



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Ação imunomoduladora do esteroide dehidroepiandrosterona (DHEA) na resposta efetora de neutrófilos infectados *in vitro* por *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

Verônica Soares Brauer

**Ribeirão Preto
2016**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Ação imunomoduladora do esteroide dehidroepiandrosterona (DHEA) na resposta efetora de neutrófilos infectados *in vitro* por *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Biociências Aplicadas à Farmácia para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Biociências Aplicadas à Farmácia

Orientado(a): Verônica Soares Brauer

Orientador(a): Profa. Dra. Fabiani Gai Frantz

Ribeirão Preto
2016

RESUMO

BRAUER, V. S. **Ação imunomoduladora do esteroide dehidroepiandrosterona (DHEA) na resposta efetora de neutrófilos infectados *in vitro* por *Salmonella enterica* serovar Typhimurium.** 2016. 123 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

Dehidroepiandrosterona (DHEA) é um hormônio esteroide secretado pelas glândulas adrenais, gônadas e cérebro, que juntamente com sua forma sulfatada (DHEAS) constituem os esteroides mais abundantes da circulação. É um importante precursor para hormônios sexuais e exerce funções diretas sob diversos sistemas do corpo, dentre eles, o sistema imune. A relação entre sistema endócrino e imune já é bem estabelecida, tendo hormônios a capacidade de modular a resposta imune e vice-versa. Dentre os componentes da resposta imune, estão os neutrófilos, importantes células da imunidade inata que reconhecem e eliminam patógenos através de diversos mecanismos efetores como fagocitose, produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), desgranulação, *neutrophil extracellular traps* (NETs). Já é descrito que o avanço da idade é acompanhado pela redução dos níveis plasmáticos de DHEA, assim como a redução da atividade efetora de neutrófilo, podendo estes dois mecanismos estarem relacionados com estado de senescência e aumento da suscetibilidade de idosos à infecções. Porém, poucos estudos existem mostrando relação entre DHEA e neutrófilos. Desta forma, o objetivo do nosso trabalho, foi avaliar a influência do hormônio DHEA nas diversas funções efetoras de neutrófilos. Para tanto, neutrófilos humanos isolados do sangue periférico foram submetidos a um pré-tratamento com DHEA e infectado com *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ou estimulados com LPS. Observamos que o tratamento prévio dos neutrófilos com 0,01 μM de DHEA é capaz aumentar a fagocitose da *S. Typhimurium*, assim como aumento da atividade microbicida destas células. Para investigar o mecanismo pelos quais a capacidade microbicida foi aumentada, avaliamos a produção de EROs e formação de NETs. Curiosamente o hormônio não influenciou em nenhum destes processos. Então, por fim, avaliamos o perfil de produção de citocinas *in vitro* produzidas pelos neutrófilos tratados com DHEA e infectados com *S. Typhimurium* ou estimulados com LPS (lipopolissacarídeo). Nosso estudo mostrou que os neutrófilos infectados ou estimulados reduzem a produção de quimiocinas como IL-8, MIP-1 α e MIP-1 β , quando comparados aos neutrófilos sem tratamento. Em adição, neutrófilos tratados com esteroide e estimulados com LPS tiveram a produção de TNF- α reduzida, a produção da IL-4 foi aumentada nos neutrófilos tratados com DHEA e infectados e a relação entre IFN- γ /IL-4 foi reduzida. Nossos dados mostram que o DHEA pode estar contribuindo para o controle da infecção por *S. Typhimurium*, principalmente através da fagocitose e *killing* intracelular. Apesar dos dados de citocinas mostrarem que o DHEA está direcionando a resposta de neutrófilos para um caráter menos inflamatório, acreditamos que este possa ser um mecanismo protetor ao organismo, a fim de evitar uma resposta inflamatória exacerbada que poderia causar lesões teciduais. Concluímos então, que o DHEA é um importante esteroide com atividades imunorreguladoras que podem estar contribuindo para o controle da infecção por *S. Typhimurium*, porém mais estudos são necessários para o entendimento dos mecanismos utilizados por este esteroide para modular a resposta de neutrófilos, células tão importantes ao organismo humano.

Palavras chave: Dehidroepiandrosterona, neutrófilo, *S. Typhimurium*, citocinas, EROs, fagocitose, NET.

ABSTRACT

BRAUER, V. S. **immunomodulatory action of steroid dehydroepiandrosterone (DHEA) in the effector response of neutrophils infected *in vitro* with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium**. 2016. 123 f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

Dehydroepiandrosterone (DHEA) is a steroid hormone secreted by the adrenal glands, gonads and brain, which along with its sulfated form (DHEAS) are the most abundant circulating steroid. It is an important precursor to sex hormones and exerts direct roles in several body systems, including the immune system. The relationship between the endocrine and immune system is already well established, with the hormone modulating the immune response and vice versa. Among the components of the immune response, neutrophils are important innate immunity cells that recognize and eliminate pathogens through various effector mechanisms such as phagocytosis, production of reactive oxygen species (ROS), degranulation, neutrophil extracellular traps (NETs). It is reported that advanced age is accompanied by the reduction of plasma levels of DHEA as well as the reduction of the effector activity of neutrophils, these two mechanisms may be related to the state of senescence and increase in susceptibility of the elderly to infections. However, few studies exist showing the relationship between DHEA and neutrophils activity. Thus, the aim of our study was to evaluate the influence of the hormone DHEA in the several effector functions of neutrophils. To that end, human neutrophils isolated from peripheral blood were subjected to a treatment with DHEA and infected with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium or stimulated with LPS (lipopolysaccharide). We observed that the treatment of neutrophils with 0.01 μ M of DHEA can increase phagocytic rates of *S. Typhimurium*, as well as increase the microbicidal activity of these cells. To investigate the mechanism by which the microbicidal capacity has been increased, we evaluated the production of ROS and formation of NETs. Interestingly the hormone did not influence in any of these processes. Then, we finally evaluated in the cytokine production profile produced by neutrophils treated *in vitro* with DHEA and infected with *S. Typhimurium* or stimulated with LPS. Our study showed that pré-treated and infected neutrophils or LPS-stimulated cells reduced the production of chemokines such as IL-8, MIP-1 α and MIP-1 β compared to untreated neutrophils. In addition, when steroid treated neutrophils were stimulated with LPS, a reduced TNF- α production was observed and the levels of IL-4 was increased in treated neutrophils with DHEA and infected with *S. Typhimurium*. The ratio of IFN- γ / IL-4 was reduced. Our data show that DHEA may be contributing to the control of infection by *S. Typhimurium*, mainly by phagocytosis and intracellular killing. Although cytokines data show that DHEA is directing the neutrophil response to a less inflammatory response, and we believe that this may be a protective mechanism of the organism in order to avoid an exacerbated inflammatory response that could cause tissue damage to the body. We conclude then, that DHEA is a steroid with important immunoregulatory activities that may be contributing to the control of infection by *S. typhimurium*, but more studies are needed to understand the mechanisms used by this steroid to modulate neutrophil response, cells so important to the human body.

Key Words: Dehydroepiandrosterone, neutrophils, *S. Typhimurium*, cytokines, phagocytosis, ROS, NET.

RESUMEM

BRAUER, V. S. **La acción inmuno-moduladora del esteroide dehidroepiandrosterona (DHEA) en la respuesta efectora de los neutrófilos infectados in vitro con *Salmonella enterica* serovar Typhimurium.** 2016. 123 f. Dissertación (Maestría). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

La dehidroepiandrosterona (DHEA) es una hormona esteroide secretada por las glándulas suprarrenales, las gónadas y el cerebro, que junto con su forma sulfatada (DHEAS) son los más abundantes de esteroides circulantes. Es un importante precursor de las hormonas sexuales y ejerce un papel directo en varios sistemas del cuerpo, incluyendo el sistema inmune. La relación entre el sistema endocrino e inmune ya está bien establecido, la hormona que tiene la capacidad de modular la respuesta inmune y viceversa. Entre los componentes de la respuesta inmune, los neutrófilos son importantes las células de inmunidad innata que reconocen y eliminan patógenos a través de varios mecanismos efectores tales como fagocitosis, producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), desgranulación, trampas extracelulares de neutrófilos (TNE). Se ha informado de que la edad avanzada se acompaña por la reducción de los niveles plasmáticos de DHEA, así como la reducción de la actividad efectora de los neutrófilos, estos dos mecanismos pueden estar relacionadas con el estado de senescencia y el aumento de la susceptibilidad de los ancianos a las infecciones. Sin embargo, existen pocos estudios que muestra la relación entre DHEA y neutrófilos. Por lo tanto, el objetivo de nuestro estudio fue evaluar la influencia de la hormona DHEA en las diversas funciones efectoras de los neutrófilos. A tal fin, aislado a partir de neutrófilos humanos de sangre periférica fueron sometidos a un pre-tratamiento con DHEA y se infectaron con *Salmonella enterica* serovar Typhimurium o estimuladas con LPS. Se observó que el pretratamiento de los neutrófilos con 0,01 uM DHEA es capaz de aumentar la fagocitosis de *S. typhimurium*, así como aumentar la actividad microbicida de estas células. Para investigar el mecanismo por el que se ha aumentado la capacidad microbicida, se evaluó la producción de ROS y la formación de los TNE. Es interesante que la hormona no influyó en cualquiera de estos procesos. Entonces, finalmente evaluada en el perfil de producción de citoquina producida por los neutrófilos tratados in vitro con DHEA y infectadas con *S. typhimurium* o estimuladas con LPS (lipopolisacárido). Nuestro estudio demostró que los neutrófilos estimulados infectados o reducen la producción de quimiocinas tales como IL-8, MIP-1 α y MIP-1 β en comparación con los neutrófilos no tratadas. Además, los neutrófilos tratados con esteroides fueron estimulados con LPS y TNF- α disminuyeron la producción de IL-4 se incrementó en los neutrófilos tratados infectados y DHEA y la proporción de IFN- γ / IL-4 se redujo. Nuestros datos muestran que la DHEA puede estar contribuyendo al control de la infección por *S. typhimurium*, principalmente por fagocitosis y muerte intracelular. Aunque los datos de citocinas muestran que DHEA es la dirección de la respuesta de los neutrófilos a una naturaleza menos inflamatoria, creemos que esto puede ser un mecanismo de protección del organismo, con el fin de evitar una respuesta inflamatoria exagerada que podría causar daños en los tejidos. Se concluye entonces, que la DHEA es un esteroide con importantes actividades inmunorreguladoras que pueden contribuir al control de la infección por *S. typhimurium*, pero se necesitan más estudios para comprender los mecanismos que utiliza este esteroide para modular la respuesta de los neutrófilos, células, de modo importante para el cuerpo humano.

Palabras clave: Dehidroepiandrosterona, neutrófilos, *S. Typhimurium*, citoquinas, ROS, fagocitosis, NET.

1. INTRODUÇÃO

1.1 DHEA

Dehidroepiandrosterona (DHEA) e sua forma sulfatada (DHEAS) constituem os hormônios esteroides mais abundantes no organismo humano (Ebeling e Koivisto, 1994). Foi isolado pela primeira vez a partir da amostra de urina de indivíduo do sexo masculino, em 1934 por Butenandt e Dannenbaum, e vinte anos depois, Migeon e Plager descreveram a completa extração do DHEA a partir do plasma humano. Entre o período de 1934 a 1959, o DHEA teve vários nomes científicos químicos diferentes: dehidroandrosterona, trans-dehidroandrosterona, dehidroisoandrosterona, até que o nome “dehidroepiandrosterona” foi proposto por Fieser, em 1949 e foi adotado pela comunidade científica, sendo utilizado até os dias atuais (revisado por Lieberman, 1995).

O DHEA é uma molécula essencialmente humana, produzida na zona reticular do córtex das glândulas suprarrenais, gônadas e cérebro, sintetizado a partir da pregnenolona e secretado em resposta à liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) frente a um agente estressor (Butcher *et al.*, 2005; Sawalha e Kovats, 2008). Após cerca de 80 anos desde sua descoberta, os mecanismos de ação do hormônio ainda não estão completamente elucidados, uma vez que nenhum receptor alvo do DHEA ou DHEAS foi identificado. Sabe-se que o DHEA constitui um precursor primário para a biossíntese de esteroides sexuais e pode ser convertido em andrógenos e estrógenos (Kasperska-Zajac *et al.*, 2009; Oberbeck e Kobbe, 2010) e suas concentrações plasmáticas já foram relacionadas com a função de vários sistemas do corpo, como sistema cardiovascular (Mitchell *et al.*, 1994), sistema nervoso central (Maninger *et al.*, 2009), sistema imunológico (Hazeldine, Arlt e Lord, 2010), sistema ósseo (Sun *et al.*, 2002) além de sua influência no metabolismo (Nestler, 1995).

1.1.1 Estrutura e síntese do DHEA

DHEA, 3 β -hidroxiandrost-5-en-17-ona, é um andrógeno com 19 carbonos, de fórmula molecular C₁₉H₂₈O₂, massa molar de 258,42442 g/mol, de caráter hidrofóbico e lipofílico (Figura 1). Assim como outros andrógenos, mineralocorticoides e glicocorticoides, o DHEA tem como precursor da sua síntese a pregnenolona, substância que se origina através da clivagem da cadeia pesada do

colesterol, reação catalisada pela enzima mitocondrial citocromo P450_{SCC} (*side chain cleavage*). A pregnenolona é convertida à DHEA através da ação da citocromo P45017 α (ou também chamada citocromo P450c17) e em seguida, é sulfatado à DHEAS, através da enzima hidrosteroide sulfatase (Kroboth *et al.*, 1999; Maninger *et al.*, 2009). Aproximadamente 99% do DHEA circulante, está na forma de DHEAS, sendo que as concentrações da forma sulfatada são 250 a 500 vezes maiores que as concentrações do DHEA e 20 vezes maiores do que qualquer outro hormônio esteroide. A predominância do DHEAS ocorre devido à maior estabilidade e taxa de excreção do hormônio. O DHEA é rapidamente metabolizado e excretado do sangue possuindo um tempo de meia vida curto de aproximadamente 1 a 3 horas, enquanto que o DHEAS, devido à maior afinidade com a albumina, é metabolizado muito mais lentamente, possuindo tempo de meia vida de 10 a 20 horas (Kroboth *et al.*, 1999; Rutkowski *et al.*, 2014). Embora o DHEAS seja a forma do hormônio que atua como um reservatório hidrofílico no organismo, ele pode ser convertido novamente à DHEA pela enzima sulfohidrolase, nos tecidos periféricos e nas adrenais, a forma considerada biologicamente ativa do hormônio (Ebeling e Koivisto, 1994; Labrie *et al.*, 1997; Oberbeck e Kobbe, 2010).

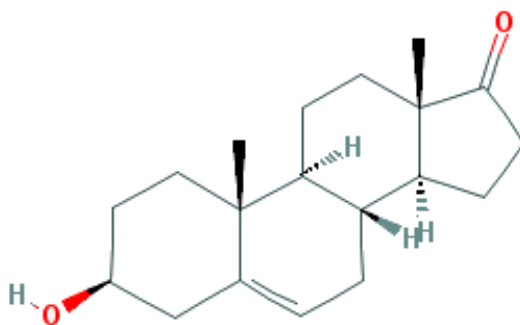


Figura 1 – Estrutura química da molécula do DHEA. **Fonte:** PubChem: open chemistry database. Disponível em: <<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5881#section=Top>>. Acessado em 28 de dezembro de 2015.

Classicamente, estudos mostram que a regulação da secreção do DHEA é realizada por meio do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). O hormônio liberador de corticotrofina (CRH) é secretado pelo hipotálamo em resposta a estímulos estressores, como por exemplo, dor, hipóxia, stress, hipotermia e hipoglicemia. Este CRH, por sua vez, através do sistema porta-hipofisário, alcança a adeno-hipófise,

onde estimulará a secreção do ACTH. O ACTH é um hormônio trófico e estimulatório para as glândulas adrenais, que promove o crescimento do córtex adrenal e síntese de hormônios como glicocorticoides, mineralocorticoides e esteroides androgênicos como o DHEA (Norton *et al.*, 2001; Hardy e Cooper, 2010).

Apesar dos dados indicando que os hormônios do córtex adrenal sempre são secretados simultaneamente, já foram descritas condições patológicas em que esse controle de secreção simultâneo entre esteroides androgênicos e glicocorticoides é perdido. Como por exemplo, a síndrome de Cushing, insuficiência cardíaca crônica, doenças inflamatórias como lúpus eritematoso sistêmico (LES), artrite reumatoide onde muitas vezes os níveis de cortisol estão altos e os níveis de DHEA estão normais ou baixos (Regelson, Loria e Kalimi, 1994; Kroboth *et al.*, 1999; Celec e Stárka, 2003; Sawalha e Kovats, 2008; Oberbeck e Kobbe, 2010). Devido a este desacoplamento da secreção entre os hormônios do córtex adrenal, alguns autores sugerem que existam outros possíveis mecanismos reguladores de sua secreção (Celec e Stárka, 2003), porém, ainda não foram elucidados.

Outra característica do padrão de secreção do DHEA é que é idade-dependente. Durante a gestação, o DHEA é o principal produto secretado pela zona fetal da glândula adrenal, porém, após o nascimento, com a involução dessa zona fetal adrenal, os níveis de DHEAS se tornam quase indetectáveis durante o primeiro ano de vida, e permanecem baixos até o período chamado de “adrenarca”, termo que se refere ao período em que a produção dos esteroides C₁₉ volta a acontecer, em torno dos 6 anos de idade como resultado da expansão e diferenciação da zona reticular da adrenal (Allolio e Arlt, 2002; Rege e Rainey, 2012). O maior pico de secreção de DHEA ocorre no início da vida adulta, aproximadamente aos 20-25 anos de idade, e após esse período, as concentrações plasmáticas começam a decair, como resultado da redução do número de células funcionais da zona reticular do córtex adrenal e consequente involução do tamanho dessa zona secretora de DHEA (Racchi, Balduzzi e Corsini, 2003; Arlt e Hewison, 2004). Por volta dos 70-80 anos, os valores alcançam aproximadamente 5-10% a menos daqueles do início da vida adulta (Hinson e Raven, 1999). Apesar da secreção de DHEA diminuir com a idade, os níveis de outros hormônios adrenais, como cortisol e aldosterona, não se alteram ou apenas possuem leves aumentos das concentrações plasmáticas com a idade (Racchi, Balduzzi e Corsini, 2003). Devido a diminuição da secreção de DHEA

e aumento proporção cortisol/DHEA com o avanço da idade, a deficiência desse esteroide têm sido relacionada com o desenvolvimento de doenças relacionadas com a idade, como por exemplo, resistência à insulina, obesidade doenças cardiovasculares, câncer, depressão, além de imunosenescência, esta associada a diminuição da função microbicida de neutrófilos e diminuição da atividade citotóxica de células NK (*natural killer*) (Allolio e Arlt, 2002; Tchernof e Labrie, 2004; Maninger *et al.*, 2009; Hazeldine, Arlt e Lord, 2010).

1.1.2 Mecanismo de ação

O DHEA age indiretamente em tecidos-alvos por ser um precursor para a formação de diversos outros hormônios esteroides, como estrógenos e testosterona. A importância da conversão de DHEA e DHEAS a andrógenos e/ou estrógenos em tecidos periféricos é ilustrada pelo fato de que aproximadamente 50% dos andrógenos totais produzidos na próstata de homens adultos derivam desses precursores adrenais esteroidais e no caso das mulheres, 75% dos estrógenos produzidos antes da menopausa derivam desses precursores e após a menopausa, a produção de estrógenos é 100% dependente dos precursores adrenais (Labrie *et al.*, 2001; Rutkowski *et al.*, 2014).

Esse processo de conversão do DHEA a outros hormônios sexuais é altamente dependente da expressão de enzimas esteroidogênicas e metabolizadoras específicas nos tecidos periféricos. Por exemplo, a enzima 3 β -hidroxiesteroide desidrogenase (3 β -HSD) encontrada em tecidos esteroidogênicos (como placenta, córtex adrenal, ovários, testículos) e também em tecidos periféricos (como pele, tecido adiposo, endométrio, próstata, fígado, cérebro, dentre outros) catalisa a conversão do DHEA a androstenediona, que pela ação da 17 β -hidroxiesteroide desidrogenase (17 β -HSD) e P450aromatase, é convertida em testosterona e estradiol, respectivamente (Labrie *et al.*, 2001; Allolio e Arlt, 2002).

Apesar do receptor proteico não ter sido descrito, estudos têm demonstrado que o DHEA e alguns de seus metabólitos se ligam para ativar ou antagonizar receptores como: PPAR- α (*peroxisome proliferator-activated receptor*), Pregnana X (PXR), CAR (*constitutive androstane receptors*), receptores de estrógeno- β (ER β) (Rutkowski *et al.*, 2014). No que diz respeito ao PPAR- α , sabe-se que o DHEA é um

ativador de peroxissomos que age através do PPAR- α , mas não como um ligante direto. Tamasi e colaboradores, 2008, demonstraram que o DHEA aumenta os níveis de PPAR- α e diminui o estado de fosforilação do receptor de PPAR- α em hepatócitos de ratos, resultando em uma maior atividade transcricional e sendo esta a forma que o DHEA influencia na resposta desse receptor (Tamasi *et al.*, 2008). DHEA e seus metabólitos conseguem ativar o PXR *in vitro* (apesar de serem estimuladores fracos), sendo que essa ativação resulta no aumento da expressão do gene CYP3A em ratos em camundongos alimentados com altas doses de DHEA (Ripp *et al.*, 2002). Em cultura de hepatócitos humanos, o DHEA induz a ativação do CAR, sendo que essa ativação é importante para a indução da expressão do gene CYP2B6 (Kohalmly *et al.*, 2007). Tanto a CYP3A quanto a CYP2B6 são enzimas importantes no metabolismo de xenobióticos, e como resultado, os dados demonstram que o DHEA pode influenciar na cinética ou interação de drogas e seus efeitos adversos, mostrando que o uso irrestrito desse hormônio como “solução para todas as doenças” deve ser cuidadosamente considerado. Em relação ao receptor de estrógeno, Webb e colaboradores, demonstraram em 2006, que o DHEA 50 μ M, ativa ER β , porém essa ativação provavelmente é via conversão do DHEA a algum metabólito mais ativo e que contém maior afinidade pelo receptor de estrógeno (Webb *et al.*, 2006). Em adição a esses mecanismos, em 2002, Liu & Dillon demonstraram que o DHEA estimula a produção de óxido nítrico em células endoteliais aórticas de bovinos, sendo que o mecanismo de ação para esse processo é através da ligação do DHEA a um receptor funcionalmente acoplado a subfamília de proteínas G inibitórias (G_i) principalmente dos subtipos G α_{i2} e G α_{i3} (Liu e Dillon, 2002). Apesar de que mais estudos são necessários para entender o mecanismo de ação do DHEA, os resultados mostram que ele não é apenas um precursor para a síntese de outros hormônios adrenais, ele pode ter seus receptores específicos que desencadeiam respostas estritamente relacionadas no organismo.

1.1.3 Efeitos fisiológicos gerais

Vários papéis protetores ou não do DHEA já foram relacionados aos sistemas do organismo humano. Como por exemplo, em relação ao sistema cardiovascular, estudos mostraram que homens que possuem baixos níveis plasmáticos de DHEA são mais suscetíveis a doenças coronárias arteriais (Mitchell *et al.*, 1994). Em relação à obesidade e distribuição de gordura corporal, correlações negativas entre

níveis plasmáticos de DHEA e medidas de adiposidade já foram estabelecidas em homens e mulheres, mostrando que altas concentrações de DHEA estão associadas a um baixo acúmulo de gordura (Tchernof e Labrie, 2004). O uso de DHEA também diminuiu os níveis de triglicerídeos e lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e aumentou os níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL) em indivíduos de 65-82 anos de idade (Araghiniknam *et al.*, 1996).

No sistema ósseo, o tratamento por seis meses com DHEA em homens com baixos níveis de DHEAS, resultou em um aumento da densidade mineral óssea total do corpo e da região lombar (Villareal, Holloszy e Kohrt, 2000) e também em pessoas com osteoporose (Sun *et al.*, 2002). Esse papel protetor exercido pelo DHEA ocorre devido à conversão desse hormônio a andrógenos e estrógenos nos osteoblastos humanos, além de promover a proliferação e inibir a apoptose dessas células (Wang *et al.*, 2007).

Por sua vez, a taxa de secreção de insulina tem efeito modulador nos níveis plasmáticos do DHEA, dado que a insulina promove um aumento na taxa de metabolização do DHEA, além de inibir sua síntese pela adrenal. Além disso, os baixos níveis de DHEA presentes em indivíduos de idade avançada já foram relacionados com intolerância à glicose e resistência à insulina (Nestler, 1995).

Em relação ao sistema nervoso central, o DHEA pode funcionar como um neuroesteroide via interação com receptores de neurotransmissores no cérebro. As concentrações de DHEA no cérebro são aproximadamente 6-8 vezes maiores quando comparadas às concentrações sanguíneas. Já foi descrito que o DHEA possui efeitos antidepressivos e os baixos níveis, tanto de DHEA como de DHEAS foram relacionados com indivíduos que possuem depressão. Além disso, DHEA possui efeito neuroprotetor, principalmente em situações de privação metabólica ou injúria, efeito de neurogênese e também melhora funções cognitivas (Maninger *et al.*, 2009; Traish *et al.*, 2011).

1.2 DHEA e sistema imune

A mais de 20 anos que estudos têm demonstrado a importância da interação fisiológica entre sistema endócrino e sistema imune. Esta interação é mediada por citocinas, neuropeptídeos, hormônios dentre outros mediadores solúveis e seus

receptores (Quintanar e Guzmán-Soto, 2013). Linfócitos e monócitos, por exemplo, expressam receptores para neurotransmissores e neuropeptídeos, como corticosteroides, insulina, prolactina, hormônio do crescimento, o que pode modular a função dessas células (Taub, 2008). Similarmente, já foram identificados receptores de quimiocinas e citocinas localizados em regiões como hipotálamo, adeno-hipófise, onde a interação dessas proteínas, como por exemplo, interleucina (IL)-6, IL-1, fator de necrose tumoral (TNF)- α com o receptor pode estimular a atividade do eixo HPA, e como consequência, ocorre a liberação de hormônios como CRH, ACTH e esteroides como glicocorticoides e DHEA (Pérez, Bottasso e Savino, 2009).

Em relação ao DHEA, estudos já demonstram os efeitos deste hormônio esteroide com o sistema imunológico. Classicamente, a principal ação observada para este andrógeno, é o efeito imunorregulador, devido à capacidade do DHEA de modular a secreção de citocinas pelas células do sistema imune. Um dos primeiros relatos desta função do DHEA foi descrita por Suzuki e colaboradores, em 1991, em que demonstrava que o DHEA em concentrações 10^{-8} a 10^{-11} M estimula o aumento da produção de IL-2 por linfócitos T (Suzuki *et al.*, 1991). Devido a esta característica, e por a IL-2 ser uma citocina característica de resposta imunológica de padrão Th1, acredita-se que a principal ação do DHEA é favorecer uma polarização de resposta de padrão Th1, porém estudos já foram publicados mostrando um comportamento contrário, com DHEA favorecendo respostas de padrão Th2 (Du *et al.*, 2001; Powell e Sonnenfeld, 2006).

Além da influência na secreção de IL-2, Straub e colaboradores, 1998, demonstraram que o DHEA regula negativamente a secreção de IL-6 por células mononucleares do sangue periférico (Straub *et al.*, 1998). Ben-Nathan e colaboradores demonstraram que o tratamento de camundongos com DHEA induz proteção dos animais contra infecções bacterianas e estimulação com lipopolissacarídeo (LPS), sendo que o possível mecanismo desta proteção seria correlacionada com a inibição induzida pelo DHEA na liberação de TNF- α e IL-1 no plasma destes camundongos (Ben-Nathan, Padgett e Loria, 1999).

Ainda, demonstrou-se a ação do DHEA em outras condições patológicas. Camundongos submetidos a modelo experimental de trauma-hemorragico abdominal apresentam redução na proliferação celular e produção de IL-2, IL-3 e IFN- γ por linfócitos T estimulados com concavalina A *in vitro*. Quando os animais são

pré-tratados com DHEA, foi observado aumento tanto na proliferação quanto na produção das referidas citocinas, além de resultar em diminuição dos níveis de corticosterona que também estavam aumentados após o trauma (Catania *et al.*, 1999). Também já foi demonstrado que camundongos tratados com DHEA possuem menor mortalidade após indução de sepse polimicrobiana por CLP (*cecal ligation and puncture*), e a proteção foi mediada pela redução de TNF- α (Oberbeck *et al.*, 2001), mostrando que o DHEA pode ter ações benéficas em patologias caracterizadas por intenso processo inflamatório.

Corroborando com estes dados, associações com DHEA e doenças autoimunes também foram estabelecidas. Por exemplo, no LES, pacientes possuem menores concentrações plasmáticas de DHEA, e a administração de 200 mg/dia durante 6 meses a mulheres com doença suave ou moderada, resulta em significativa redução do SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Index*) (Van Vollenhoven, Engleman e McGuire, 1994). Para a artrite reumatoide, as baixas concentrações de DHEA são consideradas fatores de risco para o desenvolvimento da doença. Em 1997, Williams e colaboradores, demonstraram que a administração de DHEA a ratos com artrite induzida pelo modelo CIA (*collagen-induced arthritis*), resulta em atraso do início da doença e redução da gravidade da artrite (Williams, Jones e Rademacher, 1997). Entretanto, quando pacientes com artrite já estabelecida foram tratados com 200 mg de DHEA por 16 semanas, apesar dos níveis plasmáticos de DHEA apresentarem aumento, não houve redução dos escores da patologia (Giltay *et al.*, 1998).

Em relação às doenças infecciosas, já foi demonstrado que pacientes com tuberculose apresentam concentrações de interferon (IFN)- γ , IL-10, IL-6 e cortisol aumentadas, em contraste às concentrações de DHEA e testosterona, que estão profundamente reduzidas. Além disso, quando células de linhagem humana adrenal (NCI-H295-R) foram cultivadas com o sobrenadante de células mononucleares do sangue periférico obtidas de pacientes com tuberculose, estimuladas *in vitro* com antígeno do *M. tuberculosis*, apresentaram redução na produção de DHEA (Rey *et al.*, 2007). Estes resultados sugerem que as citocinas produzidas durante a infecção por *M. tuberculosis* pode induzir alterações endócrinas nestes pacientes, com a modulação hormonal, que por sua vez, também pode modular a imunidade celular (Rey *et al.*, 2007). Similarmente, na infecção pelo HIV (vírus da imunodeficiência humana), principalmente em pacientes já diagnosticados com AIDS (Síndrome da

Imunodeficiência Adquirida) as concentrações de DHEA são baixas, sendo que a redução dos níveis plasmáticos deste hormônio foram relacionados com a progressão da infecção e diminuição na contagem de linfócitos TCD4+ (Jacobson *et al.*, 1991; Christeff *et al.*, 1996). Neste sentido, em 2007, Abrams e colaboradores avaliaram a administração do DHEA como um possível adjuvante da terapia antirretroviral, em um estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo durante 24 semanas, em pacientes com viremia controlada e tratamento retroviral estável. O estudo mostrou que apesar do aumento das concentrações plasmáticas de DHEA, DHEAS e androstenediona, o tratamento não apresentou efeito antiviral ou imunomodulador, nem mesmo efeitos na constituição corporal, como modulação na gordura corporal, massa muscular e densidade mineral óssea. Entretanto, foram relatados efeitos benéficos em relação à qualidade de vida e redução de distúrbios de humor, resultados avaliados através de questionários aplicados aos participantes da pesquisa (Abrams *et al.*, 2007). Desta forma, apesar das informações disponíveis que sugeriam efeitos benéficos do DHEA sobre a infecção pelo HIV, este estudo apresentado por Abrams e colaboradores, demonstrou que a suplementação com DHEA aos pacientes com HIV talvez não seja necessária, já que efeitos imunológicos não foram observados.

Efeitos biológicos do DHEA e sua forma sulfatada já foram relacionados com neutrófilos. Em 2006, Barkhausen e colaboradores demonstraram que o tratamento com DHEA resulta em aumento da expressão de L-selectina e diminuição da expressão de CD11b e CD18 induzida por LPS nos PMN, mostrando que o DHEA possui um efeito modulador direto na expressão de moléculas de adesão pelos neutrófilos (Barkhausen *et al.*, 2006). Em 2010, Radford e colaboradores, descreveram que DHEA-S estimula a produção de ânion superóxido em neutrófilos pré-ativados com fator estimulador de colônias de granulócitos (GM-CSF) e que os PMNs são os únicos leucócitos a expressarem o “*organic anion-transporting polypeptide D*” (OATP-D) que medeia o influxo de DHEAS para dentro da célula. Relatam também que a proteína quinase C- β (PKC- β) age como um receptor intracelular para o DHEA-S mediando efeitos estimuladores na célula (Radford *et al.*, 2010) e mostrando que o DHEA-S possui um efeito biológico distinto do DHEA. Koziol-White e colaboradores, em 2012, demonstraram que o tratamento de neutrófilos por 4 h com DHEAS (0,01-10 μ M) e fMLP, resultou em inibição de maneira dose-dependente do processo de quimiotaxia (Koziol-White *et al.*, 2012).

Mostrando que o DHEA e o DHEAS possuem efeitos distintos sobre os PMN, células tão importantes para o sistema imune, porém mais estudos são necessários para entender o mecanismo pelo qual estes hormônios modulam a resposta dos neutrófilos na presença de diferentes estímulos.

1.3 Neutrófilos

Células descritas pela primeira vez em 1878, pelo médico alemão Paul Ehrlich, que através de técnicas de fixação e coloração de amostras utilizando corantes ácidos, básicos e neutros conseguiu descrever a morfologia do núcleo assim como a presença de grânulos nessas células (revisado por (Borregaard e Cowland, 1997). Em suas observações, Ehrlich percebeu que essas células se destacavam devido a uma forma “polimórfica” do núcleo que confere à célula uma característica irregular, muitas vezes com núcleo em forma de S, Y, E ou Z e também devido à capacidade dos grânulos citoplasmáticos de reter corantes neutros (Ehrlich e Lazarus, 1900). Devido às observações do Dr. Paul Ehrlich que esses leucócitos foram nomeados de “neutrófilos” ou “leucócitos polimorfonucleares”.

São as células mais abundantes do organismo, apresentando núcleo segmentado em 3 a 5 lóbulos conectados, citoplasma rico em grânulos compostos de proteínas com atividade enzimática, como mieloperoxidase (MPO), elastase, lactoferrina, dentre outras, que auxiliam na morte e digestão de microrganismos, principalmente fungos e bactérias patogênicas, como *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Aspergillus fumigatus* e *Fusariums spp.* (Borregaard, Sørensen e Theilgaard-Mönch, 2007; Kennedy e Deleo, 2009; Kumar e Sharma, 2010; Abbas, H e Pillai, 2011; Abbas, Litchman e Pillai, 2011; Amulic *et al.*, 2012; Drescher e Bai, 2013). Os neutrófilos constituem uma importante linha de defesa do organismo, visto que anormalidades nessas células, como por exemplo, na doença granulomatosa crônica em que mutações nos genes dos constituintes da NADPH oxidase, importante complexo proteico responsável pela produção de espécies reativas de oxigênio (importante mecanismo de defesa dos neutrófilos), resulta em infecções recorrentes por fungos como *Aspergillus* e bactérias catalase-positivas como *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens* (Häger, Cowland e Borregaard, 2010).

Os neutrófilos são continuamente produzidos na medula óssea a partir de precursores hematopoiéticos, em resposta a várias citocinas, como fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), IL-23 e IL-17A. A taxa de produção dos neutrófilos é altamente regulada pela taxa de apoptose dessas células nos tecidos. Durante um processo inflamatório o número de neutrófilos aumenta no tecido, e com o tempo parte dessas células morrem por apoptose e são removidas por células dendríticas e macrófagos. Esse processo resulta na diminuição da secreção de IL-23 pelos macrófagos residentes e células dendríticas, como consequência, também ocorre uma diminuição da secreção de IL-17A, já que IL-23 é responsável pela estimulação da secreção de IL-17A. Como IL-17A é um importante estímulo para o G-CSF, a diminuição da secreção de IL-17A resulta na diminuição da liberação de G-CSF, diminuindo a produção de neutrófilos pela medula óssea para que a contagem dessas células se normalize ao fim do processo inflamatório (Borregaard, 2010; Nauseef e Borregaard, 2014). Fatores de transcrição também tem papel na regulação da diferenciação dos neutrófilos produzidos na medula. Desde o progenitor mielóide até o PMN maduro, há vários estágios: mieloblasto, promielócito, mielócito, metamielócito, bastonete e neutrófilo. Esse processo é regulado principalmente pelos fatores de transcrição, PU.1 e C/EBP α (CCAAT/*enhancer binding protein* α), onde PU.1 é responsável pelo comprometimento do progenitor com a linhagem mielóide e o balanço entre PU.1 e C/EBP α é importante para a diferenciação entre monócito ou neutrófilo, onde a maior expressão de C/EBP α dirige a diferenciação para granulocitopoese (Borregaard, 2010; Kolaczowska e Kubes, 2013). Um marco no avanço dos estágios de diferenciação é o aparecimento dos grânulos citoplasmáticos, classificados em primários (ou azurófilos), secundários (ou específicos), terciários (ou gelatinase) e vesículas secretoras, que serão mobilizados de maneira inversa à sua produção (os primeiros grânulos produzidos são os últimos a serem mobilizados) e seu conteúdo liberado no fagossomo ou no meio extracelular para auxiliar na eliminação de patógenos (Amulic *et al.*, 2012).

Após o fim do processo de maturação, os neutrófilos emergem da medula óssea e migram para a circulação, permanecem viáveis por aproximadamente 6 a 8 horas, em condições basais (Amulic *et al.*, 2012) e se recrutados para o tecido inflamado podem sobreviver até que exerçam sua função efetora e entrem em apoptose. Em 2010, Pillay e colaboradores desafiaram esse conceito, mostrando em seu estudo que os neutrófilos humanos teriam na verdade um tempo médio em condições basal

de vida de 5,4 dias na circulação (Pillay *et al.*, 2010). Esse estudo recebeu muitas críticas e questionamentos quanto à interpretação dos dados e também sobre a metodologia utilizada (água com deutério para marcação de células em proliferação na medula óssea *in vivo*) que poderia ter resultado em superestimação do tempo de vida dos PMN (Tofts *et al.*, 2011).

Na circulação sanguínea, os neutrófilos permanecem até que sejam recrutados e guiados por um gradiente quimiotático ao foco de lesão e inflamatório, onde eliminam os patógenos invasores e auxiliam no reparo tecidual resultante do processo inflamatório (Abbas, Litchman e Pillai, 2011). Esse processo é iniciado quando células residentes do sítio de lesão ou infecção reconhecem moléculas contidas na estrutura de microrganismos, conhecidas por padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs) ou mesmo moléculas endógenas produzidas ou liberadas por células danificadas ou mortas, as chamadas padrões moleculares associados a dano (DAMPs). Os receptores de reconhecimento padrão (PRR) reconhecem os PAMPs e DAMPs e estão localizados na membrana plasmática, citoplasma ou membrana endossômica das células do sistema imune, onde a associação destes com os respectivos ligantes desencadeia o início da resposta imune (Abbas, Litchman e Pillai, 2011). Mastócitos, macrófagos e células dendríticas teciduais detectam PAMPs ou DAMPs e liberam uma vasta gama de mediadores pró-inflamatórios que promovem o recrutamento de outros leucócitos (Nourshargh e Alon, 2014). Esses mediadores inflamatórios, como citocinas, histamina, cisteinil-leucotrienos, estimulam as células endoteliais a produzirem moléculas de adesão no seu lado luminal, dentre elas, selectinas P e E membros da família das integrinas como ICAMs (moléculas de adesão intercelular 1) (Amulic *et al.*, 2012). Os neutrófilos reconhecem essas proteínas expressas na célula endotelial através de ligante de glicoproteína da P-selectina 1 (PSGL-1) e L-selectina resultando na adesão desses PMN às células endoteliais e o subsequente rolamento dessas células pela superfície endotelial. Essa interação dependente de selectinas é de baixa afinidade e permite que o neutrófilo em rolamento entre em contato com outros sinais de ativação (quimiocinas) presentes superfície das células endoteliais. A interação entre essas quimiocinas e seus respectivos receptores nos neutrófilos (geralmente acoplado à proteína G) induz mudanças conformacionais na superfície do PMN levando a um aumento da expressão de integrinas, moléculas que possuem alta afinidade por seus ligantes ICAMs. Essa interação resulta em um rolamento

mais lento e uma adesão firme dos PMN ao endotélio, fase importante para célula se preparar para a migração. Porém antes de atravessar a barreira de células endoteliais, o neutrófilo percorre lentamente o endotélio até que de acordo com a composição de ICAMs e também composição da membrana basal adjacente é iniciada a transmigração celular. A migração ocorre preferencialmente entre as junções célula-célula (via paracelular), porém o neutrófilo também pode migrar via transcelular, onde o PMN passa através da célula endotelial. Na lâmina basal, acredita-se que os neutrófilos utilizem suas proteínas granulares como as metaloproteinases para os auxiliarem na digestão das proteínas da membrana basal e assim, os auxiliarem na passagem por esse local, onde o neutrófilo irá encontrar um forte gradiente quimiotático que o guiará até o foco infeccioso, local em que exercerá suas funções efetoras (Abbas, Litchman e Pillai, 2011; Amulic *et al.*, 2012; Kolaczkowska e Kubes, 2013; Mayadas, Cullere e Lowell, 2014).

1.3.1 Funções efetoras dos neutrófilos

Após o fim do processo de migração, o neutrófilo finalmente encontra o foco lesionado e infeccioso, onde consegue destruir o patógeno invasor através de vários passos coordenados: fagocitose, liberação de proteínas granulares (desgranulação), produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e produção de *Neutrophil Extracellular Traps* (NETs) (Kolaczkowska e Kubes, 2013).

Além da função dos neutrófilos em infecções por patógenos, esta célula também tem importante papel em inflamações estéreis. Este tipo de inflamação exerce papel fundamental no *clearance* de células mortas e reparo de células lesadas ou não-funcionais (Menezes *et al.*, 2011). Este processo é mediado pela liberação de DAMPs (padrões moleculares associados ao dano), que possuem inerente atividade pró-inflamatória, que são reconhecidos por PRRs, como receptores semelhantes ao Toll (TLRs) e receptores semelhantes ao NOD, presentes em células do sistema imune, inclusive neutrófilos (Phillipson e Kubes, 2011). Doenças autoimunes, isquemia e injúria por reperfusão são exemplos de patologias mediadas por inflamação estéril, caracterizadas por intenso recrutamento de neutrófilos ao foco lesado (McDonald e Kubes, 2011). Contudo, a realização dos mecanismos efetores de neutrófilos e liberação de proteínas granulares pode resultar em maior dano tecidual, contribuindo para uma inflamação descontrolada e

patogênese das doenças mediadas por inflamação estéril (McDonald e Kubes, 2012). Estes dados mostram que apesar das funções benéficas exercidas pelos PMNs, uma resposta descontrolada contribui para danos ao organismo.

1.3.1.1 Fagocitose e Desgranulação

É um processo rápido, ativo, mediado por receptores no qual a célula internaliza partículas ou microrganismos invasores. Mediado por rearranjo do citoesqueleto, a membrana plasmática dos fagócitos se estende ao redor do alvo, iniciando um processo que resulta na criação de um vacúolo circundado por membrana chamado de “fagossomo” (Nordenfelt e Tapper, 2011). Esse processo foi descrito pela primeira vez por Elie Metchnikoff em 1882, em um experimento onde ele espetava larvas de estrela-do-mar com espinhos de roseira para estimular o ataque ao “objeto estranho” pelas células da estrela-do-mar. Metchnikoff batizou estas células de “fagócitos”, do grego “*phago*” que significa devorar e “*cytos*” que significa células. Metchnikoff recebeu o prêmio Nobel juntamente com Paul Ehrlich em 1908 em reconhecimento aos seus trabalhos na imunologia (Kaufmann, 2008).

Os neutrófilos são considerados fagócitos profissionais, pois sua função primária é a fagocitose de quaisquer tipos de partículas, como restos celulares, fragmentos inertes ou microrganismos. Entretanto, quando as partículas estão opsonizadas, ou seja, recobertas por outras proteínas como anticorpos ou fatores solúveis do sistema complemento, alguns receptores facilitam e medeiam a fagocitose. Os principais receptores empregados nesse processo são os do tipo FcγR, como FcγRIIA (ou CD32) e FcγRIIIb (ou CD16) que reconhecem partículas recobertas pela imunoglobulina G (IgG) e receptores de complemento, como antígeno macrofágico 1 (Mac-1) (ou CD11b/CD18 ou CR3), que reconhecem alvos recobertos por proteínas do sistema complemento. Além destes, os neutrófilos possuem diversos outros tipos de receptores como TLRs, Receptores semelhantes ao Nod, Dectina-1 (Lee, Harrison e Grinstein, 2003; Nordenfelt e Tapper, 2011).

Após a internalização da partícula ou microrganismo, o fagossomo nascente é relativamente benigno ao alvo, sendo que para adquirir propriedades letais, essa estrutura precisa passar por um processo de maturação, caracterizado pela fusão dos grânulos citoplasmáticos ao fagossomo, liberando no lúmen dessa estrutura todo o arsenal de peptídeos microbicidas, enzimas proteolíticas e componentes do

complexo enzimático NADPH oxidase presentes nas diferentes classes de grânulos, contribuindo assim para a eliminação dos alvos fagocitados (Nordenfelt e Tapper, 2011; Amulic *et al.*, 2012).

Em relação às classes dos grânulos citoplasmáticos, existem quatro: azurófilos (ou primários), específicos (ou secundários), gelatinase (ou terciários) e as vesículas secretoras. Cada grânulo possui um arsenal enzimático característico, onde os primários são caracterizados pela presença da MPO, uma das proteínas mais abundantes em neutrófilos cuja função está relacionada ao *burst* respiratório, além de defensinas, BPI (*Bactericidal Permeability Increasing Protein*) e diversas serino-proteases como proteinase-3, catepsina G, elastase. Já os grânulos específicos, são peroxidase-negativos, ricos em substâncias antibióticas como lactoferrina, catelicidina humana 18 (hCAP-18), lipocalina associada à gelatinase neutrofílica (NGAL), lisozima. Além dessas substâncias microbicidas, os grânulos secundários ainda carregam componentes do complexo NADPH oxidase, como gp91phox/p22phox. Os grânulos terciários são caracterizados pela presença de metaloproteases, como gelatinase e leucolisina. As vesículas secretoras possuem principalmente proteínas de membrana e são criadas por endocitose durante a última fase de maturação dos neutrófilos, como por exemplo, Mac-1 e CR1. A fusão dos grânulos e vesículas secretoras com a membrana plasmática pode ocorrer permitindo que essas proteínas alcancem o ambiente extracelular. Esse processo de liberação do conteúdo granular também é um mecanismo de defesa que ocorre após a ativação do fagócito, chamado de desgranulação (Borregaard *et al.*, 1992; Faurschou e Borregaard, 2003; Klebanoff, 2005; Amulic *et al.*, 2012).

Como resultado da fusão dos grânulos citoplasmáticos ao fagossomo, um ambiente hostil ao alvo internalizado é criado dentro dessa estrutura, contribuindo para a eliminação de diversos patógenos. Porém, muitos microrganismos desenvolveram estratégias para sobreviver a esse mecanismo imunológico, por exemplo, através da interferência no processo de internalização ou modulando a maturação do fagossomo. *Staphylococcus aureus*, por exemplo, possui uma capsula polissacarídica que confere a esta bactéria propriedades anti-fagocíticas (Luong e Lee, 2002).

1.3.1.2 *Burst* respiratório

Juntamente com o processo de fagocitose, ocorre um aumento do consumo de oxigênio pelo neutrófilo associado com a geração de espécies reativas do oxigênio (EROs) via ativação do complexo enzimático NADPH oxidase. Esse processo foi descrito pela primeira vez em 1933 pelos pesquisadores Baldrige e Gerard como a “respiração extra da fagocitose” (Dupré-Crochet, Erard e Nüße, 2013). Em estado basal, o complexo enzimático se encontra desacoplado e inativado, com subunidades distribuídas em vários componentes da célula (como citosol e membrana). A porção da NADPH oxidase associada à membrana é composta pelos componentes gp91^{phox} e p22^{phox} (*phox*, do inglês, *phagocyte oxidase*) que formam um dímero não-covalente chamado de citocromo b₅₅₈, que localiza-se predominantemente na membrana dos grânulos secundários. Já a porção citosólica é formada pelo p40^{phox}, p47^{phox}, p67^{phox}, e a GTP-ase Rac2 (Sheppard *et al.*, 2005; Quinn, Ammons e Deleo, 2006). Após o processo de ativação do neutrófilo e fagocitose, a NADPH é ativada através da translocação dos componentes citosólicos até o citocromo b₅₅₈, catalisando então a transferência de um elétron vindo do NADPH (fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida), formado através da via da pentose-fosfato, da superfície citosólica da membrana plasmática para o fagossomo ou imediatamente ao meio extracelular, resultando na redução do oxigênio molecular (O₂) a ânion superóxido (O₂^{•-}) a primeira ERO formada. O ânion superóxido sofre uma dismutação espontânea dando origem ao peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que na presença da MPO origina o ácido hipocloroso (HOCl) e outras EROs secundárias, como oxigênio singlet (¹O₂) e radical hidroxila (OH[•]) (Kennedy e Deleo, 2009).

As EROs formadas possuem um papel essencial na eliminação dos patógenos invasores, porém se eles matam diretamente, através de descarboxilações, deaminações ou peroxidação de proteínas e lipídios, ou indiretamente, através da modulação da atividade das proteases fagocíticas, ainda é questão de debate (Mayadas, Cullere e Lowell, 2014). Assim como acontece na fagocitose, muitos microrganismos desenvolveram mecanismos para sobreviverem ao *burst*, como por exemplo, *Salmonella Typhimurium* e *Streptococcus pyogenes* que conseguem impedir a fusão de grânulos citoplasmáticos com o fagossomo. A *Helicobacter pylori* perturba o direcionamento da NADPH oxidase para o fagossomo, provavelmente desviando os grânulos secundários para a membrana plasmática, resultando na produção de EROs extracelulares e a *Francisella*

tularensis previne o desencadeamento do *busrt* respiratório (Nordenfelt e Tapper, 2011; Amulic *et al.*, 2012).

1.3.1.3 Neutrophil Extracellular Traps (NETs)

No ano de 2004, Brinkmann e colaboradores descreveram um novo mecanismo efetor realizado por neutrófilos ativados, as NETs, que são estruturas extracelulares fibrosas compostas por DNA, histonas e proteínas granulares, que juntos possuem a capacidade de prender microrganismos em suas redes e expor esses patógenos a um ambiente com altas concentrações de antimicrobianos. Nesse ambiente ocorre então a degradação dos fatores de virulência e morte dos microrganismos ali aprisionados, impedindo a disseminação da infecção pelo organismo (Brinkmann *et al.*, 2004). Como observou-se que os neutrófilos perdiam a viabilidade durante a formação das NETs, em 2007 Steinberg e Grinstein nomearam essa forma alternativa de morte celular de “Netose” (Steinberg e Grinstein, 2007). Esse processo alternativo de morte celular, a Netose, é estimulado por vários mediadores inflamatórios (como TNF- α , IL-8, imunocomplexos, PMA (*phorbol myristate acetate*), LPS), bactérias (como espécies de *Streptococcus* e *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella Typhimurium*, *Mycobacterium tuberculosis*), fungos (como *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Paracoccidioides brasiliensis*), protozoários (como *Leishmania donovani*, *Plasmodium falciparum*), vírus (como HIV-1, Influenza) (Remijsen, Kuijpers, *et al.*, 2011; Branzk e Papayannopoulos, 2013; Jaillon *et al.*, 2013; Mejía *et al.*, 2015).

A formação das NETs altera toda a estrutura dos neutrófilos, onde a primeira característica a ser perdida é o núcleo lobulado e a distinção entre eu- e heterocromatina. Depois a membrana nuclear é rompida, o conteúdo do núcleo e citoplasma se misturam, e por fim, a membrana plasmática se rompe liberando as NETs no meio extracelular (Fuchs *et al.*, 2007). Para que isso aconteça, alguns mecanismos moleculares precisam estar presentes: produção de EROs, presença de MPO e elastase, autofagia, citrulinação de histonas H3 mediado pela enzima peptidilarginina deaminase (PAD4) (Hazeldine *et al.*, 2014). Como as EROs estimulam a produção das NETs ainda é controverso. Remijsen e colaboradores, 2011, propuseram em seu estudo que as EROs inativam caspases intracelulares para inibir a apoptose e induzir autofagia, que irá promover a desintegração da

membrana celular durante a netose (Remijsen, Vanden Berghe, *et al.*, 2011). Porém já existem estudos que mostram que certos estímulos podem levar à produção das NETs de maneira independente da NADPH oxidase, como por exemplo, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, que mesmo na ausência de EROs, desencadeiam a produção das NETs (Pilszczek *et al.*, 2010; Parker *et al.*, 2012; Byrd *et al.*, 2013; Yipp e Kubes, 2013). Além das EROs, já foi demonstrado por Papayannopoulos e colaboradores, em 2010, que a elastase e MPO translocam-se ao núcleo, onde em sinergismo, se ligam à cromatina e auxiliam no processo de descondensação dessa estrutura, que conseqüentemente, auxiliará no processo de liberação das NETs (Papayannopoulos *et al.*, 2010). Similarmente, a citrulinização das histonas, processo de conversão de argininas em citrulinas, é necessária auxiliar na descondensação da cromatina e assim a dispersão das NETs, que após liberadas contribuem para a eliminação de patógenos invasores (Wang *et al.*, 2009).

Após alguns anos de sua descoberta e descrição, o conceito de que NET sempre leva à morte celular está sendo desafiado por pesquisadores que têm mostrado que a existência de NET vital, ou seja, o neutrófilo permanece vivo após a liberação das fibras de NETs sem necessariamente entrar em netose. Yousefi e colaboradores demonstraram que após pré-tratamento dos PMNs com GM-CSF (fator estimulador de colônias monócitos granulócitos) e subsequente estimulação rápida dos receptores TLR4 e fator do complemento 5a (C5a), neutrófilos viáveis são capazes de gerar NETs compostas de DNA mitocondrial (Yousefi *et al.*, 2009). Apesar da formação de NETs mitocondriais terem sido descritas como importante componente da resposta imune inata, os mecanismos moleculares envolvidos com a produção dessas estruturas não estão completamente elucidados, necessitando de maiores estudos em torno da sua função e formação.

As NETs se tornaram um importante mecanismo microbicida que auxilia o sistema imune a eliminar patógenos, porém se ocorre um problema ou desregulação nesse processo, patologias podem se desenvolver contribuindo para um aumento de inflamação e danos teciduais em doenças autoimunes e inflamatórias, como LES, artrite reumatoide, fibrose cística, trombose, pré-eclampsia, dentre outras (Branzk e Papayannopoulos, 2013). Isso demonstra a importância de se estudar os mecanismos das NETs, já que entendê-los não só nos ajuda compreender como patógenos são eliminados, mas também nos ajuda a entender a fisiopatologia de doenças tão comuns na sociedade, como LES e artrite.

1.4 *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

Infecções por *Salmonella* são importantes causas de diarreia, náuseas, vômitos, febre e dor abdominal, podendo evoluir até para uma infecção sistêmica. De acordo com o CDC (*Center for Disease Control and Prevention*), *Salmonella spp.* não-tifoïdal causou cerca de um milhão de casos de doenças transmitidas por alimentos (DTA), 19.000 hospitalizações e 380 mortes por ano nos Estados Unidos da América entre os anos de 2000 a 2008) (Cdc, 2012). No Brasil, em 2005, o Ministério da Saúde divulgou um boletim eletrônico epidemiológico mostrando as DTA no período de 1999-2004, sendo que dos 581 casos de surto que tiveram o agente etiológico investigado, 202 casos (34,7%) foram causados por *Salmonella spp* (Svs, 2005). A infecção geralmente se inicia pela ingestão de comida contaminada, onde a *Salmonella* ingerida se espalha rapidamente ao longo do trato gastrointestinal (TGI), invadindo a mucosa ao longo do intestino. Após essa invasão, a *Salmonella* coloniza a lâmina própria e placas de Peyer, onde essa bactéria rapidamente invade células como macrófagos, células dendríticas e neutrófilos (Eckmann e Kagnoff, 2001).

O gênero *Salmonella* é composto de duas espécies: *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*, sendo que esta última é dividida em seis subespécies que são bioquimicamente diferenciadas em serovares. No caso da *Salmonella enterica*, existem dois serovares, o Tifoïdal (que compreende *S. Typhi* e *S. Paratyphi*) e o serovar não-tifoïdal (*S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*) (Hurley *et al.*, 2014).

No que diz respeito à *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, é um bacilo Gram-negativo que induz uma forte gastroenterite em humanos, e forte infecção sistêmica muito similar à febre tifoïde em camundongos (Wick, 2004). Durante a infecção pela *Salmonella*, PAMPs e DAMPs ativam o sistema imune levando ao influxo de macrófagos e neutrófilos ao tecido intestinal, resultando também, na secreção de várias citocinas inflamatórias como IL-8, IFN- γ , IL-1 β , TNF- α (De Jong *et al.*, 2012; Hurley *et al.*, 2014). Quando a *Salmonella* infecta os macrófagos teciduais, o pH ácido e a privação nutricional do fagossomo induz a expressão de fatores de virulência pela bactéria que a protegem da morte intracelular, tornando os macrófagos reservatórios na infecção (Helaine *et al.*, 2014). Durante este processo os macrófagos ativados liberam quimioquinas para o recrutamento de neutrófilos, célula que possui vasta gama de PRRs, que conseguem reconhecer PAMPs da

Salmonella enterica serovar Typhimurium (como LPS) e assim, realizar seus mecanismos microbicidas para contribuir com a eliminação desse patógeno (Tükel *et al.*, 2006).

2. CONCLUSÕES

Demonstramos que o hormônio esteroide DHEA pode conferir ao neutrófilo uma maior resistência à infecção pela *S. Typhimurium*, visto que mesmo em concentração fisiológica, o DHEA aumenta a capacidade fagocítica e microbicida dos PMNs.

O tratamento com DHEA resultou em redução das quimiocinas IL-8 e MIP-1 β , importante proteínas responsáveis pela quimiotaxia de células como neutrófilos, monócitos e macrófagos ao foco inflamatório. Em contraste, o DHEA favoreceu uma tendência de aumento da secreção da interleucina-4, importante citocina já descrita como ativadora de neutrófilos, que pode estar auxiliando no processo de eliminação desta bactéria Gram-negativa e também na regulação na síntese e expressão de importantes citocinas como IL-8.

Além disto, o DHEA favoreceu um aumento da IL-4 na razão IFN- γ /IL-4, mostrando que é possível que o esteroide esteja favorecendo uma polarização da resposta imune para o padrão Th2.

Em resposta ao estímulo com LPS, o tratamento com DHEA resultou em redução da produção de TNF- α , IL-8 e tendência de redução de MIP-1 α e MIP-1 β , mostrando que, assim como no estímulo com a bactéria, o DHEA está modulando a resposta imunológica de modo a favorecer o controle da inflamação exacerbada..

Por fim, mostramos que a *S. Typhimurium* é um estímulo suficiente para desencadear os mecanismos efetores de produção de EROs e NET, porém, o tratamento com DHEA não influenciou nestes processos.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; H, L. A.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 7^a. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 592.

ABBAS, A. K.; LITCHMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 7^a. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 592.

ABRAMS, D. I. et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA) effects on HIV replication and host immunity: a randomized placebo-controlled study. **AIDS Res Hum Retroviruses**, v. 23, n. 1, p. 77-85, Jan 2007. ISSN 0889-2229. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17263636> >.

ALLOLIO, B.; ARLT, W. DHEA treatment: myth or reality? **Trends Endocrinol Metab**, v. 13, n. 7, p. 288-94, Sep 2002. ISSN 1043-2760. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12163230> >.

AMULIC, B. et al. Neutrophil function: from mechanisms to disease. **Annu Rev Immunol**, v. 30, p. 459-89, 2012. ISSN 1545-3278. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22224774> >.

ANDUS, T. et al. Patients with refractory Crohn's disease or ulcerative colitis respond to dehydroepiandrosterone: a pilot study. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 17, n. 3, p. 409-14, Feb 2003. ISSN 0269-2813. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12562454> >.

ARAGHINIKNAM, M. et al. Antioxidant activity of dioscorea and dehydroepiandrosterone (DHEA) in older humans. **Life Sci**, v. 59, n. 11, p. PL147-57, 1996. ISSN 0024-3205. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8795709> >.

ARLT, W.; HEWISON, M. Hormones and immune function: implications of aging. **Aging Cell**, v. 3, n. 4, p. 209-16, Aug 2004. ISSN 1474-9718. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15268754> >.

BARKHAUSEN, T. et al. Dehydroepiandrosterone administration modulates endothelial and neutrophil adhesion molecule expression in vitro. **Crit Care**, v. 10, n. 4, p. R109, 2006. ISSN 1466-609X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16859502> >.

BEN-NATHAN, D.; PADGETT, D. A.; LORIA, R. M. Androstenediol and dehydroepiandrosterone protect mice against lethal bacterial infections and lipopolysaccharide toxicity. **J Med Microbiol**, v. 48, n. 5, p. 425-31, May 1999. ISSN 0022-2615. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10229539> >.

BOBER, L. A. et al. IL-4 induces neutrophilic maturation of HL-60 cells and activation of human peripheral blood neutrophils. **Clin Exp Immunol**, v. 99, n. 1, p. 129-36, Jan 1995. ISSN 0009-9104. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7529148> >.

BOEY, H. et al. Interleukin-4 is a neutrophil activator. **J Allergy Clin Immunol**, v. 83, n. 5, p. 978-84, May 1989. ISSN 0091-6749. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2541192> >.

BONGIOVANNI, B. et al. Effect of cortisol and/or DHEA on THP1-derived macrophages infected with Mycobacterium tuberculosis. **Tuberculosis (Edinb)**, v. 95, n. 5, p. 562-9, Sep 2015. ISSN 1873-281X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26099547> >.

BORREGAARD, N. Neutrophils, from marrow to microbes. **Immunity**, v. 33, n. 5, p. 657-70, Nov 2010. ISSN 1097-4180. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21094463> >.

BORREGAARD, N.; COWLAND, J. B. Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. **Blood**, v. 89, n. 10, p. 3503-21, May 1997. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9160655> >.

BORREGAARD, N. et al. Stimulus-dependent secretion of plasma proteins from human neutrophils. **J Clin Invest**, v. 90, n. 1, p. 86-96, Jul 1992. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1378856> >.

BORREGAARD, N.; SØRENSEN, O. E.; THEILGAARD-MÖNCH, K. Neutrophil granules: a library of innate immunity proteins. **Trends Immunol**, v. 28, n. 8, p. 340-5, Aug 2007. ISSN 1471-4906. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17627888> >.

BRANDT, E. et al. IL-4 production by human polymorphonuclear neutrophils. **J Leukoc Biol**, v. 68, n. 1, p. 125-30, Jul 2000. ISSN 0741-5400. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10914499> >.

BRANZK, N.; PAPAYANNOPOULOS, V. Molecular mechanisms regulating NETosis in infection and disease. **Semin Immunopathol**, v. 35, n. 4, p. 513-30, Jul 2013. ISSN 1863-2300. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23732507> >.

BRAT, D. J.; BELLAIL, A. C.; VAN MEIR, E. G. The role of interleukin-8 and its receptors in gliomagenesis and tumoral angiogenesis. **Neuro Oncol**, v. 7, n. 2,

p. 122-33, Apr 2005. ISSN 1522-8517. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15831231> >.

BRINKMANN, V. et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. **Science**, v. 303, n. 5663, p. 1532-5, Mar 2004. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15001782> >.

BURTON, N. A. et al. Disparate impact of oxidative host defenses determines the fate of Salmonella during systemic infection in mice. **Cell Host Microbe**, v. 15, n. 1, p. 72-83, Jan 2014. ISSN 1934-6069. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24439899> >.

BUTCHER, S. K. et al. Senescence in innate immune responses: reduced neutrophil phagocytic capacity and CD16 expression in elderly humans. **J Leukoc Biol**, v. 70, n. 6, p. 881-6, Dec 2001. ISSN 0741-5400. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11739550> >.

_____. Raised cortisol:DHEAS ratios in the elderly after injury: potential impact upon neutrophil function and immunity. **Aging Cell**, v. 4, n. 6, p. 319-24, Dec 2005. ISSN 1474-9718. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16300484> >.

BYRD, A. S. et al. An extracellular matrix-based mechanism of rapid neutrophil extracellular trap formation in response to *Candida albicans*. **J Immunol**, v. 190, n. 8, p. 4136-48, Apr 2013. ISSN 1550-6606. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23509360> >.

CASSATELLA, M. A. Neutrophil-derived proteins: selling cytokines by the pound. **Adv Immunol**, v. 73, p. 369-509, 1999. ISSN 0065-2776. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10399011> >.

CATANIA, R. A. et al. Dehydroepiandrosterone restores immune function following trauma-haemorrhage by a direct effect on T lymphocytes. **Cytokine**, v. 11, n. 6, p. 443-50, Jun 1999. ISSN 1043-4666. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10346984> >.

CDC, C. F. D. C. A. P. Pathogens causing US foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths, 2000–2008. 2012. Acesso em: 07 de Janeiro.

CELEC, P.; STÁRKA, L. Dehydroepiandrosterone - is the fountain of youth drying out? **Physiol Res**, v. 52, n. 4, p. 397-407, 2003. ISSN 0862-8408. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12899651> >.

CHANG, D. M. et al. Dehydroepiandrosterone suppresses interleukin 10 synthesis in women with systemic lupus erythematosus. **Ann Rheum Dis**, v. 63, n. 12, p. 1623-6, Dec 2004. ISSN 0003-4967. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15547086> >.

CHATTERJEE, P. et al. Regulation of the Anti-Inflammatory Cytokines Interleukin-4 and Interleukin-10 during Pregnancy. **Front Immunol**, v. 5, p. 253, 2014. ISSN 1664-3224. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24904596> >.

CHRISTEFF, N. et al. Relationship between sex steroid hormone levels and CD4 lymphocytes in HIV infected men. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v. 104, n. 2, p. 130-6, 1996. ISSN 0947-7349. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8740936> >.

CLSI, C. A. L. S. I. **Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes microbianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico: Norma Aprovada - Sexta Edição**. 23 2003.

DE JONG, H. K. et al. Host-pathogen interaction in invasive Salmonellosis. **PLoS Pathog**, v. 8, n. 10, p. e1002933, 2012. ISSN 1553-7374. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23055923> >.

DRESCHER, B.; BAI, F. Neutrophil in viral infections, friend or foe? **Virus Res**, v. 171, n. 1, p. 1-7, Jan 2013. ISSN 1872-7492. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23178588> >.

DU, C. et al. Stimulation of Th2 response by high doses of dehydroepiandrosterone in KLH-primed splenocytes. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 226, n. 11, p. 1051-60, Dec 2001. ISSN 1535-3702. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11743142> >.

DUPRÉ-CROCHET, S.; ERARD, M.; NÜBE, O. ROS production in phagocytes: why, when, and where? **J Leukoc Biol**, v. 94, n. 4, p. 657-70, Oct 2013. ISSN 1938-3673. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23610146> >.

EBELING, P.; KOIVISTO, V. A. Physiological importance of dehydroepiandrosterone. **Lancet**, v. 343, n. 8911, p. 1479-81, Jun 1994. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7911183> >.

ECKMANN, L.; KAGNOFF, M. F. Cytokines in host defense against Salmonella. **Microbes Infect**, v. 3, n. 14-15, p. 1191-200, 2001 Nov-Dec 2001. ISSN 1286-4579. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11755407> >.

EHRlich, P.; LAZARUS, A. **Hystology of the blood**

Normal and Pathological. London: Cambridge: at the university press, 1900.

FAURSCHOU, M.; BORREGAARD, N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. **Microbes Infect**, v. 5, n. 14, p. 1317-27, Nov 2003. ISSN 1286-4579. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14613775> >.

FENLON, L. A.; SLAUCH, J. M. Phagocyte roulette in Salmonella killing. **Cell Host Microbe**, v. 15, n. 1, p. 7-8, Jan 2014. ISSN 1934-6069. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24439894> >.

FUCHS, T. A. et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. **J Cell Biol**, v. 176, n. 2, p. 231-41, Jan 2007. ISSN 0021-9525. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17210947> >.

GILTAY, E. J. et al. Effects of dehydroepiandrosterone administration on disease activity in patients with rheumatoid arthritis. **Br J Rheumatol**, v. 37, n. 6, p. 705-6, Jun 1998. ISSN 0263-7103. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9667635> >.

GIRARD, D.; PAQUIN, R.; BEAULIEU, A. D. Responsiveness of human neutrophils to interleukin-4: induction of cytoskeletal rearrangements, de novo protein synthesis and delay of apoptosis. **Biochem J**, v. 325 (Pt 1), p. 147-53, Jul 1997. ISSN 0264-6021. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9224640> >.

GORDON, G.; MACKOW, M. C.; LEVY, H. R. On the mechanism of interaction of steroids with human glucose 6-phosphate dehydrogenase. **Arch Biochem Biophys**, v. 318, n. 1, p. 25-9, Apr 1995. ISSN 0003-9861. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7726568> >.

GUTIÉRREZ, G. et al. Dehydroepiandrosterone inhibits the TNF-alpha-induced inflammatory response in human umbilical vein endothelial cells. **Atherosclerosis**, v. 190, n. 1, p. 90-9, Jan 2007. ISSN 0021-9150. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16574124> >.

HACHICHA, M. et al. Regulation of chemokine gene expression in human peripheral blood neutrophils phagocytosing microbial pathogens. **J Immunol**, v. 160, n. 1, p. 449-54, Jan 1998. ISSN 0022-1767. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9552003> >.

HARDY, R.; COOPER, M. S. Adrenal gland and bone. **Arch Biochem Biophys**, v. 503, n. 1, p. 137-45, Nov 2010. ISSN 1096-0384. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20542010> >.

HAZELDINE, J.; ARLT, W.; LORD, J. M. Dehydroepiandrosterone as a regulator of immune cell function. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 120, n. 2-3, p. 127-36, May 2010. ISSN 1879-1220. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20060904> >.

HAZELDINE, J. et al. Impaired neutrophil extracellular trap formation: a novel defect in the innate immune system of aged individuals. **Aging Cell**, v. 13, n. 4, p. 690-8, Aug 2014. ISSN 1474-9726. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24779584> >.

HELAINÉ, S. et al. Internalization of Salmonella by macrophages induces formation of nonreplicating persisters. **Science**, v. 343, n. 6167, p. 204-8, Jan 2014. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24408438> >.

HINSON, J. P.; RAVEN, P. W. DHEA deficiency syndrome: a new term for old age? **J Endocrinol**, v. 163, n. 1, p. 1-5, Oct 1999. ISSN 0022-0795. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10495400> >.

HURLEY, D. et al. Salmonella-host interactions - modulation of the host innate immune system. **Front Immunol**, v. 5, p. 481, 2014. ISSN 1664-3224. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25339955> >.

HÄGER, M.; COWLAND, J. B.; BORREGAARD, N. Neutrophil granules in health and disease. **J Intern Med**, v. 268, n. 1, p. 25-34, Jul 2010. ISSN 1365-2796. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20497300> >.

IZUMO, K. et al. Dehydroepiandrosterone increased oxidative stress in a human cell line during differentiation. **Free Radic Res**, v. 43, n. 10, p. 922-31, Oct 2009. ISSN 1029-2470. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19680996> >.

JACOBSON, M. A. et al. Decreased serum dehydroepiandrosterone is associated with an increased progression of human immunodeficiency virus infection in men with CD4 cell counts of 200-499. **J Infect Dis**, v. 164, n. 5, p. 864-8, Nov 1991. ISSN 0022-1899. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1682393> >.

JAILLON, S. et al. Neutrophils in innate and adaptive immunity. **Semin Immunopathol**, v. 35, n. 4, p. 377-94, Jul 2013. ISSN 1863-2300. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23553214> >.

KASPERSKA-ZAJAC, A. E. et al. Dehydroepiandrosterone in therapy of allergic diseases. **Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov**, v. 3, n. 3, p. 211-3, Nov 2009. ISSN 1872-213X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19663774> >.

KAUFMANN, S. H. Immunology's foundation: the 100-year anniversary of the Nobel Prize to Paul Ehrlich and Elie Metchnikoff. **Nat Immunol**, v. 9, n. 7, p. 705-12, Jul 2008. ISSN 1529-2916. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18563076> >.

KELLY-WELCH, A.; HANSON, E. M.; KEEGAN, A. D. Interleukin-4 (IL-4) pathway. **Sci STKE**, v. 2005, n. 293, p. cm9, Jul 2005. ISSN 1525-8882. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16030287> >.

KENNEDY, A. D.; DELEO, F. R. Neutrophil apoptosis and the resolution of infection. **Immunol Res**, v. 43, n. 1-3, p. 25-61, 2009. ISSN 0257-277X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19066741> >.

KIM, S. K. et al. Effect of dehydroepiandrosterone on lipopolysaccharide-induced interleukin-6 production in DH82 cultured canine macrophage cells. **J Reprod Immunol**, v. 70, n. 1-2, p. 71-81, Jun 2006. ISSN 0165-0378. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16677716> >.

KLEBANOFF, S. J. Myeloperoxidase: friend and foe. **J Leukoc Biol**, v. 77, n. 5, p. 598-625, May 2005. ISSN 0741-5400. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15689384> >.

KOHALMY, K. et al. Dehydroepiandrosterone induces human CYP2B6 through the constitutive androstane receptor. **Drug Metab Dispos**, v. 35, n. 9, p. 1495-501, Sep 2007. ISSN 0090-9556. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17591676> >.

KOLACZKOWSKA, E.; KUBES, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nat Rev Immunol**, v. 13, n. 3, p. 159-75, Mar 2013. ISSN 1474-1741. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23435331> >.

KOZIOL-WHITE, C. J. et al. DHEA-S inhibits human neutrophil and human airway smooth muscle migration. **Biochim Biophys Acta**, v. 1822, n. 10, p. 1638-42, Oct 2012. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22771498> >.

KROBOTH, P. D. et al. DHEA and DHEA-S: a review. **J Clin Pharmacol**, v. 39, n. 4, p. 327-48, Apr 1999. ISSN 0091-2700. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10197292> >.

KUMAR, V.; SHARMA, A. Neutrophils: Cinderella of innate immune system. **Int Immunopharmacol**, v. 10, n. 11, p. 1325-34, Nov 2010. ISSN 1878-1705. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20828640> >.

LABRIE, F. et al. Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgen metabolites during aging. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 82, n. 8, p. 2396-402, Aug 1997. ISSN 0021-972X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9253307> >.

_____. DHEA and its transformation into androgens and estrogens in peripheral target tissues: intracrinology. **Front Neuroendocrinol**, v. 22, n. 3, p. 185-212, Jul 2001. ISSN 0091-3022. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11456468> >.

LAPPONI, M. J. et al. Regulation of neutrophil extracellular trap formation by anti-inflammatory drugs. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 345, n. 3, p. 430-7, Jun 2013. ISSN 1521-0103. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23536315> >.

LEE, W. L.; HARRISON, R. E.; GRINSTEIN, S. Phagocytosis by neutrophils. **Microbes Infect**, v. 5, n. 14, p. 1299-306, Nov 2003. ISSN 1286-4579. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14613773> >.

LIEBERMAN, S. An abbreviated account of some aspects of the biochemistry of DHEA, 1934-1995. **Ann N Y Acad Sci**, v. 774, p. 1-15, Dec 1995. ISSN 0077-8923. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8597450> >.

LIU, D.; DILLON, J. S. Dehydroepiandrosterone activates endothelial cell nitric-oxide synthase by a specific plasma membrane receptor coupled to Galpha(i2,3). **J Biol Chem**, v. 277, n. 24, p. 21379-88, Jun 2002. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11934890> >.

LUONG, T. T.; LEE, C. Y. Overproduction of type 8 capsular polysaccharide augments Staphylococcus aureus virulence. **Infect Immun**, v. 70, n. 7, p. 3389-95, Jul 2002. ISSN 0019-9567. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12065477> >.

MANINGER, N. et al. Neurobiological and neuropsychiatric effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate (DHEAS). **Front**

Neuroendocrinol, v. 30, n. 1, p. 65-91, Jan 2009. ISSN 1095-6808. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19063914> >.

MATSUDA, A. et al. Dehydroepiandrosterone modulates toll-like receptor expression on splenic macrophages of mice after severe polymicrobial sepsis. **Shock**, v. 24, n. 4, p. 364-9, Oct 2005. ISSN 1073-2322. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16205322> >.

MAYADAS, T. N.; CULLERE, X.; LOWELL, C. A. The multifaceted functions of neutrophils. **Annu Rev Pathol**, v. 9, p. 181-218, 2014. ISSN 1553-4014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24050624> >.

MCDONALD, B.; KUBES, P. Cellular and molecular choreography of neutrophil recruitment to sites of sterile inflammation. **J Mol Med (Berl)**, v. 89, n. 11, p. 1079-88, Nov 2011. ISSN 1432-1440. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21751029> >.

_____. Neutrophils and intravascular immunity in the liver during infection and sterile inflammation. **Toxicol Pathol**, v. 40, n. 2, p. 157-65, 2012. ISSN 1533-1601. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22105645> >.

MEJÍA, S. P. et al. Human neutrophils produce extracellular traps against *Paracoccidioides brasiliensis*. **Microbiology**, v. 161, n. Pt 5, p. 1008-17, May 2015. ISSN 1465-2080. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25701733> >.

MENEZES, G. B. et al. Sensing sterile injury: opportunities for pharmacological control. **Pharmacol Ther**, v. 132, n. 2, p. 204-14, Nov 2011. ISSN 1879-016X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21763344> >.

MITCHELL, L. E. et al. Evidence for an association between dehydroepiandrosterone sulfate and nonfatal, premature myocardial infarction in males. **Circulation**, v. 89, n. 1, p. 89-93, Jan 1994. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8281699> >.

MUKAIDA, N. et al. Novel mechanism of glucocorticoid-mediated gene repression. Nuclear factor-kappa B is target for glucocorticoid-mediated interleukin 8 gene repression. **J Biol Chem**, v. 269, n. 18, p. 13289-95, May 1994. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8175759> >.

NAUSEEF, W. M.; BORREGAARD, N. Neutrophils at work. **Nat Immunol**, v. 15, n. 7, p. 602-11, Jul 2014. ISSN 1529-2916. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24940954> >.

NEELI, I. et al. Regulation of extracellular chromatin release from neutrophils. **J Innate Immun**, v. 1, n. 3, p. 194-201, 2009. ISSN 1662-8128. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20375577> >.

NESTLER, J. E. Regulation of human dehydroepiandrosterone metabolism by insulin. **Ann N Y Acad Sci**, v. 774, p. 73-81, Dec 1995. ISSN 0077-8923. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8597485> >.

NORDENFELT, P.; TAPPER, H. Phagosome dynamics during phagocytosis by neutrophils. **J Leukoc Biol**, v. 90, n. 2, p. 271-84, Aug 2011. ISSN 1938-3673. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21504950> >.

NORTON, J. A. et al. Cushing's syndrome. **Curr Probl Surg**, v. 38, n. 7, p. 488-545, Jul 2001. ISSN 0011-3840. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11427876> >.

NOURSHARGH, S.; ALON, R. Leukocyte migration into inflamed tissues. **Immunity**, v. 41, n. 5, p. 694-707, Nov 2014. ISSN 1097-4180. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25517612> >.

OBERBECK, R. et al. Dehydroepiandrosterone decreases mortality rate and improves cellular immune function during polymicrobial sepsis. **Crit Care Med**, v. 29, n. 2, p. 380-4, Feb 2001. ISSN 0090-3493. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11246320> >.

OBERBECK, R.; KOBBE, P. Dehydroepiandrosterone (DHEA): a steroid with multiple effects. Is there any possible option in the treatment of critical illness? **Curr Med Chem**, v. 17, n. 11, p. 1039-47, 2010. ISSN 1875-533X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20156161> >.

OLESEN, C. M. et al. Mechanisms behind efficacy of tumor necrosis factor inhibitors in inflammatory bowel diseases. **Pharmacol Ther**, Jan 2016. ISSN 1879-016X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26808166> >.

PAPAYANNOPOULOS, V. et al. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps. **J Cell Biol**, v. 191, n. 3, p. 677-91, Nov 2010. ISSN 1540-8140. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20974816> >.

PARKER, H. et al. Myeloperoxidase associated with neutrophil extracellular traps is active and mediates bacterial killing in the presence of hydrogen peroxide. **J Leukoc Biol**, v. 91, n. 3, p. 369-76, Mar 2012. ISSN 1938-3673. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22131345> >.

PERNER, A.; NIELSEN, S. E.; RASK-MADSEN, J. High glucose impairs superoxide production from isolated blood neutrophils. **Intensive Care Med**, v. 29, n. 4, p. 642-5, Apr 2003. ISSN 0342-4642. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12552364> >.

PHILLIPSON, M.; KUBES, P. The neutrophil in vascular inflammation. **Nat Med**, v. 17, n. 11, p. 1381-90, 2011. ISSN 1546-170X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22064428> >.

PICHERT, A. et al. Functional aspects of the interaction between interleukin-8 and sulfated glycosaminoglycans. **Biomatter**, v. 2, n. 3, p. 142-8, 2012 Jul-Sep 2012. ISSN 2159-2535. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23507865> >.

PILLAY, J. et al. In vivo labeling with ²H₂O reveals a human neutrophil lifespan of 5.4 days. **Blood**, v. 116, n. 4, p. 625-7, Jul 2010. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20410504> >.

PILSCZEK, F. H. et al. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus*. **J Immunol**, v. 185, n. 12, p. 7413-25, Dec 2010. ISSN 1550-6606. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21098229> >.

POWELL, J. M.; SONNENFELD, G. The effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) on in vitro spleen cell proliferation and cytokine production. **J Interferon Cytokine Res**, v. 26, n. 1, p. 34-9, Jan 2006. ISSN 1079-9907. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16426146> >.

PÉREZ, A. R.; BOTTASSO, O.; SAVINO, W. The impact of infectious diseases upon neuroendocrine circuits. **Neuroimmunomodulation**, v. 16, n. 2, p. 96-105, 2009. ISSN 1423-0216. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19212129> >.

QUINN, M. T.; AMMONS, M. C.; DELEO, F. R. The expanding role of NADPH oxidases in health and disease: no longer just agents of death and destruction. **Clin Sci (Lond)**, v. 111, n. 1, p. 1-20, Jul 2006. ISSN 0143-5221. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16764554> >.

QUINTANAR, J. L.; GUZMÁN-SOTO, I. Hypothalamic neurohormones and immune responses. **Front Integr Neurosci**, v. 7, p. 56, 2013. ISSN 1662-5145. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23964208> >.

RACCHI, M.; BALDUZZI, C.; CORSINI, E. Dehydroepiandrosterone (DHEA) and the aging brain: flipping a coin in the "fountain of youth". **CNS Drug Rev**, v. 9, n. 1, p. 21-40, 2003. ISSN 1080-563X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12595910> >.

RADFORD, D. J. et al. Dehydroepiandrosterone sulfate directly activates protein kinase C-beta to increase human neutrophil superoxide generation. **Mol Endocrinol**, v. 24, n. 4, p. 813-21, Apr 2010. ISSN 1944-9917. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20172962> >.

REGE, J.; RAINEY, W. E. The steroid metabolome of adrenarche. **J Endocrinol**, v. 214, n. 2, p. 133-43, Aug 2012. ISSN 1479-6805. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22715193> >.

REGELSON, W.; LORIA, R.; KALIMI, M. Dehydroepiandrosterone (DHEA)--the "mother steroid". I. Immunologic action. **Ann N Y Acad Sci**, v. 719, p. 553-63, May 1994. ISSN 0077-8923. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8010623> >.

REMIJSEN, Q. et al. Dying for a cause: NETosis, mechanisms behind an antimicrobial cell death modality. **Cell Death Differ**, v. 18, n. 4, p. 581-8, Apr 2011. ISSN 1476-5403. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21293492> >.

_____. Neutrophil extracellular trap cell death requires both autophagy and superoxide generation. **Cell Res**, v. 21, n. 2, p. 290-304, Feb 2011. ISSN 1748-7838. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21060338> >.

REY, A. D. et al. Endocrine and cytokine responses in humans with pulmonary tuberculosis. **Brain Behav Immun**, v. 21, n. 2, p. 171-9, Feb 2007. ISSN 0889-1591. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16890403> >.

RIPP, S. L. et al. Induction of CYP3A expression by dehydroepiandrosterone: involvement of the pregnane X receptor. **Drug Metab Dispos**, v. 30, n. 5, p. 570-5, May 2002. ISSN 0090-9556. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11950789> >.

RUTKOWSKI, K. et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA): hypes and hopes. **Drugs**, v. 74, n. 11, p. 1195-207, Jul 2014. ISSN 0012-6667. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25022952> >.

SAWALHA, A. H.; KOVATS, S. Dehydroepiandrosterone in systemic lupus erythematosus. **Curr Rheumatol Rep**, v. 10, n. 4, p. 286-91, Aug 2008. ISSN 1534-6307. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18662508> >.

SCAPINI, P. et al. The neutrophil as a cellular source of chemokines. **Immunol Rev**, v. 177, p. 195-203, Oct 2000. ISSN 0105-2896. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11138776> >.

SCHWARTZ, A. G.; PASHKO, L. L. Dehydroepiandrosterone, glucose-6-phosphate dehydrogenase, and longevity. **Ageing Res Rev**, v. 3, n. 2, p. 171-87, Apr 2004. ISSN 1568-1637. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15177053> >.

SHEPPARD, F. R. et al. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation. **J Leukoc Biol**, v. 78, n. 5, p. 1025-42, Nov 2005. ISSN 0741-5400. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16204621> >.

STANDIFORD, T. J. et al. IL-4 inhibits the expression of IL-8 from stimulated human monocytes. **J Immunol**, v. 145, n. 5, p. 1435-9, Sep 1990. ISSN 0022-1767. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2200823> >.

STANTON, R. C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival. **IUBMB Life**, v. 64, n. 5, p. 362-9, May 2012. ISSN 1521-6551. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22431005> >.

STEINBERG, B. E.; GRINSTEIN, S. Unconventional roles of the NADPH oxidase: signaling, ion homeostasis, and cell death. **Sci STKE**, v. 2007, n. 379, p. pe11, Mar 2007. ISSN 1525-8882. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17392241> >.

STRAUB, R. H. et al. Serum dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate are negatively correlated with serum interleukin-6 (IL-6), and DHEA inhibits IL-6 secretion from mononuclear cells in man in vitro: possible link between endocrinosenescence and immunosenescence. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 83, n. 6, p. 2012-7, Jun 1998. ISSN 0021-972X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9626133> >.

SUAREZ, G. V. et al. HIV-TB coinfection impairs CD8(+) T-cell differentiation and function while dehydroepiandrosterone improves cytotoxic antitubercular immune responses. **Eur J Immunol**, v. 45, n. 9, p. 2529-41, Sep 2015. ISSN 1521-4141. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26047476> >.

SUN, Y. et al. Treatment of osteoporosis in men using dehydroepiandrosterone sulfate. **Chin Med J (Engl)**, v. 115, n. 3, p. 402-4, Mar 2002. ISSN 0366-6999. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11940375> >.

SUZUKI, T. et al. Dehydroepiandrosterone enhances IL2 production and cytotoxic effector function of human T cells. **Clin Immunol Immunopathol**, v. 61, n. 2 Pt 1, p. 202-11, Nov 1991. ISSN 0090-1229. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1833106> >.

SVS, S. D. V. E. S. **Boletim eletrônico epidemiológico - Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004** 2005.

TAMASI, V. et al. Modulation of receptor phosphorylation contributes to activation of peroxisome proliferator activated receptor alpha by dehydroepiandrosterone and other peroxisome proliferators. **Mol Pharmacol**, v. 73, n. 3, p. 968-76, Mar 2008. ISSN 1521-0111. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18079279> >.

TAUB, D. D. Neuroendocrine interactions in the immune system. **Cell Immunol**, v. 252, n. 1-2, p. 1-6, 2008 Mar-Apr 2008. ISSN 1090-2163. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18619587> >.

TCHERNOF, A.; LABRIE, F. Dehydroepiandrosterone, obesity and cardiovascular disease risk: a review of human studies. **Eur J Endocrinol**, v. 151, n. 1, p. 1-14, Jul 2004. ISSN 0804-4643. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15248817> >.

TOFTS, P. S. et al. Doubts concerning the recently reported human neutrophil lifespan of 5.4 days. **Blood**, v. 117, n. 22, p. 6050-2; author reply 6053-4, Jun 2011. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21636720> >.

TRAISH, A. M. et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA)--a precursor steroid or an active hormone in human physiology. **J Sex Med**, v. 8, n. 11, p. 2960-82; quiz 2983, Nov 2011. ISSN 1743-6109. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22032408> >.

TÜKEL, C. et al. Neutrophil influx during non-typhoidal salmonellosis: who is in the driver's seat? **FEMS Immunol Med Microbiol**, v. 46, n. 3, p. 320-9, Apr 2006. ISSN 0928-8244. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16553804> >.

VAN BRUGGEN, R. et al. Complement receptor 3 and Toll-like receptor 4 act sequentially in uptake and intracellular killing of unopsonized *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by human neutrophils. **Infect Immun**, v. 75, n. 6, p. 2655-60, Jun 2007. ISSN 0019-9567. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17353285> >.

VAN DYKEN, S. J.; LOCKSLEY, R. M. Interleukin-4- and interleukin-13-mediated alternatively activated macrophages: roles in homeostasis and disease. **Annu Rev Immunol**, v. 31, p. 317-43, 2013. ISSN 1545-3278. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23298208> >.

VAN VOLLENHOVEN, R. F.; ENGLEMAN, E. G.; MCGUIRE, J. L. An open study of dehydroepiandrosterone in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum**, v. 37, n. 9, p. 1305-10, Sep 1994. ISSN 0004-3591. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7945493> >.

VILLAREAL, D. T.; HOLLOSZY, J. O.; KOHRT, W. M. Effects of DHEA replacement on bone mineral density and body composition in elderly women and men. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 53, n. 5, p. 561-8, Nov 2000. ISSN 0300-0664. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11106916> >.

WANG, L. et al. Dehydroepiandrosterone improves murine osteoblast growth and bone tissue morphometry via mitogen-activated protein kinase signaling pathway independent of either androgen receptor or estrogen receptor. **J Mol Endocrinol**, v. 38, n. 4, p. 467-79, Apr 2007. ISSN 1479-6813. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17446236> >.

WANG, Y. et al. Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. **J Cell Biol**, v. 184, n. 2, p. 205-13, Jan 2009. ISSN 1540-8140. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19153223> >.

WAUGH, D. J.; WILSON, C. The interleukin-8 pathway in cancer. **Clin Cancer Res**, v. 14, n. 21, p. 6735-41, Nov 2008. ISSN 1078-0432. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18980965> >.

WEBB, S. J. et al. The biological actions of dehydroepiandrosterone involves multiple receptors. **Drug Metab Rev**, v. 38, n. 1-2, p. 89-116, 2006. ISSN 0360-2532. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16684650> >.

WERTHEIM, W. A. et al. Regulation of neutrophil-derived IL-8: the role of prostaglandin E2, dexamethasone, and IL-4. **J Immunol**, v. 151, n. 4, p. 2166-75, Aug 1993. ISSN 0022-1767. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8345201> >.

WICK, M. J. Living in the danger zone: innate immunity to Salmonella. **Curr Opin Microbiol**, v. 7, n. 1, p. 51-7, Feb 2004. ISSN 1369-5274. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15036140> >.

WILLIAMS, P. J.; JONES, R. H.; RADEMACHER, T. W. Reduction in the incidence and severity of collagen-induced arthritis in DBA/1 mice, using exogenous dehydroepiandrosterone. **Arthritis Rheum**, v. 40, n. 5, p. 907-11, May 1997. ISSN 0004-3591. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9153553> >.

WINSAUER, C. et al. Cellular sources of pathogenic and protective TNF and experimental strategies based on utilization of TNF humanized mice. **Cytokine Growth Factor Rev**, v. 25, n. 2, p. 115-23, Apr 2014. ISSN 1879-0305. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24405806> >.

YIPP, B. G.; KUBES, P. NETosis: how vital is it? **Blood**, v. 122, n. 16, p. 2784-94, Oct 2013. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24009232> >.

YOUSEFI, S. et al. Viable neutrophils release mitochondrial DNA to form neutrophil extracellular traps. **Cell Death Differ**, v. 16, n. 11, p. 1438-44, Nov 2009. ISSN 1476-5403. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19609275> >.