EVELYN THAÍS FANTOZZI

"ESTUDO DOS MECANISMOS ENVOLVIDOS COM OS EFEITOS DO ESTRADIOL NA INFLAMAÇÃO LOCAL E SISTÊMICA EM MODELO DE ISQUEMIA E REPERFUSÃO INTESTINAL EM RATAS: INFLUÊNCIA DO SISTEMA LINFÁTICO"

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

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Wothan Tavares de Lima
Coorientadora: Dra. Ana Cristina Breithaupt Faloppa

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

São Paulo
2018

RESUMO

FANTOZZI, E. T. **Estudo dos mecanismos envolvidos com os efeitos do estradiol na inflamação local e sistêmica em modelo de isquemia e reperfusão intestinal em ratas: influência do sistema linfático.** 2018. 99 f. Tese (Doutorado em: Farmacologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

A isquemia intestinal pode decorrer da obstrução do fluxo da artéria mesentérica superior que, em humanos, supre o pâncreas, parte do cólon e o intestino delgado. A geração de produtos tóxicos durante o período de isquemia faz com que a reperfusão intestinal gere lesão em órgãos distantes do local onde a isquemia ocorreu. Estudos consideram que essas lesões são moduladas por mediadores inflamatórios derivados do trato gastrintestinal drenados pelo sistema circulatório e também o sistema linfático mesentérico. Visto que existem evidências de diferenças de suscetibilidade de resposta imune entre gêneros e que terapias específicas para prevenção ou tratamento das lesões teciduais causadas pela IR intestinal ainda não estão disponíveis. Então, a investigação dos efeitos da IR intestinal sobre o intestino, como sua capacidade de gerar mediadores inflamatórios em fêmeas reveste-se de importância adicional, mormente levando-se em consideração o papel do sistema linfático como transportador de citocinas e células considerando o efeito protetor do estradiol. Os resultados deste relatório mostram que fêmeas com ovários removidos apresentam maior inflamação local e sistêmica após a IR intestinal caracterizada pelo aumento de permeabilidade macromolecular e vascular intestinal, recrutamento de leucócitos, principalmente neutrófilos, e geração de mediadores inflamatórios quando comparado com o grupo de animais com ovários intactos. Os tratamentos com estradiol, 24 h antes da IR intestinal ou 30 minutos após o início da isquemia, exerceram funções protetoras distintas e dependentes do momento de sua administração. Os estudos da participação do sistema linfático na modulação da resposta inflamatória intestinal após a IR sugerem que em fêmeas, a obstrução do fluxo linfático durante o evento isquêmico intestinal pode ser lesiva. Por fim, os dados apresentados no presente relatório reforçam a ideia do intestino como o “motor” da inflamação na vigência da IR intestinal e, é possível que o estradiol exerça algum controle sobre os componentes da linfa drenada.

Palavras chave: fêmeas, IR intestinal, sistema linfático, neutrófilos, estradiol.

ABSTRACT

FANTOZZI, E. T. **Study of the mechanisms involved with the estradiol effects on local and systemic inflammation in intestinal ischemia and reperfusion model in female rats: influence of the lymphatic system.** 2018. 99 p. P.h.D. these (Pharmacology) – Biomedical Science Institute, University of Sao Paulo, Sao Paulo, 2018.

Intestinal ischemia reperfusion results from obstruction of the superior artery flow, wich in humans, supplies the pancreas, parto f the colon and the small intestine. In reperfusion period the generation of toxic products during the ischemia cause injuryto organs distant fromthe site where ischemia occurred. Studies consider that such dysfunctions are modulated by the circulatory and mesenteric lympatich systems. Since there are evidences of diferences in susceptibility of the imune response between genders, specific therapies for the prevention or treatment of tissue damage caused by intestinal IR are not yet available. Therefore, the investigation of the effects generated by intestinal IR on the intestine, such as its ability to generate inflammatory mediators in females, is of additional importance, especially considering the role of the lymphatic system as a carrier of cytokines and cells adding the protective effect of estradiol. The results of this report show that females with removed ovaries presente higher local and systemic inflammation after intestinal IR characterized by increased macromolecular and vascular permeability, recruitment of leukocytes, mainly neutrophils, and generation of inflammatory mediators when compared to the group of animals with intact ovaries. Treatments with estradiol, 24 h prior to intestinal IR or 30 min after onset ischemia, exerted differents protectives functions depending on the moment of its administration. Studies around the involvement of lymphatic systemic in the modulation of inflammatory response after intestinal IR suggest the in females, the obstruction of lymphatic flow during the intestinal ischemic eventmay be harmful. Finally, the data presented in this report reinforce the idea of the gut as the “motor” of inflammation during intestinal IR, and it is possible that estradiol exerts some control over the componentes of the drained lymph.

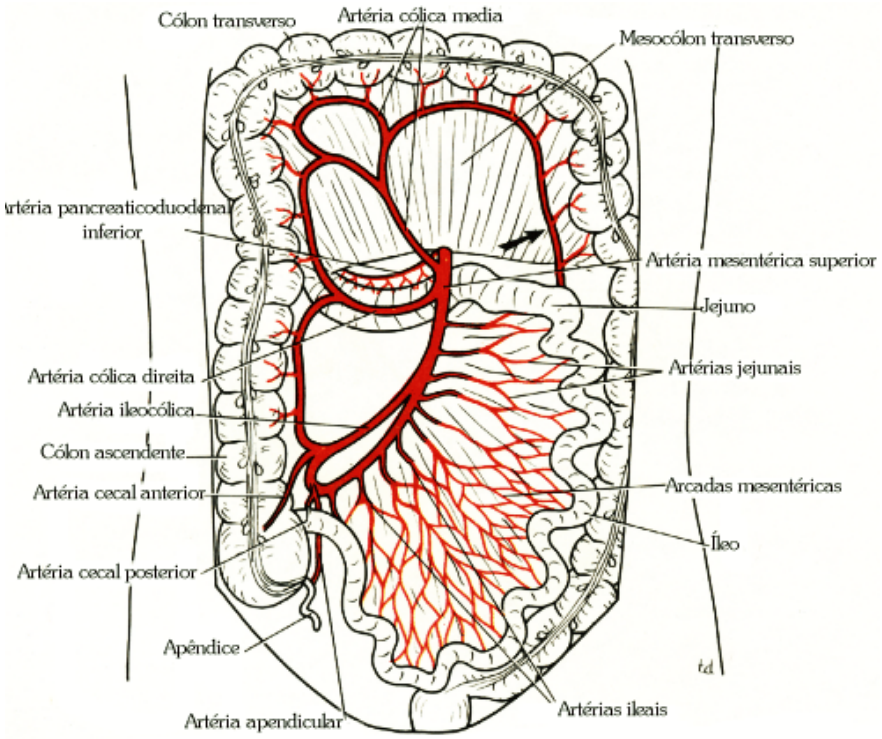
Keywords: female rats, intestinal IR, lymphatic system, neutrophils, estradiol.

INTRODUÇÃO

Isquemia e Reperfusão (IR) intestinal e suas repercussões

A isquemia é definida como a obstrução do suprimento de sangue e de oxigênio para um determinado órgão por diminuição da luz de artérias, arteríolas ou capilares. Por consequência, este órgão sofre diversas alterações do metabolismo, resultando no acúmulo de metabólitos tóxicos, redução de reservas energéticas e eventualmente necrose tecidual (KALOGERIS *et al.*, 2016; SCARABELLI *et al.*, 2002). A obstrução do fluxo da artéria mesentérica superior (AMS) é considerada como um evento isquêmico com alto potencial lesivo. Em humanos, a AMS é responsável pelo suprimento de sangue para o pâncreas, parte do cólon e principalmente o intestino delgado como pode ser observado na figura 1. Vale ressaltar que a circulação esplâncnica representa 75% do volume sanguíneo do organismo, justificando, portanto, que a obstrução da AMS cause profundos efeitos deletérios sobre a homeostasia da região esplâncnica (VOLLMAR; MENGER, 2011).

Figura 1 - A artéria mesentérica superior e seus ramos. Observe que esta artéria irriga o intestino, desde a metade inferior da porção descendente do duodeno até o terço distal do cólon transverso (indicado pela seta).



Fonte: SNELL (1984).

A oclusão da AMS produz uma isquemia com intensidade gradiente ao longo do intestino. Sendo mais severa na região do intestino delgado e a porção inicial do intestino grosso (RAMOS *et al.*, 2016; CERQUEIRA *et al.*, 2005). A IR intestinal afeta as ligações entre as células epiteliais da mucosa intestinal, o que pode permitir o deslocamento de bactérias ou toxinas do lúmen intestinal para o espaço intersticial e, posteriormente, para a circulação sanguínea e linfática. (KINROSS *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2004).

Ainda não está totalmente esclarecido se apenas a isquemia, ou se em associação à reperfusão, é condição suficiente para a indução de lesão tecidual. De fato, a hipóxia tecidual e a redução de nutrientes causadas pela isquemia levam ao dano celular, sendo que a posterior fase de reperfusão pode ser considerada como fator de contribuição para a ativação celular possivelmente causada pela disseminação de produtos tóxicos e mediadores inflamatórios gerados durante a isquemia (SITUMORANG; SHEERIN, 2018).

Com respeito à hipóxia causada pela isquemia intestinal, existem dados indicando que durante esta condição ocorre a geração e ativação de amplo espectro de mediadores inflamatórios. No intestino é sabido que ocorre a ativação do fator nuclear kappa B (NF-κB) nas células do epitélio intestinal. Como resultado desta ativação pode ocorrer nova onda de geração de citocinas, entre elas o fator de necrose tumoral tipo alfa (TNF-α). No contexto dos efeitos do TNF-α, sabe-se que a concentração desta citocina pode se elevar no soro, acumular na mucosa intestinal e estimular a apoptose das células do epitélio do intestino (CHEN *et al.*, 2003). Contudo, o período de reperfusão parece ser também crucial para o desenvolvimento de lesão tecidual no intestino. Estudos conduzidos por Parks e Granger (1986) mostraram que o intestino de animais submetidos a 3 h de isquemia e 1 h de reperfusão se torna mais comprometido que o intestino de animais submetidos somente à isquemia (neste caso de 4 h) por meio da análise da lesão das vilosidades intestinais. Estes achados foram explicados considerando a geração de espécies reativas de oxigênio que, quando em excesso geram estresse oxidativo celular, disfunção mitocondrial e, iniciam o processo de morte celular (ZHOU *et al.*, 2018). Admite-se que esses radicais são gerados durante a hipóxia e disseminados sistemicamente quando ocorre estabelecimento da reperfusão, isto é, quando o sangue retorna a circular no intestino (CADENAS, 2018). Nestas condições poderia ocorrer a ativação e adesão de leucócitos ao endotélio vascular (STURTZEL, 2017). Em consequência há aumento de permeabilidade

microvascular, perda da integridade endotelial, formação de edema intersticial com aumento da pressão intersticial. Tal aumento de pressão não permite que o conteúdo microvascular retorne ao vaso gerando, assim, hemoconcentração, trombose, disfunção vasomotora, alteração das células endoteliais e edema (MENGER *et al.*, 1997).

Portanto, as alterações microcirculatórias causadas pela IR no intestino são elementos importantes para as repercussões locais e sistêmicas da IR intestinal (VOLLMAR; MENGER, 2011). Ainda no contexto das alterações teciduais no intestino é interessante notar que o desencadeamento da lesão intestinal é precedido por alterações funcionais da microcirculação mesentérica. Tais alterações ocorrem durante períodos de hipoperfusão que se sobrepõem aos mecanismos compensatórios intestinais que mantém a homeostasia (BULKLEY *et al.*, 1985). Existem estudos caracterizando topograficamente a região submucosa como sendo a mais sensível à falência da perfusão da parede intestinal (BEUK *et al.*, 2000). Quando não ocorre a restauração completa do fluxo sanguíneo intestinal observa-se disfunção epitelial e endotelial, além de aumento de permeabilidade microvascular e intestinal (GUAN *et al.*, 2009). Assim, embora possa ser paradoxal, ainda que a reperfusão seja essencial para controlar os efeitos deletérios da isquemia, ela pode ser considerada fator de contribuição para a lesão intestinal. O aumento da permeabilidade microvascular intestinal está associado com falência múltipla de órgãos, aumento na incidência de complicações e morte em pacientes críticos (PEOC´H *et al.*, 2018; DE JONG *et al.*, 2016).

Papel do sistema linfático na inflamação gerada pela IR intestinal

Uma vez que a homeostase intestinal é abalada pela IR intestinal pode-se observar a progressão da inflamação sistêmica, podendo culminar na falência múltipla de órgãos e óbito. Dentre os eventos, observa-se a hipoperfusão, alteração da motilidade e quebra da barreira intestinal com translocação de conteúdos presentes no lúmen. Devido à ruptura da barreira intestinal, também observamos a invasão de patógenos e células circulantes bem como, o encaminhamento do processo inflamatório para outros órgãos como fígado, pâncreas e pulmão, o que resultará na exacerbação da resposta imune local e sistêmica (DE JONG *et al.*, 2016). Estudos consideram que a disfunção pulmonar, a inflamação sistêmica e a insuficiência

múltipla de órgãos e sistemas (IMOS) são parcialmente decorrentes dos efeitos dos mediadores inflamatórios derivados do trato gastrintestinal drenados pelo sistema linfático mesentérico (DEITCH *et al.*, 2001; MAGNOTTI *et al.*, 1998; MAGNOTTI *et al.*, 1999). Por causa disso, considera-se que a microcirculação mesentérica exerça relevante papel sobre a inflamação sistêmica e por extensão no estado funcional de fagócitos envolvidos com a inflamação (DEITCH *et al.*, 1994; SHENKAR *et al.*, 1994; WELBORN *et al.*, 2000).

Essencialmente, o sistema linfático, além de regular o balanço fluídico tecidual é uma das principais vias de transporte de células do sistema imunológico. Nesta linha de pensamento e dentro do contexto da drenagem linfática intestinal, vale lembrar que o pulmão é o primeiro órgão exposto à linfa mesentérica. Desta forma, a qualidade do conteúdo da linfa pode interferir com a homeostasia do pulmão. Assim, em modelo de inflamação pulmonar causada por choque hemorrágico experimental, condição que induz o estabelecimento de isquemia intestinal ao longo do tempo, os estudos de Magnotti *et al.* (1998), mostraram que a inflamação pulmonar depende de fatores humorais contidos na linfa mesentérica intestinal.

Estudos do nosso laboratório revelam importante participação da linfa nas repercussões pulmonares da IR intestinal (BREITHAUPT-FALOPPA *et al.*, 2012; BREITHAUPT-FALOPPA *et al.*, 2009; CAVRIANI *et al.*, 2007; COELHO *et al.*, 2007; CAVRIANI *et al.*, 2005). Ainda, a linfa proveniente do leito mesentérico é rica em citocinas e eicosanoides (BREITHAUPT-FALOPPA *et al.*, 2012; CAVRIANI *et al.*, 2007). A obstrução do fluxo linfático leva à redução da inflamação pulmonar, inflamação sistêmica, e da permeabilidade microvascular intestinal (CAVRIANI *et al.*, 2005). A partir desses dados, estabelecemos uma hipótese segundo a qual o intestino e pulmão comunicam-se, por meios de células e mediadores transportados pela linfa. Desta interação advém a inflamação pulmonar e a inflamação sistêmica que, adicionalmente, pode afetar mais órgãos e sistemas. De fato, a obstrução do ducto linfático, em animais IR intestinal com período de reperfusão de 2 horas, reduz não só o recrutamento de neutrófilos no pulmão, como também a permeabilidade vascular (CAVRIANI *et al.*, 2005), e a reatividade brônquica (COELHO *et al.*, 2007). Além disso, a linfa desses animais contém níveis elevados de citocinas (BREITHAUPT-FALOPPA *et al.*, 2009; CAVRIANI *et al.*, 2007). Em conjunto, os dados permitem inferir que em ratos, o intestino, após a lesão isquêmica e a reperfusão, mantém um estado pró-reativo gerando mediadores inflamatórios os quais são transportados pelo sistema

linfático. Vale ressaltar que de forma geral os nossos dados (CAVRIANI *et al.*, 2005) e de outros (HE *et al.*, 2012) mostram que a obstrução do fluxo linfático exerce efeito protetor sobre as repercussões inflamatórias intestinais e sistêmicas. É digno de nota que neste contexto o papel do sistema linfático difere entre os gêneros. De fato, nossos estudos preliminares, conduzidos em ratas com o fluxo linfático torácico interrompido, revelaram que tal obstrução, diferentemente do observado nos ratos machos, exacerba a inflamação pulmonar e intestinal após a IR intestinal (dados não publicados). No conjunto, sugerimos que a resposta local à IR intestinal pode ser modulada pelos hormônios sexuais femininos.

Hormônios sexuais femininos

Embora existam evidências de que o perfil dominante da resposta imune (Th1 ou Th2) dependa da variação hormonal durante o ciclo sexual feminino e que a modulação da resposta imune (inata e adaptativa) difira entre homens e mulheres, o dimorfismo sexual não recebe atenção merecida como fator para o entendimento dessas diferenças (FISH, 2008). Assim, estudos que visem a esclarecer qual o efeito ou ações dos hormônios sexuais femininos nesses perfis são de interesse.

De acordo com Fish (2008), o perfil Th1 da resposta tende a ser dominante durante a menstruação e na fase lútea do ciclo sexual. Por outro lado, na fase folicular, o padrão Th2 se sobrepõe ao Th1. Com esta percepção sugere-se que os hormônios sexuais femininos, ao exercerem atividade moduladora do sistema imune, podem interferir com o curso da resposta inflamatória. De fato, estudos clínicos revelam que mulheres apresentam menor incidência de pneumonia, sepse e falência de múltiplos órgãos em relação a homens (SINGH, *et al.*, 2018; KNOOP *et al.*, 2017; SPERRY *et al.*, 2008; DEITCH *et al.*, 2007).

São vários os estudos que relatam a participação dos hormônios sexuais femininos na mediação das repercussões causadas pelo trauma seguido de choque hemorrágico (FRINK *et al.*, 2007; MOENINPOUR *et al.*, 2007; ANGELE *et al.*, 2006; HILDEBRAND *et al.*, 2006; MELDRUM, 2006; CHAUDRY *et al.*, 2003; KNÖFERL *et al.*, 2001; KNÖFERL *et al.*, 2002; ANGELE *et al.*, 2000). Por exemplo, Moeninpour *et al.* (2007) observaram que após o trauma seguido de choque hemorrágico, o estradiol normaliza a expressão do receptor *toll-like* 4 reduzindo a inflamação dos queratinócitos epidérmicos. Já os estudos de Knöferl *et al.* (2001) mostram que uma

única dose de estradiol previne a lesão peritoneal e do baço após choque seguido por trauma hemorrágico.

Evidências clínicas mostram que mulheres sob trauma intestinal geram menores concentrações séricas de citocinas inflamatórias e que isso reduz o índice de falência múltipla de órgãos (FRINK *et al.*, 2007). É interessante notar que em modelo experimental de choque hemorrágico, roedores machos, sob tratamento com estradiol desenvolvem lesões menos intensas (DEITCH *et al.*, 2001). Nesse contexto, fêmeas também preservam melhor os parâmetros hemodinâmicos após o choque hemorrágico (DEITCH *et al.*, 2008a; DEITCH *et al.*, 2008b). De acordo com estes autores é possível que o estradiol exerça efeitos protetores por meio da preservação da circulação sanguínea intestinal.

Estudos conduzidos por Cavriani *et al.* (2005), revelaram que a obstrução do fluxo linfático atenua a inflamação pulmonar causada pela IR intestinal em ratos. Assim, no contexto dos resultados obtidos em machos, é possível que os efeitos nocivos da hipoperfusão intestinal sobre a inflamação pulmonar sejam menos intensos por causa de uma maior proteção ao trauma da isquemia seguida por reperfusão do leito intestinal em gerar mediadores inflamatórios. A percepção é que os mediadores inflamatórios gerados no intestino são transportados pela linfa até os pulmões, e por causa disso medeiam a inflamação pulmonar aguda (ADAMS *et al.*, 2000). Assim, uma hipótese que poderia ser levantada é que os hormônios sexuais femininos podem exercer papel modulador relevante no compartimento intestinal, minimizando a geração de mediadores e a ativação de células inflamatórias que seriam transportados pelo sistema linfático. Desta forma, poderiam controlar o desencadeamento das lesões em órgãos distantes do local de origem do trauma intestinal (ANANTHAKRISHNAN *et al.*, 2005).

Os efeitos dos hormônios sexuais femininos resultam primariamente da sua interação com receptores localizados em diversos tecidos e células. Com respeito ao estradiol, os receptores clássicos para este esteroide são classificados em α e β. Tais receptores podem ser encontrados na membrana celular ou no núcleo. Além destes, um receptor ligado a proteína G (GPER) também foi descrito (PROSSNITZ *et al.*, 2008; REVANKAR *et al.*, 2005; THOMAS *et al.*, 2005). Admite-se que este receptor seja crucial para que respostas biológicas do estradiol sejam geradas rapidamente (FILARDO *et al.*, 2000; FILARDO *et al.*, 2011; MAGGIOLINI *et al.*, 2004). De forma geral, a interação do estradiol com seu receptor causa ativação seguida por uma

dimerização, que aumenta sua afinidade com o DNA. Ao se ligar ao DNA, o complexo receptor+DNA recruta uma cascata de co-ativadores e proteínas para a região promotora dos genes-alvo. Este tipo de interação do hormônio com o DNA é chamado de via genômica (O'LONE *et al.*, 2004). Alguns efeitos do estradiol, como por exemplo sua ação protetora na disfunção cardíaca após isquemia, ocorrem por mecanismo não genômico (FUKUMOTO *et al.*, 2013). Tais efeitos ocorrem minutos após sua administração, e possivelmente não envolvem transcrição e síntese de proteínas (MEYER *et al.*, 2006).

Embora ainda não totalmente elucidada, a distribuição dos receptores de estradiol no intestino e no pulmão é heterogênea. Neste contexto, existem relatos de que em modelo de trauma seguido de choque hemorrágico, os receptores do subtipo α e β medeiam os efeitos protetores do estradiol no intestino enquanto no pulmão somente os receptores do subtipo β modulam suas ações protetoras (YU & CHAUDRY, 2009).

Tomados em conjunto, os estudos indicam que os hormônios sexuais femininos podem interferir com o curso da resposta inflamatória além de exercer importante efeito na homeostasia. Todavia, ainda não existem dados conclusivos acerca do papel desses hormônios sobre a inflamação intestinal causada pelo evento isquêmico intestinal ou se os hormônios sexuais afetam a capacidade do intestino de gerar mediadores inflamatórios. Portanto, os mediadores gerados no intestino durante a isquemia, na reperfusão podem ter acesso ao pulmão e interferir, por exemplo, na interação leucócito-endotélio, na modulação da atividade das células do sistema imune, na alteração da matriz extracelular e na geração adicional de mediadores inflamatórios. Desta forma, o estudo do processo inflamatório intestinal e a produção desses fatores em fêmeas pode contribuir para a compreensão dos efeitos dos hormônios sexuais femininos na manutenção da homeostasia pulmonar. Uma possibilidade é que a geração de mediadores inflamatórios e a consequente lesão intestinal causada pela IR pode ser modulada pelos hormônios sexuais femininos. De fato, existem evidências de que o estradiol aumenta a produção de óxido nítrico (NO) por meio do aumento da expressão da óxido nítrico sintase constitutiva (cNOS) no sistema cardiovascular (MENDELSOHN & KARAS, 1999). Vale lembrar que estudos em andamento do nosso grupo revelam efeito protetor do estrógeno sobre o aumento de permeabilidade microvascular pulmonar em ratos após a IR intestinal. Tal efeito decorre do aumento da expressão da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS)

(BREITHAUPT-FALOPPA *et al.*, 2013). Ainda, considerando os efeitos do NO sobre o tônus da musculatura lisa vascular, a interação do estradiol com o NO pode ter relevância adicional para a homeostasia do sistema cardiovascular (HOGG *et al.*, 2012).

Na microcirculação pulmonar na vigência da IR intestinal, além de seus efeitos sobre a permeabilidade vascular, o estradiol também medeia a adesão de leucócitos por interferir na expressão de ICAM e VCAM (FANTOZZI, 2013). Portanto, a repercussão da IR intestinal no intestino pode ser minimizada por influência do estradiol, justificando, desta forma, a menor magnitude da resposta inflamatória observada em ratas submetidas à IR intestinal (dados preliminares do nosso laboratório). De fato, estudos em andamento em nosso laboratório confirmam que fêmeas com ovários intactos (portanto com concentrações circulantes fisiológicas dos hormônios sexuais) são mais resistentes a desenvolver a lesão intestinal por causa da isquemia como já sugerido por autores como Deitch *et al.* (2008a). Estes autores usando modelo de choque hemorrágico mostraram que fêmeas apresentam menor lesão intestinal quando comparadas aos machos.

Contudo, fêmeas com ovários removidos isto é, na ausência ou redução significativa dos hormônios sexuais femininos exibem exacerbação da inflamação sistêmica. Neste estudo os autores concluíram que a inflamação pulmonar causada é mediada pela lesão intestinal e que fatores tóxicos carregados pela linfa mesentérica exercem papel relevante na lesão pulmonar.

Outro ponto importante a ser considerado é que o estradiol estimula a imunidade celular e humoral (GROSSMAN, 1985; MAY, 2007), reduz a síntese de quimiocinas e medeia a quimiotaxia de neutrófilos (DOUCET *et al.*, 2010; MIYAGI *et al.*, 1992; SHEH *et al.*, 2011). Desta forma, é bem razoável supor que o estradiol exerça efeitos importantes sobre o recrutamento neutrofílico. Dados experimentais obtidos em modelo de choque hemorrágico mostram efeitos protetores cardíacos e hepáticos do estradiol e da progesterona (JARRAR *et al.*, 2000). Estes autores preconizam o uso destes esteroides como agentes terapêuticos em mulheres ovariectomizadas ou na pós-menopausa e que tenham sofrido choque hemorrágico. Além disto, o estradiol reduz a expressão de fatores de transcrição envolvidos na resposta inflamatória, como o NF-kB e proteína ativadora 1 (AP-1) após o choque hemorrágico experimental (SUZUKI *et al.*, 2007).

A interação do estradiol com o sistema gastrintestinal pode também ser identificada na medida em que existem estudos indicando que a prevalência de úlcera duodenal em mulheres é menor do que em homens (LAM *et al.*, 1994; SCHABOWSKI & PITERA, 2004; WU *et al.*, 2008). Neste sentido, Tuo *et al.*, (2012) demonstraram que a secreção de bicarbonato estimulada por prostaglandina E tipo 2 (PGE_2) é modulada por concentrações fisiológicas de estradiol, notadamente após ativar os receptores α. Sharawy *et al.* (2013) relataram diferentes efeitos da ativação dos receptores de estradiol tipos α e β sobre a adesão e rolamento de leucócitos e da perfusão capilar intestinal em modelo experimental de sepse. É notável que em modelo de trauma hemorrágico, o estradiol medeia a geração de óxido nítrico no intestino. Neste sentido, a ativação seletiva dos receptores β reduz a expressão de óxido nítrico sintase induzida (iNOS) (DOUCET *et al.*, 2010). Ainda, Sharawy *et al.* (2013), sugerem que o estradiol pode exercer efeitos protetores na microcirculação intestinal ao restabelecer a atividade de óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e reduzir a da iNOS. Apesar do mencionado, estudos adicionais sobre a interação óxido nítrico com o estradiol e seus receptores são necessários para compreender diferenças de respostas obtidas após a expressão de receptores α ou β em modelo de lesão intestinal. A percepção desta necessidade é reforçada pelas discrepâncias entre dados obtidos experimental e clinicamente acerca dos efeitos protetores/deletérios do estradiol em mulheres portadoras de pneumonia ou choque hemorrágico (DIEBEL & LIBERATI, 2011; SPERRY *et al.*, 2008; GANNON *et al.*, 2002; RAPPOLD *et al.*, 2002). Talvez estas diferenças possam ser decorrentes do momento em que o estradiol é utilizado. De fato, aparentemente os efeitos do estradiol (protetores/deletérios) parecem ser dependentes da fase em que a inflamação sistêmica decorrente do choque se encontra isto é, se aguda, este esteroide exerceria efeito protetor e o efeito seria deletério só na fase mais tardia. É interessante que em estudo envolvendo 991 pacientes internados em UTIs, (75% do sexo masculino) houve correlação entre elevadas concentrações no soro de estradiol e morte decorrente de trauma (DOSSETT *et al.*, 2008). Os estudos mencionados reforçam a visão de que os efeitos do estradiol podem ser protetores ou lesivos e que existem diferenças de sua atividade entre os gêneros. Além disso, fica evidenciado que apesar da compreensão de sua participação na resposta inflamatória após o trauma, ainda não se conhece com clareza os mecanismos reguladores desses efeitos. Ainda, o risco de pacientes internados por causa de trauma serem portadores de infecção

nosocomial é maior em homens do que em mulheres. E mais, o trauma eleva o risco de morte de pacientes homens portadores de infecção nosocomial (GANON *et al.*, 2004).

Tomados em conjunto os dados apresentados indicam que o estradiol pode interferir com o curso da resposta inflamatória e exercer importante efeito (positivo/negativo) na homeostasia. Todavia, ainda não existem dados conclusivos acerca do papel deste hormônio na inflamação causada pelo evento isquêmico intestinal. Considerando que:

1. O estradiol participa por algum mecanismo da atividade funcional de órgãos e sistemas após o desencadeamento do trauma intestinal.
2. Receptores de estradiol estão presentes em células do sistema imune (PIERDOMINICI *et al.*, 2010),
3. O sistema linfático atua como transportador de mediadores inflamatórios produzidos no intestino (ADAMS *et al.*, 2001; DEITCH *et al.*, 1994),
4. Dependendo da fase da resposta inflamatória, o estradiol pode exercer efeito protetor ou deletério,
5. Que a qualidade dos efeitos do estradiol depende do gênero,

a proposta que ora apresentamos visa a investigar a magnitude das repercussões intestinais induzidas pela IR intestinal com ênfase no papel do estradiol em fêmeas com ou sem ovários. Paralelamente, a importância da drenagem linfática também será investigada neste modelo.

CONCLUSÃO

- A IR intestinal em fêmeas com ovários removidos aumenta a permeabilidade do epitélio e endotélio vascular intestinal, causando algum grau de lesão no intestino.
- O intestino visto como o órgão central no desencadeamento das lesões em órgãos distantes, aparentemente medeia a intensidade inflamatória por mecanismos que envolvem o recrutamento celular e o aumento de permeabilidade vascular e macromolecular intestinal.
- Existe uma modulação da atividade funcional de neutrófilos na IR intestinal pelo estradiol uma vez que, ao tratarmos fêmeas OVx previamente ou terapeuticamente com este esteroide observamos menor atividade de MPO no intestino e inibição de sua migração expontânea.
- Fêmeas com ovários preservados, apesar de serem menos propensas a desenvolver resposta inflamatória após a IR intestinal, expressam, com algum grau, genes moduladores da resposta inflamatória no mesentério, como o Ccr4 e o Mif.
- A falta de hormônios sexuais circulantes ou sua redução a valores abaixo dos fisiológicos pode interferir com a atividade funcional da medula óssea elevando o seu número de células o qual não foi corrigido pelos protocolos de tratamentos propostos com estradiol.
- A IR intestinal desencadeou inflamação sistêmica nos animais OVx com aumento de IL-10, MIP-1α, MIP-2, MCP-1, CINC-1, IP-10 e leptina.
- O momento da administração do estradiol (IR E30´ ou IR E24h) pode ser decisivo para modificar o curso da geração de mediadores de forma diferente.
- Apesar de encontrarmos redução na atividade de MPO e concentração de azul de Evans no intestino de animais OVx com o ducto linfático ligado após a IR intestinal, não pudemos observar outros dados que evidenciassem redução na resposta inflamatória.
- A obstrução do ducto linfático em fêmeas submetidas à IR intestinal causou inflamação local e sistêmica antes não observada em animais mantidos com o ducto linfático torácico intacto.
- A IR intestinal reduz drasticamente o volume de linfa circulante em animais OVx e não-OVx e, também observamos aumento na quantidade de células presentes na linfa das fêmeas OVx no momento da reperfusão.

- Células do sistema imune presente nos animais com ovários preservados na vigência da IR intestinal estão sendo drenadas da linfa para o sítio inflamatório. Em contraste, no grupo de animais OVx e submetidos a IR intestinal, estas células já estão em menor quantidade na linfa controle, permitindo considerar que o estradiol module o tráfego destas células.
- Durante a IR intestinal em fêmeas OVx a linfa é rica em neutrófilos e com menor intensidade de macrófagos.

Em síntese, os nossos resultados mostraram que fêmeas com ovários intactos se mostram mais protegidas aos efeitos lesivos gerados na vigência da IR intestinal do que as fêmeas com ovários removidos. As lesões locais causadas pela IR intestinal alteram a morfologia e funcionalidade intestinal em animais OVx caracterizado pelo acúmulo de células e mediadores inflamatórios. Em vias sistêmicas observamos maior mobilização de leucócitos, notadamente de neutrófilos e, mediadores inflamatórios como: IL-10, MIP-1α, MIP-2, MCP-1, CINC-1 e leptina. Os tratamentos com estradiol exerceram funções protetoras distintas e dependentes do momento de sua administração. Sendo que, o tratamento com estradiol 24h antes da IR intestinal parece ser mais eficiente do que o administrado com 30min de isquemia. Em relação a participação do sistema linfático, nossos dados sugerem que a obstrução do ducto linfático em fêmeas exacerba a inflamação gerada pela IR intestinal e que, o estradiol exerça algum controle sobre os componentes da linfa drenada na vigência da IR intestinal.

REFERÊNCIAS[1]

ADAMS, C. A. JR.; MAGNOTTI, L. J.; XU, D. Z.; LU, Q.; DEITCH, E. A. Acute lung injury after hemorrhagic shock is dependent on gut injury and sex. **Am. Surg.**, v. 66, p. 905-912, 2000.

ADAMS, C. A. JR.; SAMBOL, J. T.; XU, D. Z.; LU, Q.; GRANGER, D. N.; DEITCH, E. A. Hemorrhagic shock induced up-regulation of P-selectin expression is mediated by factors in mesenteric lymph and blunted by mesenteric lymph duct interruption. **J. Trauma**, v. 51, p. 625-631, 2001.

ANANTHAKRISHNAN, P.; COHEN, D. B.; XU, D. Z.; LU, Q.; FEKETEOVA, E.; DEITCH, E. A. Sex hormones modulate distant organ injury in both a trauma/hemorrhagic shock model and a burn model. **Surgery**, v. 1371, p. 56-65, 2005.

ANGELE, M. K.; SCHWACHA, M. G.; AYALA, A.; CHAUDRY, I. H. Effect of gender and sex hormones on immune responses following shock. **Shock**, v. 14, p. 81-90, 2000.

ANGELE, M. K.; FRANTZ, M. C.; CHAUDRY, I. H. Gender and sex hormone influence the response to trauma and sepsis - potential therapeutic approaches. **Clinics**, v. 61, p. 479-488, 2006.

ATTUAWAYBI, B.O.; KOZAR, R.A.; MOORE-OLUFEMI, S.D.; SATO, N.; HASSOUN, H.T.; WEISBRODT, N.W.; MOORE, F.A. Heme oxygenase-1 induction by hemin protects against gut ischemia/reperfusion injury. **Am. J. Physiol.**, v. 118, p. 53-57, 2004.

BERLAND, R.; WORTIS, H. H. Origins and functions of B-1 cells with notes on the role of CD5. **Annual Rev. Immunology**, v. 20, p. 253-300, 2002.

BEUK, R. J.; HEINEMAN, E.; TANGELDER, G. J.; QUAEDACKERS, J. S.; MARKS, W. H.; LIEBERMAN, J. M.; OUDE EGBRINK, M. G. Total warm ischemia and reperfusion impairs flow in all rat gut layers but increases leukocyte-vessel wall interactions in the submucosa only. **Ann. Surg.**, v. 231, p. 96-104, 2000.

BREITHAUPT-FALOPPA, A. C.; VITORETTI, L. B.; COELHO, F. R.; DOS SANTOS FRANCO, A. L.; DOMINGOS, H. V.; SUDO-HAYASHI, L. S.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; TAVARES DE LIMA, W. Nitric oxide mediates lung vascular permeability and lymph-borne IL-6 after an intestinal ischemic insult. **Shock**, v. 32, p. 55-61, 2009.

BREITHAUPT-FALOPPA, A. C.; VITORETTI, L. B.; CAVRIANI, G.; LINO-DOS-SANTOS-FRANCO, A.; SUDO-HAYASHI, L. S.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; VARGAFTIG, B. B.; TAVARES-DE-LIMA, W. Intestinal lymph-borne factors induce lung release of inflammatory mediators and expression of adhesion molecules after an intestinal ischemic insult. **J. Surg. Res.**, v. 176, p. 195-201, 2012.

---

[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 a intestinal ischemic insult is dependent on nitric oxide. **Shock**. v. 40, n. 3, p. 203-209, 2013.

BRUNO, A.; CONUS, S.; SCHMID, I.; SIMON, H. U. Apoptotic pathways are inhibited by leptina receptor activation in neutrophils. **J. Immunology**, v. 174, p. 8090-8096, 2005.

BULKLEY, G. B.; KVIETYS, P. R.; PARKS, D. A.; PERRY, M. A.; GRANGER, D. N. Relationship of blood flow and oxygen consumption to ischemic injury in the canine small intestine. **Gastroenterology**, v. 89(4), p. 852-857, 1985.

CADENAS, S. ROS and redoz signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. **Free Radical Biological Med.**, v. 117, p. 76-89, 2018.

CAMPBELL SJ, HUGHES PM, IREDALE JP, WILCOCKSON DC, WATERS S, DOCAGNE F, PERRY VH, ANTHONY DC. CINC-1 is an acute-phase protein induced by focal brain injury causing leukocyte mobilization and liver injury. **FASEB Journal**, v. 17(9), p. 1168-1170, 2003.

CAVRIANI, G.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; TREZENA, A. G.; DA SILVA, Z. L.; DOMINGOS, H. V.; DE ARRUDA, M. J.; JANCAR, S.; TAVARES DE LIMA, W. Lung microvascular permeability and neutrophil recruitment are differently regulated by nitric oxide in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 494, p. 241-249, 2004.

CAVRIANI, G.; DOMINGOS, H. V.; SOARES, A. L.; TREZENA, A. G.; LIGEIRO-OLIVEIRA, A. P.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; SUDO-HAYASHI, L. S.; TAVARES DE LIMA, W. Lymphatic system as a path underlying the spread of lung and gut injury after intestinal ischemia/reperfusion in rats. **Shock**, v. 23(4), p. 330-336, 2005.

CAVRIANI, G.; DOMINGOS, H. V.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; SUDO-HAYASHI, L. S.; VARGAFTIG, B. B.; DE LIMA, W. T. Lymphatic thoracic duct ligation modulates the serum levels of IL-1beta and IL-10 after intestinal ischemia/reperfusion in rats with the involvement of tumor necrosis factor alpha and nitric oxide. **Shock**, v. 27(2), p. 209-213, 2007.

CERQUEIRA, N.F.; HUSSNI, C.A.; YOSHIDA, W.B. Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review. **Acta Cir. Bras.**, v. 20, p. 336-343, 2005.

CHAUDRY, I. H.; SAMY, T. S.; SCHWACHA, M. G.; WANG, P.; RUE, L. W.; BLAND, K. I. Endocrine targets in experimental shock. **The Journal of Trauma**, v. 54, p. 118-125, 2003.

CHANG, J.X.; CHEN, S.; MA, L.P.; JIANG, L.Y.; CHEN, J.W.; CHANG, R.M.; WEN, L.Q.; WU,W.; JIANG, Z.P; HUANG, Z.T. Functional and morphological changes of the gut barrier during the restitution process after hemorrhagic shock. **World J. Gastroent.,** v. 11, n. 35, p. 5485-5491, 2005.

CHEN, L. W.; EGAN, L.; LI, Z. W.; GRETEN, F. R.; KAGNOFF, M. F.; KARIN, M. The two faces of IKK and NF-kappaB inhibition: prevention of systemic inflammation but increased local injury following intestinal ischemia-reperfusion. **Nat. Med.,** v. 9, p. 575-581, 2003.

COELHO, F. R.; CAVRIANI, G.; SOARES, A. L.; TEIXEIRA, S. A.; ALMEIDA, P. C.; SUDO-HAYASHI, L. S.; MUSCARÁ, M. N.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; VARGAFTIG, B. B.; TAVARES-DE-LIMA, W. Lymphatic-borne IL-1beta and the inducible isoform of nitric oxide synthase trigger the bronchial hyporesponsiveness after intestinal ischema/reperfusion in rats. **Shock**, v. 28, p. 694-699, 2007.

COX, A.A.; VARMA, A.; VERTEGEL, A.; BARRY, J.; BANIK, N. Nanoparticle estrogen in rat spinal cord injury elicits rapid anti-inflammatory effects in plasma, CSF and tissue**. J. Neurotrauma**, 2015.

DE JONG, P. R.; GONZÁLEZ-NAVAJAS, J. M.; JANSEN, N. J. The digestive tract as the origin of systemic inflammation. **Critical Care**, v. 20, p. 279, 2016.

DEITCH, E. A.; XU, D.; FRANKO, L.; AYALA, A.; CHAUDRY, I. H. Evidence favoring the role of the gut as a cytokine-generating organ in rats subjected to hemorrhagic shock. **Shock**, v. 1, p. 141-145, 1994.

DEITCH, E.A. Role of the gut lymphatic system in multiple organ failure**. Curr. Opin. Crit. Care.**, v. 7, p. 02-98, 2001.

DEITCH, E. A.; LIVINGSTON, D. H.; LAVERY, R. F.; MONAGHAN, S. F.; BONGU, A.; MACHIEDO, G. W. Hormonally active women tolerate shock-trauma better than do men: a prospective study of over 4000 trauma patients. **Ann. Surg**., v. 246, p. 447-453, 2007.

DEITCH, E. A.; FEKETEOVA, E.; LU, Q.; ZAETS, S.; BEREZINA, T. L.; MACHIEDO, G. W.; HAUSER, C. J.; LIVINGSTON, D. H.; XU, D. Z. Resistance of the female, as opposed to the male, intestine to IR-mediated injury is associated with increased resistance to gut-induced distant organ injury. **Shock**, v. 29, p. 78-83, 2008a.

DEITCH, E.A.; CHU, H.; XU, D.A.Z. Organ blood flow and the central hemodynamic response are better preserved in female, as opposed to the male rats, after trauma-hemorrhagic shock. **J. Trauma**, v. 65n. 3, p. 566-572, 2008b.

DIEBEL, L. N.; LIBERATI, D. M. Estrogen impairs pulmonary microvascular response to gut-derived mediators after shock conditions. **J. Trauma**, v. 71, p. 656-662, 2011.

DOSSETT, L. A.; SWENSON, B. R.; HEFFERNAN, D.; BONATTI, H.; METZGER, R.; SAWYER, R. G.; MAY, A. K. High levels of endogenous estrogens are associated with death in the critically injured adult. **J. Trauma**, v. 64, p. 580-585, 2008.

DOUCET, D.; BADAMI, C.; PALANGE, D.; BONITZ, R.P.; LU, Q.; XU, D.Z.; KANNAN, K.B.; COLORADO, I.; FEINMAN, R.; DEITCH, E.A. Estrogen receptor Hormone agonist limit trauma hemorrhage shock-induced gut and lung injury in rats. **PLoS One**, v. 5, n. 2, p. e9421, 2010.

EMR, B.; SADOWSKY, D.; AZHA, N.; GATTO, L.A.; AN, G.; NIEMAN, G.F.; VODOVOTZ, Y. Removal of inflammatory ascites is associated with dynamic modification of local and systemic inflammation along with preventon of acute long injury: in vivo and in silico studies. **Shock**, v. 41, p. 317-323, 2014.

FANTOZZI, E.T. **Hormônios sexuais femininos como moduladores da geração de mediadores inflamatórios em modelo experimental de isquemia e reperfusão intestinal**. 116f. Tese (Mestrado em Farmacologia). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

FANTOZZI, E. T.; BREITHAUPT-FALOPPA, A. C.; RICARDO-DA-SILVA, F. Y.; RODRIGUES-GARBIN, S.; ROMERO, D. C.; DA SILVA RODRIGUES, A.; RIFFO-VASQUEZ, Y.; TAVARES-DE-LIMA, W. Estradiol mediates the long-lasting lung inflammation induced by intestinal ischemia and reperfusion. **J. Surg. Res.**, v. 221, p. 1-7, 2018.

FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines and inflammation. **J. Allergy Clin. Immunology**, v. 115, p. 911-919, 2005.

FILARDO, E. J.; QUINN, J. A.; BLAND, K. I.; FRACKELTON JR, A. R. Estrogen-induced activation of Erk-1 and Erk-2 requires the G protein-coupled receptor homolog, GPR30, and occurs via trans-activation of the epidermal growth factor receptor through release of HB-EGF. **Mol. Endocrinol.**, v. 14, p. 1649-1660, 2000.

FILARDO, E. J. GPER and ER: estrogen receptors with distinct biological roles in breast cancer. **Immunol. Endocr. Metab. Agents Med. Chem.**, v. 11, p. 243-254, 2011.

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

FLOHÉ, S. B.; PLOHÉ, S.; SCHADE, F. U. Invited review: deterioration of the imune system after trauma: signals and cellular mechanisms. **Innate Immunology**, v. 14, p. 333-344, 2008.

FRAZIER-JESSEN, M.R.; KOVACS, E.J. Estrogen modulation of JE/monocyte chemoattractant protein-1 mRNA expression in murine macrophages. **J. Immunol.**, v. 154, p. 1838–1845, 1995.

FRINK, M.; PAPE, H.C.; VAN GRIENSVEN, M.; KRETTEK, C.; CHAUDRY, I. H.; HILDEBRAND, F. Influence of sex and age on mods and cytokines after multiple injuries. **Shock,** v. 27, p. 151-156, 2007.

FUKATSU, K.; SAKAMOTO, S.; HARA, E.; UENO, C.; MAESHIMA, Y.; MATSUMOTO, I.; MOCHIZUKI, H.; HIRAIDE, H. Gut ischemia-reperfusion affects gut mucosal immunity: a possible mechanism for infectious complications after severe surgical insults. **Critical Care Med.**, v. 34, p. 182-187, 2006.

FUKUMOTO, T.; TAWA, M.; YAMASHITA, N.; OHKITA, M.; MATSUMURA Y. Protective effects of 17beta-estradiol on post-ischemic cardiac dysfunction and norepinephrine overflow through the non-genomic estrogen receptor/nitric oxide-mediated pathway in the rat heart. **European J. Pharmacol.**, v. 699, p. 74-80, 2013.

GANNON, C. J.; NAPOLITANO, L. M.; PASQUALE, M.; TRACY, J. K.; MCCARTER, R. J. A statewide population-based study of gender differences in trauma: validation of a prior single-institution study. **J. Am. Coll. Surg.**, v. 195, p. 11-18, 2002.

GANNON, C. J.; PASQUALE, M.; TRACY, J. K.; MCCARTER, R. J.; NAPOLITANO, L. M. Male gender is associated with increased risk for postinjury pneumonia. **Shock**, v. 21, p. 410-414, 2004.

GOLDBLUM, S.E.; WU, K.M.; JAY, M. Lung myeloperoxidase as a measure of pulmonary leukostasis in rabbits. **J. Appl Physiol.**, v. 59, n. 6, p. 1978-1985, 1985.

GROSSMAN, C. J. Interactions between the gonadal steroids and the immune system. **Science**, v. 227, p. 257-261, 1985.

GROTZ, M.R.W.; DEITCH, E.A.; DING, J.; XU, D.Z.; HUANG, Q.H.; REGEL, G. Intestinal cytokine response after gut ischemia: role of gut barrier failure. **Ann. Surg.**, v. 229, n. 4, p. 478-486, 1999.

GUAN, Y.; WORRELL, R. T.; PRITTS, T. A.; MONTROSE, M. H. Intestinal ischemia-reperfusion injury: reversible and irreversible damage imaged in vivo. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol**., v. 297, p. G187-G196, 2009.

HE, G. Z.; ZHOU, K. G.; ZHANG, R.; WANG, Y. K.; CHEN, X. F. Impact of intestinal ischemia/reperfusion and lymph drainage on distant organs in rats. **World J. Gastroenterol.**, v. 18, p. 7271-7278, 2012.

HILDEBRAND, F.; HUBBARD, W. J; CHOUDHRY, M. A.; THOBE, B. M.; PAPE, H. C.; CHAUDRY, I. H. Effects of 17beta-estradiol and flutamide on splenic macrophages and splenocytes after trauma-hemorrhage. **Cytokine**, v. 36, p. 107-114, 2006.

HOMMA, H.; HOY, E.; DA-ZHONG, X.; LU, X.; FEINMAN, R.; DEITCH, E.A. The female intestine is more resistant than the male intestine to gut injury and inflammation when subjected to conditions associated with shock states. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 288, p. G466-G472, 2005.

JARRAR, D.; WANG, P.; KNÖFERL, M. W.; KUEBLER, J. F.; CIOFFI, W. G.; BLAND, K. I.; CHAUDRY, I. H. Insight into the mechanism by which estradiol improves organ functions after trauma-hemorrhage. **Surgery**, v. 128, p. 246-252, 2000.

JOHNSON, K. K. Nutrition and intestinal mucosal immunity. **Clin. Nutr.**, v. 18, p. 337-344, 1999.

KALOGERIS, T.; BAINES, C. P.; KRENZ, M.; KORTHUIS, R. J. Ischemia/Reperfusion. **Compr. Physiology**, v. 6, p. 113-170, 2016.

KINROSS, J.; WARREN, O.; BASSON, S.; HOLMES, E.; SILK, D.; DARZI, A. NICHOLSON, J.K. Intestinal ischemia/reperfusion injury: defining the role of the gut microbiome. **Biomark Med.**, v. 3, p. 175-192, 2009.

KNÖFERL, M. W.; JARRAR, D.; ANGELE, M. K.; AYALA, A.; SCHWACHA, M. G.; BLAND, K. I.; CHAUDRY, I. H. 17beta-estradiol normalizes immune responses in ovariectomized females after trauma-hemorrhage. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol**., v. 281, p. 1131-1138, 2001.

KNÖFERL, M. W.; ANGELE, M. K.; DIODATO, M. D.; SCHWACHA, M. G.; AYALA, A.; CIOFFI, W. G.; BLAND, K. I.; CHAUDRY, I. H. Female sex hormones regulate macrophage function after trauma-hemorrhage and prevent increased death rate from subsequent sepsis**. Annals of Surgery**, v. 235, p. 105-112, 2002.

KNOOP, S.T.; SKREDE, S.; LANGELAND, N.; FLAATTEN, H.K. Epidemiology and impacto n all-cause mortality of sepsis in Norwegian hospitals: a national retrospective study. **PloS One**, v. 12, p. e0187990, 2017.

KNUDSEN, A. R.; KANNERUP, A. S.; GRONBAEK, H.; ANDERSEN, K. J.; FUNCH-JENSEN, P.; FRYSTYK, J.; FLYVBJERG, A.; MORTENSEN, F. Effects of ischemic pre- and postconditioning on HIF-1α, VEGF and TGF-β expression after warm ischemia and reperfusion in the rat live. **Comp. Hepatol**., v. 10, p. 3, 2011.

KOH, K. K.; SON, J. W.; AHN, J. Y.; LEE, S. K.; HWANG, H. Y.; KIM, D. S.; JIN, D. K.; AHN, T. H.; SHIN, E. K. Effect of hormone replacement therapy on nitric oxide bioactivity and monocyte chemoattractant protein-1 levels. **Int. J. Cardiol.**, v. 81, p. 43–50, 2001.

KUEBLER, J. F.; JARRAR, D.; BLAND, K. I.; RUE, L.; WANG, P.; CHAUDRY, I. H. Progesterone administration after trauma and hemorrhagic shock improves cardiovascular responses. **Critical Care Med.**, v. 31, p. 1786-1793, 2003.

LA CAVA, A.; MATARESE, G. The weight of leptina in immunity. **Nat. Rev. Immunology**, v. 4, p. 371-379, 2004.

LAM, S. K.; HUI, W. M.; CHING, C. K. Peptic ulcer disease: epidemiology, pathogenesis and etiology. **Bockus Gastroenterology**, v. 5, p. 700-748, 1994.

LEE, P.Y.; WANG, J. X.; PARISINI, E.; DASCHER, C. C.; NIGROVIC, P. A. Ly6 family proteins in neutrophil biology. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 94, p. 585-594, 2013.

LI, L.; HUANG, L.; VERGIS, A.L.; YE, H.; BAJWA, A.; NARAYAN, V.; STRIETER, R.M.; ROSIN, D.L.; OKUSA, M.D. IL-17 produced by neutrophils regulates IFN-gamma-mediated neutrophil migration in mouse kidney ischemia-reperfusion injury. **J. Clin. Invest**., v. 120, n. 1, p. 331-342, 2010.

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(1), p. 20-27, 2004.

LINFERT, D.; CHOWDHRY, T.; RABB, H. Lymphocytes and ischemia-reperfusion injury. **Transplant Review**, v. 23, 1-10, 2009.

LIU, L.; TAN, Q.; HU, B.; WU, H.; WANG, C.; TANG, C. Somatostatin Inhibits the Production of Interferon-c by Intestinal Epithelial Cells During Intestinal Ischemia–Reperfusion in Macaques. **Dig. Dis. Sci.**, v. 59, p. 2423–2432, 2014.

MAGGIOLINI, M.; VIVACQUA, A.; FASANELLA, G.; RECCHIA, A. G.; SISCI, D.; PEZZI, V.; MONTANARO, D.; MUSTI, A. M.; PICARD, D.; ANDÒ, S. The G protein-coupled receptor GPR30 mediates c-fos up-regulation by 17beta-estradiol and phytoestrogens in breast cancer cells. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p.27008-27016, 2004.

MAGNOTTI, L. J.; UPPERMAN, J. S.; XU, D. Z.; LU, Q.; DEITCH, E. A. Gut-derived mesenteric lymph but not portal blood increases endothelial cell permeability and promotes lung injury after hemorrhagic shock. **Ann. Surg**., v. 228, p. 518-527, 1998.

MAGNOTTI, L. J.; XU, D. Z.; LU, Q.; DEITCH, E. A. Gut-derived mesenteric lymph: a link between burn and lung injury. **Arch. Surg**., v. 134, p. 1333-1340, 1999.

MAY, R. C. Gender, immunity and the regulation of longevity. **Bioessays.**, v. 29, p. 795-802, 2007.

MCDERMOTT, W.V.; BROWN, H. Ascites. **Annu. Rev. Med.**, v. 15, p. 79-92, 1964.

MELDRUM, D. R. Estrogen increases protective proteins following trauma and hemorrhage. American Journal of Physiology. **Regulatory, Integrative and Corporative Physiology**, v. 290, p. 809-811, 2006.

MENDELSOHN, M. E.; KARAS, R. H. Mechanisms of disease: The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. **N. Engl. J. Med**., v. 340, p. 1801-1811, 1999.

MENGER, M. D.; RÜCKER, M.; VOLLMAR, B. Capillary dysfunction in striated muscle ischemia/reperfusion: on the mechanisms of capillary “no-reflow”. **Shock**, v. 8, p. 2-7, 1997.

MEYER, M.J.; CAPUCO, A.V.; BOISCLAIR, Y.R.; VAN AMBURGH, M.E.; Estrogen-dependent responses of the mammary fat pad in prepubertal dairy heifers. **J. Endocrinol**., v. 190, n. 3, p. 819-827, 2006.

MIYAGI, M.; AOYAMA, H.; MORISHITA, M.; IWAMOTO, Y. Effects of sex hormones on chemotaxis of human peripheral polymorphonuclear leukocytes and monocytes. **J. Periodontol.**, v. 63, p. 28-32, 1992.

MOEINPOUR, F.; CHOUDHRY, M.A.; TIMARES, L.; SCHWACHA, M.G.; CHAUDRY, I.H. 17 Beta-estradiol normalizes Toll receptor 4, mitogen activated protein kinases and inflammatory responses in epidermal keratinocytes following trauma-hemorrhage. **Mol Immunol.**, v. 44, n. 13, p. 3317-3323, 2007.

NARITA, K.; KUWABARA, Y.; FUJII, Y. Lung Injury After Intestinal Ischemia–Reperfusion May Be Avoided by the Reduced Absorption of Locally Produced **Cytokines. Surg. Today**, v. 34, p. 937–942, 2004.

NEWMAN, S. L.; HENSON, J. E.; HENSON, P. M. Phagocytosis of senescente neutrophils by human monocyte-derived macrophages and rabbit inflammatory macrophages. **Journal of Experimental Medicine**, v. 156, p. 430-432, 1982.

O'LONE, R.; FRITH, M. C.; KARLSSON, E. K.; HANSEN, U. Genomic targets of nuclear estrogen receptors. **Mol. Endocrinol.**, v. 18, p. 1859-1875, 2004.

PAGE, C.; PITCHFORD, S. Neutrophil and platelet complexes and their relevance to neutrophil recruitment and activation. **Int. Immunopharmacol.**, v. 17, p. 1176-1184, 2013.

PALOMBIT, K.; MENDES, C.E.; TAVARES-DE-LIMA, W.; SILVEIRA, M.P.; CASTELUCCI, P. Effects of ischemia and reperfusion on subpopulations of rat enteric neurons expressing the P2X7 receptor. **Dig Dis Sci**., v. 58, n. 12, p. 3429-3439, 2013.

PARKS, D. A.; GRANGER, D. N. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. **Am. J. Physiol**., v. 250, p. G749-G753, 1986.

PEOC´H, K.; NUZZO, A.; GUEDJ, K.; PAUGAM, C.; CORCOS, O. Diagnosis biomarkers in acute intestinal ischemic injury: so close, yet so far. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v. 56, p. 373-385, 2018.

PIERDOMINICI, M.; MASELLI, A.; COLASANTI, T.; GIAMMARIOLI, A. M.; DELUNARDO, F.; VACIRCA, D.; SANCHEZ, M.; GIOVANNETTI, A.; MALORNI, W.; ORTONA, E. Estrogen receptor profiles in human peripheral blood lymphocytes. **Immunol. Lett**., v. 132, p. 79-85, 2010.

POPE, M.R.; HOFFMAN, S.M.; TOMLINSON, S.; FLEMING, S.D. Complement regulates TLR4-mediated inflammatory responses during intestinal isquemia reperfusion. **Mol. Immunol**., v. 48, p. 356-364, 2010.

PROSSNITZ, E. R.; ARTERBURN, Z. B.; SMITH, H. O.; OPREA, T. I.; SKLAR, L. A.; HATHAWAY, H. J. Estrogen signaling through the transmembrane G protein-coupled receptor GPR30**. Annu. Rev. Physiol**., v. 70, p. 165-190, 2008.

QIN, X.; SHETH, S.U.; SHARPE, S.M.; DONG, W.; LU, Q.; XU, D.; DEITCH, E.A. The mucus layer is critical in protecting against ischemia/reperfusion-mediated gut injury and in the restitution of gut barrier function. **Shock**, v. 35, n. 3, p. 275-281, 2011.

RAMOS, G.; HOFMANN, U.; FRANTZ, S. Myocardial fibrosis through the lenses of T-cell biology. **J. Molecular Cell Cardiology**, v. 92, p. 41-45, 2016.

RAPPOLD, J. F.; COIMBRA, R.; HOYT, D. B.; POTENZA, B. M.; DALE, F.; HOLBROOK, T. Female gender does not protect blunt trauma patients from complications and mortality**. J. Trauma**, v. 53, p. 436-441, 2002.

REVANKAR, C. M.; CIMINO, D. F.; SKLAR, L. A.; ARTERBURN, J. B.; PROSSNITZ, E. R. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. **Science**, v. 307, p. 1625-1630, 2005.

RIFFO-VASQUEZ, Y.; MAN, F.; PAGE, C.P. Doxofylline, a novofylline inhibits lung inflammation induced by lipopolysacharide in the mouse. **Pulm. Pharmacol. Ther**., v. 27, n. 2, p. 170-178, 2014.

RUWART, M. J.; KLEPPER, M. S.; RUSH, B. D. Adrenergic and cholinergic contributions to decreased gastric emptying, small intestinal transit, and colonic transit in the postoperative ileus rat. **J. Surg. Res.,** v. 29, p. 126-134, 1980.

SCARABELLI, T. M.; PASINI, E.; STEPHANOU, A.; COMINI, L.; CURELLO, S.; RADDINO, R.; FERRARI, R.; KNIGHT, R.; AND LATCHMAN, D. S. Urocortin promotes hemodynamic and bioenergetic recovery and improves cell survival in the isolated rat heart exposed to ischemia/reperfusion. **J. Am. Coll. Cardiol**., v. 40, p. 155-161, 2002.

SCHABOWSKI, J.; PITERA, J. Peptic ulcer among rural population in a selected region of south-eastern Poland. **Ann. Agric. Environ. Med.**, v. 11, p. 323-327, 2004.

SHARAWY, N.; RIBBACK, S.; AL-BANNA, N.; LEHMANN, C.; KERN, H.; WENDT, M.; CERNY, V.; DOMBROWSKI, F.; PAVLOVIC, D. Estradiol receptors agonists induced effects in rat intestinal microcirculation during sepsis. **Microvasc. Res**., v. 85, p. 118-127, 2013.

SHEH, A.; GE, Z.; PARRY, N.M.; MUTHUPALANI, S.; RAGER, J.E.; RACZYNSKI, A.R.; MOBLEY, M.W.; MCCABE, A.F.; FRY, R.C.; WANG, T.C.; FOX, J.G. 17β-estradiol and tamoxifen prevent gastric cancer by modulating leukocyte recruitment and oncogenic pathways in Helicobacter pylori-infected INS-GAS male mice. **Cancer Prev. Res**., v. 4, p. 1426-1435, 2011.

SHENKAR, R.; COULSON, W. F.; ABRAHAM, E. Hemorrhage and resuscitation induce alterations in cytokine expression and the development of acute lung injury. **Am. J. Resp. Cell. Mol. Biol.**, v. 10, p. 290-297, 1994.

SINGH, A.; PARKASH, S.; GUPTA, S. K.; SONI, R. K. Severe varicela pneumonia in adults: seven years´single-center experience from India. **Indian Journal Critical Care Medicine**, v. 22, p. 162-167, 2018.

SITUMORANG, G. R.; SHREERIN, N. S. Ischemia reperfusion injury: mechanisms of progression to chronic grft dysfunction. **Pediatry Nephrology**, 2018. (ahead of print)

SNELL, R. S. **Anatomia**. 2ª ed. Medsi Editora Médica e Científica Ltda, 1984.

SOUZA, D.G.; CASSALI, G.D.; POOLE, S.; TEIXEIRA, M.M. Effects of inhibition of PDE4 and TNF-alpha on local and remote injuries following ischaemia and reperfusion injury. **Br. J. Pharmacol.,** v. 134, p. 985–994, 2001.

SOUZA, D.G.; VIEIRA, A.T.; SOARES, A.C.; PINHO, V.; NICOLI, J.R.; VIEIRA, L.Q.; TEIXEIRA, M.M. The essential role of the intestinal microbiota in facilitanting acute inflammatory responses. **Journal Immunology**, v. 173, p. 4137-4146, 2004.

SPERRY, J. L.; NATHENS, A. B.; FRANKEL, H. L.; VANEK, S. L.; MOORE, E. E.; MAIER, R. V.; MINEI, J. P. Inflammation and the Host Response to Injury Investigators.

Characterization of the gender dimorphism after injury and hemorrhagic shock: are hormonal differences responsible? **Crit. Care Med**., v. 36, p. 1838–1845, 2008.

STURTZEL, C. Endothelial cells. **Adv. Experimental Med. Biology**, v. 1003, p. 71-91, 2017.

SUKHOTNIK, I.; HELOU, H.; LURIE, M.; KHATEEB, K.; BEJAR, J.; CORAN, A. G.; MOGILNER, J. G.; SHILONI, E. The effect of leptin on intestinal recovery following ischemia-reperfusion injury in a rat. **Pediatry Surgery Internacional**, v. 23, p. 473-478, 2007.

SUZUKI, T.; SHIMIZU, T.; YU, H. P.; HSIEH, Y. C.; CHOUDHRY, M. A.; CHAUDRY, I. H. Salutary effects of 17beta-estradiol on T-cell signaling and cytokine production after trauma-hemorrhage are mediated primarily via estrogen receptor-alpha**. Am. J. Physiol. Cell Physiol**., v. 292, p.103-111, 2007.

TARN, A.C.; LAPWORTH, R. Biochemical analysis of ascitic (peritoneal) fluid: what should we measure? **Ann. Clin. Biochem**., v. 47, p. 397-407, 2010.

THOMAS, M.R. & STOREY, R.F. The role of platelets in inflammation. **Thromb. Haemost.**, v. 114(3), p. 449-458, 2015.

THOMAS, P.; PANG, Y.; FILARDO, E. J.; DONG, J. Identity of an estrogen membrane receptor coupled to a G protein in human breast cancer cells. **Endocrinology**, v. 146, p. 624–632, 2005.

TUO, B.; WEN, G.; WANG, X.; XU, J.; XIE, R.; LIU, X.; DONG, H. Estrogen potentiates prostaglandin E_2-stimulated duodenal mucosal HCO_3^- secretion in mice. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 303, p. 111-121, 2012.

VAISHNAVI, C. Translocation of gut flora and its role in sepsis. **Indian J. Med. Microbiol.**, v. 31, p. 334-342, 2013.

VOLLMAR, B.; MENGER M. D. Intestinal ischemia/reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences. **Arch. Surg**., v. 396, p. 13–29, 2011.

WARD, D.T.; LAWSON, S.A.; GALLAGHER, C.M.; CONNER, W.C.; SHEA-DONOHUE, T. Sustained nitric oxide production via L-arginine administration ameliorates effects of intestinal ischemia-reperfusion. **J Surg Res.,** v. 89, n. 1, p. 13-19, 2000.

WELBORN, M. B.; OLDENBURG, H. S.; HESS, P. J.; HUBER, T. S.; MARTIN, T. D.; RAUWERDA, J. A.; WESDORP, R. I.; ESPAT, N. J.; COPELAND, E. M.; MOLDAWER, L. L.; SEEGER, J. M. The relationship between visceral ischemia, proinflammatory cytokines, and organ injury in patients undergoing thoracoabdominal aortic aneurysm repair. **Crit. Care Med.**, v. 28, p. 3191-3197, 2000.

WIJNEN, M.H.; VADER, H.L.; ROUMEN, R.M. Multi-antioxidant supplementation does not prevent an increase in gut permeability after lower torso ischemia and reperfusion in humans. **Europ. Surg. Res**., v. 34, n. 4, p. 300-305, 2002.

WU, H. C.; TUO, B. G.; WU, W. M.; GAO, Y.; XU, Q. Q.; ZHAO, K. Prevalence of peptic ulcer in dyspeptic patients and the influence of age, sex, and Helicobacter pylori infection. **Dig. Dis. Sci**., v. 53, p. 2650–2656, 2008.

XIAO, X.; LIU, D.; ZHENG, S.; FU, J; ZHANG, H; CHEN, L. Protective effect of estrogen on intestinal ischemia-reperfusion injury in pubertal rats. **J. Ped. Surg**., v. 39, n. 12, p. 1828-1831, 2004.

XU, D.Z.; ZAETS, S.B.; CHEN, R.; LU, Q.; RAJAN, H.; YANG, X.; ZHANG, J.; FEKETOVA, E.; BOGDAN, N.; DEITCH, E.A.; Cao, Y. Elimination of C5AR prevents intestinal mucosal damage and attenuates neutrophil infiltration in local and remote organs. **Shock**, v. 31, n. 5, p. 493-499, 2009.

YANG, D. J.; ZHU, Z. X.; U, H. B.; YAN, R. L.; CHEN, J.; CHENG, Y. J.; CAI, Q. P.; WANG, Q. Hypertonic saline activates CD4+ and CD8+ T-lymphocytes in the small intestine to alleviate intestinal ischemia-reperfusion injury. **European Review Medical Pharmacology Science**, v. 18, p. 3069-3075, 2014.

YANG, H.; JIN, Y.; LI, M.; WANG, C.H.; TANG, C.W. Disturbances of mesenteric lymph flow and in vivo intestinal lymphocyte trafficking during early gut injury induced by ischemia-reperfusion in rats. **Lymphology,** v. 45, p. 130-139, 2012.

YAO, Y.M.; SHENG, Z.Y.; YU, Y.; TIAN, H.M.; WANG, Y.P.; LU, L.R.; XU, S.H. The potential etiologic role of tumor necrosis factor in mediating multiple organ dysfunction in rats following intestinal ischemia-reperfusion injury. **Resuscitation**, v. 2, p. 157-168, 1995.

YU, H.P.; SHIMIZU, T.; HSIEH, Y.C.; SUZUKI, T.; CHOUDHRY, M.A.; SCHWACHA, M.G.; CHAUDRY, I.H. Tissue-specific expression of estrogen receptors and their role in the regulation of neutrophil infiltration in various organs following trauma-hemorrhage. **J. Leukoc. Biol.**, v. 79, p. 963-970, 2006.

ZHANG, M.; AUSTEN W. G. JR; CHIU, I.; ALICOT, E. M.; HUNG, R.; MA, M.; VERNA, N.; XU, M.; HECHTMAN, H. B.; MOORE, F. D. JR; CARROLL, M. C. Identification of a specific self-reactive IgM antibody that initiates intestinal ischemia/reperfusion injury. **Proc. Natl. Academy Science US**, v. 101, p. 3886-3891, 2004.

ZHOU, T.; PRATHER, E.R.; GARRISON, D.E.; ZOU, L. Interplay between ROS and antioxidants during ischemia-reperfusion injuries in cardiac and skeletal muscle. **Int. J. Molecular Science**, v. 19, 2018.