; MARSEGLIA, G. L.; LEONARDI, S.; TOSCA, M. A.; MARSEGLIA, A.; PERRONE, L.; CIPRANDI, G. Fractional exhaled nitric oxide measurements in rhinitis and asthma in children. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 4, p. 29-32, 2011.

MORI, A.; SUKO, M.; NISHIZAKI, Y.; KAMINUMA, O.; MATSUZAKI, G.; ITO, K.; ETOH, T.; NAKAGAWA, H.; TSURUOKA, N.; OKUDAIRA, H. Regulation of interleukin-5 production by peripheral blood mononuclear cells from atopic patients with FK506, cyclosporin A and glucocorticoid. **International Archives of Allergy Immunology**, v. 104, p. 32-35, 2010.

MURILLO-ORTIZ, B.; PÉREZ-LUQUE, E.; MALACARA, J. M.; BENÍTEZ-BRIBIESCA, L. Expression of Estrogen Receptor Alpha and Beta in Breast Cancers of Pre- and Postmenopausal Women. **Pathology & Oncology Research**, v. 14, n. 4, p. 435-442, 2008.

MURRAY, R. K.; BENDER, D. A.; KATHLEEN, M. B.; PETER, J. K.; VICTOR, W. R. **Bioquímica ilustrada de Harper**. 29. ed. Editora Lange, 2013. p. 502-205.

NADIF, R.; ZERIMECH, F.; BOUZIGON, E.; MATRAN, R. The role of eosinophils and basophils in allergic disease considering genetic findings. **Current Opinion Allergy Clinical Immunology**, v. 5, p. 507-513, 2013.

NICOD, L. P. Cytokines. 1. Overview. **Thorax**, v. 48, n. 6, p. 660-667, 1993.

NIJKAMP, F. P.; FOLKERTS, G. Nitric oxide and bronchial reactivity. **Clinical and Experimental Allergy**, v.24, n.10, p. 905-914, 1995.

NIJKAMP, F. P.; VAN OOSTERHOUT, A. J. M. Mechanisms of action of glucocorticoids in the treatment of asthma. **In Topics in Pharmaceutical Sciences**, v. 21, p. 77-88, 1993.

NILSSON, O. Modulation of the inflammatory response by estrogens with focus on the endothelium and its interactions with leukocytes. **Inflammation Research**, v. 56, n. 7, p. 269-273, 2007.

NISWENDER, G. D. Molecular control of luteal secretion of progesterone. **Reproduction**, v. 123, n. 3, p. 333-339, 2002.

O'BYRNE, P. M. Role of monoclonal antibodies in the treatment of asthma. **Can. Respiratory Journal**, v. 20, n. 1, p. 23-25, 2013.

OLIVEIRA, A. P. L.; PERON, J.; LINO-DOS-SANTOS-FRANCO, A.; ACCETURI, B.G.; VIEIRA, R. ; IBANEZ, O. M.; CABRERA, W.; FRANCO, M.; RIZZO, L. ; Vargaftig, B.B.; TAVARES DE LIMA, W. Ovariectomized OVA-sensitized mice display increased frequency of CD4⁺Foxp3⁺ T regulatory cells in the periphery. **Plos One**, v. 6, p. 65-69, 2013.

OH, S. W.; MYUNG, S. K.; PARK, J. Y.; LYM, Y. L.; JU, W. Hormone therapy and risk of lung cancer: a meta-analysis. **Journal of Women and Health**, v. 19, p. 279-288, 2010.

PACIFICI, R.; RIFAS, L.; MCCRACKEN, R.; VERED, I.; MCMURTRY, C.; AVIOLI, L. V.; PECK, W. A. Ovarian steroid treatment blocks a postmenopausal increase in blood monocyte interleukin 1 release. **Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America**, v. 86, p. 2398-2402, 1989.

PALEEV, N. R.; CHEREŤSKAIA, N .K.; SLIVETS, O. N.; SHAPOVALENKO, S. A.; PODREZOVA, L. A. Integrative study of bronchial asthma in perimenopausal women. **Vestn. Ross. Akademy Medicine Nauk.**, v. 2, p.16-20, 2002.

PALEEV, N. R.; SHABALIN, V. N.; CHEREŤSKAIA, N. K.; IURINA, T. M.; SLIVETS, O. N.; SHAPOVALENKO, S. A. Specific aspects of the course of bronchial asthma therapy in perimenopausal period. **Klin. Medicine (Mosk)**, v. 77, n. 5, p. 17-20, 1997.

PAULI, B. D.; REID, R. L.; MUNT, P. W.; WIGLE, R. D.; FORKERT, L. Influence of the menstrual cycle on airway function in asthmatic and normal subjects. **American Review of Respiratory Disease**, v. 140, p. 358-362, 1989.

PEREIRA-VEGA, A.; SÁNCHEZ RAMOS, J.; VÁZQUEZ OLIVA, R.; MALDONADO PÉREZ, J. A.; OLBAH, M. A.; MONTERO FERNÁNDEZ M, VÁZQUEZ RICO, I.; ROBLES RODRÍGUEZ, J. L.; IGNACIO GARCÍA, J. M.; ROMERO PALACIOS, P.; MEDINA GALLARDO, J F. Premenstrual asthma and female sex hormones. **Journal of Investigation Allergology and Clinical Immunology**, v. 22, n. 6, p. 437-439, 2012.

PINHEIRO, A.; CAVES, A.; PAIVA, H.; CORREIA, L.; ALEXANDRE, M.; VILLAR, M. 2011. Fisiologia das Gônadas Femininas. Disponível em: <http://members.tripod.com/~Medman_1/ovariectomia.html>. Acesso em: 10 out. 2013.

POLTORAK, A.; SMIRNOVA, I.; HE, X.; LIU, M. Y.; VAN HUFFEL, C.; MCNALLY, O.; BIRDWELL, D.; ALEJOS, E.; SILVA, M.; DU, X.; THOMPSON, P.; CHAN, E. K.; LEDESMA, J.; ROE, B.; CLIFTON, S.; VOGEL, S. N.; BEUTLER, B. Genetic and physical mapping of the LPS locus: identification of the Toll-4 receptor as a candidate gene in the critical region. **Blood Cells, Molecules & Diseases**, v. 24, p. 340-355, 1998.

POSSA, S. S.; CHARAFEDDINE, H. T.; RIGHETTI, R. F.; ANGELI DA SILVA, P.; ALMEIDA-REIS, R.; SARAIVA-ROMANHOLO, B. M.; PERINI, A.; PRADO, C. M.; LEICK-MALDONADO, E. A.; MARTINS, M. A.; TIBÉRIO, I de F. Rho-kinase inhibition attenuates airway responsiveness, inflammation, matrix remodeling, and oxidative stress activation induced by chronic inflammation. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 303, p. 939-952, 2012.

POSTLETHWAITE, A. E.; HOLNESS, M. A.; KATAI, H.; RAGHOW, R. Human fibroblasts synthesize elevated levels of extracellular matrix proteins in response to interleukin 4. **Journal of Clinical Investigation**, v. 90, p. 1479-1485, 1992.

PRADO, C. M.; LEICK-MALDONADO, E. A.; ARATA, V.; et al. Neurokinins and inflammatory cell iNOS expression in guinea pigs with chronic allergic airway inflammation. **American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology**, v. 288, n. 4, p. 741-748, 2005.

QAMAR, A.; RADER, D. J. Effect of interleukin 1 β inhibition in cardiovascular disease. **Current Opinion Lipidol**, v. 6, p. 548-553, 2012.

QIAO, X.; MCCONNELL, K. R.; KHALIL, R. A. Sex steroids and vascular responses in hypertension and aging. **Gender Medicine**, v. 5, p. 46-64, 2008.

REINHARDT, A. K.; BOTTOMS, S. E.; LAURENT, G. J.; MCANULTY, R. J. Quantification of collagen and proteoglycan deposition in a murine model of airway remodelling. **Respiratory Research**, v. 8, p. 26-30, 2005.

REAL, F. G.; SVANES, C.; OMENAAS, E. R.; ANTÒ, J. M.; PLANA, E.; JARVIS, D.; JANSON, C.; NEUKIRCH, F.; ZEMP, E.; DRATVA, J.; WJST, M.; SVANES, K.; LEYNAERT, B.; SUNYER, J. Lung function, respiratory symptoms, and the menopausal transition. **Journal of Allergy Clinical Immunology**, v. 121, n. 1, p. 72-80, 2008.

REINHARDT, A. K.; BOTTOMS, S. E.; LAURENT, G. J.; MCANULTY, R. J. Quantification of collagen and proteoglycan deposition in a murine model of airway remodeling. **Respiratory Research**, v. 8, p. 6-30, 2005.

REIS E SOUSA, C. Dendritic cells in a mature age. **Nature Reviews Immunology**, v. 6, n. 6, p. 476-483, 2006

RICHARDSON, J.; BÉLAND, J. Nonadrenergic inhibitory nervous system in human airways. **Journal of Applied Physiology**, v. 41, p. 764-771, 1976.

RIFFO-VASQUEZ, Y.; LIGEIRO DE OLIVEIRA, A. P.; PAGE, C. P.; SPINA, D.; TAVARES DE LIMA, W. Role of sex hormones in allergic inflammation in mice. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 37, p. 459-470, 2007.

ROCHA DA LAPA, F.; LIGEIRO DE OLIVEIRA, A. P.; ACCETURI, B. ; MARTINS, I.; DOMINGOS, H.; de ALMEIDA CABRINI, D.; TAVARES DE LIMA, W.; SANTOS, A. R. S. Anti-inflammatory effects of inosine in allergic lung inflammation in mice: evidence for the participation of adenosine A2A and A3 receptors. **Purinergic Signalling**, v. 9, n. 6, p. 325-336, 2013.

ROCHE, W. R.; BEASLEY, R.; WILLIAMS, J. H.; HOLGATE, S. T. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. **Lancet**, v. 1, p. 520-524, 1989.

SAGGINI, A.; MACCAURO, G.; TRIPODI, D.; DE LUTII, M. A.; CONTI, F.; FELACO, P.; FULCHERI, M.; GALZIO, R.; CARAFFA, A.; ANTINOLFI, P.; FELACO, M.; PANDOLFI, F.; SABATINO, G.; NERI, G.; SHAIK-DASTHAGIRISAHEB, Y. B. Allergic inflammation: role of cytokines with special emphasis on IL-4. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 24, n. 2, p. 305-311, 2011.

SCHAAFSMA, I. S.; SOPHIE, T. B.; ZUIDHOF, A. B.; ZAAGSMA, J.; MEURS, H. The inhaled Rho kinase inhibitor Y-27632 protects against allergen-induced acute bronchoconstriction, airway hyperresponsiveness, and inflammation. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 295, p. 214-219, 2007

SCHMIDT, P. The 2012 hormone therapy position statement of the North American menopause Society. **Menopause**, v. 19, p. 257-271, 2012.

SCHMIDT, J., FLEIBNER, S., HEIMANN-WEITSCHAT, I., LINDSTAEDT, R.; SZELENYI, I. The effect of different corticosteroids and cyclosporin A on interleukin-4 and interleukin-5 release from murine TH2-type T-cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 260, p. 247-250, 1994.

SCHUIJS, M. J.; WILLART, M. A.; HAMMAD, H.; LAMBRECHT, B. N. Cytokine targets in airway inflammation. **Current Opinion of Pharmacology**, v. 3, p. 351-361, 2013.

SCHUSTER, D. P. What Is Acute Lung Injury? What is ARDS? **Chest**, v. 107, p. 1721-1726, 1995.

SMITH, R. P.; DEWAR, J. A.; WINTER, J. H. Tamoxifen-induced asthma. **Lancet**, v. 20, p. 341- 347, 1993.

SIROIS, M. G.; JANCAR, S.; BRAQUET, P.; PLANTE, G. E.; SIROIS, P. PAF increases vascular permeability in selected tissues: effect of BN52021 and L-655,240. **Prostaglandins**, v. 36, p. 631-44, 1988.

SMITH, K. 2011. Examination of vaginal smears in the rat. Disponível em: <<http://oslovet.norecopa.no/teaching/rat/oestrus/>>. Acesso em: 10 out. 2013.

SPEYER, C. L.; RANCILIO, N. J.; MCCLINTOCK, S. D.; CRAWFORD, J. D.; GAO, H.; SARMA, J. V.; WARD, P. A. Regulatory effects of estrogen on acute lung inflammation in mice. **American Journal of Physiology and Cell Physiology**, v. 288, p. 881-890, 2005.

SPORNITZ, U. M.; SOCIN, C. D.; DAVID, A. A. Estrous stage determination in rats by means of scanning electron microscopic images of uterine surface epithelium. **The Anatomical Record**, v. 254, p. 116-126, 1999.

STARLING, C. M.; PRADO C. M.; LEICK-MALDONADO, E. A.; LANÇAS, T.; REIS, F. G.; ARISTÓTELES, L. R.; DOLHNIKOFF, M.; MARTINS, M. A.; TIBÉRIO, I. F. Inducible nitric oxide synthase inhibition attenuates lung tissue responsiveness and remodeling in a model of chronic pulmonary inflammation in guinea pigs. **Respiratory Physiology of Neurobiology**, v. 165, n. 2, p. 185-194, 2009.

TAM, A.; MORRISH, D.; WADSWORTH, S.; DORSCHIED, D.; PAUL MAN, S. F. AND SIN, D. The role of female hormones on lung function in chronic lung diseases. **BMC Women**, v. 110, p. 11-24, 2011.

TAKEDA, M.; TANABE, M.; ITO, W.; UEKI, S.; KONNO, Y.; CHIHARA, M.; ITOGA, M.; KOBAYASHI, Y.; MORITOKI, Y.; KAYABA, H.; CHIHARA, J. Gender Difference in Allergic Airway Remodeling and Immunoglobulin Production In Mouse Model of Asthma. **Respirology**, v. 18, n. 5, p. 797-806, 2013.

TAVARES DE LIMA, W.; TEIXEIRA, C. F. P.; SIROIS, P.; JANCAR, S. Involvement of Eicosanoids and PAF in immune-complex alveolitis. **Journal of Medicine and Biology Research**, v. 22, p. 745-748, 1989.

TAVARES DE LIMA, W.; STEIL, A. A.; RUSSO, M.; STAROBINAS, N.; TEIXEIRA, C. F.; JANCAR, S. Lipid mediators, tumor necrosis factor and nitric oxide and their interactions in immune-complex-induced lung injury. **European Journal of Pharmacology**, v. 358, p. 69-75, 1998.

THOMAS, P. S.; YATES, D. H.; BARNES, P. J. Tumor necrosis factor- α increases airway responsiveness and sputum neutrophils in normal human subjects. **American Journal Respiratory Critical Care Medicine**, v. 152, p. 76-80, 1995.

TICCONI, C.; PIETROPOLLI, A.; PICCIONE E. Estrogen replacement therapy and asthma. **Pulmonary Pharmacology Therapy**, v. 13, p. 169-172, 2013.

TOGBE, D.; SCHNYDER-CANDRIAN, S.; SCHNYDER, B.; DOZ, E.; NOULIN, N.; JANOT, L.; SECHER, T.; GASSE, P.; LIMA, C.; COELHO, F. R.; VASSEUR, V.; ERARD, F.; RYFFEL, B.; COUILLIN, I.; MOSER, R. Toll-like receptor and tumour necrosis factor dependent endotoxin-induced acute lung injury. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 88, p. 387-391, 2007.

TOWNSEND, E. A.; SATHISH, V.; THOMPSON, M. A.; PABELICK, C. M.; PRAKASH, Y. S. Estrogen effects on human airway smooth muscle involve cAMP and protein kinase A. **American Journal of Physiology and Lung Cell Molecular Physiology**, v. 303, n. 10, p. 923-928, 2012.

TRINDADE, S. H.; JÚNIOR, J. F.; LORENZI-FILHO, G.; MACCHIONE, M.; SALDIVA, P. H. Methods for Studying Mucociliary Transport. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 73, n. 5, p. 704-712, 2007.

TROISI, R. J.; SPEIZER, F. E.; WILLETT, W. C.; TRICHOPOULOS, D.; ROSNER, B. Menopause, postmenopausal estrogen preparations, and the risk of adult-onset asthma. A prospective cohort study. **American Journal of Respiratory Critical Care Medicine**, v. 152, p. 1183-1188, 1995.

VÉLEZ-ORTEGA, A. C.; TEMPRANO, J.; RENEER, M. C.; ELLIS, G. I.; MCCOOL, A.; GARDNER, T.; KHOSRAVI, M.; MARTI, F. Enhanced generation of suppressor T cells in patients with asthma taking oral contraceptives. **Journal of Asthma**, n. 50, v. 3, p. 223-230, 2013.

WANG, D. W.; ZHOU, R. B.; YAO, Y. M.; Role of cholinergic anti-inflammatory pathway in regulating host response and its interventional strategy for inflammatory diseases. **Chinese Journal of Traumatology**, v. 12, n. 6, p. 355-364, 2009.

WEIHUA, Z.; SAJI, S.; KINEN, S. M.; CHENG, G.; JENSEN, E. V.; GUSTAFSSON, J. A. Estrogen receptor (ER) β , a modulator of ER α in the uterus. **Proceedings of the National Academy Science**, v. 97, n. 11, p. 936-941, 2000.

WENZEL, S. E. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. **Nature Medicine**, v. 18, n. 4, p. 716-725, 2012.

WOOD, G. A.; FATA, J. E.; WATSON, K. L.; KHOKHA, R. Circulating hormones and estrous stage predict cellular and stromal remodeling in murine uterus. **Reproduction**, v. 133, p. 1035-1044, 2007.

ZHANG, Y.; LAMM, W. J.; ALBERT, R. K.; CHI, E. Y.; HENDERSON, W. R.; LEWIS, D. B. Influence of the route of allergen administration and genetic background on the murine allergic pulmonary response. **American Journal of Respiratory Critical Care Medicine**, v. 155, n. 2, p. 661-669, 1997.

ZHAO, Y.; KOGA, K.; OSUGA, Y.; IZUMI, G.; TAKAMURA, M.; HARADA, M.; HIRATA, T.; HIROTA, Y.; YOSHINO, O.; INOUE, S.; FUJII, T.; KOZUMA, S. Cyclic stretch augments production of neutrophil chemokines and matrix metalloproteinases-1 (MMP-1) from human decidual cells, and the production was reduced by progesterone. **American Journal of Reproduction Immunology**, v. 69, n. 5, p. 454-462, 2013.

ZIMMERMAN, J. L.; WOODRUFF, P. G.; CLARK, S.; CAMARGO, C. Relation between phase of menstrual cycle and emergency department visits for acute asthma. **American Journal of Respiratory Critical Care Medicine**, v. 162, p. 512-515, 2000.