

Nuno Miguel Silva Soares

Gravidez e o Sistema Imunitário

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2014

Gravidez e o Sistema Imunitário

Nuno Miguel Silva Soares

Gravidez e o Sistema Imunitário

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2014

Gravidez e o Sistema Imunitário

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

(Nuno Miguel Silva Soares)

Resumo

Os mecanismos imunitários que permitem a gravidez com êxito, são determinantes uma vez que mãe e feto não são idênticos, expressando, este último, aloantígenos que poderão despoletar uma resposta imunitária materna.

Nos anos 40, Peter Medawar, fundador da imunologia reprodutiva, considerou o feto como um enxerto alográfico, cuja sobrevivência era conseguida através da placenta e dos seus constituintes

Desde a exposição ao plasma seminal são desencadeados uma serie de eventos, nomeadamente alterações hormonais que precedem a implantação e que se mantêm ao longo da gravidez, nomeadamente o aumento de prostaglandinas (PGD) que promovem a supressão nas mucosas do tracto reprodutor feminino e o aumento de progesterona que suprime a resposta inata incluindo a actividade de macrófagos e células NK;

Outras alterações, como a secreção de indolamina 2,3-dioxigenase (IDO), regulam negativamente o sistema imunológico materno aumentando a tolerância ao embrião aloantigénico.

Os linfócitos T reguladores ou T_{reg} são os mediadores essenciais na adaptação materna durante e após a implantação do embrião; a produção de citocinas Th2 ou citocinas regulatórias (TGF- β e IL-10) podem, também, ter um papel importante na indução e manutenção da tolerância alográfica.

O papel do HLA-G contribui para que o útero e a placenta sejam imunoprivilegiados tendo como alvo várias subpopulações de células hematopoiéticas conduzindo as mesmas para um estado imunossupressor

Existem variados mecanismos que explicam esta “evasão fetal” ao sistema imunológico materno estando a área da imunologia da reprodução em constante desenvolvimento.

Palavras- Chave:

“Reprodução”, “ interface materno-fetal”, “ blastocisto”, ”placenta”, “plasma seminal”, “balanço Th1/Th2”, “células Treg”, “HLA-G”, “regulação hormonal”, “imunossupressão”

Abstract

The immune mechanisms that allow a successful pregnancy are determinant, because mother and child are not identical, this last one, presenting alloantigens that will activate the maternal immune response.

In the 40's, Peter Medawar, founder of reproductive immunology, said that the fetus was an allograft transplant, which survival was sustained through the placenta and its constituents.

Since the exposure to seminal plasma, a chain of events starts, namely hormonal alterations, that precede implantation and that are maintained during pregnancy, namely the increase in prostaglandins (PG) that promote the suppression of the female reproductive tract and the increase in progesterone that suppresses the innate response, including NK and macrophage activity.

Other alterations like the indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) secretion negatively regulate the maternal immune system increasing tolerance to the allogeneic embryo.

T regulator or Treg lymphocytes are key mediators of the maternal adaptation after embryo implantation; Th2 cytokine production like TGF- β and IL-10, also can have a role in allograft tolerance induction.

HLA-G also acts as a key factor that makes the uterus and placenta immunoprivileged places targeting several hematopoietic cells leading to immunosuppression.

Several mechanisms explain this "fetal evasion" to maternal immune system, so the area of reproductive immunology is in constant development

Key-Words:

"Reproduction", "maternal-fetal interface", "blastocyst", "placenta", "seminal plasma", "Th1/Th2 balance", "Treg cells", "HLA-G", "hormonal regulation", "immunosuppression"

Índice

Resumo	5
Abstract.....	6
Abreviaturas.....	9
I. Introdução.....	11
II. Desenvolvimento	14
1. Introdução à imunologia da reprodução	14
i. Teorias de Medawar	14
ii. Embrião ou transplante?.....	16
2. Papel do sistema imunitário na implantação do embrião	18
i. Tipos de resposta imune materna	18
ii. Mecanismos que medeiam a evasão imune fetal	19
iii. Acção do plasma seminal e receptividade à implantação	20
3. Células relevantes no desenvolvimento da placenta	22
i. Papel das células Treg na manutenção da tolerância	22
ii. Implicações da gravidez na expansão induzida de células Treg	23
iii. Balanço Th1/Th2	24
4. Papel do HLA-G	27
5. Hormonas associadas à gravidez	30
III. Conclusão	33
Bibliografia.....	36

Índice de imagens

Fig. 1 – Múltiplos mecanismos responsáveis pela tolerância materno/fetal.	12
Fig. 2 – Células responsáveis pelo balanço Th1/ Th2 implicadas na rejeição ou na tolerância materna.....	24
Fig. 3 – Constituição genética da região HLA no cromossoma 6	27
Fig. 4 – Mudança no balanço da resposta pró-inflamatória e anti-inflamatória, aumento das concentrações de hormonas sexuais nos três trimestres da gravidez.	30

Abreviaturas

APC – Célula Apresentadora de Antígenos

CTLA-4 – Linfócito T Citotóxico Associado à Proteína 4

DC – Célula Dendrítica

ERs – Receptores de Estrogénio

GM-CSF – Factor Estimulador de Colónias de Macrófagos e Granulócitos

GRs – Receptores de Glucocorticóides

HLA – Antígeno Leucocitário Humano

IDO – Indolamina 2,3-Dioxigenase

IL – Interleucina

INF- γ – Interferão Gama

LIF – Factor Inibitório de Leucemia

MCP-1 – Monócito Quimiotático de Proteína 1

MHC – Complexo Principal de Histocompatibilidade

MIP-1 α – Proteínas Inflamatórias de Macrófagos-1 Alfa

mRNA – Ácido Ribonucleico mensageiro

NK – *Natural Killer*

PGD – Prostaglandina

PGE2 – Prostaglandina E2

PIBF – Factor Bloqueador Induzido por Progesterona

PRs – Receptores de Progesterona

RANTES – Quimiocina Ligando 5

TGF- β – Factor Transformador de Crescimento Beta

Th – Linfócito T *helper*

TLR – Receptor *Toll-Like*

TNF- α – Factor Tumoral de Necrose Alfa

Treg – Linfócito T regulador

I. Introdução

A imunologia da reprodução é um assunto actualmente estudado e pretende decifrar quais os mecanismos imunitários que permitem a gravidez com êxito, uma vez que, do ponto de vista genético, mãe e feto não são idênticos, e, este último, irá exhibir aloantigénios, que irão despoletar uma resposta imune materna. (Rabinovich, 2004)

A função principal do sistema imunitário é de defender o organismo contra invasões bacterianas, víricas e outros agentes patogénicos. Agentes patogénicos e células anormais ou tumorais são considerados agentes estranhos ou “*non-self*”, com antígenos não reconhecidos como próprios, cuja função fundamental do sistema imunológico é reconhecer e eliminar. (Manyonda, 2006)

Este mecanismo levanta um grande enigma no que respeita à gravidez humana: o feto é essencialmente “*non-self*” porque parte da sua informação genética que provém do pai, no entanto, não é reconhecido como sendo anómalo mas sim recebido e “protegido” durante 9 meses. (Manyonda, 2006)

Têm, então, que estar criadas as condições para que, desde o coito até a fertilização e implantação do blastocisto, este não seja naturalmente rejeitado pela mãe, como relata Peter Medawar comparando a gravidez à reacção imunológica a um transplante, nos anos de 1940 e 1950. (Manyonda, 2006) (Rabinovich, 2004)

As alterações hormonais que precedem a implantação e que se mantêm ao longo da gravidez, começam por actuar como imunomoduladoras, regulando negativamente, e ao nível local, o sistema imune materno, condicionando a implantação do blastocisto. Por outro lado a exposição prolongada aos antígenos paternos presentes no fluido seminal também aumenta a tolerância para o embrião aloantigénico, protegendo-o de uma rejeição e facilitando a implantação. (Saftlas *et al.*, 2014)

Após o coito, a distribuição dos leucócitos mononucleares no interior do epitélio cervical também se altera, o que sugere uma adaptação imune ao fluido seminal; este, através de alguns dos seus componentes com a citocina TGF- β e prostaglandina E é capaz de promover a imunossupressão da mucosa reprodutora feminina. (Prakash *et al.*, 2003)

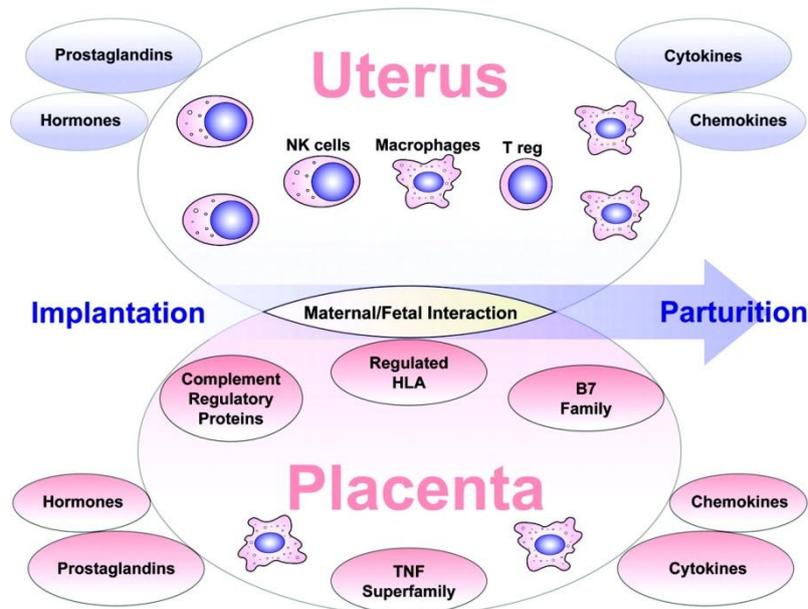


Fig. 1 – Múltiplos mecanismos responsáveis pela tolerância materno/fetal. (<http://www.fasebj.org/content/19/7/681/F1.expansion.html>)

Depois da implantação do blastocisto um conjunto de mecanismos de regulação, começam a actuar (fig. 1), nomeadamente no desenvolvimento da placenta, de modo a permitir, a gravidez com êxito; o desenvolvimento da placenta depende da função secretora de determinadas moléculas produzidas pelo trofoblasto- parte da placenta de origem embrionária, como também de células imunitárias uterinas que se encontram na decídua.

Medawar sugeriu que a placenta tem um papel fundamental na sobrevivência do feto. (Billington, 2003); estudos recentes sugerem que o sistema imune inato têm um papel importante na relação imunológica materno-fetal. (Sathe *et al.*, 2014)

As células do sistema imunitário presentes na decídua são, essencialmente, linfócitos T, NK (*Natural Killer*), macrófagos e células dendríticas e a interação entre o trofoblasto e estas células maternas têm um grande impacto no resultado da gravidez. O conhecimento do fenótipo e função destas células é essencial numa gravidez normal e em situações patológicas, que incluem abortos espontâneos recorrentes, pré-eclampsia e mola hidatiforme. (Sanguansermsri e Pongcharoen, 2008)

Nas células presentes na decídua, os linfócitos T reguladores ou T_{reg} são os mediadores essenciais na adaptação materna durante e após a implantação do embrião; uma

deficiência nos linfócitos T_{reg} pode provocar infertilidade, aborto e pré-eclampsia. A actividade insuficiente dos linfócitos T_{reg} resulta numa falência da implantação ou redução da função placentária e crescimento fetal. (Robertson *et al.*, 2013)

O conhecimento e tratamento de doenças naturais de uma gravidez, que se pensa terem uma base imunológica, (aborto, pré-eclampsia, etc.) pode trazer benefícios noutras áreas como a transplantação de órgãos; a mimetização do mecanismo materno-fetal permitiria criar o transplante perfeito impedindo a rejeição do mesmo. (Manyonda, 2006)

Esta dissertação/ revisão tem como objectivos:

- Compreender a supressão da resposta imune durante a implantação do embrião e gravidez.
- Abordar os tipos de resposta imune e barreiras mecânicas que separam a mãe do feto e que permitem o desenvolvimento deste último.
- Compreender a relação entre o ambiente citocínico que envolve a placenta e o desenvolvimento do feto relacionando-o, ou não, com algumas imunopatologias de uma gravidez não sucedida, como o aborto recorrente espontâneo

II. Desenvolvimento

1. Introdução à imunologia da reprodução

i. Teorias de Medawar

Peter Medawar reconheceu o verdadeiro paradoxo imunológico que existe entre uma mulher grávida e o seu feto antigénicamente estranho, citando:

“O problema imunológico da gravidez pode ser formulado da seguinte maneira: como é que uma mãe grávida consegue conceber e nutrir dentro de si própria, por várias semanas ou meses um feto que é um corpo estranho antigénicamente.” (Medawar, 1957)

Esta afirmação de Medawar levantou uma questão pertinente em relação aos recentes conceitos sobre imunologia de transplantes, no decorrer dos anos 40 e 50, tendo, ele próprio sugerido possíveis argumentos sobre o que se passava:

“A razão pelo qual o feto não tem habilidade de provocar uma reacção imunitária da mãe pode ser classificada através de 3 princípios:

- 1. A mãe e o feto estão separados anatomicamente.*
- 2. A imaturidade antigénica do feto.*
- 3. A indolência ou inércia imunológica da mãe.”* (Medawar, 1957)

Estas três propostas forneceram a estrutura conceptual para meio século de pesquisa científica promovendo desta forma Peter Medawar como pai fundador da imunologia reprodutiva. (Billington, 2003)

Considerando a primeira hipótese, uma importante característica da interacção materno-fetal é de que os dois sistemas circulatórios estão separados durante o período gestacional sendo ao nível da placenta e das membranas fetais que ocorre contacto entre o feto e a mãe. (Medawar, 1957)

A placenta fornece uma barreira exterior de tecido trofoblástico contínuo e impenetrável que coexiste com uma variedade de formas trofoblásticas biológicas situadas em diferentes localizações dentro do útero gestacional. A interacção materno-fetal em sítios de implementação não placentais consiste na mais afastada membrana extra-embriónica fetal sendo de natureza trofoblástica. (Nossal, 2000)

O verdadeiro enxerto alográfico fetal da gravidez é o trofoblasto e as membranas extra-embrionárias, ambas tendo contacto celular directo com o ambiente uterino materno. Estes constituem os elementos definitivos para que ocorra a separação anatómica entre a mãe e o feto identificado por Medawar como a característica mais importante do processo. (Medawar, 1957; Billington, 2003; Gil Mor, 2006)

No seguimento da hipótese de Medawar um quarto conceito foi proposto por Billingham em 1964, considerando que o útero seria como o cérebro e a câmara anterior do olho, ou seja, um local imunologicamente privilegiado. Posteriormente através de estudos experimentais ficou demonstrado de que o útero reage de forma normal imunologicamente, no entanto, o endométrio apresenta características especiais que contribuem para uma implementação e desenvolvimento bem sucedido do embrião. O útero por si só pode ser visto como um sítio privilegiado no que concerne a um útero em gestação e mesmo assim depende da protecção oferecida pela barreira trofoblástica. (Billingham, 1964a, b)

Billingham, mais tarde, demonstrou evidências para a transferência de elementos celulares bidireccionalmente, principalmente glóbulos vermelhos entre a mãe e o feto indicando que a placenta não pode ser vista como uma barreira absoluta. (Billingham, 1964a, b)

ii. Embrião ou transplante?

A gravidez representa um excerto semialografo para o hospedeiro materno; é interessante perceber que o embrião/feto semi-alogénico não é rejeitado pela mãe.

A diferença do que ocorre entre a gestação e um transplante de órgão é de que a mulher sofre uma serie de alterações fisiológicas prévias à implantação do blastocisto.

Para que a gravidez aconteça devem ocorrer, em primeiro lugar, três eventos/ fases:

- Ovulação
- Copulação
- Fertilização

Estes eventos ou fases provocam uma serie de alterações metabólicas hormonais e de citocinas no aparelho reprodutor feminino o que permitirá a posterior implantação do blastocisto. Muitas destas alterações são semelhantes a uma reacção inflamatória o que logicamente se reflecte no sistema imunitário materno. (Rabinovich, 2004; Barañao, 2011; White *et al.*, 1997)

As alterações hormonais precedem a implantação e são contínuas durante o período de gravidez, nomeadamente, as hormonas esteróides induzidas pela ovulação que actuam como modeladoras das células apresentadoras de antigénios (APCs). (White *et al.*, 1997; Rabinovich, 2004; Barañao, 2011)

Apesar das células epiteliais uterinas e do estroma uterino também terem a capacidade de apresentar antigénios, esta função diminui durante a fase ovulatória e lútea sendo mais intensa na fase proliferativa. (White *et al.*, 1997; Nossal, 2000)

Em relação aos linfócitos T citotóxicos ou T CD8⁺ eles estão presentes na fase proliferativa e secretória no aparelho reprodutor feminino protegendo-o contra eventuais invasões patogénicas; se a gravidez não ocorrer, estas células perdem a sua função durante a fase secretora do ciclo menstrual, devido aos altos níveis de estradiol e progesterona que regulam negativamente a capacidade citotóxica destas células no aparelho reprodutor. (White *et al.*, 1997; Seavey e Mosmann, 2009)

Um ponto fundamental para uma gravidez bem sucedida é a exposição prévia ao sémen, exposição esta, que desencadeia uma serie de eventos fundamentais à gravidez como por exemplo o aumento de PGD que promovem a supressão nas mucosas do tracto reprodutor feminino. (White *et al.*, 1997; Robertson *et al.*, 1997)

O Factor Transformador de Crescimento Beta ou TGF- β , que é um constituinte do plasma seminal, estimula a produção do Factor Estimulador de Colónias de Macrófagos e granulócitos (GM-CSF) no epitélio uterino. Esta citocina promove o recrutamento de factores inflamatórios no útero provocando alterações similares a uma inflamação com o consequente aumento da capacidade de apresentação de antigénios paternos através de células específicas.

Para uma implantação bem sucedida é necessário uma sincronização entre o desenvolvimento do embrião e a preparação do útero: embrião deve desenvolver-se até a fase de blastocisto e o endométrio nesta fase já deverá estar receptivo. (Baraño, 2011; Rabinovich, 2004)

Depois da implantação do blastocisto as células do sistema imune materno específicas devido a mecanismos já descritos não reconhecerão o feto como um corpo estranho e permitirão o seu desenvolvimento. (Baraño, 2011; Rabinovich, 2004)

2. Papel do sistema imunitário na implantação do embrião

i. Tipos de resposta imune materna

O sistema imunitário de acordo com a sua actuação face aos antigénios, elimina-os, ou não do organismo, podendo ser dividido em:

- Sistema imunitário inato
- Sistema imunitário adaptativo

A imunidade inata têm uma função pouco específica sendo mais de prevenção contra a entrada de agentes patogénicos no organismo.

Como é uma resposta imunológica indiferenciada a sua acção não necessita de exposição prévia a agentes patogénicos. Um caso prático é o dos macrófagos e granulócitos que atacam os microorganismos no sítio de entrada, fagocitando-os. (Nossal, 2000)

As células do sistema inato após fagocitose, apresentam os antigénios às células do sistema adaptativo de modo a provocar uma reacção imunitária.

Este tipo de resposta imune é altamente específica e normalmente é potenciada por repetidos contactos com o mesmo antigénio. A imunidade adaptativa é caracterizada por uma resposta “gravada” o que permite que as células B e T recordem contactos prévios com o antigénio e desenvolvam uma resposta mais rápida e vigorosa; na resposta adaptativa também são produzidas citoquinas para comunicação e regulação da resposta imune inata (Schminkey e Groer, 2014)

A imunidade pode ainda ser classificada, de acordo com a resposta imune, em:

- Imunidade humoral, envolve enzimas, citoquinas, proteínas de complemento, proteínas de fase aguda e anticorpos
- Imunidade celular, que envolve toda a rede de células brancas que actuam no sistema imunológico, nomeadamente macrófagos, linfócitos, células dendríticas, (DCs), etc...

Uma selecção positiva ou negativa do timo gera um repertório de linfócitos que permite ao sistema imunitário atacar antigénios estranhos (por exemplo patogénicos) ignorando

os próprios antigénios e reconhecer moléculas self de MHC (Complexo Principal de Histocompatibilidade). Uma falha neste processo altamente regulado pode preceder uma doença auto-imune.

Enquanto um transplante de órgão com alotipos diferentes nos loci MHC é reconhecido como estranho e rejeitado, o sistema imune materno não ataca o feto apesar da expressão de alo antigénios paternos. (Clark *et al.*, 2010; Aagaard-Tillery *et al.*, 2006)

Os mecanismos materno-fetais que asseguram a tolerância normalmente prevalecem, sendo agressão imune materna, reconhecida como uma das causas para que ocorra uma falha prematura da gravidez. (Aagaard-Tillery *et al.*, 2006)

ii. Mecanismos que medeiam a evasão imune fetal

Em vez de ignorar o feto como afirmou Medawar o sistema materno na realidade reage aos alo antigénios fetais. Existem varias estratégias envolvidas na evasão fetal que actuam localmente quer seja eliminando linfócitos maternos activados ou inibindo a activação de caminhos efectores que provocam dano celular. (Tafari *et al.*, 1995; Aluvihare e Betz, 2006; Aluvihare *et al.*, 2004)

O sinciciotrofoblasto, um tecido fetal especializado que invade o útero, sintetiza e secreta indolamina 2,3-dioxigenase (IDO) actuando localmente depletando o triptofano. (Munn *et al.*, 1998; Mellor *et al.*, 2001)

O tecido trofoblástico expressa receptores de morte celular nomeadamente o ligando FAS (CD95L); linfócitos maternos activados que expressem o receptor FAS (CD95) provocarão a apoptose em contacto com tecido trofoblástico que expresse o ligando FAS. (Makrigrannakis *et al.*, 2001)

O tecido trofoblástico expressa também antigénios leucocitários humanos não polimórficos como o HLA-G no entanto raramente são detectados os clássicos HLA-A, HLA-B e HLA-C o que poderá explicar também a implantação e desenvolvimento do blastocisto. (Rouas-Freiss *et al.*, 1997)

A iniciação da cascata do complemento pelos linfócitos maternos reconhecendo o feto como aloantigénico seria nocivo para o próprio feto e esta também é inibida. (Xu *et al.*, 2000)

O factor inibitório de leucemia (LIF) que é secretado pelo endométrio durante a implantação de forma a promover tolerância materno-fetal está também associado aos baixos índices de falhas gestacionais. (Piccinni *et al.*, 2001)

iii. Acção do plasma seminal e receptividade à implantação

A exposição ao sémen provoca alterações notáveis na expressão de citocinas e nos leucócitos presentes nos tecidos do aparelho reprodutor feminino. Uma abundante infiltração de células inflamatórias activadas, tais como, macrófagos, células dendríticas e granulócitos ocorre após o contacto com o cérvix e o útero. (Agnew *et al.*, 2008)

A resposta é iniciada no momento em que o plasma seminal interage com células epiteliais uterinas que contêm estrogénio o que induz uma vaga de síntese de citocinas pró-inflamatórias que inclui GM-CSF, IL-6, MCP-1, MIP-1 α e MIP-1 β e RANTES. (Gil Mor, 2006)

A resposta é transitória sendo diminuta no momento da implantação do embrião. O acto sexual induz o recrutamento de neutrófilos na superfície epitelial dos tecidos cervicais. Os efeitos locais de uma inseminação natural em mulheres pré-ovulatórias induz uma resposta inflamatória pela espessura do epitélio cervical e tecidos do estroma subjacente. O afluxo de leucócitos requer o contacto entre o plasma seminal e os tecidos femininos.

A resposta inflamatória proveniente de uma inseminação tem impacto em vários processos reprodutivos devido à variedade de potenciais acções dos leucócitos recrutados para o endométrio e tecido cervical. (Chu *et al.*, 1996)

Pode-se classificar as funções efectoras do organismo, pós-inseminação, em quatro categorias:

1. Limpeza do sémen desnecessário e de microorganismos introduzidos no útero durante o acto sexual.

2. Activação de uma resposta imune feminina específica às proteínas e antígenos presentes no sêmen.
3. Remodelação tecidual associada à preparação da receptividade do endométrio
4. Activação da expressão de citocinas e factores de crescimento implicados na pré-implantação e desenvolvimento do embrião. (Chu *et al.*, 1996)

Um dos constituintes do plasma seminal é TGF- β que está ligada à região pós acrossomática da cabeça do esperma o que se presume que é carregada junto com o esperma para o tracto superior feminino. Além do mais o acolhimento do plasma seminal, do cérvix para o útero e para a trompas de Falópio acontece devido a contracção peristáltica uterina que transporta material macromolecular independentemente da razão ou das propriedades quimiotácticas do sêmen. (Chu *et al.*, 1996)

Os macrófagos e as DCs são a maior população de células recrutadas para o tecido estromal endometrial após exposição ao sêmen. Ambos têm mecanismos específicos de processamento e apresentação de antígenos e são responsáveis pela iniciação de uma resposta imune activa contra os MHC paternos e outros antígenos presentes no sêmen. (Gil Mor, 2006)

As implicações destes processos são muito importantes para uma futura resposta ao sêmen por parte do sistema reprodutor feminino, como também para a gravidez, tendo em conta de que a concepção partilha antígenos paternos iguais aos do sêmen. (Aagaard-Tillery *et al.*, 2006)

3. Células relevantes no desenvolvimento da placenta

i. Papel das células Treg na manutenção da tolerância

A tolerância imune materna aos aloantígenos paternos expressos pelo feto é uma pré condição para uma gravidez bem sucedida. Isto ocorre apesar da exposição ao sistema imune materno de um tecido fetal potencialmente imunogénico. (Gil Mor, 2006)

Mecanismos de evasão imune local ocorrem de modo a prevenir uma agressão imune em relação ao feto, contudo linfócitos maternos capazes de mediar uma agressão anti-fetal são detectados no decorrer da gestação.

A selecção negativa no timo (tolerância central) tem um papel relevante na promoção da tolerância própria; células sistémicas auto-reactivas também são facilmente detectadas, existindo uma população de células capazes de suprimir estas outras potencialmente nocivas (tolerância periférica)- são as células Treg. (Walker e Abbas, 2002)

As células Treg tem um papel importante na supressão de respostas imunitárias aloreactivas permitindo uma tolerância materno fetal. (Walker e Abbas, 2002)

Supõe-se de que as células Treg contribuem para uma tolerância materno-fetal através da supressão da resposta anti-fetal e contribuem para mudanças sistémicas que ocorrem durante a gravidez. (Gil Mor, 2006)

A proporção de células Treg (CD4⁺ e CD25⁺) no baço e nódulos linfáticos, durante a gravidez aumenta. Uma alta proporção de linfócitos CD4⁺ no útero são também CD25⁺ sugerindo um papel destas células no desenvolvimento fetal.

O principal papel das células Treg na mediação da tolerância materno-fetal é destacado por variados estudos em que, pela ausência de células CD25⁺ é provocada uma falha na gestação. (Somerset *et al.*, 2004)

Como anteriormente mencionado uma expansão de células Treg coincide com a implantação, mas estas, também podem ter um papel na fase pós-implantação. (Somerset *et al.*, 2004)

A função das células Treg na mediação da tolerância materno-fetal foi salientada pela proporção significativamente mais baixa destas células na decídua obtida de abortos espontâneos quando comparado com abortos induzidos: uma falha na tolerância

imunológica pode provocar pré-eclampsia, infertilidade e abortos espontâneos. (Sasaki *et al.*, 2007; Sasaki *et al.*, 2004)

Apesar dos mecanismos já descritos indicarem mudanças mais amplas no sistema imunitário materno, a influência das células Treg pode ser exercida nos nódulos linfáticos ou na interface materno-fetal. Para além de uma inibição directa da resposta imune aloreactiva, estas células são capazes de influenciar vários mecanismos de evasão imune fetal. As células Treg podem induzir o catabolismo do triptofano nas células dendríticas por via CTLA-4, e têm também a capacidade de induzir a actividade da IDO no sinciciotrofoblasto. Se a função da IDO estiver inibida ocorreria uma inibição das células T e do complemento ocorrendo uma agressão imune fetal.

ii. Implicações da gravidez na expansão induzida de células Treg

A expansão de células Treg durante a gravidez parece ser independente da estimulação alo-antigénica podendo-se especular que deriva de alterações hormonais durante a gestação: é um facto de que o estrogénio e a progesterona influenciam o sistema imune. (Beagley e Gockel, 2003)

O aumento da função das células Treg sistémicas podem explicar a especificidade da tolerância materna sistémica em relação a células de origem paterna e está limitada à duração da gravidez. (Beagley e Gockel, 2003)

No entanto tal, não implica, necessariamente, um estado imuno-comprometido. Células Treg parecem ser activadas por antigénios próprios (MHC) de modo a suprimir uma resposta auto-imune ou neste caso semi-alogénica, deste modo não é expectável uma resposta supressora a antigénios exógenos. (Viglietta *et al.*, 2004)

iii. Balanço Th1/Th2

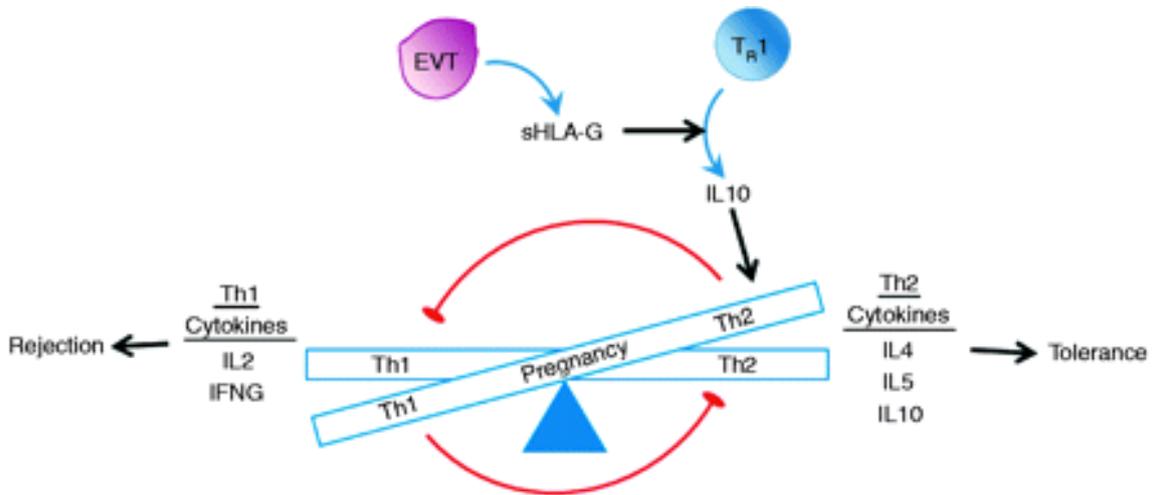


Fig. 2 – Células responsáveis pelo balanço Th1/Th2 implicadas na rejeição ou na tolerância materna. (Warning et al, 2011)

As células do sistema imunológico medeiam os seus efeitos através da libertação de citocinas que actuam nos seus receptores, na sua maioria, autocrina ou paracrinamente, promovendo um microambiente favorável à manutenção da homeostasia; as citocinas, são produzidas maioritariamente por linfócitos T *helper*.

Os linfócitos T *helper* ou T CD4⁺, têm um papel importante na criação de microambientes para um órgão ou tecido em particular. Após uma resposta imunológica produzem citocinas dependendo do tipo e determina a sua diferenciação em linfócitos T *helper* 1 (Th 1) ou linfócitos T *helper* 2 (Th 2) (fig. 2). (Gil Mor, 2006)

Os linfócitos Th1 libertam Interleucina 2 (IL 2) e Interferão- γ (Inf- γ) que são a base de um microambiente pro-inflamatório. Contrariamente os linfócitos Th2 libertam citocinas IL-4 e IL-10 que estão predominantemente anti-inflamatórias, envolvidas na produção de anticorpos após uma resposta imunológica. (Gil Mor, 2006)

A acção dos dois tipos de linfócitos está interligada através de regulação negativa: por exemplo citocinas Th1 produzem citocinas pro-inflamatórias que reforçam uma resposta imune como também regulam negativamente a produção de citocinas Th2 (fig. 2).

Cada um destes padrões de citocinas interagem em diferentes estádios e circunstâncias com o trofoblasto. (Gil Mor, 2006)

As citocinas Th1 tem um papel relevante na rejeição alográfica. A produção de citocinas Th2 ou citocinas regulatórias (TGF- β e IL-10) podem ter um papel importante na indução e manutenção da tolerância alográfica. (Gil Mor, 2006)

Estudos comprovam que a protecção fisiológica da rejeição materna deve-se a um tipo de resposta Th2 na interface materno-fetal. (Gil Mor, 2006)

Numa mulher não grávida com uma actividade sexual normal, as células T dentro do endométrio uterino apresentam uma grande tendência para células Th1 durante a fase proliferativa. (Gil Mor, 2006)

O rácio Th1/Th2 é reduzido durante a fase secretora, o rácio Th1/Th2 na fase secretora do endométrio é significativamente mais alta do que no sangue periférico sugerindo uma concentração de citocinas Th1 no tecido uterino, no momento da implantação. (Hunt e Roby, 1994)

Uma estimulação moderada de citocinas Th1 é essencial para a gravidez no entanto uma estimulação excessiva induz a uma falha na implantação do embrião. Como forma de prevenção de uma excessiva estimulação, citocinas regulatórias e citocinas Th2 podem regular o sistema imunológico do endométrio. Uma falha na sincronização de algum destes elementos durante o processo de interacções resulta numa falha de implantação. (Hunt e Roby, 1994)

Os níveis de citocinas Th1, nomeadamente do mRNA, do Factor Tumoral de Necrose Alfa (TNF- α) são elevadas durante a janela de implantação, o que sugere uma transição local de células Th1 caracterizado pela produção de TNF- α pelas células do endométrio e pelos leucócitos que pode ser induzido no momento da implantação. (Mosmann e Sad, 1996)

O rácio Th1/Th2 não sofre alterações durante o primeiro trimestre de gravidez. O rácio no sangue periférico em mulheres não grávidas é de 10-11 sendo que este diminui para 7-8 no segundo e terceiro trimestre. Assim sendo a amplitude de variação do rácio no sangue periférico durante a gravidez é pouca. (Mosmann e Sad, 1996)

Por outro lado o rácio de células Th1/Th2 no endométrio ou na decídua altera dramaticamente durante o ciclo menstrual ou na gravidez. Apenas servindo de exemplo o rácio é maior na fase proliferativa do endométrio e menor durante a fase secretora sendo ainda mais baixo na decídua no início da gravidez. (Mosmann e Sad, 1996)

Existem pelo menos dois mecanismos que permitem aumentar a concentração de células Th2 no sítio da implantação:

Um dos mecanismos é de que factores quimiotácticos produzidos pelos trofoblastos, células endometriais e células epiteliais do endométrio levam à acumulação de linfócitos Th2. Esta teoria é suportada pela observação de linfócitos Th2 nos vasos sanguíneos, nas células do endométrio e trofoblasto, enquanto poucas células Th2 estão presentes na zona circundante dos vasos sanguíneos e na decídua parietal. (Mosmann e Sad, 1996)

O segundo mecanismo explicaria o aumento de células Th2 é de que o próprio ambiente imunológico induz a diferenciação de células T *naive* em células Th2, nomeadamente através das DCs. (Mosmann e Sad, 1996)

As DCs são células especializadas em apresentar antígenos requeridos para diferenciar e activar as células T e promover a diferenciação de células T CD4⁺ *naive* em fenótipos Th1 ou Th2.

No sangue periférico as DCs podem ser classificadas em mielóides que promovem uma resposta Th1 ou linfóides que promovem uma resposta Th2 através dos seus marcadores de superfície. (Gil Mor, 2006)

As células T CD4⁺ *naive* diferenciadas através de DCs mielóides da decídua levam a uma maior diferenciação de linfócitos Th2 em comparação com as DCs mielóides periféricas; desta forma pode-se concluir que as DCs da decídua podem regular o balanço Th1/Th2 de forma a manter um estado dominante de células Th2 permitindo, assim, a manutenção da gravidez. (Gil Mor, 2006)

De igual modo, altos níveis de estrogénio, PGE2 e IL-10 inibem a produção de IL-12, que é a citocina principal que induz a imunidade Th1. (Gil Mor, 2006)

Como altos níveis de estrogénio, PGE2 e IL-10 estão presentes na interface materno-fetal inibindo a produção de IL-12 pelas DCs da decídua alterando desta forma o balanço Th1/Th2 para um estado predominantemente Th2 na interface. (Gil Mor, 2006)

A progesterona também tem a capacidade de induzir a conversão de células Th0 em células Th2. (Gil Mor, 2006)

Por outro lado, o plasma seminal contém factores quimiotácticos como por exemplo PGD2 que é um indutor da diferenciação das células Th2; é constituído também, como referido anteriormente, por TGF- β que estimula a de síntese de citocinas pro-inflamatórias e quimiocinas nos tecidos uterinos. (Gil Mor, 2006)

A TGF- β é provavelmente a citocina chave na alteração a resposta imune Th1 para Th2. (Gil Mor, 2006)

4. Papel do HLA-G

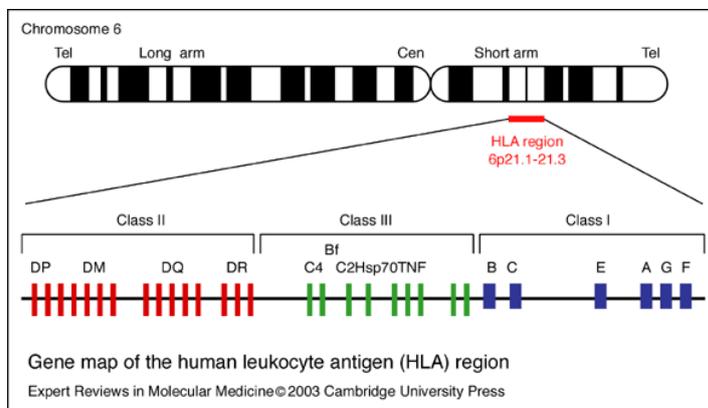


Fig. 3 – Constituição genética da região HLA no cromossoma 6 (www.expertreviews.org)

O HLA (fig. 3) ou MHC humano compreende um conjunto de genes intimamente ligados cujos produtos desempenham funções importantes no reconhecimento intercelular e na discriminação self/ non-self, como tal é determinante na aceitação de

um tecido transplantado, como fazendo parte do organismo- histocompatível, ou na sua rejeição como elemento estranho – histo incompatível; este conjunto de genes está localizado no cromossoma 6, no homem, e estão organizados em regiões que codificam 3 classes de moléculas: genes MHC I, II e III. (Arosa, 2012)

Nos humanos as moléculas MHC I clássicas são codificadas pelas regiões A, B e C e as moléculas MHC II clássicas são codificadas pelas regiões DP, DQ e DR (fig. 3); existem ainda moléculas designadas de MHCI e II não clássicas, pouco polimórficas e com a expressão limitada a alguns tipos celulares, como é o caso do HLA-G, HLA-E e HLA-F (moléculas de MHC I Não clássicas). (Arosa, 2012)

As células fetais são mantidas durante décadas na circulação materna assim como nos órgãos. No entanto as características básicas destas células e as diversas funções na saúde e/ou doença materna ainda está por definir. É possível que a persistência de

células humanas fetais no sangue materno e nos órgãos possa estar relacionada com a expressão dos seus antígenos HLA. (Peltier, 2003)

O sinciotrofoblasto produz várias substâncias solúveis que são necessárias para o desenvolvimento do embrião, enquanto que as células trofoblásticas migram para a decídua, tecido este com três funções principais:

1. Ancorar a placenta ao útero
2. Permitir a expansão das artérias espirais uterinas de modo a permitir um aumento da perfusão de sangue materno durante a gestação
3. Conduzir as células hematopoiéticas da decídua por trajetórias consistentes com a protecção do feto semi alográfico

O último é talvez o factor imunológico mais relevante no estabelecimento e manutenção de um útero imunoprivilegiado: as células citotrofoblásticas migratórias expressam antígenos HLA I- B, HLA- I A e também genes HLA classe II (HLA-D), todos eles altamente polimórficos que estimulam uma imediata e crónica rejeição de um excerto caso este seja estranho para o hospedeiro. (Peltier, 2003)

Enquanto estas células avançam para a decídua, a expressão de antígenos HLA altera dramaticamente, células precursoras vilosas citotrofoblásticas expressam apenas um tipo de isoforma HLA, HLA-G5. No momento em que a coluna de células trofoblásticas chega perto da decídua, as células citotrofoblásticas ganham a expressão de múltiplas moléculas HLA classe I, o que inclui pelo menos uma isoforma, HLA-G1 (isoforma solúvel do HLA-G5), possivelmente uma segunda, HLA-G2, HLA-E e também possivelmente HLA-F; estas células também expressam, HLA-C. (Clements *et al.*, 2005)

O gene HLA-G, expresso ao nível do sincício, tem poucos alelos, e apenas cinco proteínas diferentes que se conheça. O sinal de um único HLA-G é alternativamente dividido de modo a produzir no mínimo sete sinais diferentes, quatro destes codificam proteínas de ligação da membrana e três codificam para proteínas solúveis. (Ishitani *et al.*, 2006; Ishitani *et al.*, 2003)

Estudos demonstram que o HLA-G1 e a sua correspondente solúvel, HLA-G5, na placenta captura apenas uma pequena parte de péptidos, o que pode limitar a

afectividade destas isoformas na apresentação de antígenos a linfócitos T citotóxicos. (Clements *et al.*, 2005)

O HLA-G contribui para que o útero e a placenta sejam imunoprivilegiados tendo como alvo várias subpopulações de células hematopoiéticas conduzindo as mesmas para um estado imunossupressor. (Hunt *et al.*, 2006)

Proteínas HLA-G solúveis influenciam a produção de citocinas pelas células mononucleares presentes no sangue e afetam os linfócitos T citotóxicos, induzindo a morte; são capazes, igualmente de programar células NK uterinas para estados de inibição de morte celular. Por outro lado, os linfócitos T *helper* podem ser afetados entrando num estado de tolerância. HLA-G5 e HLA-G6 guiam a produção de citocinas imunossupressoras nomeadamente TGF- β 1, por fagócitos mononucleares e DCs. (McIntire *et al.*, 2004)

Existe uma relação entre os alelos HLA-G e os níveis de glicoproteínas solúveis de HLA-G no plasma feminino e masculino o que implica um nível genético de controlo sobre a expressão ou secreção de antígenos HLA-G; e ainda, HLA-G solúvel circula na mulher grávida e está presente no fluido amniótico. (Hunt *et al.*, 2006)

A produção de HLA-G solúvel também está associada ao maior sucesso na terapia de fertilização *in vitro* o que sugere que a produção de HLA-G possa ser um marcador de “qualidade” do embrião; no entanto, ainda não é claro se o HLA-G é gerado pelo embrião após a implantação. Baixas concentrações de HLA-G no início da gestação estão relacionadas com o desenvolvimento de pré-eclampsia. (Hunt *et al.*, 2006)

Estudos científicos demonstram que altos níveis de duas isoformas solúveis de HLA-G, HLA-G5 e HLA-G6, estão associadas ao sucesso no transplante de órgãos. (Lila *et al.*, 2002)

5. Hormonas associadas à gravidez

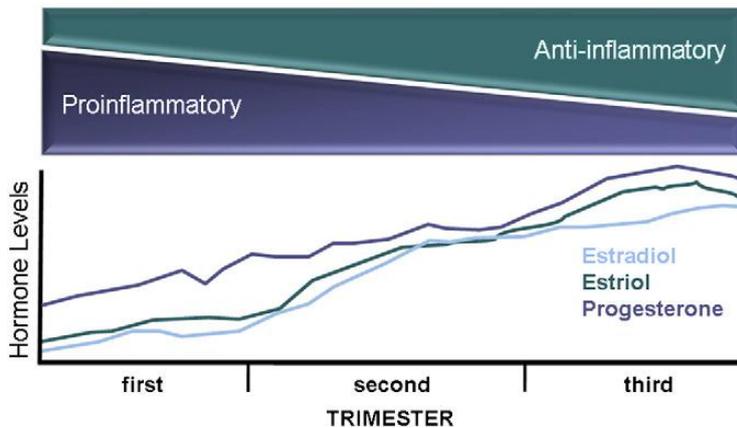


Fig. 4 – Mudança no balanço da resposta pró-inflamatória e anti-inflamatória, aumento das concentrações de hormonas sexuais nos três trimestres da gravidez. (Robinson e Klein, 2012)

O estado de gravidez representa um desafio extremo para o sistema imunitário. De modo a suportar uma gestação bem sucedida é vantajoso para a mãe uma alteração do sistema imunitário afastando uma possível resposta inflamatória que possa contribuir para a rejeição

fetal mas que ao mesmo tempo desenvolva uma resposta imune anti-inflamatória que permita a transferência de anticorpos para o feto em desenvolvimento. (Raghupathy, 1997)

As hormonas contribuem de um modo significativo na alteração da função imune que ocorre durante os três trimestres de gravidez. Durante a gravidez o sistema imunitário não está imunossuprimido mas sim adaptado para que se desenvolva uma resposta imune promovendo uma resposta anti-inflamatória que não só influencia o resultado da gravidez mas também a patogenicidade de um agente infeccioso. (Robinson e Klein, 2012)

As mudanças hormonais e imunológicas que acontecem no decurso da gravidez são necessárias para que a gestação seja saudável, no entanto, há um aumento exponencial na susceptibilidade de desenvolverem doenças auto-imunes ou mesmo infecciosas. (Robinson e Klein, 2012)

A concentração de hormonas esteróides incluindo estrogénio e progesterona, são consideravelmente mais altas durante a gravidez do que quando comparado com outras situações, este é um aumento gradual de acordo com o decorrer da gravidez, atingindo o pico no terceiro trimestre.

Mudanças hormonais que ocorrem durante a gravidez fundamentam algumas das mudanças imunológicas associadas à gravidez. Níveis elevados de progesterona

estimulam a síntese de PIBF (factor bloqueador induzido por progesterona) pelos linfócitos. O PIBF aumenta no decurso da gravidez e diminui significativamente após o nascimento, mas em gestações patológicas que resultam em pré-parto, aborto ou hipertensão, as concentrações de PIBF são baixas. Altas concentrações de PIBF promovem a diferenciação de células T *helper* em células T *helper* tipo 2 (Th2) que secretam altas concentrações de citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-5 e IL-10).

A gravidez está associada a mudanças nas concentrações de várias hormonas incluindo o estradiol, estriol, progesterona, corticosteróides e prolactina: estas mudanças hormonais contribuem para as alterações imunológicas que ocorrem na gravidez. Os efeitos das hormonas associadas à gravidez na função imunológica são extensos, podendo afectar a resposta humoral e celular. (Robinson e Klein, 2012)

- Estradiol

O estradiol está presente em altas concentrações em mulheres não grávidas como também em mulheres grávidas e é responsável pela maioria dos efeitos clássicos nos tecidos reprodutivos e não reprodutivos. Receptores de estrogénios (ERs) são expressos em várias células dos tecidos linfóides bem como nos linfócitos, macrófagos e DCs. Existem dois subtipos de receptores estrogénicos: ER α e ER β , que apresentam expressões diferenciais em subconjuntos de células imunes. (Robinson e Klein, 2012)

A ER α é altamente expressada em células T e a ER β tem uma regulação positiva nas células B; os diferentes efeitos do estrogénio na função imunológica podem não estar apenas ligados à concentração mas também à densidade, distribuição e tipo de ERs nas células imunológicas. O estradiol afecta vários aspectos da imunidade inata, incluindo a actividade funcional de células inatas que influenciam a resposta imune adaptativa. (Phiel *et al.*, 2005)

- Estriol

O estriol é produzido em altas concentrações pela placenta durante a gravidez e é responsável por quase 90% dos estrogénios produzidos no decurso da gravidez, não estando presente em mulheres não grávidas. (Soldan *et al.*, 2003)

Os efeitos imunológicos do estriol ainda não estão bem caracterizados e assume-se que tenham os mesmos que o estradiol pois actuam nos mesmos ERs. (Voskuhl, 2011)

- Progesterona

A progesterona é produzida pelo corpo lúteo nos ovários das mulheres não grávidas e pela placenta durante a gestação, tendo um papel importante na reprodução e na função imunológica; a progesterona é normalmente vista como anti-inflamatória, e receptores de progesterona (PRs) foram identificados nas células epiteliais, mastócitos, eosinófilos, macrófagos, DCs e linfócitos. (Robinson e Klein, 2012)

A progesterona pode-se ligar aos receptores glucocorticóides que são mais abundantes no sistema imunológico do que os PRs o que pode representar um mecanismo alternativo na indução de alterações na função imunológica. A progesterona inibe a produção de citocinas induzidas por TLR (receptores *Toll-like*) como também a expressão de receptores de superfície, via PRs e GRs, nas células dendríticas. (Jones *et al.*, 2010)

A progesterona suprime a resposta inata incluindo a actividade de macrófagos e células NK; concentrações elevadas de progesterona durante a gravidez inibem o desenvolvimento de uma resposta imune Th1 promovendo a produção de uma resposta imune Th2 o que inclui a produção de IL-4 e IL-5. (Piccinni *et al.*, 2000a; Piccinni *et al.*, 2000b)

Estudos anteriores demonstram que elevados níveis de progesterona durante o segundo trimestre estão relacionados com a redução da actividade das células Treg. (Mjosberg *et al.*, 2009)

III. Conclusão

A função principal do sistema imunitário é de defender o organismo contra invasões bacterianas, víricas, outros agentes patogénicos e células anormais ou tumorais que são considerada “*non-self*”.

Durante uma gravidez, tem que ser criadas condições para que o feto não seja naturalmente rejeitado pela mãe, uma vez que este apresenta aloantígenos que o sistema imunológico materno não reconhece.

Logo após o coito, a distribuição dos leucócitos mononucleares no interior do epitélio cervical altera-se, o que sugere uma adaptação imune ao fluído seminal; este, através de alguns dos seus componentes com a citocina TGF- β e prostaglandina E é capaz de promover a imunossupressão da mucosa reprodutora feminina.

As células do sistema imunitário presentes na decídua são, essencialmente, linfócitos T, NK, macrófagos e células dendríticas e a interacção entre o trofoblasto e estas células maternas têm um grande impacto no resultado da gravidez.

Nas células presentes na decídua, os linfócitos T reguladores ou T_{reg} são os mediadores essenciais de uma gravidez bem sucedida; a actividade insuficiente dos linfócitos T_{reg} resulta numa falência da implantação ou redução da função placentária e crescimento fetal. (Gil Mor, 2006)

O principal papel das células Treg na mediação da tolerância materno-fetal é destacado por variados estudos em que, pela ausência de células CD25⁺ é provocada uma falha na gestação. (Somerset *et al.*, 2004)

O TGF- β , um constituinte do plasma seminal, estimula a produção de GM-CSF no epitélio uterino o que, inicialmente, vai promover o recrutamento de factores inflamatórios no útero provocando alterações similares a uma. (Rabinovich, 2004; Barañao, 2011; Sharkey *et al.*, 2012; Croy *et al.*, 2002)

O LIF, secretado pelo endométrio durante a implantação, vai, também, promover tolerância materno-fetal. (Piccinni *et al.*, 2001)

O sinciotrofoblasto, um tecido fetal especializado que invade o útero, sintetiza e secreta a enzimaIDO, substância esta que suprime a resposta celular T aos tecidos

fetais; as células T reg podem induzir o catabolismo do triptofano nas células dendríticas por via CTLA-4, e têm também a capacidade de induzir a actividade da IDO no sinciciotrofoblasto. (Fallarino *et al.*, 2003)

As células T CD4⁺ *naive* da decídua levam a uma maior diferenciação de linfócitos Th2 de forma a manter um estado dominante destas células e permitindo, assim, a manutenção da gravidez.

Os altos níveis de estrogénio, PGE2 e IL-10 presentes na interface materno-fetal inibem a produção de IL-12 pelas células dendríticas da decídua, reforçando a alteração do balanço Th1/Th2 para um estado predominantemente Th2 na interface. (Gil Mor, 2006)

A expressão de antígenos HLA também se altera durante a gravidez, detectando-se elevados níveis de HLA-G na placenta, na isoforma HLA-G5.

Proteínas HLA-G solúveis influenciam a produção de citocinas pelas células mononucleares presentes no sangue e afectam os linfócitos T citotóxicos, induzindo a morte; são capazes, igualmente de programar células NK uterinas para estados de inibição de morte celular.

Os linfócitos T *helper* também podem ser induzidos a entrar num estado de tolerância devido à expressão de HLA-G5 e HLA-G6 que induzem a produção de citocinas imunossupressoras. (McIntire *et al.*, 2004)

A concentração de hormonas esteróides incluindo estrogénio e progesterona, são consideravelmente mais altas durante a gravidez do que quando comparado com outras situações, este é um aumento gradual de acordo com o decorrer da gravidez, atingindo o pico no terceiro trimestre. (Robinson e Klein, 2012)

Níveis elevados de progesterona estimulam a síntese de PIBF pelos linfócitos; este aumenta no decurso da gravidez e diminui significativamente após o nascimento. Em gestações que resultam em pré-parto ou aborto as concentrações de PIBF são baixas denotando uma correlação entre estes dois factores.

Altas concentrações de PIBF promovem a diferenciação de células T *helper* em células T *helper* tipo 2 (Th2) que secretam altas concentrações de citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-5 e IL-10). (Robinson e Klein, 2012)

A progesterona suprime também a resposta inata incluindo a actividade de macrófagos e células NK; concentrações elevadas de progesterona durante a gravidez inibem o desenvolvimento de uma resposta induzindo a produção de IL-4 e IL-5.

A gravidez está associada a mudanças nas concentrações de várias outras hormonas incluindo o estradiol, estriol, corticosteróides e prolactina. Todas estas alterações hormonais são responsáveis, em parte, pela manutenção da tolerância ao embrião/feto.

Outros mecanismos que interferem na manutenção da tolerância materno-fetal carecem de estudos científicos, sendo a imunologia reprodutiva uma das áreas mais atractivas de pesquisa moderna.

Bibliografia

Aagaard-Tillery, K. M., Silver, R. e Dalton, J. (2006). Immunology of normal pregnancy. *Semin Fetal Neonatal Med*, 11, pp. 279-295.

Agnew, K. J., *et al.* (2008). Effect of semen on vaginal fluid cytokines and secretory leukocyte protease inhibitor. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 2008, pp. 820845.

Aluvihare, V. R. e Betz, A. G. (2006). The role of regulatory T cells in alloantigen tolerance. *Immunol Rev*, 212, pp. 330-343.

Aluvihare, V. R., Kallikourdis, M. e Betz, A. G. (2004). Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat Immunol*, 5, pp. 266-271.

Arosa, F. (2012). *Fundamentos de Imunologia* Lisboa, Lidel.

Barañao, R. I. (2011). Inmunología del embarazo. *Investigación Clínica*, 52, pp. 175-194.

Beagley, K. W. e Gockel, C. M. (2003). Regulation of innate and adaptive immunity by the female sex hormones oestradiol and progesterone. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 38, pp. 13-22.

Billingham, R. E. (1964a). Transplantation Immunity and the Maternal-Fetal Relation. *N Engl J Med*, 270, pp. 720-725 CONCL.

Billingham, R. E. (1964b). Transplantation Immunity and the Maternal-Fetal Relation. *N Engl J Med*, 270, pp. 667-672 CONTD.

Billington, W. D. (2003). The immunological problem of pregnancy: 50 years with the hope of progress. A tribute to Peter Medawar. *J Reprod Immunol*, 60, pp. 1-11.

Chu, T. M., *et al.* (1996). Localization of seminal plasma transforming growth factor-beta1 on human spermatozoa: an immunocytochemical study. *Fertil Steril*, 66, pp. 327-330.

Clark, D. A., *et al.* (2010). Tolerance mechanisms in pregnancy: a reappraisal of the role of class I paternal MHC antigens. *Am J Reprod Immunol*, 63, pp. 93-103.

Clements, C. S., *et al.* (2005). Crystal structure of HLA-G: a nonclassical MHC class I molecule expressed at the fetal-maternal interface. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, pp. 3360-3365.

Croy, B. A., *et al.* (2002). Decidual natural killer cells: key regulators of placental development (a review). *J Reprod Immunol*, 57, pp. 151-168.

Fallarino, F., *et al.* (2003). Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells. *Nat Immunol*, 4, pp. 1206-1212.

Gil Mor, M. D. (2006). *Immunology of Pregnancy*. New York, Springer

<http://www.expertreviews.org> (consultado em 20 de Outubro de 2014)

<http://www.fasebj.org/content/19/7/681/F1.expansion.html> (consultado em 20 de Outubro de 2014)

Hunt, J. S., *et al.* (2006). The role of HLA-G in human pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol*, 4 Suppl 1, pp. S10.

Hunt, J. S. e Roby, K. F. (1994). Implantation factors. *Clin Obstet Gynecol*, 37, pp. 635-645.

Ishitani, A., Sageshima, N. e Hatake, K. (2006). The involvement of HLA-E and -F in pregnancy. *J Reprod Immunol*, 69, pp. 101-113.

Ishitani, A., *et al.* (2003). Protein expression and peptide binding suggest unique and interacting functional roles for HLA-E, F, and G in maternal-placental immune recognition. *J Immunol*, 171, pp. 1376-1384.

Jones, L. A., *et al.* (2010). Differential modulation of TLR3- and TLR4-mediated dendritic cell maturation and function by progesterone. *J Immunol*, 185, pp. 4525-4534.

Lila, N., *et al.* (2002). Human leukocyte antigen-G expression after heart transplantation is associated with a reduced incidence of rejection. *Circulation*, 105, pp. 1949-1954.

Makrigiannakis, A., *et al.* (2001). Corticotropin-releasing hormone promotes blastocyst implantation and early maternal tolerance. *Nat Immunol*, 2, pp. 1018-1024.

Manyonda, I. T. (2006). *The immunology of human reproduction*. London, Taylor and Francis.

Mcintire, R. H., *et al.* (2004). Recombinant HLA-G5 and -G6 drive U937 myelomonocytic cell production of TGF-beta1. *J Leukoc Biol*, 76, pp. 1220-1228.

Medawar, P. B. (1957). *The uniqueness of the individual*. London, Methuen.

Mellor, A. L., *et al.* (2001). Prevention of T cell-driven complement activation and inflammation by tryptophan catabolism during pregnancy. *Nat Immunol*, 2, pp. 64-68.

Mjosberg, J., *et al.* (2009). Systemic reduction of functionally suppressive CD4^{dim}CD25^{high}Foxp3⁺ Tregs in human second trimester pregnancy is induced by progesterone and 17beta-estradiol. *J Immunol*, 183, pp. 759-769.

Mosmann, T. R. e Sad, S. (1996). The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today*, 17, pp. 138-146.

Munn, D. H., *et al.* (1998). Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. *Science*, 281, pp. 1191-1193.

Nossal, G. J. (2000). The new biology and human reproduction. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 40, pp. 373-376.

Peltier, M. R. (2003). Immunology of term and preterm labor. *Reprod Biol Endocrinol*, 1, pp. 122.

Phiel, K. L., *et al.* (2005). Differential estrogen receptor gene expression in human peripheral blood mononuclear cell populations. *Immunol Lett*, 97, pp. 107-113.

Piccinni, M. P., Maggi, E. e Romagnani, S. (2000a). Role of hormone-controlled T-cell cytokines in the maintenance of pregnancy. *Biochem Soc Trans*, 28, pp. 212-215.

Piccinni, M. P., *et al.* (2000b). Role of hormone-controlled Th1- and Th2-type cytokines in successful pregnancy. *J Neuroimmunol*, 109, pp. 30-33.

Piccinni, M. P., *et al.* (2001). Defective production of LIF, M-CSF and Th2-type cytokines by T cells at fetomaternal interface is associated with pregnancy loss. *J Reprod Immunol*, 52, pp. 35-43.

Prakash, M., *et al.* (2003). Recruitment of CD4+ T lymphocytes and macrophages into the cervical epithelium of women after coitus. *Am J Obstet Gynecol*, 188, pp. 376-381.

Rabinovich, G. A. (2004). Inmunobiología del embarazo: mecanismos celulares y moleculares involucrados en el mantenimiento de la unidad maternofetal. *Inmunopatología molecular: nuevas fronteras de la medicina : un nexo entre la investigación biomédica y la práctica clínica*. Editorial Médica Panamericana, pp. 351-358.

Raghupathy, R. (1997). Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. *Immunol Today*, 18, pp. 478-482.

Robertson, S. A., *et al.* (1997). Cytokine-leukocyte networks and the establishment of pregnancy. *Am J Reprod Immunol*, 37, pp. 438-442.

Robertson, S. A., *et al.* (2013). Seminal fluid and the generation of regulatory T cells for embryo implantation. *Am J Reprod Immunol*, 69, pp. 315-330.

Robinson, D. P. e Klein, S. L. (2012). Pregnancy and pregnancy-associated hormones alter immune responses and disease pathogenesis. *Horm Behav*, 62, pp. 263-271.

Rouas-Freiss, N., *et al.* (1997). Direct evidence to support the role of HLA-G in protecting the fetus from maternal uterine natural killer cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94, pp. 11520-11525.

Saftlas, A. F., *et al.* (2014). Cumulative exposure to paternal seminal fluid prior to conception and subsequent risk of preeclampsia. *J Reprod Immunol*, 101-102, pp. 104-110.

Sanguansermsri, D. e Pongcharoen, S. (2008). Pregnancy immunology: decidual immune cells. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 26, pp. 171-181.

Sasaki, Y., *et al.* (2007). Proportion of peripheral blood and decidual CD4(+) CD25(bright) regulatory T cells in pre-eclampsia. *Clin Exp Immunol*, 149, pp. 139-145.

Sasaki, Y., *et al.* (2004). Decidual and peripheral blood CD4+CD25+ regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases. *Mol Hum Reprod*, 10, pp. 347-353.

Sathe, A., *et al.* (2014). MicroRNA let-7f: a novel regulator of innate immune response in human endocervical cells. *Am J Reprod Immunol*, 71, pp. 137-153.

Schminkey, D. L. e Groer, M. (2014). Imitating a stress response: A new hypothesis about the innate immune system's role in pregnancy. *Med Hypotheses*, pp.

Seavey, M. M. e Mosmann, T. R. (2009). Estradiol-induced vaginal mucus inhibits antigen penetration and CD8(+) T cell priming in response to intravaginal immunization. *Vaccine*, 27, pp. 2342-2349.

Sharkey, D. J., *et al.* (2012). TGF-beta mediates proinflammatory seminal fluid signaling in human cervical epithelial cells. *J Immunol*, 189, pp. 1024-1035.

Soldan, S. S., *et al.* (2003). Immune modulation in multiple sclerosis patients treated with the pregnancy hormone estriol. *J Immunol*, 171, pp. 6267-6274.

Somerset, D. A., *et al.* (2004). Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+ CD4+ regulatory T-cell subset. *Immunology*, 112, pp. 38-43.

Tafuri, A., *et al.* (1995). T cell awareness of paternal alloantigens during pregnancy. *Science*, 270, pp. 630-633.

Viglietta, V., *et al.* (2004). Loss of functional suppression by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J Exp Med*, 199, pp. 971-979.

Voskuhl, R. (2011). Sex differences in autoimmune diseases. *Biol Sex Differ*, 2, pp. 1.

Warning, J. C., Mccracken, S. A. e Morris, J. M. (2011). A balancing act: mechanisms by which the fetus avoids rejection by the maternal immune system. *Reproduction*, 141, pp. 715-724.

Walker, L. S. e Abbas, A. K. (2002). The enemy within: keeping self-reactive T cells at bay in the periphery. *Nat Rev Immunol*, 2, pp. 11-19.

White, H. D., *et al.* (1997). CD3⁺ CD8⁺ CTL activity within the human female reproductive tract: influence of stage of the menstrual cycle and menopause. *J Immunol*, 158, pp. 3017-3027.

Xu, C., *et al.* (2000). A critical role for murine complement regulator *crry* in fetomaternal tolerance. *Science*, 287, pp. 498-501.