



Imunologia na gestação de cadelas: revisão de literatura *Immunology in the pregnancy of bitches: a review*

M.A.R. Feliciano¹, A.A. Aquino², L.N. Coutinho¹, W.R.R. Vicente¹

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil.

²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, SP, Brasil.

Correspondência: marcusfeliciano@yahoo.com.br

Resumo

Para que a gestação transcorra normalmente, é necessário que ocorram adaptações que possam tolerar a presença do feto, o qual seria considerado estranho ao organismo materno por possuir metade de seu material genético proveniente do pai. Objetivou-se descrever os processos imunológicos por meio dos quais a gestação se mantém, descrevendo desde aspectos gerais até a participação específica de cada um dos elementos do sistema imune.

Palavras-chave: cães, gestação, sistema imune, tolerância imunológica.

Abstract

For the pregnancy progresses normally occurring is necessary adaptations that can tolerate the presence of the fetus it would be considered foreign to the mother by having half of their genetic material from the father. This review aims to describe the immunological processes which maintain pregnancy in female dogs, describing the general features provided by the specific participation of each of the components of the immune system.

Keywords: dogs, immune system, immunologic tolerance, pregnancy.

Introdução

Para reagir à grande variedade de agentes físicos, químicos e biológicos potencialmente lesivos, aos quais os animais são expostos diariamente, o organismo conta com sistema imune que é capaz de identificar substâncias “próprias” e “não próprias”, preparando mecanismos de defesa para evitar a ocorrência de doenças. Em algumas situações, este sistema orgânico precisa também tolerar a presença de organismos, que são considerados “não próprios”, para garantir eventos primordiais na manutenção e perpetuação da vida. A gestação é um exemplo desta situação e para que a reprodução seja viável é fundamental que o organismo materno tolere a presença do feto até que este venha a termo (Vasconcellos et al., 2005).

São necessárias diversas adaptações anatômicas, fisiológicas e bioquímicas para que ocorra a manutenção da gestação, entre elas separação anatômica entre feto e mãe, imaturidade antigênica do feto e inexistência de resposta imunológica materna (Sarafana et al., 2007). A presença de falhas nos mecanismos citados acima, que participam da tolerância imunológica durante a gestação, pode gerar abortamentos espontâneos e/ou causar infertilidade (Michelon et al., 2006).

Objetivou-se, por meio desta revisão, descrever o processo imunológico da gestação em cadelas, desde seus aspectos gerais até a participação específica de cada um dos elementos do sistema imune (células, sistema complemento, citocinas, MHC e hormônios), com base na apresentação de estudos recentes em medicina humana que podem nortear pesquisas em medicina veterinária.

Aspectos gerais da imunologia da gestação: barreira mecânica, imaturidade antigênica do feto e modulação da resposta imune materna

Em 1953, Medawar sugeriu a existência da tolerância imunológica materna durante a gestação, em mulheres, minimizando a resposta alogênica materna agressiva ao feto (Medawar, 1953). Esse autor propôs um mecanismo de tolerância para a interface materno-fetal baseando-se em três observações: 1) existência de separação física entre tecidos fetais e maternos; 2) imaturidade antigênica do sistema imune fetal; e 3) “preguiça” imunológica do sistema imune materno.

De acordo com Szekeres-Bartho (2002), a relação imunológica entre a mãe e o feto, ou seja, a interface materno-fetal é uma comunicação bidirecional em que se observa a apresentação de antígenos pelo feto e o reconhecimento destes pelo sistema imune materno. Essa interação é uma etapa importante na manutenção da gestação, e falhas nesse processo podem resultar em abortos espontâneos.

De uma maneira geral, o feto se comporta como um enxerto semialogênico, por possuir metade de seu

material genético de origem materna e a outra metade de origem paterna (Michelon et al., 2006). Nos estágios primários do desenvolvimento, o embrião se divide em dois grupos de células: um interno, que dá origem ao próprio embrião, e um externo, o trofoblasto, que, mais tarde, dará origem à placenta (Mor, 2006). A placenta separa os sistemas sanguíneo e linfático de mãe e feto (Weetman, 1999) em uma barreira similar a que ocorre em outros órgãos, como cérebro, córnea, testículos e rins (Mor, 2006). Dessa forma, o movimento de células do sistema imune para dentro e para fora dos tecidos é impedido, e o trofoblasto desempenha o principal papel na falta de resposta do sistema imune materno ao feto (Weetman, 1999).

Além da barreira física, Alves et al. (2007) comentam que fatores como antígenos leucocitários (HLA) e a modulação da resposta imune materna podem auxiliar nos fenômenos de tolerância à gestação.

O complexo de histocompatibilidade principal classe I (MHC I), também conhecido como HLA, é formado por importantes moléculas de reconhecimento, expressas na superfície das células nucleadas. Essas moléculas são subdivididas em dois grupos: Ia (A, B e C, também conhecidas como clássicas) e Ib (E, F, G, também denominadas não clássicas). Os primeiros apresentam alto polimorfismo, e suas moléculas são expressas no tecido somático com funções imunológicas bem estabelecidas, como modular a resposta antiviral e antitumoral por meio de sua interação com receptores de células NK e células T. O grupo Ib tem limitado polimorfismo, e suas moléculas estão restritas ao tecido (Alves et al., 2007).

O HLA-G é descrito como mediador da tolerância materno-fetal, pois está expresso nas células citotrofoblásticas extravilosas invasivas, células do endotélio endovascular fetal e do tecido e líquido amniótico, que entram em contato com o sistema imune materno. A influência do HLA-G na evolução da gestação não é totalmente elucidada, mas tem sido sugerido seu envolvimento na diferenciação do tecido fetal, na implantação do blastocisto, na angiogênese placentária e, principalmente, na prevenção do ataque ao trofoblasto, inibindo a ação das células NK e T citotóxicas (Alves et al., 2007).

Caso as células trofoblásticas fetais, em humanos, expressem moléculas HLA paternas, o sistema imune materno poderá reconhecê-las como estranhas, desencadeando rejeição ao conceito. Normalmente, isso não ocorre, porque as principais moléculas do HLA responsáveis pela rejeição, HLA-A e HLA-B, não estão presentes nas células do trofoblasto. Apenas moléculas não clássicas do HLA, com baixo polimorfismo, como HLA-G, HLA-E, HLA-F e algumas moléculas HLA-C, são expressas (Alves et al., 2007).

O HLA-G pode ser expresso por cinco isoformas: três isoformas de HLA-G transmembrana (-G1, -G2 e -G3) e duas isoformas solúveis circulantes (-G5 e -G6). É possível que estas últimas atuem como imunossupressores na gestação, principalmente inibindo a expressão de CD8, indispensável na ativação da citotoxicidade mediada por células. Porém, o baixo polimorfismo do HLA-G por si só pode ser indutor da tolerância materna. Secreção de HLA-G solúvel pelos embriões parece ser necessária à implantação e clivagem, orientando, por exemplo, o sucesso de fertilizações *in vitro* em mulheres, o que favorece a seleção de embriões mais aptos (Alves et al., 2007).

Segundo Mor et al. (2011), a modulação da resposta imune materna também é um fator importante para interação entre mãe e conceito. Há algum tempo acreditava-se que a gestação estava associada à supressão da imunidade. No entanto, embora responda diferentemente a microrganismos, os animais não podem ficar completamente susceptíveis e o organismo deve ser capaz de alertar quanto a possíveis perigos para proteger a mãe e o feto. A resposta é diferente de acordo com o microrganismo e o estágio da prenhez, sendo modulada e não totalmente suprimida.

Aspectos específicos da imunologia da gestação: progesterona, células e anticorpos e citocinas

A ação hormonal sobre o sistema imune materno, as citocinas liberadas no meio, o controle da citotoxicidade direta das células *natural killer* uterinas e a atividade das células T regulatórias influenciam o fenômeno de tolerância, o desenvolvimento fetal e a formação placentária (Michelon et al., 2006).

De acordo com Neves et al. (2007), os hormônios, como o estradiol e a progesterona, têm concentrações elevadas ao final e durante a gestação, respectivamente, e desempenham efeitos imunológicos para manter o desenvolvimento do feto e garantir a duração normal da gravidez.

Dentro deste contexto, a progesterona apresenta um papel importante na implantação trofoblástica e no desenvolvimento uterino. Esse hormônio “gestacional” também exerce uma função determinante sobre a resposta imune materna, podendo alterar o prognóstico gestacional. A progesterona influencia a resposta imunológica induzindo a ativação preferencial de células TH2 (Daher e Mattar, 2009).

A progesterona causa diminuição do número de células NK periféricas e ativação da citotoxicidade por ação direta nas células NK e/ou por meio da promoção de citocinas Th2 e da produção de PIBF (progesterone-induced blocking factor) pelas células T. Isto também facilita a vinda das células NK para o endométrio, por meio da expressão de receptores nas células NK periféricas e no endométrio, possibilitando a indução de VEGF (vascular endothelial growth factor) e MIP-1β (macrophage inflammatory protein) no endométrio. As células do endométrio, por influência da progesterona, produzem IL-15 e prolactina, que regulam a proliferação das células NK, a diferenciação e produção de citocinas e de outras moléculas que suportam o desenvolvimento da placenta e do trofoblasto, promovendo a modulação local (Neves et al., 2007).



De uma forma geral, a progesterona é o hormônio feminino com atividade mais peculiar sobre o sistema imune materno e na interface materno-fetal, pois é capaz de suprimir a função efetora das células T e exerce um efeito direto de modulação de canais de potássio da membrana celular e também sobre os íons cálcio, agindo diretamente sobre a expressão gênica dessas células (Michelon et al., 2006).

Acredita-se que o efeito imunorregulatório mais importante da progesterona esteja relacionado com a sua ação sobre os linfócitos T. Esse tipo de linfócito T, em seres humanos, sob o estímulo alogênico, passa a expressar também receptores para a progesterona. A partir disso, sob altas concentrações desse hormônio, tais linfócitos passam a sintetizar uma proteína imunomodulatória, PIBF. A PIBF inibe a liberação de ácido araquidônico, inibe a atividade das células NK e modifica o balanço de citocinas (Michelon et al., 2006). Como exemplo de sua ação nas citocinas, este mediador exerce funções imunomodulatórias, favorecendo a secreção de citocinas tipo Th2, como IL-3, IL-4 e IL-10, enquanto inibe as citocinas Th1, como o interferon (IFN; Szekeres-Bartho et al., 2005).

De acordo com Dealtry et al. (2000), o estrogênio tem um efeito similar à progesterona, ao final do período gestacional, no balanço Th1/Th2.

Juntamente com a ação hormonal, as células do trofoblasto se ligam a receptores inibitórios das células NK humanas, denominados receptores inibitórios da morte. Tais receptores veiculam sinais inibitórios, que inibem a ativação de células NK. Essas células constituem 60% a 70% dos linfócitos maternos isolados por meio de a partir de suspensões de decídua materna, em seres humanos, e localizam-se no epitélio glandular do endométrio e em torno das pequenas artérias. As células NK de origem materna aumentam em número e precedem a implantação durante a fase lútea, diferenciam-se durante a gestação e diminuem, quase desaparecendo, no final da gestação. Pouco se sabe acerca dos sinais que atraem essas células para locais específicos. A progesterona pode contribuir para este tipo de quimiotaxia, por meio do aumento da expressão de receptores de fibronectina (Sarafana et al., 2007).

Blois et al. (2008) observaram a existência de um efeito cruzado entre as células NK e dendríticas (DC) em vários testes experimentais, realizados em camundongos, e sua importância biológica, que vai desde a estimulação cooperativa até a lise celular. Os autores sugerem que esta interação promova um microambiente com tolerância imunológica caracterizada pela regulação da expressão de marcadores para ativação das células NK e DC e dominância de citocinas Th2, influenciando também na proliferação celular uterina, processo este fortemente modulado por trofoblastos.

Estudos recentes realizados por Collins et al. (2009) identificaram que as unidades celulares dendríticas uterinas (UDCs) são essenciais para a gestação em ratos e mulheres, sendo necessárias para a formação tecidual, por provocarem efeitos sobre a vascularização e, provavelmente, por apresentarem tropismo sobre as células teciduais e hematopoiéticas.

Em relação aos linfócitos T do útero humano, entende-se que estas células têm, pelo menos, duas funções conhecidas. Em primeiro lugar, os linfócitos têm atividades efectoras e citotóxicas, eliminando antígenos nocivos de bactérias e vírus. Em segundo lugar, a regulação das células T define as propriedades fundamentais da tolerância imunológica. Assim, no interior do útero, as células T podem contribuir para o ambiente imunossupressivo local, que permite a sobrevivência do feto. No início da gestação, o número de linfócitos T agregados no endométrio diminui, e aumenta na decídua à medida que a gestação avança (Sarafana et al., 2007).

O sistema complemento também participa do processo gestacional e é essencial para a resposta imune inata, consistindo um conjunto de proteínas circulantes normalmente inativas. Após ativação proteolítica específica, as proteínas do complemento podem ligar-se à superfície de organismos estranhos e destruí-los, por meio de lesões criadas nas suas membranas celulares. Por outro lado, o complemento protege as células e os tecidos normais, evitando a libertação de produtos de degradação, que atuam sobre as células adjacentes, causando lesão nos tecidos (Sarafana et al., 2007).

Quanto à imunidade celular, há leucocitose durante a gestação, a qual se torna mais pronunciada no período do trabalho de parto. Essa leucocitose é principalmente constituída por polimorfonucleares, com diferencial variável de basófilos e eosinófilos (Vasconcellos et al., 2005). Observou-se, em mulheres gestantes, diminuição da quimiotaxia e da atividade fagocitária entre o segundo trimestre do período gestacional e o primeiro trimestre pós-parto (Vasconcellos et al., 2003).

Sobre as imunoglobulinas, Vasconcellos et al. (2005) comentam que, durante o período gestacional, há uma queda sérica de anticorpos humorais, provavelmente por efeito hemodilucional, decorrente do aumento da volemia no período gestacional. Complementando as informações citadas acima sobre as imunoglobulinas, Tizard (1998) cita que cadelas podem sintetizar alguns anticorpos bloqueadores que recobrem antígenos fetais, evitando sua destruição pelas células T maternas.

As citocinas provenientes do complexo feto-placenta em humanos estão envolvidas em todas as etapas do processo de reprodução, influenciando o desenvolvimento dos gametas, a implantação, evolução da gestação e, finalmente, o desencadeamento e próprio trabalho de parto.

Wegmann et al. (1993) apresentaram a primeira teoria para tentar explicar a participação das citocinas na gestação. De acordo com esta proposição, as citocinas Th1 exercem efeito deletério, uma vez que induzem a reação inflamatória e a necrose placentária, podendo, assim, comprometer o desenvolvimento fetal e/ou



placentário. Por outro lado, as citocinas Th2 são benéficas para a gestação, pois promovem proliferação e diferenciação das células trofoblásticas e placentação; além disso, desempenham um papel protetor sobre a unidade feto-placentária ao inibir a produção de citocinas Th1. De acordo com esta teoria, o sucesso gestacional está associado ao desenvolvimento preferencial de perfil Th2. A continuidade das investigações mostrou que esta proposição é muito restrita, e assim está sendo progressivamente reformulada.

Recentemente, descobriu-se um novo grupo de células, as Th-3 (ou regulatórias), que origina a IL-10, uma citocina pleiomórfica, ou seja, que possui tanto atividades imunoestimulantes quanto imunossupressivas. Esse grupo estaria associado à regulação das atividades de Th1-Th2 (Denney et al., 2011) e poderia, assim, diminuir as respostas Th1 (IL-2 e IFN- γ), formando um microambiente essencial para uma boa evolução da gestação.

As citocinas são uma diversidade de proteínas solúveis sintetizadas por várias células do sistema imune, as quais têm a função de atuar como reguladores imunológicos. Entre as principais citocinas sintetizadas pela Th1 estão a interleucina-12 (IL-12) e o interferon-gama (IFN- γ), e as Th-2 produzem IL-4, IL-5 e IL-13. Além disso, há a categoria que inclui TNF- α , IL-1 β , e IL-6, citocinas estas que possuem marcada função anti-inflamatória. Na Tab. 1, estão relacionadas as principais citocinas envolvidas na gestação.

Tabela 1. Características básicas das principais citocinas relacionadas com a gestação, segundo Daher e Mattar (2009).

Citocinas	Função
IL-1	Pró-inflamatória com múltiplos efeitos locais e sistêmicos
IL-2	Fator de proliferação e diferenciação de células T, NK e B; induz a geração e ativação de células T reguladora
IL-4	Polariza a reação para padrão Th2; fator de proliferação de células B e Th2 e induz IgE
IL-6	Pró e anti-inflamatória e induz proteínas de fase aguda
IL-10	Anti-inflamatória e imunorreguladora; inibe a ativação das células apresentadoras de antígeno (APCs)
IL-12	Polariza para Th1; indutora de IFN γ
IL-15	Induz proliferação de células NK, NKT e T de memória
IL-17	Pró-inflamatória e induz IL-1, IL-6, TNF e quimiocinas
IL-18	Indutora da produção de interferons
TNF- α	Pró-inflamatória e atua em conjunto com IFN
TGF- β	Efeito inibidor sobre a resposta proliferativa dos linfócitos, impede a polarização para Th1 e Th2; induz linfócitos B a produzirem IgA
IFN- γ	Pró-inflamatória e citocina que define padrão Th1; inibe padrão Th2 e induz ativação de macrófagos, de linfócitos B; apresentação de antígenos para os linfócitos T CD4

IL = interleucina; TNF = fator de necrose tumoral; TGF = fator transformador de crescimento; IFN = interferon.

Outros aspectos relevantes

O feto canino não depende completamente dos mecanismos maternos para sua proteção. A placenta é fonte de muitos fatores imunossupressivos; além dos hormônios estradiol e progesterona, algumas proteínas do soro fetal são imunorreguladoras, como isoformas da fetoproteína- α , e também da placenta, como macroglobulina- α e interferon placentário. O líquido amniótico, por sua vez, é rico em fosfolípidos imunossupressivos (Tizard, 1998).

A imunossupressão suave é uma característica do final da gestação. Os animais podem apresentar deficiências menores na reatividade imune, mediada por células contra antígenos não fetais. Isso é notório em animais parasitados, nos quais a resposta imune pode não controlar o parasita, como nas cadelas com ácaros do gênero *Demodex*, cujas populações se elevam e eles, então, podem ser transmitidos aos cãesinhos (Tizard, 1998).

A proteção do neonato contra as infecções inicia-se já intraútero, onde o líquido amniótico constitui barreira muito eficiente, devido à presença de vários fatores de defesa já identificados. Esses fatores incluem betalissina, peroxidase, transferrina, imunoglobulinas e lisozima, e a concentração desses fatores aumenta à medida que a gestação progride até o termo (Ceccon et al., 1997).

A gestação é um estado fisiológico particular que exige adaptações imunológicas para que transcorra normalmente. Nos últimos anos, estudos vêm sendo realizados em humanos para entender melhor o papel das células, dos hormônios e das citocinas nesse processo. Estes modelos podem servir de base para a realização de novas pesquisas em imunologia e reprodução na medicina veterinária, que carece de informações nesta área.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP por concessão de bolsa e auxílio pesquisa para pós-doutoramento



(processos 2010/16913-7 and 2011/06011-9).

Referências

- Alves C, Veiga S, Toralles MBP, Lopes ACV.** O papel do complexo principal de histocompatibilidade na fisiologia da gravidez e na patogênese de complicações obstétricas. *Rev Bras Saúde Matern Infant*, v.7, p.357-363, 2007.
- Blois SM, Barrientos G, Garcia MG, Orsal AS, Tometten M, Cordo-Russo RI, KlappBF, Santoni A, Fernández N, Terness P.** Interaction between dendritic cells and natural killer cells during pregnancy in mice. *J Mol Med*, v.86, p.837-852, 2008.
- Ceccon MEJ, Diniz EMA, Vaz FAC, Ramos JLA.** Imunidade do feto e do recém-nascido. *Pediatria*, v.19, p.9-23, 1997.
- Collins MK, Tay CS, Erlebacher A.** Dendritic cell entrapment within the pregnant uterus inhibits immune surveillance of the maternal/fetal interface in mice. *J Clin Invest*, v.119, p.2062-2073, 2009.
- Daher S, Mattar R.** Gestação: um fenômeno imunológico? *Rev Bras Alerg Immunopatol*, v.32, p.63-67, 2009.
- Denney JM, Nelson EL, Wadhwa PD, Waters TP, Mathew L, Chung EK, Goldenberg RL, Culhane J.** Longitudinal modulation of immune system cytokine profile during pregnancy. *Cytokine*, v.53, p.170-177, 2011.
- Dealtry GB, O'Farrell MK, Fernandez N.** The Th2 cytokine environment of the placenta. *Int Arch Allergy Immunol*, v.123, p.107-119, 2000.
- Medawar PB.** Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol*, v.7, p.320-338, 1953.
- Michelon T, Silveira JG, Graudenz M, Neumann J.** Imunologia da gestação. *Rev AMRIGS*, v.50, p.145-151, 2006.
- Mor G.** Immunology of pregnancy. New York: Springer, 2006. 322p.
- Mor G, Cardenas I, Abrahams V, Guller S.** Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. *Ann NY Acad Sci*, v.1221, p.80-87, 2011.
- Neves C, Medina JL, Delgado JL.** Alterações endócrinas e imunomodulação na gravidez. *Arq Med*, v.21, p.175-182, 2007.
- Sarafana S, Coelho R, Neves A, Trindade JC.** Aspectos da imunologia da gravidez. *Acta Med Port*, v.20, p.355-358, 2007.
- Szekeres-Bartho J.** Immunological relationship between the mother and the fetus. *Int Rev Immunol*, v.21, p.471-495, 2002.
- Szekeres-Bartho J, Polgar B, Kozma N, Miko E, Par G, Szereday L, Barakonyi A, Palkovics T, Papp O, Varga P.** Progesterone-dependent immunomodulation. *Chem Immunol Allergy*, v.89, p.118-125, 2005.
- Tizard IR.** Hipersensibilidade do tipo IV: rejeição de transplantes. In: Tizard IR. *Imunologia veterinária: uma introdução*. São Paulo: Roca, 1998. p.408-419.
- Vasconcellos LS, Sabino KR, Petroianu A.** Influência da ooforectomia e da gravidez na função fagocitária do sistema mononuclear fagocitário em modelo experimental. *J Bras Patol Med Lab*, v.41, p.153-158, 2005.
- Vasconcellos LS, Sabino KR, Petroianu A, Simal CJR.** Atividade fagocitária do sistema mononuclear fagocitário na gravidez. *Rev Bras Hematol Hemoter*, v.25, p.213-218, 2003.
- Weetman AP.** The immunology of pregnancy. *Thyroid*, v.9, p.643-646, 1999.
- Wegmann, TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR.** Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a Th2 phenomenon? *Immunol Today*, v.14, p.353-356, 1993.
-