

---

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA E  
SAÚDE DA CRIANÇA  
TESE DE DOUTORADO**

**MAURO HENRIQUE MORAES VARGAS**

**EFEITOS DO ESTRESSE PRÉ-NATAL SOBRE A FUNÇÃO  
PULMONAR E PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS EM  
CAMUNDONGOS EXPOSTOS A UM MODELO DE ASMA**

**PORTO ALEGRE  
2015**

---

---

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL-PUCRS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA  
DOUTORADO EM PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA

**EFEITOS DO ESTRESSE PRÉ-NATAL SOBRE A FUNÇÃO  
PULMONAR E PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS EM  
CAMUNDONGOS EXPOSTOS A UM MODELO DE ASMA**

Mauro Henrique Moraes Vargas

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina da  
PUCRS para obtenção de título de Doutor em Saúde da  
Criança.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Vinícius Fagundes Donadio.

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Márcio Condessa Pitrez.

Porto Alegre, 2015

---

---

## FICHA CATALOGRÁFICA

V297e Vargas, Mauro Henrique Moraes

Efeitos do estresse pré-natal sobre a função pulmonar e parâmetros inflamatórios em camundongos expostos a um modelo de asma / Mauro Henrique Moraes Vargas. Porto Alegre: PUCRS, 2015.

73 f.: il. tab. Inclui dois artigos científicos.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Vinícius Fagundes Donadio.  
Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Márcio Condessa Pitrez.

Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Pediatria e Saúde da Criança.

1. ESTRESSE PRÉ-NATAL. 2. FUNÇÃO PULMONAR E ASMA. 3. ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL. I. Donadio, Márcio Vinícius Fagundes. II. Pitrez, Paulo Márcio Condessa. III. Título.

CDD 618.24  
CDU 616.438 (043.2)  
NLM WQ 175

Isabel Merlo Crespo  
Bibliotecária CRB 10/1201

---

---

***Dedicatória***

*Aos meus pais, por todo amor, carinho e dedicação.*

*A todos que de alguma forma me ajudaram nesta longa caminhada e colaboraram com meu  
crescimento profissional.*

*“Tudo que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado”.*

---

---

## AGRADECIMENTOS

A toda minha família, em especial, aos meus pais por todo seu amor e apoio incondicional, por acreditarem que este sonho era possível. A minha mãe, Synara, que sempre esteve ao meu lado, mesmo estando longe, acreditou e lutou junto comigo para enfrentar cada obstáculo desta caminhada. Ao meu pai, Luiz Henrique, pelo suor e esforço para a realização deste sonho.

A minha namorada Luana Sepp, meu amor, obrigado por estar sempre ao meu lado. Por ter sido forte e ter suportado todas as dificuldades que enfrentamos nesses dois anos e alguns meses, a distância a saudade, só agente sabe o que passamos. Enfim, obrigado pela tua paciência e pelo teu amor. Te amo.

Ao meu avô Mauro, meu grande ídolo, meu segundo pai, que em todos os desafios que enfrentei em minha vida, sempre esteve ao meu lado me dando apoio e ajudando em tudo o que eu precisei.

A meu orientador, Dr. Márcio V. F. Donadio, primeiramente pela amizade, por ter me dado uma chance de entrar para o mundo da pesquisa e ter confiado em meu trabalho. Agradeço muito pela paciência, conhecimento passado, orientações e disponibilidade durante o mestrado. É um exemplo de profissional e de orientador.

Ao professor Dr. Paulo Marcio Condessa Pitrez meu co-orientador, por abrir as portas do seu laboratório e confiar em meu trabalho. Agradeço por todo o ensinamento passado, todo estímulo que passa a cada dia, por mostrar o quanto é fascinante a pesquisa e por ser essa pessoa maravilhosa com um enorme coração. Obrigado pelo ombro amigo e conselhos nos momentos mais difíceis que enfrentei.

Agradecimento especial a quatro pessoas. Ao meu grande amigo, Rodrigo Godinho de Souza, meu braço direito, por toda ajuda e auxílio dentro do laboratório e fora dele, por me

---

---

escutar e dividir meus problemas nos momentos difíceis que passei, pelos conselhos e “puxões de orelha” e por todos os momentos de alegria e gargalhadas que não foram poucas. Valeu Godinho. Ao meu grande amigo, Cristian Roncada, por toda força e ajuda que sempre me deu em tudo e também muitos momentos de descontração com muitas risadas. Valeu “Magnata”. A minha amiga Aline Andrea da Cunha, por toda a ajuda para a realização dos experimentos, pelos ensinamentos e pela amizade verdadeira que construímos. Obrigado “Tia”. A minha amiga Nailê Nuñez, por todas as nossas cirurgias juntos, todo aprendizado durante todo este período, pelas risadas e a amizade verdadeira. Galera vocês são demais, levarei todos para sempre em meu coração.

As bolsistas de iniciação científica que passaram durante este trabalho, Mayara, Bárbara, Natália, Bruna e Isadora, obrigado pela cooperação e esforço para a realização dos experimentos.

A todas as outras pessoas do laboratório de Respirologia Pediátrica, vulgo “Lab 13”, por toda ajuda fornecida durante todo esse tempo, Carol, Géssica, Josiane, Laíse, Samia, Moises. Obrigado pela amizade de todos.

A amigona Elis Mello, sempre ajudando de maneira rápida e eficiente.

A secretária do programa de pós-graduação, Carla Rothmann pelas dicas, informações e auxílios com a maior atenção durante todo o curso.

Ao CNPq, pela bolsa de doutorado.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que de alguma maneira tiveram uma contribuição para que este sonho se tornasse realidade.

---

---

## RESUMO

**Introdução:** Adversidades enfrentadas no período pré-natal podem estar implicadas na programação fetal e no surgimento de doenças na vida adulta. No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos do estresse neste período sobre o sistema respiratório.

**Objetivos:** Avaliar os efeitos do estresse pré-natal por contenção, em dois diferentes momentos da prenhez, sobre a função pulmonar e o perfil inflamatório em camundongos machos e fêmeas, expostos a um modelo de asma induzida por ovalbumina (OVA).

**Materiais e métodos:** Foram utilizados camundongos BALB/c machos e fêmeas divididos em três diferentes grupos controle (CON), estresse pré-natal a partir da 2<sup>o</sup> semana (PNS1) e estresse pré-natal na última semana (PNS2). A pesagem da prole foi feita em 3 diferentes momentos (dias 1, 10 e 21). Quando adultos, foi avaliado o comportamento de medo/ansiedade no campo aberto (entre o 50<sup>o</sup> e 54<sup>o</sup> dia). No 56<sup>o</sup> dia foi realizada a aplicação do modelo de asma por ovalbumina com posterior análise do teste de função pulmonar (resistência das vias aéreas, amortecimento do tecido e elastância), além da coleta de lavado broncoalveolar para contagem total e diferencial de células e avaliação de citocinas inflamatórias. O pulmão esquerdo foi retirado e processado para análise histológica.

**Resultados:** Houve diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) do número de entradas e tempo despendido no quadrante central somente no grupo PNS1 quando comparado aos controles. Melhora na função pulmonar das fêmeas nos parâmetros de resistência das vias aéreas, amortecimento do tecido e elastância pulmonar ( $p < 0,05$ ). Na contagem diferencial de células das fêmeas, o grupo PNS1 apresentou um aumento percentual significativo dos neutrófilos ( $p < 0,01$ ) e linfócitos ( $p < 0,05$ ) e uma diminuição significativa de eosinófilos ( $p < 0,05$ ), quando comparados ao grupo controle. Também houve diminuição das citocinas inflamatórias com redução significativa na secreção de IL-5 e IL-13 no LBA dos machos do grupo PNS1

---

---

( $p < 0,001$  e  $p < 0,01$ ) e PNS2 ( $p < 0,01$  e  $p < 0,01$ ), quando comparados com o grupo controle. Nas fêmeas houve uma redução significativa na secreção de IL-4, IL-5 e IL-13 nos grupos PNS1 ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,001$  e  $p < 0,01$ ) e PNS2 ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  e  $p < 0,05$ )

**Conclusão:** Os resultados deste estudo indicam que o estresse pré-natal, a partir da segunda semana de prenhez (PNS1), reduziu o impacto do desenvolvimento da asma em camundongos fêmeas na idade adulta, mostrando uma melhor função pulmonar e menor resposta inflamatória alérgica no pulmão.

**Palavras-Chave:** estresse pré-natal, função pulmonar e asma.

---

---

## ABSTRACT

**Introduction:** Adversities faced during the prenatal period can be related to the onset of diseases in adulthood. However, little is known about its effects on the respiratory system.

**Aims:** To assess the effects of restraint prenatal stress, in two different moments of pregnancy, on pulmonary function and inflammatory profile in male and female mice exposed to a ovalbumin (OVA) induced asthma model.

**Methods:** Male and female BALB/c mice were divided into 3 groups: control (CON), prenatal stress from the second week of pregnancy (PNS1) and prenatal stress on the last week of pregnancy (PNS2). Pups were weighted on 3 different moments (days 1, 10 and 21). As adults, the fear/anxiety behavior was evaluated in the open field (between days 50° and 54°). The ovalbumin-induced asthma model was performed at day 56, followed by the analysis of lung function (airway resistance, tissue damping and elastance), collection of bronchoalveolar lavage fluid, total and differential cell count and inflammatory cytokines evaluation. The left lung was removed and processed for histological analysis.

**Results:** There was a significant decrease ( $p<0.05$ ) in the number of entries and time spent in the central quadrant only in PNS1 group compared to controls. Females (PNS1) also presented an improvement in the lung function, measured as airway resistance, tissue damping and pulmonary elastance ( $p<0.05$ ). When female differential cell count was analyzed, PNS1 group showed a significant increase in the percentage of neutrophils ( $p<0.01$ ), lymphocytes ( $p<0.05$ ) and a significant decrease of eosinophils ( $p<0.05$ ) when compared to the control group. There was also a decrease in the BAL inflammatory cytokines, including a significant reduction in IL-5 and IL-13 in males of PNS1 ( $p<0.001$  and  $p<0.01$ ) and PNS2 ( $p<0.01$  and  $p<0.01$ ) when compared to controls. In females, a significant reduction

---

---

in the secretion of IL-4, IL-5 and IL-13 in both PNS1 ( $p<0.05$ ,  $p<0.001$  and  $p<0.01$ ) and PNS2 ( $p<0.01$ ,  $p<0.001$  and  $p<0.05$ ) were demonstrated.

**Conclusion:** The results of this study indicate that prenatal stress, from the second week of pregnancy (PNS1), reduces the impact of asthma development in adult female mice, showing an improved pulmonary function and a lower allergic inflammatory response in the lungs.

**Keywords:** prenatal stress, lung function and asthma.

---

---

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO III

<b>Figura 1.</b> Desenho experimental do estudo. ....	65
<b>Figura 2.</b> Efeitos do estresse pré-natal sobre o comportamento de medo/ansiedade no teste do campo aberto.....	66
<b>Figura 3.</b> Parâmetros da função pulmonar em animais expostos a um protocolo de indução de asma por ovalbumina.....	67
<b>Figura 4.</b> Contagem diferencial de células do lavado broncoalveolar expressa em percentual e análise qualitativa de infiltrado celular em cortes histológicos de pulmões de animais expostos a um protocolo de indução de asma.....	68
<b>Figura 5.</b> Painel das citocinas inflamatórias do lavado broncoalveolar (LBA) em animais expostos a um protocolo de indução de asma por ovalbumina.....	69

---

---

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

**Tabela 1.** Principais achados de estudos sobre efeitos do exercício físico em roedores adultos submetidos a algum tipo de estresse no período pré-natal..... 39

### CAPÍTULO III

**Tabela 1.** Contagem diferencial de células no lavado broncoalveolar (valores absolutos)..... 64

---

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ACTH</b>	Hormônio adenocorticotrófico
<b>CBA</b>	<i>Cytometer bead array</i>
<b>CRH</b>	Hormônio liberador de corticotrofina
<b>CTC</b>	Contagem total de células
<b>GM</b>	Receptores de glicocorticóides
<b>GR</b>	Receptores de mineralocorticóides
<b>HPA</b>	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
<b>IL</b>	Interleucina
<b>Ig</b>	Imunoglobulina
<b>i.n</b>	Intranasal
<b>i.p</b>	Intraperitoneal
<b>LBA</b>	Lavado broncoalveolar
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>OVA</b>	Ovalbumina
<b>PBS</b>	Tampão fosfato salino
<b>PEEP</b>	Pressão positiva expiratória final
<b>PNS 1</b>	Estresse pré-natal a partir do 8º dia da prenhez em dias intercalados até o nascimento
<b>PNS 2</b>	Estresse pré-natal a partir da última semana, todos os dias até o nascimento
<b>PVN</b>	Núcleo paraventricular
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>s.c</b>	Subcutânea
<b>TNF</b>	Fator de necrose tumoral

---

---

## SUMÁRIO

### CAPÍTULO I

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.2 OBJETIVOS.....</b>	<b>21</b>
1.2.1 Objetivo Geral .....	21
1.2.2 Objetivos Específicos .....	21
<b>1.3 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>22</b>

### CAPÍTULO II

<b>2 ARTIGO DE REVISÃO .....</b>	<b>27</b>
----------------------------------	-----------

### CAPITULO III

<b>3 ARTIGO ORIGINAL .....</b>	<b>42</b>
--------------------------------	-----------

### CAPITULO IV

<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>71</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>72</b>
<b>ANEXO 1. ....</b>	<b>73</b>

---

---

# CAPÍTULO I

---

## 1. INTRODUÇÃO

O estresse pode ser definido como uma perturbação do estado de homeostase. Hans Selye, em publicação na revista *Nature* em 1936, foi o primeiro autor a utilizar a palavra estresse para indicar o processo de “síndrome de adaptação geral”, na qual o organismo realiza um esforço para se adaptar as novas condições impostas por situações críticas(1).

O estresse pode ocorrer em resposta a influências externas adversas, estímulos internos ou externos, gerando um processo de adaptação ao ambiente proporcionado(2). Esses estímulos são denominados estressores, e a resposta desenvolvida pelo organismo é a reação ao estresse, a qual tem o objetivo de minimizar os danos para o organismo(3). Os estressores são todos os estímulos ou situações que fazem com que essa adaptação seja desencadeada, tais como estresse físico, químico, psicológico ou um conjunto de fatores emocionais, podendo ocorrer de forma aguda ou crônica(1). A resposta ao estresse consiste na ativação do sistema simpático e adrenomedular e do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA)(4). O eixo HPA possui função essencial para a vida, sendo o centro controlador e regulador do organismo, fazendo a conexão entre o sistema nervoso central (SNC) e o sistema hormonal. Este eixo responde ao estímulo estressor e auxilia o organismo a manter a homeostasia, além de ser essencial para a manutenção de diversas funções(5).

O eixo HPA é o responsável pela regulação da produção e secreção de corticosteroides, tanto em condições normais quanto de estresse. No hipotálamo, mais precisamente no núcleo paraventricular (PVN), ocorre a síntese do hormônio liberador de corticotrofina (CRH). Este é responsável por estimular a liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela pituitária anterior, que por sua vez solicita a produção e liberação de cortisol (corticosterona em roedores) no córtex da glândula suprarrenal. O cortisol modula a atividade do eixo HPA através da ativação de receptores de glicocorticóides

---

---

(GR) e mineralocorticóides (MR) no hipocampo, além de GR no PVN e pituitária anterior. Uma redução ou aumento nos níveis destes receptores (GR e MR) nestes locais pode resultar em alterações da atividade do eixo HPA (4, 6).

Visto que o início da vida é marcado por ser um período de alta plasticidade, o crescimento e o desenvolvimento do indivíduo são moldados de acordo com o ambiente no período fetal. O período pré-natal possui grande importância na maturação e desenvolvimento de diversos órgãos e sistemas(7-9). Assim, muitos estudos investigaram os efeitos de diferentes tipos de estresse durante o período pré-natal. Entre estes, podemos destacar o estresse por contenção(10) como sendo um dos modelos mais utilizados. Além deste, outros modelos também são bastante aplicados, como o estresse social(11), sonoro(12), calor(13) e frio(14), ou a associação de diferentes estressores.

Adversidades enfrentadas durante este período podem levar a programação fetal e possível surgimento de complicações ou doenças na vida adulta(15). Este processo, conhecido como *programming*, é definido com base no conceito de que fatores não genéticos possam agir precocemente tendo repercussões permanentes na re-organização de sistemas fisiológicos(15, 16). Além disso, dados epidemiológicos humanos, bem como estudos experimentais, indicam que os fatores ambientais no início da vida afetam diretamente o desenvolvimento e alteram permanentemente a função de alguns sistemas(17). Ainda, estudos realizados em animais demonstraram que o estresse pré-natal pode ter efeitos de programação tanto no desenvolvimento neurológico quanto na função do eixo HPA(18, 19).

Diferentes estudos tem mostrado que o estresse no período pré-natal pode ocasionar alterações como baixo peso ao nascimento, aumento da susceptibilidade a diabete mellitus tipo 2(17), alteração no comportamento de medo/ansiedade(20), predisposição a doenças cardiovasculares(21) e comprometimento no desenvolvimento e funcionamento de estruturas do SNC(22), entre outros. Tais alterações estão intimamente associadas a fatores como:

---

---

diferentes espécies utilizadas, o período gestacional variável, diferentes tipos de estressores, diferentes momentos na avaliação pós-natal, sexo e o mais importante que é o tempo de duração do estresse(23). Ainda, sabe-se que todos estes fatores, ou associação dos mesmos, possuem complexa relação com os desfechos que serão encontrados, podendo encontrar diferentes respostas em estudos similares.

O desenvolvimento do sistema respiratório em camundongos inicia-se cedo, por volta do 9º dia de prenhez(24). Possíveis alterações no período pré-natal podem levar ao *programming* deste sistema(12). Isso parece estar associado a modificação epigenética de genes que codificam proteínas envolvidas na regulação/ativação do eixo HPA. Tais efeitos desta ativação podem perdurar ao longo da vida podendo levar a modificações duradouras em diferentes sistemas(6). Ainda, existem evidências mostrando que o estresse no período pré-natal pode aumentar o recrutamento de eosinófilos para o pulmão, induzir uma maior produção de muco e hiperreatividade das vias aéreas, sendo estas características da asma(6, 12).

A asma é a doença crônica de maior prevalência entre crianças(25). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que 300 milhões de pessoas tem asma. Ainda, cerca de 250.000 mil pessoas morrem prematuramente a cada ano por consequências da asma(26).

A asma possui uma complexa interação entre fatores ambientais e componentes genéticos, resultando em um processo inflamatório crônico das vias aéreas, caracterizado por limitação do fluxo aéreo e hiperresponsividade brônquica, podendo se manifestar clinicamente como dispneia, sibilância, tosse e dor no peito(27). Destas, a inflamação brônquica exerce um papel central na fisiopatogenia da doença, principalmente pela ativação de linfócitos T-helper (Th) 2, que expressam citocinas que ativam a resposta alérgica, como interleucina (IL)-4, IL-5 e IL-13(28). A presença e atividade de eosinófilos, macrófagos,

---

mastócitos, imunoglobulina (Ig) E específica para alérgenos e linfócitos Th2 nas vias aéreas são características da doença, sendo a infiltração eosinofílica a característica mais marcante da asma(29). Tais processos são bem evidenciados nos achados histológicos desta doença, incluindo características como o espessamento da membrana basal do epitélio brônquico, hipertrofia e hiperplasia do músculo liso (broncoconstrição), aumento na produção de células caliciformes (produtoras de muco), alteração do depósito de colágeno na matriz extracelular e edema(28).

Diversos modelos animais têm sido utilizados por muitas décadas para tentar elucidar tanto fatores relacionados à fisiopatologia, como para o teste de novas terapias em doenças como a asma. O modelo de indução de asma por ovalbumina, visando avaliar respostas alérgicas das vias aéreas, é o mais utilizado em camundongos. Sabe-se que este modelo reproduz uma resposta clássica da asma, caracterizada por quantidades elevadas de IgE e eosinofilia. A linhagem BALB/c é uma das mais utilizadas, devido a sua fácil manipulação e sensibilização, e também por possuir uma genética detalhadamente conhecida(30).

Desta forma a presente tese apresenta um artigo de revisão e um artigo original intitulados: “Efeitos do exercício físico em roedores submetidos a estresse no período pré-natal” e “Efeito protetor do estresse pré-natal precoce na indução de asma em camundongos fêmeas adultas”.

---

**1.1 JUSTIFICATIVA**

Considerando a importância do período pré-natal para o desenvolvimento do sistema respiratório, o papel dos glicocorticoides na estimulação do desenvolvimento pulmonar e a carência de estudos sobre os efeitos em longo prazo que o estresse neste momento pode gerar, justifica-se a necessidade de estudos avaliando a aplicação de modelos de estresse em diferentes momentos do período gestacional e os seus efeitos na vida adulta.

---

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do estresse pré-natal sobre a função pulmonar e parâmetros inflamatórios em camundongos expostos a um modelo de asma.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

Avaliar os efeitos do estresse pré-natal realizado em dois momentos distintos do período gestacional sobre:

Avaliar os efeitos do estresse pré-natal realizado em dois momentos distintos do período gestacional sobre:

- parâmetros comportamentais de medo/ansiedade em camundongos machos e fêmeas.
  - a secreção de corticosterona em camundongos machos e fêmeas.
  - parâmetros de função pulmonar, em camundongos machos e fêmeas, expostos a um modelo de asma.
  - a produção de citocinas inflamatórias no lavado broncoalveolar, em camundongos machos e fêmeas, expostos a um modelo de asma.
  - o perfil celular do lavado broncoalveolar, em camundongos machos e fêmeas, expostos a um modelo de asma.
  - a histologia pulmonar, em camundongos machos e fêmeas, expostos a um modelo de asma.
-

---

**1.3 REFERÊNCIAS**

1. Chrousos GP. Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response. The 1997 Hans Selye Memorial Lecture. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1998;851:311-35. Epub 1998/07/21.
  2. Wright RJ. Stress and atopic disorders. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2005;116(6):1301-6. Epub 2005/12/13.
  3. Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature reviews Neuroscience*. 2009;10(6):397-409. Epub 2009/05/27.
  4. Glover V, O'Connor TG, O'Donnell K. Prenatal stress and the programming of the HPA axis. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 2010;35(1):17-22. Epub 2009/11/17.
  5. Eglinton KA, McMahon C, Austin MP. Stress in pregnancy and infant HPA axis function: conceptual and methodological issues relating to the use of salivary cortisol as an outcome measure. *Psychoneuroendocrinology*. 2007;32(1):1-13. Epub 2006/11/25.
  6. Moisiadis VG, Matthews SG. Glucocorticoids and fetal programming part 1: Outcomes. *Nature reviews Endocrinology*. 2014;10(7):391-402. Epub 2014/05/28.
  7. Davis EP, Glynn LM, Waffarn F, Sandman CA. Prenatal maternal stress programs infant stress regulation. *Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines*. 2011;52(2):119-29. Epub 2010/09/22.
  8. Hauser J, Feldon J, Pryce CR. Direct and dam-mediated effects of prenatal dexamethasone on emotionality, cognition and HPA axis in adult Wistar rats. *Hormones and behavior*. 2009;56(4):364-75. Epub 2009/07/21.
  9. Hodyl NA, Krivanek KM, Lawrence E, Clifton VL, Hodgson DM. Prenatal exposure to a pro-inflammatory stimulus causes delays in the development of the innate immune response to LPS in the offspring. *Journal of neuroimmunology*. 2007;190(1-2):61-71. Epub 2007/09/07.
-

10. Zuena AR, Mairesse J, Casolini P, Cinque C, Alema GS, Morley-Fletcher S, et al. Prenatal restraint stress generates two distinct behavioral and neurochemical profiles in male and female rats. *PloS one*. 2008;3(5):e2170. Epub 2008/05/15.
  11. Brunton PJ, Donadio MV, Yao ST, Greenwood M, Seckl JR, Murphy D, et al. 5alpha-Reduced neurosteroids sex-dependently reverse central prenatal programming of neuroendocrine stress responses in rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2015;35(2):666-77. Epub 2015/01/16.
  12. Pincus-Knackstedt MK, Joachim RA, Blois SM, Douglas AJ, Orsal AS, Klapp BF, et al. Prenatal stress enhances susceptibility of murine adult offspring toward airway inflammation. *J Immunol*. 2006;177(12):8484-92. Epub 2006/12/05.
  13. Sholomskas LM, Roche KL, Bloomer SA. Aging impairs induction of redox factor-1 after heat stress: a potential mechanism for heat-induced liver injury. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*. 2015;7(1):14-26. Epub 2015/06/13.
  14. Pan ZJ, Chen ZK. [Effects of cold-stress stimulation on filial growth and development of pregnant mice]. *Zhongguo ying yong sheng li xue za zhi = Zhongguo yingyong shenglixue zazhi = Chinese journal of applied physiology*. 2009;25(2):162-5. Epub 2009/05/01.
  15. Cottrell EC, Seckl JR. Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of adult disease. *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2009;3:19. Epub 2009/10/15.
  16. Harris A, Seckl J. Glucocorticoids, prenatal stress and the programming of disease. *Hormones and behavior*. 2011;59(3):279-89. Epub 2010/07/02.
  17. Welberg LA, Seckl JR. Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of the brain. *Journal of neuroendocrinology*. 2001;13(2):113-28. Epub 2001/02/13.
  18. Seckl JR, Meaney MJ. Glucocorticoid programming. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2004;1032:63-84. Epub 2005/01/29.
-

- 
19. Kapoor A, Dunn E, Kostaki A, Andrews MH, Matthews SG. Fetal programming of hypothalamo-pituitary-adrenal function: prenatal stress and glucocorticoids. *The Journal of physiology*. 2006;572(Pt 1):31-44. Epub 2006/02/14.
  20. Matthews SG. Antenatal glucocorticoids and programming of the developing CNS. *Pediatric research*. 2000;47(3):291-300. Epub 2000/03/10.
  21. Igosheva N, Klimova O, Anishchenko T, Glover V. Prenatal stress alters cardiovascular responses in adult rats. *The Journal of physiology*. 2004;557(Pt 1):273-85. Epub 2004/03/23.
  22. Baquedano E, Garcia-Caceres C, Diz-Chaves Y, Lagunas N, Calmarza-Font I, Azcoitia I, et al. Prenatal stress induces long-term effects in cell turnover in the hippocampus-hypothalamus-pituitary axis in adult male rats. *PloS one*. 2011;6(11):e27549. Epub 2011/11/19.
  23. Charil A, Laplante DP, Vaillancourt C, King S. Prenatal stress and brain development. *Brain research reviews*. 2010;65(1):56-79. Epub 2010/06/17.
  24. Warburton D, Schwarz M, Tefft D, Flores-Delgado G, Anderson KD, Cardoso WV. The molecular basis of lung morphogenesis. *Mechanisms of development*. 2000;92(1):55-81. Epub 2000/03/08.
  25. Holgate ST. A look at the pathogenesis of asthma: the need for a change in direction. *Discovery medicine*. 2010;9(48):439-47. Epub 2010/06/03.
  26. Bousquet J, Clark TJ, Hurd S, Khaltaev N, Lenfant C, O'Byrne P, et al. GINA guidelines on asthma and beyond. *Allergy*. 2007;62(2):102-12. Epub 2007/02/15.
  27. Maslan J, Mims JW. What is asthma? Pathophysiology, demographics, and health care costs. *Otolaryngologic clinics of North America*. 2014;47(1):13-22. Epub 2013/11/30.
  28. Lambrecht BN, Hammad H. The airway epithelium in asthma. *Nature medicine*. 2012;18(5):684-92. Epub 2012/05/09.
-

29. Kim YM, Kim YS, Jeon SG, Kim YK. Immunopathogenesis of allergic asthma: more than the th2 hypothesis. *Allergy, asthma & immunology research*. 2013;5(4):189-96. Epub 2013/07/03.
30. Zosky GR, Sly PD. Animal models of asthma. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2007;37(7):973-88. Epub 2007/06/22.
-