

Avaliação do transporte mucociliar em traqueias de cobaias tireoidectomizadas quimicamente sensibilizadas e desafiadas à ovalbumina

Evaluation of mucociliary transport in trachea of guinea pigs chemically thyroidectomized challenged and sensitized to ovalbumin

Thiago Brasileiro de Vasconcelos^{1,4}; Klévia Ribeiro de Andrade²; Cássio Fortes de Castro³; Vasco Pinheiro Diógenes Bastos²

¹ Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil

² Centro Universitário Estácio do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil

³ Hospital Haroldo Juaçaba - Instituto do Câncer do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil

⁴ Autor para correspondência (*Author for correspondence*): thiagobvasconcelos@hotmail.com

Resumo

O presente estudo foi realizado a fim de mensurar o transporte mucociliar em traquéias de cobaias tireoidectomizadas quimicamente sensibilizadas e desafiadas a ovalbumina. A tireoidectomia foi realizada através da administração de propiltiouracil na água de beber durante um período de seis semanas. Os animais foram sensibilizados ativamente por meio de injeções intraperitoneais de ovalbumina, sendo utilizados 21 a 50 dias após a sensibilização. No grupo desafiado aconteceram duas sessões sequências de inalação de 15 minutos (1 mg/mL e 5 mg/mL) 24 horas antes dos experimentos. Para isso, os animais foram anestesiados e fixados em decúbito dorsal, injetado dois microlitros de uma solução gelatinosa na traquéia do animal e após 2 minutos, a traqueia foi aberta e foi medido o transporte mucociliar com um paquímetro. No grupo controle as cobaias *naïve* apresentaram um transporte mucociliar de $0,68 \pm 0,07$ cm, sensibilizado de $0,72 \pm 0,12$ cm e desafiado de $0,26 \pm 0,06$ cm ($p < 0,01$, desafiado *vs.* *naïve*). No grupo tireoidectomizado os cobaias *naïve* obtiveram um transporte mucociliar de $1,31 \pm 0,15$ cm, sensibilizado $0,33 \pm 0,03$ cm e desafiado $0,21 \pm 0,03$ cm ($p < 0,05$; desafiado *vs.* sensibilizado ou *naïve*). Conclui-se que a tireoidectomia química não favoreceu uma interferência no transporte mucociliar dos animais sensibilizados ou desafiados.

Palavras-chave: transporte mucociliar, asma, hipotireoidismo.

Abstract

This study was conducted to measure the mucociliary transport in trachea of guinea pigs thyroidectomy chemically sensitized and challenged to ovalbumin. The thyroidectomy was realized by administration of propylthiouracil in the drinking water for a period of six weeks. The animals were actively sensitized by intraperitoneal injections of ovalbumin, and utilized 21 to 50 days after sensitization. In the challenged group two sessions of inhalation of 15 minutes (1 mg/mL and 5 mg/mL) 24 hours before the experiments. For this, the animals were anesthetized and fixed in supine position, injected two microliters of a gelatinous solution in the trachea of the animals and after 2 minutes, the trachea was opened and measured the mucociliary transport with a caliper. In the control group (*naïve*) the guinea pigs showed a mucociliary clearance of 0.68 ± 0.07 cm, sensitized 0.72 ± 0.12 cm and challenged 0.26 ± 0.06 cm, ($p < 0.01$; challenged *vs.* *naïve* group). In the thyroidectomized group the *naïve* guinea pigs presented an mucociliary clearance of 1.31 ± 0.15 cm, sensitized 0.33 ± 0.03 cm and challenged 0.21 ± 0.03 cm ($p < 0.05$; challenged *vs.* sensitized and *naïve* groups). We conclude that chemical thyroidectomy did not favor a interference in the mucociliary transport of animals sensitized or challenged.

Keywords: mucociliary clearance, asthma, hypothyroidism.

INTRODUÇÃO

Os pulmões constituem uma grande superfície epitelial que está em contato direto com o ar ambiente. Por isso, sempre correm o risco de estarem expostos a patógenos ou a substâncias potencialmente danosas (Chilvers & O'callaghan, 2000). Para manter-se livre desses perigos, o epitélio traqueal conta com vários recursos, dentre os quais o *clearance* mucociliar é o mais importante (Sarmiento, 2010).

Esse *clearance* é responsável pela limpeza do muco, que é uma solução visco-elástica que existe na forma de uma fina camada sobre a superfície do epitélio respiratório. É composto principalmente de sais, proteínas, glicoproteínas (mucinas) e água e tem por função principal aprisionar as matérias inaladas que não foram filtradas no nariz, além de umedecer e aquecer o ar inspirado (Postiaux, 2004; Trindade et al., 2007).

Tanto doenças como exposição a poluentes estão relacionados ao mal funcionamento do transporte mucociliar como, por exemplo, asma, fibrose cística, doença pulmonar obstrutiva crônica, discinesia ciliar primária, síndrome de Kartagener entre outras (Chilvers & O'callaghan, 2000).

A hiperatividade da tireóide, denominada hipertireoidismo, tem sido relacionada à exacerbação do quadro de asma. Esse fato provavelmente deve estar associado a superprodução de imunoglobulina E (IgE) (Manzoli et al., 1999) ou de ânions superóxido nos macrófagos e neutrófilos (Jono et al., 1998).

A asma é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas que acomete cerca de 5 a 10% da população (Lowhagen, 1999) e caracteriza-se clinicamente por broncoespasmo de caráter geralmente reversível, sibilo, tosse, aperto no peito e dispnéia (Mauad et al., 2000; Aidé et al., 2001). A hipoxemia é comum na asma e pode ser exacerbada por isso, é preciso a administração de broncodilatadores (Griffiths & Evans, 2004).

Segundo Lichtman et al. (2012), a asma pode ser desencadeada após a exposição inicial do indivíduo a um determinado alérgeno. Após esse primeiro contato, imunoglobulinas E (IgE) são produzidas e estas fixam-se sobre a superfície de mastócitos, eosinófilos, plaquetas e macrófagos. No segundo contato do indivíduo com o antígeno, a IgE liga-se ao mesmo e promove a liberação de histamina pelos mastócitos. Ressalta-se que a histamina atua como um potente mediador inflamatório e promove a broncoconstrição, associado com a liberação de prostaglandinas e leucotrienos (Cotran et al, 2000).

Sousa (2001) comprovou que a tireoidectomia química, utilizando propiltiouracil e/ou cirúrgica, em ratos sensibilizados a ovalbumina (OVA) ocasionou diminuição da resposta contrátil traqueal à OVA e no número de células no lavado bronco-alveolar, embora não reduziram a hiperreatividade para o carbacol. Os estudos de Manzoli et al. (1999) e Sousa (2001), confirmaram que a supressão da atividade da tireóide está relacionada a redução da sensibilidade antigênica (ovoalbumina) provavelmente por diminuição dos níveis de IgE.

Embora seja incansavelmente estudado, o mecanismo fisiopatológico da asma ainda não foi totalmente elucidado. Vários mediadores ainda permanecem desconhecidos ou não possuem um papel bem estabelecido.

Assim, o presente estudo teve como objetivo detectar possíveis alterações do transporte mucociliar em traqueias de cobaias tireoidectomizadas quimicamente, sensibilizadas e desafiadas a ovoalbumina.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizadas cobaias machos (n = 36), da espécie *Cavia porcellus*, pesando entre 300-500g no início dos experimentos, provenientes do Biotério do Centro Universitário Estácio do Ceará (Estácio/FIC). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biofísica, Fisiologia e Farmacologia da mesma instituição. Para tanto, os animais foram alojados no Biotério em gaiolas plásticas com tampas metálicas gradeadas de (54 x 20 x 40 cm) durante período de quatro semanas. Durante o período de alojamento, a manipulação das cobaias limitou-se a troca de ração, água, limpeza e higienização das gaiolas. Durante o período de alojamento os animais tiveram livre acesso à água e ração. Os experimentos foram iniciados após a aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará (Protocolo nº: 81/08).

Delineamento experimental

Os animais foram divididos em 3 grupos (*naive*, sensibilizado e desafiado) contendo 6 animais em cada, em seguida, foi mensurado o transporte mucociliar no grupo de animais saudáveis (sem hipotireoidismo; n = 18) e no grupo de animais com hipotireoidismo (n = 18).

Experimentos *in vivo*:

1. Métodos de sensibilização e desafio antigênico

Com intuito de promover a sensibilização (n = 6), os animais foram submetidos à injeções intraperitoneais de ovalbumina (*chicken egg albumin, grade II*, Sigma Chemical®, St Louis, USA; 10 mg/kg, 3 aplicações nos dias 1, 3 e 5), de acordo com adaptação do método descrito por Weinreich; Undem (1987). Os animais foram utilizados 21 a 50 dias após a sensibilização, conforme descrito na literatura (Bastos et al., 2009; Pinho et al. 2012).

Para o grupo desafiado (n = 6), um grupo de animais sensibilizados foram submetidos (no 23º dia após o período de sensibilização) ao

desafio antigênico (broncoprovação) por inalação. O desafio ocorreu 24 horas antes dos experimentos *in vivo*. Para tal os animais foram colocados em uma outra caixa de acrílico com tamanho reduzido (30 x 16,6 x 19,8 cm). Na parte superior da caixa existe uma tampa removível para introdução dos animais. Nas porções laterais existem dois orifícios: um para acoplar o nebulizador ultra-sônico e o outro para servir de escape, evitando a reinalação do ar expirado.

A ovalbumina inalada foi diluída em solução salina (NaCl 0,9%), o período de duração da inalação durou um total de 30 minutos: 15 minutos na concentração de 1 mg/mL e 15 minutos na concentração de 5 mg/mL. Os animais *naive* (n = 6) não foram submetidos a nenhum tipo de tratamento.

2. Protocolo do desenvolvimento do hipotireoidismo

A tireoidectomia química foi realizada através da administração oral de propiltiouracil (Sigma Chemical®, St Louis, USA) diluído diariamente na água de beber dos animais, durante um período de seis semanas (42 dias). A concentração na água foi de 0,05%. O controle deste grupo foi constituído de animais *naives* (sem tratamento prévio) que ingeriram apenas água, sem propiltiouracil. Antes e após o período de administração de propiltiouracil, foi coletada uma amostra de sangue pela punção do plexo retro-orbital dos animais para realização do exame de dosagem de triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), para constatar a tireoidectomia química. As concentrações plasmáticas de T3 e T4 foram determinadas pela técnica da quimioluminescência (*Access Immunoassay System*, Sanofi Diagnostics Pasteur Inc., Chaska, MN, USA.), usando-se kit comercial, segundo o protocolo do fabricante.

Experimentos *in vitro*:

1. Mensuração da velocidade mucociliar

Os animais foram anestesiados com hidrato de cloral a 40% (1 mL/kg; *i.p.*), após a verificação da anestesia através do pinçamento da pata e ausência de resposta foi considerado

anestesiado o animal, e pronto para o início do procedimento cirúrgico. Os animais foram fixados em posição horizontal e decúbito dorsal, para que não haja maior risco de erro durante a medição do percurso do muco.

Após serem colocados na posição descrita anteriormente, foram injetados com uma microseringa em um ponto da traquéia, 2µl de uma solução gelatinosa a 0,3g/ml contendo 0,5% do corante azul de Evans. Decorridos dois minutos, as traqueias foram abertas e, a partir do ponto de injeção, foi medido o transporte mucociliar através de um paquímetro (Kimoto et al., 1999). Após o processo de mensuração do transporte mucociliar, os animais foram eutanasiados (exsanguinação pela artéria carótida esquerda) e suas carcaças foram encaminhadas para coleta seletiva sob responsabilidade da instituição.

Análise dos dados

A análise dos dados foi realizada com auxílio do software SigmaPlot versão 11 (Systat Software Inc., San Jose, USA), utilizando a Análise de Variância (ANOVA), seguido pelo teste de Holm Sidak e t de Student ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Ao ser verificado o Transporte Mucociliar (TMC) no grupo de animais *naive* ($n = 6$), foi detectado um percurso de $0,68 \pm 0,07$ cm; nos animais sensibilizados ($n = 6$) à ovalbumina foi de $0,72 \pm 0,12$ cm e nos sensibilizados / desafiados ($n = 6$) o TMC foi de $0,26 \pm 0,06$ cm ($P < 0,01$; *one-way* ANOVA; seguido pelo teste de Holm-Sidak; desafiado vs. sensibilizados ou *naive*) (Figura 1).

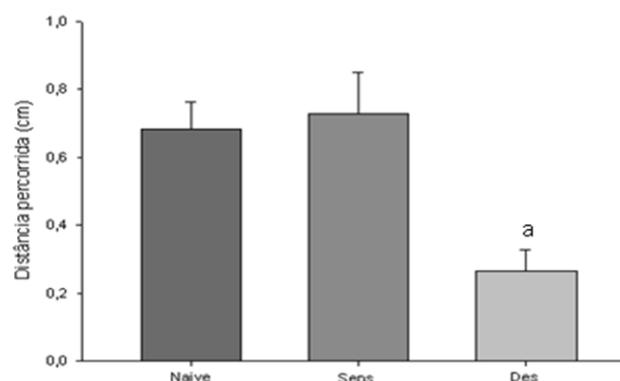


Figura 1. Efeito da sensibilização e desafio antigênico no transporte mucociliar em traqueias de cobaias. Figura da distância percorrida pelo marcador (azul de Evans) instilado na luz da traquéia de cobaias anestesiados *naive* ($n = 6$), sensibilizados ($n = 6$) ou desafiados ($n = 6$) ao antígeno sensibilizante (OVA). Os animais desafiados foram submetidos à inalação de OVA 24h antes dos experimentos. Os animais *naive* inalaram solução salina. Dados apresentados em média \pm EPM. ^a $p < 0,01$ (*one-way* ANOVA; seguido pelo teste de Holm-Sidak) em relação ao grupo *naive* e sensibilizado.

Figure 1. Effect of antigen challenge and sensitization in tracheal mucociliary transport of guinea pigs. Figure the distance traversed by a marker (Evans blue) instilled on the luminal surface of the guinea pig trachea *naive* ($n = 6$), sensitized ($n = 6$) or challenged ($n = 6$) by antigen (OVA). The challenged animals were submitted to inhalation of OVA 24 hours before the experiments. The *naive* animals inhaled saline. Data presented as mean \pm SEM. ^a $p < 0.01$ (*one-way* ANOVA, followed by the Holm-Sidak test) compared to *naive* and sensitized group.

Na análise inicial de T3 e T4 ($n = 18$), foram verificados valores de: T3 = $1,16 \pm 0,07$ nmol/l e de T4 = $28,40 \pm 3,24$ nmol/l, e após o processo de tireoidectomia química, esses hormônios apresentaram os seguintes valores: T3 = $0,93 \pm 0,04$ nmol/l e T4 = $18,69 \pm 1,11$ nmol/l. As alterações nos níveis de T3 não foram significativas, porém ocorreu redução significativa ($p < 0,05$; teste t de Student pareado) nos valores de T4.

Quando avaliado o transporte mucociliar do grupo de animais sensibilizados e desafiados submetidos ao processo de tireoidectomia química, os animais *naive* ($n = 6$) tiveram um percurso de $1,31 \pm 0,15$ cm nesse transporte,

os sensibilizados ($n = 6$) de $0,33 \pm 0,03$ cm e os sensibilizados/desafiados ($n = 6$) de $0,21 \pm 0,03$ cm. O grupo de animais sensibilizados apresentou uma redução significativa ($p < 0,01$; *one-way* ANOVA; seguido pelo teste de Holm-Sidak) no transporte mucociliar com relação ao grupo de animais *naive*, essa redução significativa ($p < 0,05$; *one-way* ANOVA; seguido pelo teste de Holm-Sidak), com relação ao grupo *naive*, também foi evidenciada em relação ao grupo de animais desafiados (Figura 2).

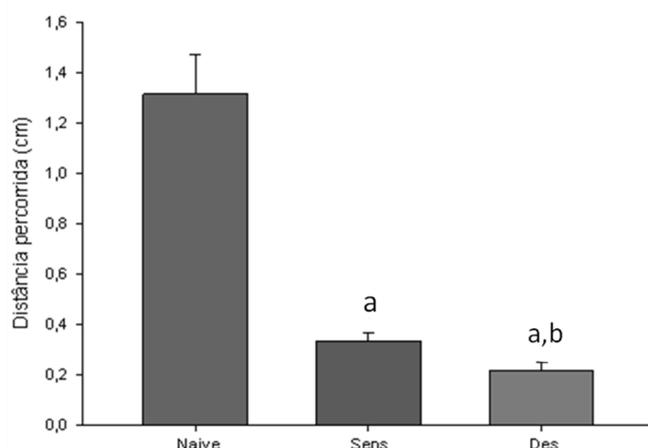


Figura 2. Efeito da tireoidectomia química e da sensibilização e desafio antigênico no transporte mucociliar em traqueias de cobaias. Figura da distância percorrida pelo marcador (azul de Evans) instilado na luz da traquéia de cobaias tireoidectomizadas quimicamente divididas nos grupos *naive* ($n = 6$) sensibilizado ($n = 6$) ou desafiados ($n = 6$) ao antígeno sensibilizante (OVA). Os animais desafiados foram submetidos à inalação de OVA 24h antes dos experimentos. Os animais *naive* ($n = 6$) inalaram solução salina e não sofreram tireoidectomia química. Dados apresentados em média \pm EPM. ^a $p < 0,01$ (*one-way* ANOVA; seguido pelo teste de Holm-Sidak) em relação ao grupo *naive*. ^b $p < 0,05$ (*one-way* ANOVA; seguido pelo teste de Holm-Sidak) em relação ao grupo sensibilizado.

Figure 2. Effect of chemical thyroidectomy in tracheal mucociliary transport of guinea pigs submitted to antigen challenge. Figure the distance traveled by the marker (Evans blue) instilled on the luminal surface of the guinea pig trachea in animals *naive* ($n = 6$) or chemical thyroidectomy - sensitized ($n = 6$) or challenged ($n = 6$) by antigen (OVA). The challenged

animals were submitted to inhalation of OVA 24 hours before the experiments. The *naive* animals ($n = 6$) inhaled saline and suffered no chemical thyroidectomy. Data presented as mean \pm SEM. ^a $p < 0,01$ (*one-way* ANOVA, followed by the Holm-Sidak test) compared to *naive* group. ^b $p < 0,05$ (*one-way* ANOVA, followed by the Holm-Sidak test) compared to sensitized group.

DISCUSSÃO

Este estudo foi desenvolvido com o intuito de explorar como se comporta o transporte mucociliar em animais asmáticos com hipotireoidismo. Estudos apontam que animais com deficiência nos hormônios tireoidianos apresentaram: diminuição das células inflamatórias no lavado bronco-alveolar (Manzoli et al., 1999) e impedimento da hiperreatividade traqueal (Sousa, 2001).

O epitélio traqueal tem a função principal de aprisionar as matérias inaladas que não foram filtradas no nariz, além de umidificar e aquecer o ar inspirado (Lopez & Laurentys-Medeiros, 2004; Sarmiento, 2010).

Saraiva-Barros (2002), utilizando processo de sensibilização antigênica de cobaias, observou ao estudo histológico que nas traqueias dos animais sensibilizados ocorre discreta congestão de vasos sanguíneos; em animais desafiados, ocorre uma diminuição das células caliciformes, pequeno exudato inflamatório crônico na lâmina própria, presença discreta de mastócitos, acúmulo de eosinófilos no lúmen traqueal e lesão do epitélio ciliar.

Os trabalhos de Cheng et al. (2001); Bastos (2001); Sousa (2001); Saraiva-Barros (2002); Sousa et al. (2011) destacam que a ovoalbumina é uma substância capaz de provocar alterações do tecido traqueal de forma semelhante à encontrada na asma, conforme destacado no presente estudo, já que os animais desafiados à ovalbumina apresentaram redução do transporte mucociliar, comprovando os efeitos deletérios da asma no tecido traqueal.

Esses dados confirmam os estudos de Saraiva-Barros (2002); Chilvers et al. (2003); Pinho (2007), Bastos et al. (2011) e Vasconcelos et

al. (2011), os quais confirmam que várias doenças e/ou a exposição a poluentes estão relacionadas ao mal funcionamento do transporte mucociliar, tais como a asma, fibrose cística e doença pulmonar obstrutiva crônica. Na asma, Saraiva-Barros (2002), Pinho (2007) e Bastos et al. (2009) destacam que, em parte, o dano direto ao epitélio da via aérea se deve a sua destruição ciliar.

O estudo do transporte do muco, por ação ciliar e por tosse, pode ser realizado tanto *in vivo* como *in vitro*. A vantagem dos métodos *in vitro* está em permitir o isolamento das variáveis que se deseja estudar. Consegue-se, então, avaliar o epitélio ciliar, as propriedades físico-químicas do muco e o seu transporte como variáveis independentes, o que não é possível *in vivo* (Kimoto et al., 1999; Zanchet, 2003). Esses métodos são muito importantes principalmente no que tange à comprovação científica de técnicas de higiene brônquica ou de drogas mucolíticas, cujo produto final é a expectoração de muco (Zanchet et al., 2007). Em relação à utilização de cobaias nos experimento, é destacado na literatura a semelhança entre as cobaias e os seres humanos em relação às respostas contráteis e relaxantes a várias substâncias, ao envolvimento de mediadores químicos similares em respostas induzidas por antígenos (Collier & James, 1967) e às alterações histopatológicas observadas ao nível dos pulmões após o desafio antigênico (Kallos & Kallos, 1984; Bastos, 2001).

Zacharisen & Fink (2000) destacam que a asma é uma das doenças mais comuns na atualidade e o tratamento medicamentoso atual pode ocasionar efeitos adversos como tremores, taquicardia, nervosismo, palpitações e dispnéia, destacam ainda que tais alterações podem ser exacerbadas em pacientes que apresentam hipertireoidismo.

Partindo desse pressuposto, no presente estudo os animais pertencentes ao grupo hipotireoidismo - confirmado pela redução significativa no valor de T4 e ausência de diferenças significativas no valor de T3 (Serakides et al., 2002), apresentaram redução

da distância percorrida pelo muco nos grupos submetidos ao processo de sensibilização e/ou desafio antigênico. O fato desta redução no transporte mucociliar em traqueias de cobaias sensibilizadas com hipotireoidismo pode ser explicado por Serakides et al. (2002), no qual afirmam que a administração de propiltiouracil induz hiperplasia da tireóide. Essa alteração associada ao dano epitelial no processo de sensibilização podem ser fatores sinérgicos para esta redução.

Também destaca-se que a inflamação nas vias aéreas e a consequente alteração da quantidade e qualidade do muco secretado possam favorecer uma interferência no transporte mucociliar de traqueias de cobaias tireoidectomizadas submetidas à sensibilização e desafio antigênicos, o que parece não ter influência com relação à redução da hiperreatividade traqueal nos animais asmáticos com hipotireoidismo (Sousa, 2001). Manzolli et al. (1999) acrescentam que os animais com hipotireoidismo, induzido por propiltiouracil, apresentaram diminuição das células inflamatórias em animais asmáticos, provavelmente por um decréscimo na produção de IgE.

No entanto Nguyen & Luong (2004) destacam que em uma minoria de pacientes com hipertireoidismo tratados com o propiltiouracil pode ocorrer exacerbação de sintomas característicos do processo asmático, por exemplo, inflamação pulmonar e angustia respiratória. Os autores destacam que a asma induzida por propiltiouracil (PTU) é rara, sendo os sintomas ocasionados por um fenômeno de hipersensibilidade.

O estudo de Prata et al. (2011) destaca que em animais que mimetizam um quadro de asma, submetidos à tireoidectomia cirúrgica (glândulas tireoideas retiradas por meio de dissecação com cotonetes de algodão), o transporte mucociliar foi significativamente reduzido quando comparado ao grupo *naive*, tais achados corroboram com o presente estudo.

Vale ressaltar que vários fatores interferem na atividade ciliar, como a adenosina trifosfato (ATP) e o aumento intracelular de Ca^{2+} . Assim como, o aumento de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPC), calmodulina, óxido nítrico ou de inositol trifosfato (IP_3) incrementam a atividade ciliar e os Agonistas adrenérgicos β_2 e a atividade física aumentam a frequência de batimento ciliar, no entanto, o sono, pneumonias e a idade diminuem este batimento. A atividade ciliar é ainda modulada por mediadores químicos, transmissores autonômicos, hormônios, neuropeptídeos, umidade e temperatura; também é maior nas mulheres que nos homens (Chilvers & O'callaghan, 2000; Postiaux, 2004), por isso, o presente estudo deve ser analisado com cautela.

Será necessário a realização de novos estudos com o intuito de descobrir e desenvolver terapias direcionadas ao tratamento das doenças das vias aéreas (Voynow & Rubin, 2009).

CONCLUSÃO

O método de sensibilização e desafio foram efetivos, pois os animais demonstraram alteração no transporte mucociliar quando comparado ao grupo *naive*. Este estudo evidenciou que os animais sensibilizados ou desafiados com quadro de hipotireoidismo não apresentaram uma melhora no transporte mucociliar em animais que mimetizam um quadro de asma.

REFERÊNCIAS

AIDÉ, M. A. 2001. **Pneumologia**: aspectos clínicos e atuais. Rio de Janeiro: Editora Revinter.

CHENG, G.; UEDA, T.; SUGIYAMA, K.; TODA, M.; FUKUDA, T. CHENG, G. 2001. Compositional and functional changes of pulmonary surfactant in a guinea-pig model of chronic asthma. **Respir Medicine**, 95(3):180–

86.

CHILVERS M. A; O'CALLAGHAN, C. 2000. Local mucociliary defence mechanisms. **Paediatr Respir Rev**, 1(1):27–34.

CHILVERS, M. A.; RUTMAN, A.; O'CALLAGHAN, C. 2003. Ciliary beat pattern is associated with specific ultrastructural defects in primary ciliary dyskinesia. **J Allergy Clin Immunol**, 112(3):518-24.

COLLIER, H. O. J.; JAMES, G. W. L. 1967. Humoral factors affecting pulmonary inflammation during acute. Anaphylaxis in the guinea pig in vivo. **Br J Pharmacol Chemoter**, 30:283-301.

COTRAN, R. S; KUMAR, V.; COLLINS, T. 2000. **Patologia estrutural e funcional**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

BASTOS, V. P. D. 2001. **Sensibilização antigênica e resposta contráctil taquicinérgica em traquéias isoladas de cobaias**. 2001.168. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

BASTOS, V. P. D.; BRITO, T. S.; LIMA, F. J.; PINHO, J. P.; LAHLOU, S.; ABREU-MATOS, F. J.; SANTOS, A. A.; MAGALHÃES, P. J. C. 2009. Inhibitory effect of 1,8-cineole on guinea-pig airway challenged with ovalbumin involves a preferential action on electromechanical coupling. **Clin Exp Pharmacol Physiol.**, 36(11):1120-1126.

BASTOS, V. P. D.; GOMES, A. S.; LIMA, F. J. B.; BRITO, T. S.; SOARES, P. M. G.; PINHO, J. P. M.; SILVA, C. S.; SANTOS, A. A.; SOUZA, M. H. L. P.; MAGALHÃES, P. J. C. 2011. Inhaled 1,8-cineole reduces inflammatory parameters in airways of ovalbumin-challenged guinea pigs. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, 108(1):34–39.

GRIFFITHS, M. J. D.; EVANS, T. W. 2004. **Respiratory management in critical care**. London: BMJ Publishing Group.

- JONO, S.; NISHIZAWA, Y.; SHIOI, A.; MORII, H. 1998. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 increases in vitro vascular calcification by modulating secretion of endogenous parathyroid hormone-related peptide. **Circulation**, 29;98(13):1302-1306.
- KALLOS, P.; KALLOS, L. 1984. Experimental asthma in guinea pig revised. **Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.**, 73:77-85.
- KIMOTO, A.; SAITOU, M.; HIRANO, Y.; IWAI, T.; TOMIOKA, K.; MIYATA, K.; YAMADA, T. 1999. A new, simple method for measuring mucociliary clearance in guinea-pigs. **Pulm Pharmacol Ther**, 12(1):49-54.
- LICHTMAN, A. H.; ABBAS, A. K.; PILLAI, S. 2012. **Imunologia Celular e Molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Editora Campus.
- LOPEZ, M.; LAURENTYS-MEDEIROS, J. 2004. **Semiologia médica: as bases do diagnóstico clínico**. 5.ed. Rio de Janeiro: Revinter.
- LOWHAGEN, O. 1999. Asthma and asthma-like disorders. **Respir Medicine**, 93(12):851-55.
- MANZOLLI, S.; MACEDO-SOARES, M. F.; VIANNA, E. O.; SANNOMIYA, P. 1999. Allergic airway inflammation in hypothyroid rats. **J Allergy Clin Immunol**, 104(3Pt1):595-600.
- MAUAD, T.; SOUZA, A. S. L.; SALDIVA, P. H. N.; DOLHNIKOFF, M. 2000. Remodelamento brônquico na asma. **J. Pneumologia**, 26(2):91-8.
- NGUYEN, L. T.; LUONG, K. V. 2004. Propylthiouracil-induced asthma. **Allergy**, 59(8):889-90.
- PRATA, C. A., VASCONCELOS T.B, GOULART-FILHO, R. C. A.; BARROS, S. A.; SOUSA, C. T.; BASTOS, V. P. D. 2011. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 63., 2011, Goiânia: **Anais...** Goiânia: Universidade Federal de Goiás, UFG.
- PINHO, J. P. M. **Análise histopatológica do tecido epitelial da traquéia de cobaias submetidas a modelos de asma**. 2007. Monografia (Graduação em Fisioterapia) – Faculdade Integrada do Ceará, Fortaleza.
- PINHO, J. P.; SILVA, A. S.; PINHEIRO, B. G.; SOMBRA, I.; BAYMA, J. D. E. C.; LAHLOU, S.; SOUSA, P. J.; MAGALHÃES, P. J. 2012. Antinociceptive and antispasmodic effects of the essential oil of *Ocimum micranthum*: potential anti-inflammatory properties. **Planta Med**, 78(7):681-685.
- POSTIAUX, G. 2004. **Fisioterapia respiratória pediátrica: o tratamento guiado por ausculta pulmonar**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed.
- SARAIVA-BARROS, L. L. 2002. **Estudo histopatológico de traquéias isoladas ativamente sensibilizadas e desafiadas a ovalbumina**. 2002. Monografia (Iniciação Científica) – Faculdade Integrada do Ceará, Fortaleza.
- SARMENTO, G. J. V. 2010. **Fisioterapia respiratória no paciente crítico: rotinas clínicas**. 3.ed. Barueri: Manole.
- SERAKIDES, R.; NUNES, V. A.; SILVA, C. M.; RIBEIRO, A. F. C.; SERRA, G. V.; GOMES, M. G.; OCARINO, N. M. 2002. Influência do hipogonadismo na histomorfometria e função tireoidiana de ratas hipotireóideas. **Arq Bras Med Vet Zootec**, 54(5):473-77.
- SOUZA, C. T. 2001. **Resposta broncoconstritora e inflamatória após a supressão da atividade tireoideana em ratos**. 2001. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará.
- SOUZA, C. T.; BRITO, T. S.; LIMA, F. J.; SIQUEIRA, R. J.; MAGALHÃES, P. J.; LIMA, A. A.; SANTOS, A. A.; HAVT, A.

2011. Sildenafil decreases rat tracheal hyperresponsiveness to carbachol and changes canonical transient receptor potential gene expression after antigen challenge. **Braz J Med Biol Res.**,44(6):562-572.

TRINDADE, S. H. K.; MELLO-JÚNIOR, J. F.; MION, O. G.; LORENZI-FILHO, G., MACCHIONE, M.; GUIMARÃES, E. T.; SALDIVA, P. H. N. 2007. Métodos de estudo do transporte mucociliar. **Rev Bras Otorrinolaringol.**,73(5):704-712.

VASCONCELOS, T. B. ; PEREIRA, C. M. B. R. ; MATOS, A. P. C. ; SILVA, M. T. B. ; PINHO, J. P. M. ; BASTOS, V. P. D. 2011. Mensuração do transporte mucociliar e pressões pulmonares de cobaias após a inalação da fumaça do cigarro. In: ANIMAL LAB UECE, 3., 2011, Fortaleza: **Anais...** Fortaleza: EDUECE. v. 1. p. 34-34.

VOYNOW, J. A.; RUBIN, B. K. 2009. Mucins, mucus, and sputum. **Chest**,135(2):505-512.

WEINREICH, D.; UNDEM, B. J.1987. Immunological regulation of synaptic transmission in isolated guinea pig autonomic ganglia. **J. Clin. Invest.** 79(5):1529-1532.

ZACHARISEN, M. C.; FINK, J. N. 2000. Hyperthyroidism complicating asthma treatment. **Allergy Asthma Proc.** 21(2):71-74.

ZANCHET, R. C. 2003. Propriedades físicas e transporte do muco respiratório. **Rev Fisioter Brasil**, 4(2):129-132.

ZANCHET, R. C.; FEIJÓ, G.; GASTALDI, A. C.; JARDIM, J. R. 2007. O muco traqueobrônquico humano mantido em temperatura ambiente e suas propriedades físico-químicas. **J Brás Pneumol**, 33(1):57-61.

Recebido em 25 de setembro de 2014. Aprovado em 30 de julho de 2015.