

PRYSCILLA FANINI WOWK



IMUNOTROFISMO PLACENTÁRIO:

O papel das citocinas no desenvolvimento embrionário.

**CURITIBA
2002**

PRYSCILLA FANINI WOWK

IMUNOTROFISMO PLACENTÁRIO:

O papel das citocinas no desenvolvimento embrionário.

Monografia de Conclusão do Curso de Ciências Biológicas apresentada à Disciplina de Estágio em Genética - BG016, referente ao trabalho que foi desenvolvido no Laboratório de Imunogenética e Histocompatibilidade, do Departamento de Genética da Universidade Federal do Paraná, no período de agosto de 2001 a abril de 2002.

Orientadora: Prof.^a Dra. Maria da Graça Bicalho.

**CURITIBA
2002**

Dedico este trabalho a todos os casais que naturalmente ainda não tiveram a possibilidade de ter filhos, e em especial aos casais que sofrem de abortos espontâneos recorrentes de etiologia desconhecida.

Este será o início da minha contribuição aos estudos da imunologia da reprodução para que num futuro não muito distante todas as barreiras possam ser superadas.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Paraná, e a todos os seus professores e funcionários, os quais, cada um a sua maneira ajudaram a realização de um grande sonho, ser uma Bióloga.

Ao CNPq que possibilitou o desenvolvimento de dois trabalhos de Iniciação Científica que muito contribuíram para o meu desenvolvimento acadêmico-profissional.

Ao meu amigo e professor Elias Karam Junior, o qual durante todo este caminho várias vezes me ouviu e mostrou os vários rumos que poderiam ser tomados sem nunca me desmotivar sempre apoiando as minhas decisões.

A equipe do LIGH – Laboratório de Imunogenética e Histocompatibilidade, que além de ótimos colegas de trabalho tornaram-se verdadeiros amigos.

A Eni, Fabiana, Fernanda, Izolde, Paola, Rodrigo, Savana, Téo deixo a vocês o meu muito obrigada.

A Sibelle, amiga de laboratório e de infância ofereço a minha amizade eterna.

A minha admiração e agradecimento especial a aquelas que com carinho quero chamar de mães intelectuais:

- A minha mãe sorológica, Sonia, que com muita paciência várias vezes dividiu seu conhecimento ensinando-me a interpretar o fascinante mundo das reações sorológicas e ainda encontrou tempo para me acolher.

- A minha mãe molecular, Andrea, que me motivou e me ajudou a viajar neste mundo tão abstrato que é a Biologia Molecular e acabou se tornando uma grande amiga.

- A minha mãe orientadora, Graça, que abriu as portas de seu laboratório integrando-me a sua equipe, e apresentando-me a mais bela das ciências, a Imunogenética. Pessoa que com grande êxito ensinou-me a conciliar o conhecimento teórico-prático para que pudéssemos juntas desenvolver trabalhos dos quais nos orgulhamos muito.

As minhas amigonas e colegas de curso Ale, Carol e Pati por tudo que aprendemos juntas.

Aos meus pais, João Maurício e Célia, a minha avó Odette e minha irmã Mayllinha, os quais sentem-se orgulhosos da minha primeira grande conquista.

“There’s an old saying in research, it’s okay to sleep with a hypothesis, but you should never marry one.”

J. William Langston

“Há um velho ditado nas pesquisas, é correto dormir com uma hipótese, mas nunca deve se casar com uma.”

*“If you steal from one author, it’s plagiarism.
If you steal from two, it’s research.”*

Wilson Mizner-John Burke

“Se você roubar de um autor, isto é plágio.
Se você roubar de dois, isto é pesquisa.”

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS.....	V
1- REVISÃO DO ESTADO DE ARTE	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
1.1- INTRODUÇÃO	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
1.1.1- A Relação Entre o Sistema Imune Materno e o Feto ...	Erro! Indicador não definido.
1.1.2- Hipóteses Propostas para Explicar a Sobrevivência do Alo-enxerto Fetal	Erro! Indicador não definido.
1.1.3- O Complexo Principal de Histocompatibilidade.....	Erro! Indicador não definido.
1.1.3.1- Compartilhamento HLA entre casais e sua relação com as hipóteses que tentam explicar a sobrevivência do alo-enxerto fetal....	Erro! Indicador não definido.
1.1.3.1.1- Aloimunização	Erro! Indicador não definido.
1.1.3.1.2- HLA-G e sua relação com componentes da resposta imune	Erro! Indicador não definido.
2- CITOCINAS E A HIPÓTESE DO IMUNOTROFISMO PLACENTÁRIO	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
2.1- O SISTEMA IMUNE E O TROFOBLASTO:.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
2.2- O BALANÇO TH1/TH2 E A SUA ATUAÇÃO.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
2.3- O PAPEL DAS CITOCINAS DURANTE A GESTAÇÃO	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
2.4- A HIPÓTESE DO IMUNOTROFISMO PLACENTÁRIO	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
3- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.

LISTA DE SIGLAS

- APCs - células apresentadoras de antígeno
- ARE - abortos recorrentes espontâneos
- CML - lise mediada por células
- CPH - Complexo Principal de Histocompatibilidade
- CSF - fator estimulador de colônia
- CTL - linfócitos T citotóxicos
- DLN - linfonodos paraórticos que drenam o útero
- DTH - hipersensibilidade do tipo tardia
- DVH - Doença do Enxerto-*versus*-hospedeiro
- E - região embrionária
- EPC - cone ectoplacentário
- Fc – porção constante das imunoglobulinas
- GM-CSF- fator estimulador do crescimento de macrófagos granulócitos
- HLA - Antígenos Leucocitários Humanos
- IFN- γ - interferon gama
- Ig - imunoglobulina
- IL-1 - interleucina 1
- IL-2 - interleucina 2
- IL-3 - interleucina 3
- IL-4 - interleucina 4
- IL-5 - interleucina 5
- IL-6 - interleucina 6
- IL-10 - interleucina 10
- LIF - fator inibidor de leucemia
- MLC – cultura mista de linfócitos
- MLR - reação mista de linfócitos
- RNA mensageiro - mRNA
- NK - células *Natural Killer*
- RBC - linhagens de células eritrocitárias paternas
- TCR - receptor de célula T
- TGF - fator de transformação do crescimento
- Th - células T auxiliares (helper) CD4⁺
- TLFA - linfócitos T-citotóxicos humano encontrado no cordão umbilical
- TNF - fator de necrose tumoral

1- REVISÃO DO ESTADO DE ARTE

1.1- INTRODUÇÃO

Imunologistas do transplante há muito tempo procuram entender os mecanismos que resultam numa aloestação normal. Este sucesso contrasta com os problemas de rejeição associados com a maioria dos artefatos dos transplantes de órgão e promove questões intrigantes a respeito da natureza dos mecanismos envolvidos neste processo. Teorias que explicam como prolongar a sobrevivência do alo-enxerto são freqüentemente estendidas para explicar a sobrevivência fetal (BEER & BILLINGHAM, 1971). Esta área de pesquisa teve grandes avanços diante de evidências de que manipulações imunológicas podendo impedir os abortos recorrentes espontâneos em murinos, eqüinos e humanos (CLARK & CROY, 1986; CHAOUAT, 1987; GILL & WEGMANN, 1987).

O presente trabalho tem como objetivo realizar uma extensa revisão bibliográfica sobre a **Hipótese do Imunotrofismo Placentário** proposto por Thomas G. Wegmann e seus colaboradores, assim como reunir e sintetizar, em um único trabalho, o conhecimento relacionado à aceitação do alo-enxerto fetal, e enfatizar a importante atuação das citocinas neste processo.

Thomas G. Wegmann foi um grande estudioso da imunologia da reprodução. Seus estudos despertaram o interesse de vários discípulos que atualmente trabalham com base nas suas hipótese e tentam explicar a aceitação do alo-enxerto fetal. Wegmann foi professor e pesquisador na Universidade de Alberta, Edmonton, Canadá. Vários grupos compostos por seus colaboradores continuam a investigar a gestação, seguindo a linha de raciocínio de Wegmann, obtendo resultados muito importantes sobre o balanço do sistema imune materno que permite a aceitação fetal.

A grande importância destes estudos além de ajudar na problemática da imunologia da reprodução, possibilitando que casais que sofram de abortos recorrentes de etiologia desconhecida possam vir a ter filhos, permite extrapolar tais resultados e uma futura manipulação da resposta imune no contexto dos transplantes clínicos.

1.1.1- A Relação Entre o Sistema Imune Materno e o Feto

A sobrevivência do alo-enxerto em mamíferos é influenciada por genes do Complexo Principal de Histocompatibilidade - CPH. A incompatibilidade relacionada aos genes que codificam os Antígenos Leucocitários Humanos – HLA, que se encontram no CPH, é associada com a rápida rejeição de tecidos geneticamente diferentes (VAN ROOD & CLAAS, 1990). Uma notável exceção é a gestação, durante a qual, tecidos fetais alogênicos escapam do processo de rejeição.

Diferenças importantes entre os tecidos fetais e tecidos transplantados estiveram em evidência na década de 80, particularmente com as observações que relataram a ausência de antígenos HLA nos tecidos fetais que estão em contato com os tecidos maternos durante a gestação (GALBRAITH et al., 1981; SUNDERLAND et al., 1981; FAULK et al., 1982; JOHNSON & STERN, 1986).

As tentativas que buscam explicar o enigma da sobrevivência fetal são tão antigas quanto à própria Imunogenética (BILLINGHAM, 1964). Quem primeiro se interessou pelo enigma imunológico central da gravidez, grande questão da imunobiologia da reprodução, foi MEDAWAR em 1953, quando buscava a resposta para a seguinte pergunta: “Como a mãe grávida efetua a nutrição dentro de si mesma, por várias semanas ou meses, de um feto que possui antígenos estranhos ao seu corpo?”. Posteriormente propôs quatro hipóteses para justificar a não rejeição do feto pelo organismo materno:

- 1- O feto sendo imunologicamente neutro;
- 2- O útero como um local imunologicamente privilegiado;
- 3- A placenta como uma barreira neutra separando a mãe e o feto;
- 4- Um estado de imunossupressão fisiológica da gestante.

Desde então, vários mecanismos têm sido propostos para explicar o sucesso da aceitação materno-fetal (BILLINGTON, 1976; CHAOUAT, KOLB & WEGMANN, 1983; WEGMANN & GILL, 1983).

Na descendência de dois indivíduos geneticamente diferentes de uma espécie no que se refere aos antígenos de histocompatibilidade, o feto também expressa antígenos derivados do pai (SEARLE et al., 1976; WEBB, GALL & EDELMAN, 1977). No entanto, ao contrário do que ocorre com os enxertos de outros tipos de tecidos paternos, o feto parece estar livre da rejeição imune materna. Dois modelos contrastantes têm sido propostos para explicar este paradoxo. O primeiro

sugere que as células do trofoblasto que formam a interface materno-fetal não expressam antígenos que desencadeariam uma resposta imune e atuariam como uma barreira anatômica que isola os antígenos fetais, deste modo protegendo o feto do contato com os linfócitos sensibilizados, ou seja, imunocompetentes da mãe (EDWARDS, HOWE & JOHNSON, 1975; SEARLE et al., 1976; WEBB, GALL & EDELMAN, 1977). O segundo modelo sugere que mecanismos imunossupressores estariam impedindo uma resposta imune efetiva por parte do sistema imune materno dirigida aos antígenos presentes no feto (GUDSON, 1976).

O relato de que linfócitos retirados do cordão umbilical humano de recém nascidos inibe os linfócitos maternos de entrarem em mitose (OLDING & OLDSTONE, 1974) sugere um processo ativo em que o embrião inibe a proliferação de células linfocitárias materna, assim como impede a mãe de responder contra o mesmo. No entanto os linfócitos B, monócitos e macrófagos, células amnióticas do recém nascido, cultura de linhagens celulares derivadas da medula óssea e do baço, e cultura de linfoblastos não apresentam efeitos inibitórios na mitose. MOSIER & JOHNSON (1975) relataram que as células T esplênicas ou timócitos de rato diminuem a habilidade das células adultas esplênicas de assumirem uma resposta a anticorpos *in vitro*.

SWINBURNE (1970) sugeriu que o feto é protegido no útero materno porque a placenta atua como uma esponja. A expressão dos antígenos de histocompatibilidade na placenta pode permitir que este órgão absorva seletivamente componentes efetores da resposta imunológica capaz de prejudicar o desenvolvimento embrionário. Linfócitos maternos podem ser excluídos especificamente (como um anticorpo) ou não especificamente através da barreira anatômica pelo tráfego celular. A placenta também pode servir para proteger o feto da resposta imune mediada por células maternas (HUNZIKER, GAMBEL & WEGMANN, 1984).

WEGMANN, SINGH & CARLSON (1979) concluíram em seus experimentos e em outros trabalhos (WEGMANN & CARLSON, 1977; CARLSON & WEGMANN, 1978) que a placenta murina tem a capacidade de absorber anticorpos H-2 antifetais, tais anticorpos têm capacidade efetora *in vivo*, tanto no ambiente materno (WEGMANN & CARLSON, 1977) como no ambiente neonatal (CARLSON &

WEGMANN, 1978), deste modo protegendo o feto de um potencial efeito nocivo pela resposta imune materna.

Foi sugerido que o trofoblasto, tecido da interface materno-fetal, tem importante atuação na proteção imune do feto, por não expressar antígenos clássicos de histocompatibilidade (BILLINGTON, 1976), ou porque este tem a habilidade de suprimir a resposta imune materna (CLARK & CHAOUAT, 1989). Porém são muitas as evidências de que o sistema imune materno é sensibilizado no que se refere aos antígenos paternos, mesmo durante o primeiro trimestre de gestação (WEGMANN & CARLSON, 1977). Acreditava-se que o trofoblasto atuava como uma barreira física e anatômica impedindo a passagem das células linfóides materna (BEER & BILLINGHAM, 1976). A ausência de antígenos de histocompatibilidade paternos na camada intermediária das células trofoblásticas (SELLENS, JENKINSON & BILLINGTON, 1978) não desencadearia mecanismos efetores na resposta imune ou atividade supressora materna (PAVIA & STITES, 1979). Estes mecanismos efetores também poderiam estar sendo modulados por hormônios placentários (CLEMENS, SITERI & STITES, 1979; PAVIA et al., 1979) habilitando o feto a inibir ou a evitar o ataque imunológico.

Uma especulação possível seria de que o alorreconhecimento materno na interface fetal por células T, tanto diretamente pelo reconhecimento de determinantes antigênicos do CPH ou indiretamente pelo reconhecimento da porção constante - Fc dos anticorpos ligados por estes determinantes, induziriam a secreção de linfocinas ou fatores de crescimento que promovem o desenvolvimento na interface materno-fetal, o que resultaria numa maior funcionalidade da placenta como uma barreira celular contribuindo para uma maior viabilidade fetal (GILL, 1983a, b; HUNZIKER, GAMBEL & WEGMANN, 1984).

Em contrapartida YOUTANANUKORN, MATANGKASOMBUT & OSATHANONDH (1974) utilizaram técnicas para inibir a migração de macrófagos, demonstrando a especificidade do sistema imune materno contra aloantígenos derivados da placenta. Esta reatividade apareceu depois do primeiro trimestre em primigestas.

Alguns autores detectaram antígenos principais de histocompatibilidade na placenta (GOODFELLOW et al., 1976; SELLENS, JENKINSON & BILLINGTON, 1978), mas o seu significado *in vivo* não é aparente. De fato, a principal hipótese

afirmava que uma camada de fibrinogênio não permitia que estes antígenos fossem facilmente detectados (CURRIE & BAGSHAW, 1967). É possível que esta camada seja constituída parcialmente por anticorpos antifetais maternos absorvidos a antígenos presentes na placenta. Os antígenos H-2 podem desprender-se dos tecidos placentários ou das células que circulam na corrente fetal. Esta última possibilidade pode explicar porque somente as células do sangue do cordão umbilical expressam todos os antígenos HLA paternos depois de um período de incubação *in vitro* (TIILIKAINEN, SCHRODER & DE LA CHAPELLE, 1974). Eles podem ter sido removidos através do contato com anticorpos maternos enquanto circulam na placenta. A absorção diferencial pela placenta é vista em murinos no décimo terceiro dia de gestação, um período onde o timo inicia o processo de seleção clonal. Uma fetotomia neste estágio não afeta a absorção placentária. Dessa forma, uma circulação fetal intacta não é exigida, não excluindo-se a possibilidade das mesmas expressarem antígenos H-2 imunoabsorbantes que chegam a placenta via circulação fetal antes da fetotomia (WEGMANN, SINGH & CARLSON, 1979).

Uma hipótese que tenta explicar o porquê do feto não ser rejeitado pela mãe, sugerindo que a mãe está imunologicamente incapacitada de causar danos ao mesmo, foi primeiramente confirmada pelos experimentos de HELLSTRÖM, HELLSTRÖM & BRAUN (1969) que mostraram que fatores específicos do soro materno protegem o embrião do efeito destrutivo dos linfócitos maternos. Nestes estudos mostrou-se presente outro mecanismo pelo qual os tecidos fetais podem sobreviver num meio imunologicamente hostil. Linfócitos, provavelmente células T supressoras embrionárias promoveram um processo ativo potencialmente capaz de inibir os efeitos deletérios dos linfócitos maternos. Portanto, após entrar em contato com as células fetais, as células maternas provavelmente não poderiam responder a aloantígenos. Além disso, outros relatos evidenciam que a camada mucoprotéica que recobre as células trofoblásticas (CURRIE, DOORNINCK & BAGSHAW, 1967; CURRIE, 1968; EDIDIN, 1972) provavelmente também protejam estas células fetais mascarando os antígenos e reduzindo a quantidade de antígenos de superfície disponíveis a interagir com linfócitos sensibilizados ou anticorpos da mãe.

Na década de 70 foi relatada depressão da resposta imune mediada por células (KASAKURA, 1971; YOUTANANUKORN & MATANGKUSOMBUT, 1973;

PENCE, PETTY & ROCKLIN, 1975), No entanto não foi comprovada a hipótese de que há uma deficiência intrínseca na população linfóide materna.

O próprio envoltório fetal, o trofoblasto, pode ser um dos locais de imunossupressão. VOISIN & CHAOUAT, 1974 detectaram por imunofluorescência mais globulinas- γ em placentas semialogênicas do que em placentas singênicas. Estudos demonstraram que o trofoblasto não apresenta ausência total de antígenos mediadores da rejeição, e não protege efetivamente o feto do ataque das células efectoras produzidas após aloimunização. Durante o curso normal da gestação, tanto a resposta imune humoral (GOODLIN & HERZENBERG, 1964; NYMAND et al., 1971) e celular (MARONI & PARROTT, 1973; YOUTANANUKORN, MATANGKOSOUT & SATHANONDH, 1974; BAINES et al., 1976) aos aloantígenos paternos desenvolvem-se naturalmente. Essa imunidade raramente parece ser prejudicial ao feto. É possível que isso ocorra por que o sistema imune materno não reconhece e não reage aos antígenos das células do trofoblasto.

Durante a gestação normal a resposta humoral como um todo parece ser levemente afetada, no entanto as vias celulares da resposta materna contra os aloantígenos paternos do concepto são prejudicados. Vários mecanismos intrincados provavelmente são envolvidos no trabalho, tanto localmente quanto em níveis séricos; proporcionando uma ferramenta para estudar os mecanismos regulatórios específicos da resposta imune com respeito a as interações humorais e celulares (CHAOUAT & VOISIN, 1979).

Desde a constatação inicial do envolvimento de células T supressoras na regulação da resposta humoral dos anticorpos em ratos (GERSHON & KONDO, 1970) mecanismos regulatórios similares têm sido descritos para resposta imune mediada por células (CHAOUAT & VOISIN, 1979). A atividade celular supressora tem implicado em uma ampla gama de reações celulares quando utilizados tanto ensaios *in vivo* como *in vitro* envolvendo tolerância relacionada ao alotransplante (KILSHAW, BRENT & PINTO, 1975; HILGERT, 1979), animais portadores de tumores (PERRY, BENACERRAT & GREENE, 1978; BERENDT & NORTH, 1980), alogestação (CHAOUAT et al., 1977; SMITH & POWELL, 1977; CLARK & McDERMOTT, 1978; BAINES, MILLAR & PROSS, 1980), hipersensibilidade do tipo tardia - DTH (ZEMBALA & ASHERSON, 1974; CLAMAN et al., 1980), reação mista de linfócitos - MLR (RICH & RICH, 1974; NADLER & HODES, 1977) e lise mediada

por células - CML (NADLER & HODES, 1977; HIRANO & NORDIN, 1976; WAGNER et al., 1976).

A gestação intraespecífica normal mostra vários aspectos da resposta imune. Uma magnitude maior da resposta imune é observada quando o feto é histoincompatível com a mãe, e consiste histologicamente num acúmulo de linfoblastos T derivados do timo, inibindo o desenvolvimento materno da tolerância aos antígenos de histocompatibilidade anteriores à concepção (MARONI & SOUSA, 1973; BEER & BILLINGHAM, 1974; BEER, SCOTT & BILLINGHAM, 1975).

Em 1982 CROY et al. realizaram um experimento de transferência de embriões interespecífico no qual o feto não é protegido do ataque do sistema imune materno. Blastocistos de espécies asiáticas de ratos *Mus caroli* foram cirurgicamente transferidos em laboratório para útero de ratos *Mus musculus* onde foram implantados com sucesso e cresceram por aproximadamente seis dias antes de serem reabsorvidos. O embrião reabsorvido foi infiltrado por células citotóxicas. Estudos adicionais mostraram que células embrionárias de *Mus caroli* podem ser protegidas do sistema imune materno e sobreviver a termo se envolvidas pelo trofoblasto de *Mus musculus*, em quimeras de *Mus caroli* ↔ *Mus musculus* (ROSSANT & FRELS, 1980; ROSSANT, MAURO & CROY, 1982). Isto indicou que a vulnerabilidade do embrião de *Mus caroli* no útero de *Mus musculus* foi devida à inabilidade do trofoblasto de *Mus caroli* em proteger o embrião da resposta imune materna. Esta falta de proteção pode ser causada tanto pelo aumento da antigenicidade do trofoblasto de *Mus caroli* ou pela sua inabilidade de suprimir a resposta imune materna a *Mus musculus*. Outros experimentos (BARG et al., 1978; PAVIA & STITES, 1981) têm mostrado que o trofoblasto murino é um potente supressor da geração *in vitro* de linfócitos citotóxicos - CTL dirigidos contra alvos geneticamente diferentes (antígenos principais e secundários de histocompatibilidade).

Se, no passado, a placenta foi encarada como barreira imunossupressora e inerte entre a circulação materna e fetal (CHAOUAT, KIGER & WEGMANN, 1983), hoje está claro que há resposta imunológica materna específica durante a gravidez, que pode ser medida e que esta resposta facilita a sobrevivência fetal (BEER, 1988).

Portanto a gestação é uma ação de balanceamento imunológico, na qual o sistema imune da mãe precisa ficar tolerante aos antígenos CPH paternos e ainda

manter uma competência imune para a defesa contra microorganismos (WEETMAN, 1999). Dados da literatura sugerem que uma série de alterações do desenvolvimento ou distúrbios gestacionais incluindo-se os abortos recorrentes, toxemia pré-eclâmptica, tumores de trofoblasto, descendentes com anomalias craniofaciais constituem-se em problemas complexos e de natureza multifatorial (GILL et al., 1991; EROGLU, BETZ & TORREGANO, 1992).

O sucesso gestacional está associado com a sensibilização imune materna a antígenos placentários. As células do trofoblasto placentário na interface materno-fetal expressam antígenos de histocompatibilidade tanto do haplótipo materno quanto paterno (LANMAN & HEROD, 1965). Visto que tanto o feto e o trofoblasto são susceptíveis ao ataque imunológico, há a necessidade óbvia de um mecanismo que impeça danos à unidade feto-placentária. Particularmente, os antígenos paternos têm potencial para estimular a resposta imune alorreativa materna, e como resultado as células T maternas aparecem na decídua logo após a expressão de antígenos de Classe I do CPH. Apesar do reconhecimento imune materno, a destruição imunológica do feto raramente ocorre. De fato, evidências recentes sugerem uma interação entre as células T maternas e as células placentárias propiciando um ambiente uterino adequado para o processo da implantação embrionária – **o Imunotrofismo** (MOGIL & WEGMANN, 1988).

Alguns estudos sugerem que a indução de células supressoras na decídua pode estar relacionada com o sucesso ou com a falência da gestação alogênica (CLARK, McDERMOTT & SZEWCZUK, 1980; SLAPSYS & CLARK, 1982).

A transferência de anticorpos das mais variadas especificidades ao feto tem valor de proteção na descendência. No entanto, um mecanismo que permite a passagem de anticorpos contra antígenos bacterianos, por exemplo, mas que exclui imunoglobulinas com reatividade antifetal pode estar operando. Há a possibilidade de que durante a concepção haja a presença de um excesso de antígenos de forma a neutralizar a reatividade materna antifetal. Esta hipótese prediz que as fêmeas gestantes podem ser capazes de consumir passivamente e rapidamente linhagens de anticorpos antipaternos, comparadas com especificidades controles. Estes anticorpos, que são mais específicos a antígenos sintetizados pelo complexo H-2 murino, aparentemente não são prejudiciais à descendência, além disso, pode matar

linhagens celulares paternas presentes na cavidade materna peritoneal (WEGMANN & CARLSON, 1977).

Em 1973 TAYLOR mostrou que uma gestação alogênica pode induzir uma resposta secundária muito forte em fêmeas imunizadas. Linhagens que provocam uma primeira resposta a aloanticorpos induzidos pela primeira gestação também podem induzir respostas secundárias.

A cinética da resposta primária e da secundária são diferentes. Uma forte resposta primária declina rapidamente, como determinado por títulos séricos, se a fêmea ficar grávida novamente. Os títulos aumentam rapidamente novamente depois do parto (GOODLIN & HERZENBERG, 1964). A explicação mais simples é a de que há uma síntese crescente de anticorpos, mas o aumento dos níveis antigênicos neutraliza os anticorpos séricos, possivelmente pela absorção da placenta. Conseqüentemente, o título do soro cai. No caso de uma resposta secundária, o aumento dos níveis antigênicos, causados pela grande massa da gestação alogênica, é conhecido pelo aumento dos níveis séricos de anticorpos (GOODLIN & HERZENBERG, 1964). Este aumento durante a resposta à indução de uma segunda gestação é incoerente com a teoria de que a placenta atua como uma esponja e absorve toda a atividade imunológica dirigida aos antígenos paternos (WEGMANN et al., 1979).

Várias evidências sugerem que o feto pode ser susceptível a ataques pré ou pós-natais por mecanismos efetores de uma mãe imunizada por aloantígenos paternos (NISTA, SEZZI & BELLELLI, 1973; PARMIANI & DELLA-PORTA, 1973; MILGROM, COMINI-ANDRADA & CHAUDHRY, 1977). Além disso, durante a gestação alogênica normal, a imunidade celular (YOUTANANUKORN, MATANGKASOMBUT & OSATHANONDH, 1974; ROCKLIN et al., 1976) e humoral (ROCKLIN et al., 1976; SALINAS et al., 1978) aos antígenos paternos do feto desenvolve-se espontaneamente. No entanto, o tipo de imunidade engendrada pela imunização espontânea, que ocorre durante a gestação, raramente é prejudicial ao feto e parece incapaz de mediar rejeição (WEGMANN et al., 1979). A imunização natural devida a repetidas gestações alográficas aparenta produzir um estado de tolerância aos tecidos enxertados paternos, provavelmente devido a ação de células T supressoras antígeno-específicas (SMITH & POWELL, 1977).

Estes dados mostram que a supressão da geração de CTLs *in vitro* pode ocorrer considerando-se a relação entre a resposta celular e o embrião (ex: singênico, semi-alogênico, alogênico ou xenogênico). Além disso, constatou-se que a supressão da geração de CTLs não é uma propriedade específica do tecido do trofoblasto, a atividade supressora era maior na região embrionária - E do que no cone ectoplacentário - EPC, e decídua. Decídua é o nome dado ao revestimento da cavidade uterina, endométrio, durante a gestação. Outros tecidos derivados do feto como linhagens de células fibroblásticas embrionárias e células do fígado fetal (GLOBERSON, ZINKERNAGEL & UMIEL, 1975) têm também mostrado suprimir a geração de CTL *in vitro*.

Muitas observações sugerem que o trofoblasto não tem função como uma barreira inerte entre o feto e a mãe (CLARK & McDERMOTT, 1978). No entanto potentes antígenos relacionados ao transplante, como H-2 em ratos, não têm sido convincentemente demonstrados no trofoblasto primário, mas antígenos fracos não H-2 foram detectados (SELLENS, 1977) e a presença destes têm sido noticiadas em células trofoblásticas obtidas tardiamente durante o curso da gravidez (BILLINGTON et al., 1977).

Existem, no mínimo, duas possibilidades não mutuamente exclusivas para o fato de os anticorpos serem absorvidos. Estes poderiam ser liberados na circulação materna como um complexo antígeno-anticorpo nocivo (BERNARD, 1977), ou acabariam sendo fagocitados por células similares a macrófagos encontradas na região estromal do vilos trofoblástico, o qual tem uma grande afinidade por complexos antígeno-anticorpo (WOOD et al., 1978).

Outra questão consiste na ontogenia da capacidade imunoabsortiva da placenta. GOODLIN & HERZENBERG (1964), observaram um aumento nas aglutininas anti H-2 durante o início da gravidez através de gestações subseqüentes em quatro ratas e encontraram que elas desapareceram durante a terceira semana de gestação e reapareceram uma semana após o parto. Seus experimentos não excluem efeitos hormonais por causa da inclusão de controles sem especificidade. Além disso, a perda de títulos corresponde ao período máximo de crescimento da placenta, sugerindo que as propriedades imunoabsortivas da mesma apareça neste período.

A função biológica das células T citotóxicas maternas ainda não é bem conhecida, mas aparentemente têm grande importância no papel da gestação. Embora o feto possua antígenos de histocompatibilidade paterno, e este seja um tecido potencial para o ataque do sistema imune materno, o feto tende a desenvolver-se naturalmente, e nem a mãe nem o feto vem a sofrer algum dano durante o período de gestação. MIYAGAWA et al.(1982) encontrou anticorpos fetais humanos e linfócitos T citotóxicos no cordão umbilical (TLFA), dirigidos aos linfócitos T citotóxicos maternos que atuam contra o feto, a fim de proteger o próprio feto do ataque das células maternas.

A questão de que as células maternas T alorreativas ou os componentes das células T, especialmente os receptores de células T possam passar através da placenta continua não respondida. No entanto, os dados apresentados, de que TLFA contendo imunoglobulina IgM (TLFA IgM) pode, na presença de complemento, inibir a resposta de uma cultura mista de linfócitos materna - MLC à células paternas não T, demonstrem que o feto não pode detectar nem as células T maternas nem os receptores de células T. Concluindo-se que a mãe obviamente reconhece o feto como um antígeno, e o feto precisa ser protegido do ataque imunológico materno pelos TLFA (MIYAGAWA et al., 1982).

1.1.2- Hipóteses Propostas para Explicar a Sobrevivência do Alo-enxerto Fetal

Duas linhas de investigação têm orientado as pesquisas nessa área propondo modelos que tentam explicar alterações do desenvolvimento embrionário ou sucesso gestacional (capacidade de gerar descendentes viáveis). Uma dessas linhas de investigação se orienta pelo "**modelo imunológico**" (McINTYRE, 1992) e a outra pelo "**modelo genético**" (GILL, 1983a,b). Tais modelos não seriam mutuamente exclusivos, uma vez que evidências que fundamentam cada um deles têm sido mostradas no contexto da reprodução humana. Um grande número de investigações tem-se concentrado em casais com abortos recorrentes espontâneos de etiologia desconhecida - ARE, sendo que as outras alterações gestacionais têm sido averiguadas em um número menor de estudos.

O aborto recorrente espontâneo é definido pela ocorrência de três ou mais perdas consecutivas e espontâneas da gravidez. Como qualquer gravidez

cl clinicamente documentada está associada à probabilidade de perda de 15% a 20%. Alguns pesquisadores acreditam ser o aborto recorrente um fenômeno de probabilidade que ocorre em 0,5% da população, e a maioria dos clínicos não consegue detectar nenhuma causa na maioria das perdas repetidas. Outros são da opinião de que é possível detectar uma causa para as perdas da gravidez em mais de 60% dos casais afetados. As anormalidades cromossômicas fetais são responsáveis pela maior parte das perdas gestacionais recorrentes, seguidas de anormalidades anatômicas uterinas, anormalidades endometriais e anormalidades hormonais (BECKERMAN, 2000).

Foram citados distúrbios imunológicos associados ao grande número de casais com perda recorrente de gravidez, sem nenhuma causa específica demonstrável. É importante assinalar que dentre os casais com perda recorrente da gestação caracterizadas como de etiologia desconhecida, 60% ou mais, posteriormente, irão conseguir uma gravidez bem-sucedida a termo, sem qualquer intervenção terapêutica (BECKERMAN, 2000).

Vale salientar que aborto recorrente espontâneo é diferente de infertilidade, a qual refere-se à capacidade de estabelecer uma gravidez em determinado período de tempo, geralmente um ano. A infertilidade primária refere-se a casais que nunca conseguiram estabelecer uma gravidez, enquanto que a infertilidade secundária refere-se a casais que anteriormente tiveram uma gravidez, mas que atualmente têm dificuldades em estabelecer uma nova gestação (BECKERMAN, 2000).

O aborto espontâneo, na maioria das vezes, é um evento aleatório e representativo do processo de seleção natural. Embora um fator recorrente possa causar mais de um aborto num mesmo casal, este é um acontecimento relativamente raro (REINDOLLAR, 2000).

Estima-se que até 60% das pacientes que não apresentam nenhuma alteração clínica identificável sejam portadoras de perturbações aloimunes associadas ao aborto (BARINI et al., 1998).

Desde a proposta inicial de KIRBY, 1968 e COULAM, 1986 de que uma resposta alogênica materna contra o feto fazia parte da "capacidade reprodutiva ótima" das espécies, vários pesquisadores (McINTYRE, 1992) favoráveis ao **modelo imunológico** também concordam que o sistema imune esteja envolvido na manutenção da gestação, muito embora seu papel permaneça por ser elucidado.

Num contexto imunológico, esse modelo propõem que a implantação e o desenvolvimento fetal requerem um reconhecimento imune materno, de antígenos paternos presentes no trofoblasto (COULAM & STERN, 1994). Esses antígenos seriam produtos de um complexo gênico menor de histocompatibilidade ligado aos Antígenos Leucocitários Humanos ou alternativamente seriam produtos de genes HLA com função ainda não descrita. Portanto, a similaridade HLA entre o casal seria apenas um marcador e não provocaria uma resposta imune considerada benéfica para a implantação e desenvolvimento embrionário normais, pois somente estes casais poderiam produzir fetos histocompatíveis com a mãe. A imunização com células mononucleares paternas tem sido utilizada como um tratamento do aborto recorrente, que deste modo mediará a resposta imunológica necessária para a implantação (BOUCRAUT et al., 1993).

As atuais discussões sobre a resposta imunológica durante a gestação geralmente defendem uma teoria de depressão de aspectos seletivos da imunidade celular. Este estado fisiológico seria necessário para a acomodação materna do denominado “alo-enxerto fetal”. Infelizmente, muitas destas discussões são altamente especulativas (BECKERMAN, 2000).

A hipótese aventada por estes pesquisadores de que mecanismos para impedir a função eficaz dos macrófagos na placenta murina podem ter evoluído, não para tornar a unidade feto-placentária suscetível a infecções intracelulares, mas para protegê-la da rejeição pelo sistema imunológico materno, é desafiadora, porém ainda não foi comprovada (BECKERMAN, 2000).

Foi demonstrado que os hormônios esteróides *in vitro* causam depressão de diferentes aspectos da imunidade celular numa variedade de modelos experimentais, incluindo inibição da rejeição de enxerto e supressão da ativação dos macrófagos por linfócitos. Em geral, estes experimentos exigem altas concentrações de hormônios, na faixa de 10 a 20 mM, que são 20 a 50 vezes maiores que os níveis encontrados no soro materno. Entretanto, é concebível que estes níveis possam ser alcançados na placenta (BECKERMAN, 2000). Evidências sugerem que a supressão não represente um efeito direto da progesterona (CLARK, McDERMOTT & SCZEWZUK, 1980).

O **modelo genético** do qual GILL, T. J. III (1983) é um dos principais defensores, enfatiza que o compartilhamento de três ou mais antígenos HLA se

constitui num padrão primário que sugere principalmente o compartilhamento de um outro segmento cromossômico adjacente onde se encontrariam genes responsáveis pelo controle da reprodução e do desenvolvimento embrionário. Essa hipótese fundamenta-se em dados experimentais que relatam a existência de um complexo gênico (Grc-growth and reproduction complex) ligado ao Complexo Principal de Histocompatibilidade de alguns mamíferos (GILL, 1983b). Esse modelo admite a existência de loci ligados ao HLA, similares àqueles dos complexos Grc e T/t de ratos e camundongos, respectivamente, e que poderiam estar envolvidos com os insucessos reprodutivos. O aspecto crítico seria o compartilhamento deste segmento, onde genes recessivos letais e sub-letais em homozigose seriam responsáveis não apenas pelos abortos recorrentes, mas também por uma série de manifestações gestacionais que incluiriam, entre outras, a gravidez ectópica, a toxemia pré eclâmptica, a ruptura precoce das membranas, tumores de trofoblasto, descendentes com anomalias congênitas e, inclusive, a susceptibilidade ao câncer. A maior similaridade HLA entre parceiros favoreceria a expressão em homozigose desses genes. Assim, as causas ditas "genéticas" aparentemente não envolveriam fenômenos imunológicos. A homozigose para antígenos HLA seria apenas um marcador detectável do segmento cromossômico, onde estariam situados esses genes em "desequilíbrio de ligação" com alelos do sistema HLA.

O constatado maior compartilhamento de antígenos HLA entre casais que sofrem de abortos recorrentes (ITO et al., 1992; KILPATRICK & LISTON, 1993; HO et al., 1994) tem sido o argumento comum tanto para os adeptos do modelo imunológico (ROUSSEV, VANDERPUYE & McINTYRE, 1993; McINTYRE, 1992; WEGMANN et al., 1993) quanto do modelo genético (CHRISTIANSEN et al., 1993; GILL, 1994).

Os pesquisadores favoráveis ao modelo imunológico enfatizam o papel do sistema imune na implantação e desenvolvimento embrionário. Sob esse prisma, uma resposta imune materna dirigida a antígenos não-próprios presentes no tecido fetal, seria suprimida ou bloqueada quando ocorresse incompatibilidade HLA entre mãe e embrião. Essa resposta seria necessária e benéfica. Apesar do total desconhecimento desses mecanismos, acredita-se que o sucesso de uma gestação dependeria de uma resposta imune materna modulada e dirigida aos antígenos

paternos presentes no trofoblasto. Os antígenos que seriam alvos de uma resposta imune materna, não estão ainda definidos.

Anticorpos dirigidos contra linhagens de antígenos paternos H-2 são absorvidos durante a gestação, como mostrado em diferentes ensaios. A imunização passiva não apresenta impacto comparável no feto ou nos parâmetros placentários, além disso, tem a capacidade de destruir enxertos leucêmicos em fêmeas grávidas. Estes dados sugerem que os antígenos paternos derivados de H-2 são funcionalmente expostos a anticorpos administrados passivamente e podem atuar como imunoabsorbantes, sem conseqüências deletérios à concepção (WEGMANN & CARLSON, 1977). Isto sugere que a geração da reatividade CTL contra antígenos H-2 paternos não é especificamente enfraquecida pela gestação. Esta supressão ocorre no início da gravidez, antes do contato direto entre o embrião em desenvolvimento e os tecidos maternos, e aparentemente é disparado hormonalmente, como ilustrado nesses estudos em ratos que estão sofrendo de um estado fisiológico de pseudogravidez.

1.1.3- O Complexo Principal de Histocompatibilidade

O primeiro Complexo Principal de Histocompatibilidade – CPH, do inglês Major Histocompatibility Complex - MHC, foi descrito por seu papel na rejeição de tecidos transplantados em camundongos (CHRISTIANSEN et al., 1993). As primeiras moléculas foram referidas em murinos como antígenos polimórficos de superfície celular e, inicialmente, como sendo codificadas por um único locus gênico denominado *H-2*. Seus produtos constituíam-se na principal barreira imunológica e fator limitante de transplantes cujo sucesso dependeria do grau de similaridade genética *H-2* entre doador e receptor (CROUAU-ROY et al., 1994). Estes antígenos foram denominados de "antígenos de histocompatibilidade" e os genes envolvidos com esse mecanismo como "genes de histocompatibilidade". Muito embora, a constatada influência na rejeição de enxertos não constitua sua principal atribuição, a apresentação de antígenos à superfície celular, permite aos geneticistas um meio adequado através do qual se pode investigar suas funções biológicas.

Até mesmo os mais primitivos metazoários, como as esponjas, apresentam reações de histocompatibilidade (WEGMANN, 1985). Em plantas e fungos é comum

um sistema conhecido como de auto-esterilidade - *self-sterility* (FINCHAM & DAY, 1965). A essência deste sistema força a panmixia e não permite a união entre gametas de indivíduos que possuam os mesmos alelos em um único locus ou em múltiplos loci (RAPER & RAPER, 1968). A exata forma das regras genéticas podem ser muito mais complexa, mas o princípio geral é o mesmo entre os mais variados e diferentes organismos. A analogia com enxertos associados a histocompatibilidade em mamíferos não é imediatamente notada, no entanto, como neste caso o resultado é oposto, o não próprio é aceito e o próprio é rejeitado. Experimentos realizados por SCHOFIELD et al. (1982), indicaram que *Botryllus*, que é um tunicado protocordado do início na árvore filogenética dos vertebrados, apresenta tanto o sistema de histocompatibilidade contra rejeição como o da auto-esterilidade ligados em um único sistema gênico. Isto levou vários pesquisadores a suspeitar da relação entre o sistema de histocompatibilidade materno e a auto-esterilidade (WEGMANN, 1985).

A descoberta do Complexo Principal de Histocompatibilidade humano, na década de 50, deve-se a estudos sorológicos. Investigando soros de indivíduos politransfundidos e soro de múltiparas, detectaram anticorpos leucoaglutinantes. Sendo descrito o primeiro antígeno, o qual foi denominado Mac, hoje *HLA-A2* (CAMPBELL & TROWSDALE, 1993).

Os genes que codificam para os Antígenos Leucocitários Humanos – HLA, do inglês Human Leucocyte Antigen, situam-se numa região cromossômica denominada Complexo Principal de Histocompatibilidade no braço curto do cromossomo 6, na banda 6p21.3 (LAMM & OLAISEN, 1985). Dados moleculares mostram que este complexo compreende uma região cromossômica de 4 megabases de DNA. Além do sistema HLA essa região do genoma inclui genes não envolvidos com funções imunes e muitos outros de função ainda não conhecida. Assim de acordo com sua estrutura e função os genes dessa região codificam produtos moleculares classificados como de Classe I, II e III (BELL, 1989; ZIEGLER, FIELD & SAKAGUCHI, 1990; CHRISTIANSEN et al., 1993).

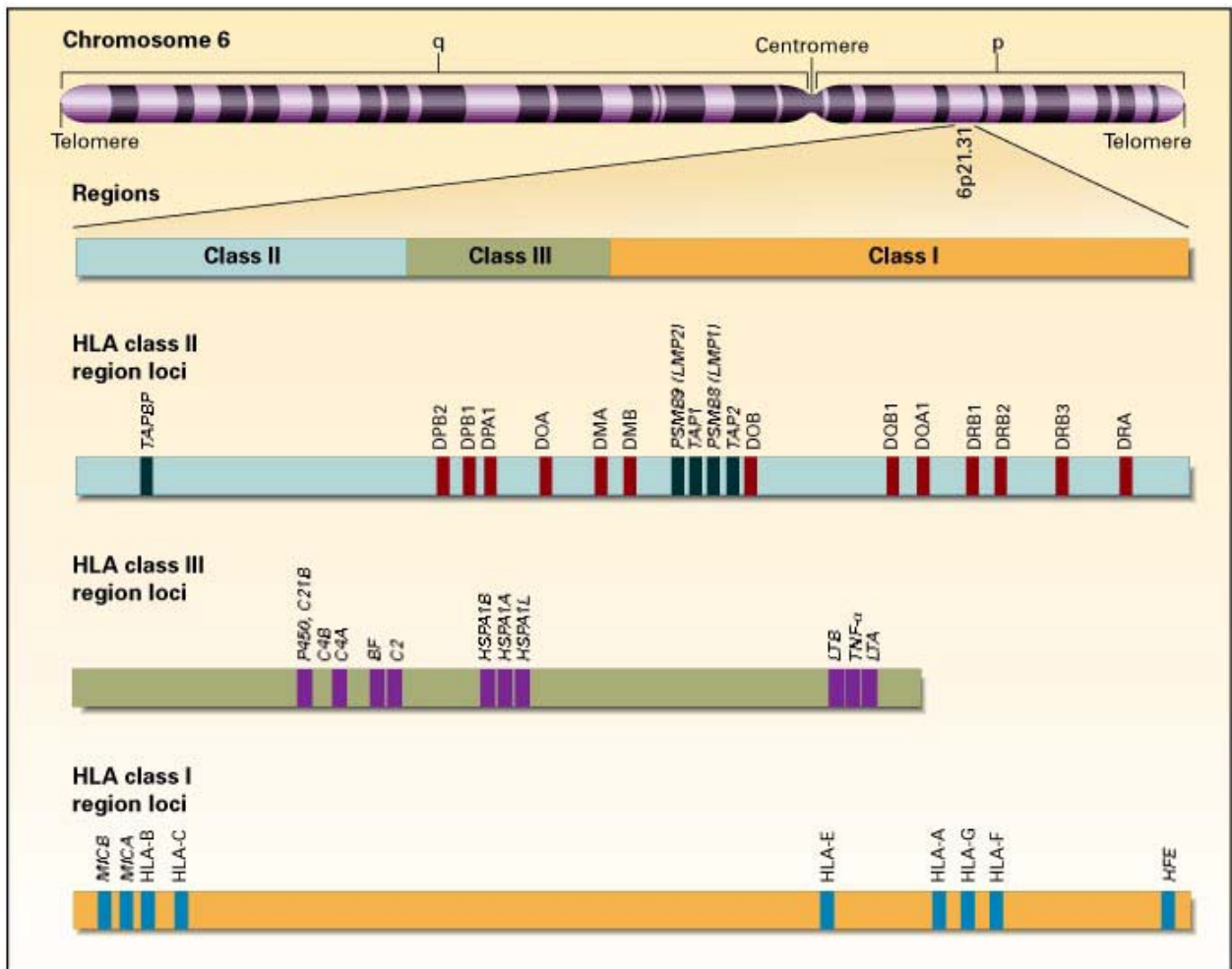


FIGURA 1 - Mapa da organização gênica do Complexo Principal de Histocompatibilidade humano. Este mapa é simplificado para excluir outros genes de classe I e II sem interesse imunológico, e numerosos genes de função desconhecida ([http:// www. images. google. com.images.](http://www.images.google.com/images))

Uma baixa freqüência de recombinação nesse segmento cromossômico (2 centiMorgan) indica que 98% das vezes a região HLA permanece ligada no mesmo cromossomo, sendo herdada em bloco, constituindo o que denominamos de haplótipo.

Os genes HLA, à semelhança de seus homólogos em outras espécies, codificam para proteínas polimórficas de superfície celular que participam de importantes reações celulares que levam o sistema imune a distinguir o próprio do não-próprio.

Região de Classe I: Oito loci gênicos foram descritos nessa região. Os genes *HLA-A*, *HLA-B* e *HLA-C* codificam para a cadeia alfa das moléculas HLA de classe I cuja estrutura se completa com uma cadeia leve de β -2-microglobulina, codificada pelo gene da β -2-microglobulina situado no cromossomo 15. Estas moléculas HLA

de classe I são conhecidas como "antígenos clássicos" do transplante. Estão presentes em todas as células nucleadas e são detectadas sorologicamente através da técnica de microlinfocitotoxicidade proposta por TERASAKI e McCLELLAND em 1970. Existem ainda os loci *HLA-E*, *HLA-F*, *HLA-G*, definidos por técnicas moleculares, que codificam para cadeias alfa de moléculas de classe I e são definidos como "não clássicos". O *HLA-G* em humanos tem sido associado com um aumento da taxa de clivagem naqueles embriões que expressam este antígeno (CAMPBELL & TROWSDALE, 1993). Ao contrário das moléculas de classe I clássicas, o *HLA-G* é pouco polimórfico e seu produto é a proteína HLA mais abundante na interface materno-fetal (trofoblasto), podendo facilitar a indução da tolerância local (CAMPBELL & TROWSDALE, 1993). Os loci *HLA-H* e *HLA-J* são pseudogenes de cadeia alfa. Além do *HLA-G*, foram observados níveis baixos e transitórios do produto do gene clássico *HLA-C* (OBER, 1998).

Os antígenos de classe I, *HLA-A* e *HLA-B*, e de classe II, *HLA-DR*, *HLA-DQ* e *HLA-DP*, todos conhecidos como antígenos clássicos, não se expressam no trofoblasto. Portanto, a expressão dos genes HLA mais polimórficos e antigênicos, responsáveis pela rápida rejeição de alo-enxertos em humanos, é suprimida nas células que estão em contato direto com o sistema imune materno.

As moléculas de classe I são fundamentais nas complexas interações do sistema imune, envolvendo particularmente linfócitos T citotóxicos e células alvo nas ações de diferenciação entre o próprio e o não próprio.

Região de Classe II: As moléculas de classe II são codificadas por diferentes loci situados no Complexo Principal de Histocompatibilidade e mapeados na região *HLA-D*, respectivamente nas sub-regiões *HLA-DR*, *HLA-DQ* e *HLA-DP*. Existe uma organização gênica mais complexa na região de classe II. Cada sub-região contém no mínimo um locus gênico que codifica para a cadeia alfa, e pelo menos dois loci gênicos codificando para as cadeias beta das respectivas moléculas *HLA-DR*, *HLA-DQ*. Existem ainda os loci *HLA-DOB*, *HLA-DMA* e *HLA-DMB*, *HLA-DNA* que codificam para cadeias alfa e beta respectivas. Essa organização gênica mais complexa se reflete numa maior variabilidade estrutural para as moléculas de classe II. As moléculas de classe I apresentam distribuição tecidual restrita a linfócitos B, macrófagos, células apresentadoras de antígenos – APCs, monócitos, células

endoteliais de capilares e vênulas e estão envolvidas na regulação da resposta imune.

Região de Classe III: Foram definidos nessa região genes que atuam no processo de ativação do sistema imune (Bf, C2, C4A, C4B), genes da 21-hidroxilase, da hemocromatose, fator de necrose tumoral *TNF* e *LTA* (anteriormente denominados *TNF-A*, *TNF-B*), entre outros.

Um dos aspectos que mais chamam a atenção é o extraordinário polimorfismo de alguns genes do Complexo Principal de Histocompatibilidade, em especial o sistema gênico HLA. Estudos confirmam que os antígenos de classe I e de classe II servem como marcadores do que é próprio para o organismo, sendo monitorados pelo sistema de células T quando associadas com antígenos não próprios (WEGMANN, 1985).

Uma das explicações para este polimorfismo, que foi muito bem documentada em ratos, é de que os genes do CPH assim como outros genes podem conduzir a um casamento preferencial, geralmente numa direção que evite a consangüinidade (BOYSE et al., 1982). A explicação mais apropriada para tal é de que os loci CPH podem também expandir seu polimorfismo através de uma menor fertilidade de casais que possuem haplótipos HLA idênticos em relação aos demais casamentos não haplo-idênticos. Essa idéia tem sido corroborada através de um número crescente de trabalhos em que casais humanos com múltiplos abortos espontâneos mostram significância no compartilhamento de especificidades HLA em relação aos casais controle (GILL, 1983a, b). Estes dados indicaram que deve ser dado o mérito a idéia de que o polimorfismo dos genes HLA é dirigido por uma maior viabilidade da descendência HLA incompatível. Essa não é uma idéia nova. No fim da década de 60, CLARKE & KIRBY postularam que o reconhecimento do sistema imune materno na interface materno fetal tende a aumentar a viabilidade fetal e desta forma é em parte responsável pelo aumento do polimorfismo dos genes do CPH. Eles basearam esta hipótese em dados que indicaram que as placentas e fetos alogênicos são bem sucedidos sobre circunstâncias de imunoestimulação deliberada.

1.1.3.1- Compartilhamento HLA entre casais e sua relação com as hipóteses que tentam explicar a sobrevivência do alo-enxerto fetal

Existe uma considerável literatura relatando o envolvimento do Complexo Principal de Histocompatibilidade Humano, especialmente os genes HLA, com insucessos reprodutivos (EROGLU, BETZ & TORREGANO, 1992; CAMPBELL & TROWSDALE, 1993). Os abortos recorrentes, por exemplo, podem ser conseqüência de um compartilhamento de antígenos HLA entre o casal genitor.

O aumento relativo da similaridade HLA demonstrado em casais com aborto recorrente (LEIBER et al., 1997) dificulta o reconhecimento antigênico entre os parceiros. Durante a gestação ocorre a produção de anticorpos maternos antipaternos e a resposta aloimune materna se dirige a alguns, mas não a todos antígenos HLA presentes no feto (REED, BEER & HUTCHERSON, 1991).

Desta forma a similaridade HLA entre o casal é considerada como causa de perda gestacional. Na teoria, o HLA compartilhado resulta em produção diminuída de anticorpos “bloqueadores” maternos, evidentes na maioria das gestações bem-sucedidas. Os anticorpos bloqueadores maternos foram postulados como fator necessário para suprimir a resposta imunológica materna, a fim de permitir a sobrevivência do alo-enxerto fetal (BECKERMAN, 2000).

Especula-se que a produção de anticorpos anti-HLA seja uma indicação de uma resposta imune do tipo Th2 em resposta aos antígenos paternos. A ausência destes anticorpos em mulheres com perdas gestacionais recorrentes com falhas repetidas na fertilização *in vitro* e transferência de embrião associam-se a uma resposta do tipo Th1 que retarda o desenvolvimento ou destrói as células da placenta. O restabelecimento do equilíbrio Th1/Th2 e o tratamento das alterações autoimunes restauram a capacidade reprodutiva na maioria destas mulheres (KWAK-KIM et al., 1996). A análise do DNA de um grande grupo de mulheres com história de aborto recorrente que dão a luz a uma criança normal ou que abortam novamente com tratamento específico demonstram que há um déficit de compatibilidade HLA-DQA1 nos recém nascidos vivos e suas mães. Estes resultados sugerem que respostas imunes maternas contra antígenos paternos ou a ausência destas respostas também podem contribuir para a manutenção do polimorfismo dos genes HLA (BEER, BILLINGHAM & HOEN, 1971).

Alguns centros recomendam a imunização de mulheres com linfócitos paternos, porém podem ocorrer sérias complicações, tendo sido relatada a ocorrência de reações semelhantes à reação do enxerto-*versus*-hospedeiro (BECKERMAN, 2000).

Foram documentadas as seguintes funções para os anticorpos antipaternos:

- 1- Supressão de imunidade celular e uma reatividade em cultura mista de linfócitos que é paterno específica;
- 2- Supressão da citotoxicidade das células NK (KWAK-KIM et al., 1996);
- 3- Imunotrofismo e estímulo de desenvolvimento placentário por produção de GM-CSF e CSF-1 (WEGMANN & GUILBERT, 1992);
- 4- Alívio dos sintomas autoimunes em mulheres com artrite reumatóide quando imunização com linfócitos induz o desenvolvimento de anticorpos dirigidos contra os linfócitos paternos (SMITH & FORT, 1996).

1.1.3.1.1- Aloimunização

O termo aloimunidade refere-se a diferenças imunológicas entre indivíduos da mesma espécie. A proposta terapêutica utilizando-se da imunização da mulher com linfócitos do parceiro ou de doadores não relacionados surgiu da observação de que pacientes submetidos a transfusões sangüíneas seriadas apresentavam menor rejeição do alo-enxertos renais (SOLLINGER et al., 1984).

Para melhor entender as bases imunológicas destas observações clínicas em humanos, WEGMANN e colaboradores franceses na década de 70 desenvolveram um modelo murino que mostra a proteção fetal análoga a que ocorria quando da vacinação com células alogênicas. CLARK, McDERMOTT & SCZEWZUK (1980), propuseram um modelo de aborto espontâneo resultante da união de fêmeas CBA/J com machos DBA/2J, onde os fatores imunológicos atuam com papel importante, e demonstraram que existe relação entre a deficiência da decídua associada a células supressoras na falência da gestação xenogênica o que também poderia ser extrapolado para a falência da alogestação resultante da união natural entre indivíduos geneticamente diferentes de uma mesma espécie.

CLARK & CROY (1986) relataram uma série de células supressoras presentes na placenta durante a gestação normal que libera uma substância

supressora não específica. Estas células supressoras são pouco freqüentes ou ausentes na placenta de fêmeas que sofrem de abortos espontâneos recorrentes (CLARK, McDERMOTT & SCZEWZUK, 1980). A contribuição de WEGMANN foi para mostrar que estes abortos espontâneos podem ser quase que completamente eliminados pela vacinação previa de fêmeas CBA grávidas, com células esplênicas BALB/c, mas não com DBA/2J, BALB.B, ou BALB.K (CHAOUAT, KIGER & WEGMANN, 1983; CHAOUAT, KOLB & WEGMANN, 1983; KIGER et al., 1984). Estudos sobre as conseqüências imunológicas da vacinação têm enfatizado que a mesma causa um aumento na atividade supressora, tanto no baço de fêmeas grávidas quanto na placenta (CHAOUAT, KIGER & WEGMANN, 1983; CHAOUAT et al., 1985). Há também uma correlação entre anticorpos anti-CPH direcionados contra a especificidade antigênica das células usadas na vacinação bem como na habilidade destas células em evitar abortos (WEGMANN, 1985).

Há boas evidências clínicas e experimentais de que a fêmea gestante pode ser sensibilizada a antígenos paternos como conseqüência da gestação (BEER & BILLINGHAM, 1976; LOKE, 1978; GILL & REPETTI, 1979). Muitas fêmeas que sofrem de abortos recorrentes podem vir a ter uma gestação bem sucedida se vacinadas com células brancas de seus maridos ou de um pool de doadores (BEER et al., 1981; TAYLOR & FAULK, 1981; GILL, 1983a).

A imunização passiva com linhagens de anticorpos antipaternos não apresentou efeitos deletérios na descendência quando analisados vários critérios. Isto não exclui a possibilidade de que o feto seja um sítio de absorção, mas sugere que se for isso, a capacidade efetiva dos anticorpos IgG é reduzida, talvez pela falta de mecanismos efetores apropriados (BRITTON, PERLMANN & PERLMANN, 1973).

HUNZIKER, GAMBEL & WEGMANN, 1984 não encontraram evidências da passagem de células maternas ao feto na maioria dos animais analisados. Se isto for verdadeiro, neste caso uma infusão massiva de linfócitos através da placenta pode causar efeitos imunológicos significantes. Como observado no efeito imunossupressivo do envolvimento fetal (TOMASI, 1978), estas células podem facilmente induzir uma resposta do enxerto-*versus*-hospedeiro. Porém, há uma evidência convincente da passagem transplacentária de linfócito ao feto humano em crianças com imunodeficiência severa combinada, doença cuja síndrome do enxerto-*versus*-hospedeiro é associada com as células imunocompetentes maternas

(POLLACK et al., 1982). Experimentos em murinos confirmam que células eritrocitárias podem atravessar a placenta, algumas vezes até com relativa facilidade. Esta migração transplacentária ocorre devido ao tamanho e a arquitetura da membrana plasmática destas células que confere-lhes uma certa elasticidade, além de que apresentam deficiência nas moléculas de superfície celular responsáveis pela adesão (GÖETZE, 1977)

1.1.3.2- HLA-G e sua relação com componentes da resposta imune

As células fetais que estão em contato direto com os tecidos uterinos maternos são aquelas do sinciciotrofoblasto, que invadem a decídua materna. Essas não expressam nenhum gene *HLA* de classe II, os quais são os melhores marcadores imunogênicos em transplantes alogênicos, assim como os genes de classe Ia clássicos *HLA-A* e *HLA-B* que são expressos em quase todas as células nucleadas, mas não estão presentes nas células trofoblásticas. A expressão dos produtos gênicos HLA altamente polimórficos são suprimidos nas células que estão em contato direto com o sistema imune materno. Em contrapartida, no lugar destes o gene de classe Ib não clássico *HLA-G*, pouco polimórfico em relação aos genes clássicos, é expresso somente nestes tecidos (LE BOUTEILLER, 1999). A presença e o complexo padrão de expressão de *HLA-G* no trofoblasto *extravillus* (KOVATS et al., 1990; PARHAM, 1995; HUNT et al., 2000), sugere que esta molécula desempenha importante papel na invasão e interação do trofoblasto com tecidos maternos (BECKERMAN, 2000).

O gene *HLA-G* foi originalmente isolado de uma linhagem celular linfoblastóide humana, e são poucas as evidências de sua expressão em outros tipos celulares, à exceção do trofoblasto, onde aparece na superfície do citotrofoblasto extraviloso, sendo secretado em sua forma solúvel. Seu produto gênico é encontrado associado à β_2 -microglobulina, que pode interagir com células CD8+. Entretanto ele é encontrado em níveis elevados durante o primeiro trimestre de gravidez, diminuindo acentuadamente no trofoblasto do terceiro trimestre. Porém ainda não foi identificada nenhuma função efetiva para *HLA-G* em tecidos humanos (BECKERMAN, 2000).

Estudos preliminares, conduzidos usando análises de microensaios de DNA, sugerem que as moléculas HLA-G solúveis podem ser capazes de modular a expressão gênica de leucócitos mononucleares no sangue. Esses estudos confirmam a hipótese de que o HLA-G solúvel produzido na interface materno-fetal tem como alvo células da linhagem de monócitos e macrófagos e modula suas funções em benefício da gestação (HUNT et al., 2000). Além disso, a expressão de *HLA-G* no citotrofoblasto permite a migração destas células na circulação materna e infiltração nos seus tecidos, deste modo, provavelmente criando um estado de tolerância (CAROSELLA, 2000).

LE BOUTEILLER et al. (1999) sugeriram algumas funções mostrando que HLA-G tem a capacidade de se ligar e apresentar peptídeos, e de ser reconhecido por no mínimo três diferentes receptores KIR (Killing Inhibitory Receptors), e regular a expressão de *HLA-E*. Outra possibilidade é a função anti-viral na interface materno-fetal. Somando-se a essas funções imunológicas, hipotetiza-se que também seja responsável pela regulação da angiogênese do “villus coriônico”, e finalmente, as isoformas solúveis podem atuar como imunossuppressores específicos durante a gestação.

Somente as células que expressam antígenos clássicos não sofrem a ação das células NK (Natural Killer), uma vez que as células do trofoblasto não expressam estes antígenos, exceto o HLA-C, acredita-se que o HLA-G deva estar inibindo a atividade das células NK, pois estas são abundantes no útero grávido e poderiam destruir as células do trofoblasto (OBER, 1998 ; KATANO et al., 1997). O HLA-C poderia também estar atuando neste contexto, onde a supressão da atividade das células NK através de algum mecanismo imunoregulatório possui um potencial benéfico na manutenção da gestação.

DORLING et al. (2000) sugerem que HLA-G talvez não tenha funções imunológicas relacionadas a angiogênese e implantação placentária, mas a maioria das evidências sugerem que este exerce proteção às células fetais da lise por células NK do útero materno, que são encontradas em grande número próximas às células trofoblásticas. Há a hipótese de que outra função seja inibir a migração destas células NK.

Um aspecto intrigante é que a expressão de *HLA-G*, e sua ação direta ou indireta parece proteger as células fetais do ataque mediado por células NK. Essa

inibição da lise poderia resultar de interações entre HLA-G e receptores (KIR) presentes em células NK. Como resultado, haveria uma regulação negativa da resposta imune mediada por células NK e inibição da resposta imune materna adaptativa e inata contra o feto (KIRZENBAUM et al., 1997; REYBURN et al., 1997; CAROSELLA et al., 1999). Muito embora se acredite que HLA-G seja o inibidor fisiológico de células NK presentes na decídua materna, segundo PAZMANY et al. (1999) isso é ainda altamente especulativo. Um dado interessante citado por CAROSELLA et al. (1999) é que a expressão do citomegalovírus humano parece inibir a expressão de *HLA-G*.

No trofoblasto ocorre a justaposição de tecidos geneticamente diferentes. A expressão da molécula HLA-G numa sub-população de células denominadas citotrofoblasto sugere um papel relevante na manutenção do embrião semialogênico cujos mecanismos ainda não são conhecidos. Também não é conhecido como o polimorfismo discreto de *HLA-G* poderia ser relevante para a manutenção do embrião. Uma possível explicação sugere que o número menor de regiões variáveis e o menor grau de variabilidade presente na cadeia α não ativaria o sistema imune materno da mesma maneira que as moléculas HLA clássicas (CAROSELLA et al. 1999)

VAN DER VEN & OBER (1994) relataram, para *HLA-G*, um polimorfismo compatível com a apresentação de uma ampla variedade de peptídeos ligados aos receptores de células T - TCRs, passíveis de determinar uma resposta alogênica semelhante às moléculas de Classe Ia. Sugeriu-se que *HLA-G* pouco polimórfico poderia apresentar antígenos no caso de uma infecção intra-celular, embora não induza alo-reações que poderiam lesar o tecido fetal. Alternativamente, o papel de *HLA-G* poderia ser o de fornecer peptídeos que se ligariam a *HLA-E*, o qual por sua vez se ligaria a um receptor inibidor nas células NK maternas impedindo-as de atacar as células fetais que não expressam moléculas HLA Ia (PARHAM, 2001).

Hoje é conhecida a presença de moléculas HLA-G em outros tecidos além dos relacionados à interface materno-fetal. No contexto do transplante, HLA-G mostrou-se presente na biópsia de tecidos cardíacos, onde ocorreu significativa redução nas rejeições agudas e crônicas. Em tumores, a expressão da proteína HLA-G na superfície das células metastáticas e em melanomas primitivos, confere proteção a células NK e ação lítica de CTL (CAROSELLA, 2000).

A produção de HLA-G é um componente crítico da diferenciação no citotrofoblasto e para o sucesso de sua atividade invasora (McMASTER, LIBRACH & ZHOU, 1995). A expressão dos antígenos da Classe I, HLA-G ou HLA-C pelo trofoblasto levantam a possibilidade de que as células NK maternas reconheçam e respondam às células trofoblásticas fetais. Portanto a interação materno fetal, e o conseqüente o sucesso da reprodução, podem depender de um sistema de alorreconhecimento NK dependente (KING, BURROWS & LOKE, 1996).

Peptídeos terminais não próprios apresentados pela molécula de HLA-G servem como moléculas de adesão para os leucócitos granulares CD8+ da decídua que já haviam migrado para a mesma (SANDERS, GIBLIN & KAVATHAS, 1991). Estas células NK CD3- CD8+ CD56+ são menos eficientes na produção de citocinas Th1 relacionadas como fator de necrose tumoral - TNF, interferon-gama - INF- γ e fator estimulador do crescimento de macrófagos granulócitos - GM-CSF (JOHNSON, DENIZ & McLAUGHLIN, 1993). Isto resulta em uma resposta preferencialmente Th2 na interface materno-fetal.

FUJII et al. (1999) relataram que o HLA-G tem mostrado importante papel modulando os mecanismos de secreção de citocinas dos linfócitos maternos não somente no local de dispersão onde existem células NK com função exterminadora (LOKE & KING, 1995).

Alguns medicamentos têm sido testados no tratamento dos abortos recorrentes. Foi investigado como Sarei-to e Tokishakuyaku-san, ambos medicamentos fitoterápicos, modulam a secreção de citocinas nas células mononucleares do sangue periférico através do reconhecimento das proteínas HLA-G no trofoblasto. Sarei-to e Tokishakuyaku-san aumentaram a secreção de interleucina 1 beta - IL-1 β e TNF, assim como diminuíram a secreção de interleucina-3 (IL-3) nas células mononucleares do sangue periférico não importando se estas células estavam ou não fazendo o reconhecimento da proteína HLA-G (FUJII et al.; 1999).

2- CITOCINAS E A HIPÓTESE DO IMUNOTROFISMO PLACENTÁRIO

2.1- O SISTEMA IMUNE E O TROFOBLASTO:

A coexistência entre mãe e embrião se estabelece muito precocemente na gravidez. Isto envolve reconhecimento aloimune, estímulo de uma resposta Th2 e a supressão das respostas citotóxicas Th1, que são a principal subdivisão dos clones de células T auxiliares (Th - helper) CD4+. A falta de reconhecimento resulta na rejeição do embrião por reatividade autoimune e ativação das células citotóxicas NK (BARINI et al., 1998)

- 1- O trofoblasto expressa um antígeno polimórfico do CPH, o HLA-G (OBER, ROSINSKY & GRIMSLEY, 1996) e outros antígenos da Classe I. Estes determinam e coordenam funções imunológicas que incluem a imunossupressão, a produção de citocinas e fatores de crescimento. Isto torna a placenta um órgão privilegiado, resistente ao ataque linfocitário, aos anticorpos citotóxicos e a complexos antígeno-anticorpo na maioria das situações;
- 2- O trofoblasto forma uma barreira física para a maioria dos efetores imunológicos, exceto para imunoglobinas IgE;
- 3- O trofoblasto sinaliza e recruta a migração de uma família de linfócitos para a decídua uterina, o que resulta em uma gama de funções de suporte de crescimento. Também atua estimulando linfócitos capazes de liberar fatores de supressão que diminuem a atividade citotóxica dos linfócitos;
- 4- Nas mulheres que abortam sucessivamente, não é permitido ao trofoblasto que se desenvolva e se estabeleça no ambiente materno durante a gravidez.
- 5- Há moléculas que regulam a produção de TNF como a fetuína e a espermina produzidas no feto e no âmnio. Estas moléculas suprimem a produção de TNF e mantém um estado de imunossupressão (WANG, ZHANG & SODA, 1997).
- 6- As células deciduais do estroma e as células NK produzem as citocinas GM-CSF, CSF-1, ambos fatores estimuladores do crescimento de colônias, LIF e fator de transformação do crescimento-beta (TGF- β) que são essenciais para

o crescimento, proliferação e diferenciação do trofoblasto (JOKHI, KING & LOKE, 1994);

- 7- Isto resulta no crescimento do trofoblasto e no aumento da produção de progesterona;
- 8- O trofoblasto prolifera, invade a decídua materna e células do mesmo podem migrar para a corrente sangüínea suscitando a formação de anticorpos antipaternos que retornam e se ligam à placenta. Aqui eles apresentam função imunotrófica e bloqueiam o ramo eferente da resposta imune local. A placenta se torna um tecido privilegiado localmente (BARINI et al., 1998).

Há vários tipos de células trofoblásticas que desencadeiam durante a gestação uma homeostase imunológica ou uma patologia imune materna. O primeiro é o sinciciotrofoblasto. Ele se desenvolve a partir do citotrofoblasto, células da camada mais interna, por agregação e então fusão celular em um sincício. A fusão celular envolve moléculas de adesão e fosfolipídeos (ADLER, NG & ROTE, 1985). O sinciciotrofoblasto é a membrana diretamente exposta ao sangue materno e a seus efetores imunológicos. Esta membrana envolve o feto completamente e funciona como uma membrana biológica de diálise envolvida em trocas bidirecionais de todas as moléculas entrando ou deixando a circulação fetal.

Outras células e tipos de tecidos na placenta incluem:

- 1- o citotrofoblasto que se agrupa em forma de colunas e ancora a placenta à decídua e que são porções terminais das vilosidades coriônicas;
- 2- o citotrofoblasto extraviloso, que migra e reside no tecido uterino materno. Este trofoblasto invasor expressa HLA-G;
- 3- o trofoblasto endovascular promove erosão e altera a estrutura das arteríolas que nutrem a placenta; este trofoblasto também exhibe a molécula HLA-G (KABAWAT, MOSTOUFI-ZADEH & DRISCOLL, 1985; BULMER, SMITH & MORRISON, 1988);
- 4- o trofoblasto amniocoriônico, presente em toda a área circundante fetal que forma o amniocórion; (CAULFIELD, SARGENT & FERRY, 1982) estas células servem para aderir a membrana amniótica à decídua uterina.

A decídua é um local de migração, desenvolvimento e formação funcional de grupos e subgrupos de linfócitos e células NK. As populações linfóides encontradas na decídua materna nos estágios iniciais de gestação são compostas de células NK

CD-56+ (80%); células T CD3+ (10%) e macrófagos CD14+ (10%) (KING, BURROWS & LOKE, 1996). Estes leucócitos se acumulam no sítio de implantação em grande número e densidade. Seu papel é importante em direcionar uma resposta citotóxica Th1 ou uma resposta supressiva Th2 determinante de crescimento dirigida à placenta (CHAOUAT et al., 1998).

As células trofoblásticas são resistentes à lise de células NK tanto provenientes de sangue periférico como da decídua. Quando as células NK da decídua são ativadas pela interleucina 2 (IL-2) elas são capazes de lesar o trofoblasto (FERRY et al, 1990; HAYNES, FLANAGAN & PERUSSIA, 1995). Tem sido relatado que IL-2 não é essencial para a manutenção de células NK uterinas ou para o desenvolvimento normal da placenta, ainda que as células NK uterinas apresentem RNA mensageiro - mRNA para o receptor da IL-2 (CROY, GUIMOND & LUROSS, 1997).

A interação materno-fetal e, por conseguinte o sucesso reprodutivo, pode depender de um sistema de reconhecimento aloimune das células NK (KING, BURROWS & LOKE, 1996).

Tem sido relatado que a membrana citoplasmática do sinciciotrofoblasto inibe a atividade citolítica dos linfócitos T citotóxicos - CTL e células NK contra suas células alvo (DEGENNE, KHALFOUND & BARDOS, 1986; DEGENNE, THIBAUT & GUILLAUMIN, 1991). Desta maneira o trofoblasto pode selecionar um exército de células supressoras que o acompanham e fazem uma interface que interage com o tecido materno.

Leucócitos granulares da decídua podem se ligar ao trofoblasto através da molécula HLA-G. Porém estas células produzem poucas citocinas Th1 relacionadas, além de que o trofoblasto expressa receptores de baixa afinidade para estas citocinas Th1 relacionadas. Como consequência uma resposta Th2 predomina e é desejável no sítio de implantação.

Uma gravidez bem sucedida representa um estado relativamente imunocomprometido (GONIK, LOO & WEST, 1987). A aceitação do alo-enxerto fetal se deve, em parte, à supressão da citotoxicidade celular. No início da gestação o nível das células NK CD56+ do sangue periférico está significativamente diminuído quando comparado com mulheres não grávidas. A atividade absoluta das células NK

decrece no terceiro trimestre em comparação com a atividade em controles normais não grávidos e volta a crescer no puerpério (HIDAKA et al., 1991).

As células T derivadas do endométrio e da decídua são diferentes daquelas derivadas do sangue periférico. São ativadas regionalmente como resultado da estimulação antigênica fetal. Para estabelecer tolerância fetal, o endométrio mantém a proporção de linfócitos T CD8+ e a relação CD4: CD8. Quando esta proporção se rompe, a gravidez sofre em consequência de ativação auto-imune, provocando perdas gestacionais recorrentes. Em mulheres com aborto recorrente a porcentagem de linfócitos T CD8+ endometrial está significativamente reduzida e a relação CD4: CD8 aumentada (LACHAPELLE et al., 1996).

Quando as sub-populações de células T são estudadas, identificam-se aumento das células T auxiliares supressoras (CD4+CD45RA+) e das células T supressoras/efetoras (CD8+S6F1), enquanto que as células T auxiliares/indutoras (CD4+CD29+), as células T auxiliares/memória (CD4+CD45RO+), as células T killer/efetoras (CD8+S6F1+) e as células NK (CD56+) estão diminuídas (BARINI et al., 1998).

Porém, mesmo numa gestação onde a mulher apresenta um estado de supressão imunológica, evidencia-se uma resposta dinâmica das células T antígeno-específica. Um grande número de clones expandidos distintos de células T são claramente detectados na nona semana pós-concepção e alcançam seu máximo no terceiro trimestre. Depois da trigésima semana de gravidez quase todos os clones expandidos de células T desaparecem e antes do parto o grau de expansão clonal volta aos níveis normais (HOGGER et al., 1996). Outros estudos que analisam as células T deciduais mostram a mesma ativação celular. Estes achados sugerem um papel do sistema imune para o crescimento trofoblástico e desenvolvimento placentário (GEISELHART et al., 1995).

As células maternas T reconhecem os antígenos-fetais. Esta resposta T antígeno-específica para os antígenos paternos herdados resulta na proliferação e acúmulo de certos clones de células T e durante a gravidez, os linfócitos T citotóxicos são estimulados *in vivo* por anticorpos anti HLA paternos. São detectadas respostas espontâneas citotóxicas contra antígenos paternos, sem que haja produção de anticorpos. Em contraste, freqüentemente os antígenos paternos herdados que induzem a produção de precursores de linfócitos T citotóxicos, são

detectados nas respostas dirigidas a antígenos de indivíduo não aparentado (BOUMA et al., 1996).

O útero contém um grande número de macrófagos no endométrio e no miométrio (HUNT & ROBERTSON, 1994). BULMER (1995) demonstrou que há um aumento de 45% dos macrófagos na região funcional próxima à região de implantação, comparando-se a fase proliferativa e a fase secretora inicial do ciclo menstrual humano.

Após a implantação os macrófagos aumentam em número e se redistribuem em compartimentos específicos no útero (BULMER, 1995). Os fatores que contribuem para sua quimiotaxia são:

- 1- a resposta inflamatória induzida pela invasão do epitélio uterino pelo blastocisto;
- 2- os níveis elevados de hormônios esteróides femininos;
- 3- o aumento da concentração de peptídeos hormonalmente estimulados, tais como CSF-1, GM-CSF, TNF e interleucina 6 (IL-6) (HUNT & ROBERTSON, 1996).

A ativação dos macrófagos se inicia por inflamação resultante da destruição tecidual e de INF- γ , uma citocina suprimida pelas células NK (ROITT, 1993). Na gravidez os níveis elevados de citocinas secretadas pelos macrófagos útero-placentários, ativados por endotoxinas bacterianas ou por ligação a receptores de citocinas, podem comprometer a gestação.

O equilíbrio entre a CSF-1 e GM-CSF se torna o pivô no controle da transição entre fenótipos imunossupressivo e imunoestimulador. Quando este equilíbrio se quebra a implantação não acontece (TARTAKOVSKY & BEM-YAIR, 1991).

Níveis de citocinas elevados tem um impacto negativo sobre a fertilidade e na manutenção da gravidez (CHAOUAT et al., 1990; TARTAKOVSKY & BEM-YAIR, 1991) e a perda do controle da atividade dos macrófagos acarreta resultados reprodutivos insatisfatórios.

2.2- O BALANÇO Th1/Th2 E A SUA ATUAÇÃO

A gestação normal caracteriza-se pela ausência de uma forte resposta imune antifetal mediada por células (WEGMANN et al., 1993; VOISIN & RAGHUPATHY,

1995). Essa observação juntamente com as evidências de que algumas citocinas possuem efeitos benéficos na concepção sugerem que a gestação é resultante de uma situação predominante Th2 (WEGMANN et al., 1993).

Em 1986, Mosmann e colaboradores propuseram a principal subdivisão dos clones de células T auxiliares CD4⁺ em ratos baseado nas diferenças nos seus padrões de produção de citocinas. Clones de células T do subtipo Th1 sintetizam e secretam IL-2, IFN- γ , mas não interleucina 4 (IL-4) e interleucina 5 (IL-5), por outro lado clones do subtipo Th2 produzem IL-4 e IL-5, mas não IL-2 e IFN- γ (ROMAGNANI, 1991). Atualmente aceita-se o subtipo Th3 que secreta TGF- β e não secreta IL-2, IFN- γ , IL-4 ou interleucina 10 (IL-10) e aparente ser o único subtipo de células T auxiliar que atua nas mucosas e regula o subtipo Th1 diminuindo a expressão deste em outras células imunes (RAGHUPATHY, 2001).

A seleção das células T CD4⁺ nos fenótipos Th1 e Th2 é uma propriedade que pode estar relacionada à estrutura dos antígenos e as condições de imunização. Imunização com diferentes agentes infecciosos podem envolver resposta predominantemente Th1 ou Th2 (ROMAGNANI, 1991).

Com a grande gama de clones de células T humanas que apresentam padrão fenotípico Th1 e Th2, determinou-se que os clones humanos de Th1 e Th2 diferem no seu padrão de citocinas e no seu modo de cooperar na síntese de imunoglobulinas – Ig, pelas células B. De fato, a maioria do Th1 (77%), mas somente uma minoria de Th2 (18%), dos clones apresentam atividade citolítica em um ensaio fitohemaglutinina dependente. Todos os clones Th2, não citolíticos, induzem a síntese de imunoglobulinas do tipo IgM, IgG, IgA e IgE por células B autólogas na presença de antígenos específicos e o grau de resposta foi proporcional ao número de células Th2 adicionados às células B. Sob as mesmas condições experimentais, clones Th1, citolítico, ajudam células B na síntese de IgM, IgG e IgA, mas não a de IgE (ROMAGNANI, 1991). Células Th1 e Th2 são mutuamente inibitórias, uma controlando a atuação da outra (RAGHUPATHY, 2001).

Ambas as linfocinas de Th1 e Th2 apresentam atividade efetora e habilidade em matar as células apresentadoras de antígeno – APCs. O subtipo Th1 representa as células efetoras mais importantes nas reações inflamatórias associadas a intensidade da resposta de hipersensibilidade do tipo tardio, mas baixa a produção de anticorpos, como ocorre com dermatites ou em infecções que se devem a

algumas bactérias intracelulares. Ainda no mesmo tópico o fenótipo funcional da maioria das células Th2 reforça a produção de anticorpos, desta forma, comumente encontrada em associação com uma forte resposta de anticorpos que são importantes no combate a infecções e organismos extracelulares (RAGHUPATHY, 2001), podendo causar tanto a persistente produção de anticorpos (incluindo IgE) e a eosinofilia observada em infecções humanas por helmintos e desordens alérgicas (ROMAGNANI, 1991).

WEGMANN et al., 1993 demonstraram que durante a gestação normal os tecidos fetoplacentários de ratos secretam espontaneamente as citocinas do tipo Th2 como IL-4, IL-5 e IL-10, enquanto células maternas esplênicas e dos linfonodos não as secretam. (LIN et al., 1993; WEGMANN et al., 1993). Em conjunto, estes estudos indicam uma mudança no balanço do perfil de citocinas do tipo de reatividade Th1 para o tipo Th2 durante a gestação normal (RAGHUPATHY, 1997).

O efeito de uma resposta inflamatória local atualmente é relacionada à expressão ótima do trofoblasto e das células da decídua uterina de moléculas de adesão, as quais são necessárias a implantação. Este papel da resposta inflamatória na implantação indica que a gestação não representa apenas uma resposta Th2, e já aponta para a existência de algumas “janelas” que selecionam o perfil de citocinas, a chamada janela de implantação é uma destas (CHAOUAT et al., 2002).

O paradigma Th1/Th2, o qual muitos pesquisadores ainda aceitam como predominante, propicia o estabelecimento da gestação que é caracterizada por baixos níveis de citocinas do tipo Th1 (TNF, IFN- γ), que ão conhecidas como abortivas numa variedade de modelos animais (PARAND & CHEDID, 1964; CHAOUAT et al., 1990, 1995; TANGRI & RAGHUPATHY, 1993; CLARK et al., 1997) o mesmo ocorrendo de maneira semelhante em humanos (HILL, 1995; PICCINNI & ROMAGNANI, 1996; RAGHUPATHY et al., 1999). O oposto, citocinas do tipo Th2 como a IL-10, aparentam atuar com um papel de proteção (CHAOUAT et al., 1990).

Como a imunidade do tipo Th1 pode ser induzida durante a gestação? Alterações genéticas nos mecanismos moleculares estão diretamente envolvidos na regulação da expressão deste subtipo de citocinas. É possível que algumas mulheres tenham uma tendência determinada geneticamente para produzir certos tipos de citocinas (RAGHUPATHY, 2001).

Tanto o paradigma do balanço Th1/Th2 como o modelo do “Imunotrofismo placentário” (WEGMANN, 1984; WEGMANN et al., 1993) foram descritos num período em que se acreditava que o confronto materno era apenas mediado por linfócitos T, que eram supostamente os principais produtores de interleucinas regulatórias. No entanto, este esquema aparenta estar sendo muito simplificado visto que a maioria das interleucinas e “citocinas imunes” parecem estar sendo sintetizadas por células de origem não imune do trato reprodutivo. Um exemplo é a secreção da IL-10 pelo trofoblasto (CHAOUAT et al. 1999).

2.3- O PAPEL DAS CITOCINAS DURANTE A GESTAÇÃO

Após seis dias da fertilização, o blastocisto pré-implantação, é uma massa celular embrionária cística e autônoma. A implantação do blastocisto é regulada por complexas interações entre hormônios peptídicos e esteróides que sincronizam a preparação do endométrio com o desenvolvimento do embrião. A secreção de progesterona pelo corpo lúteo do ovário constitui um componente crítico destas interações e é necessária para a manutenção e o desenvolvimento da decídua. Além de manter o endométrio da gravidez, comumente denominado decídua, a progesterona, inicialmente de origem ovariana, e mais tarde produzida pela própria placenta em desenvolvimento, também pode desempenhar um papel imunossupressor significativo na interface materno-fetal (BECKERMAN, 2000).

Por ocasião da implantação, a decídua contém numerosos leucócitos, incluindo células T e macrófagos. Acredita-se que as citocinas produzidas por estas células sejam mediadoras de muitas dessas interações.

O termo citocina refere-se a fatores polipeptídicos de peso molecular entre 15 e 30 kDa, mediadores químicos pleiotrópicos de vários processos fisiológicos, dentre os quais a resposta imunológica. Podem ser encontrados nas formas solúvel ou ligados à membrana celular. À semelhança dos hormônios, exercem efeitos autócrinos (alvo é a própria célula secretora), influenciando num sistema de retroalimentação sua própria síntese, e parácrinos (alvo são células próximas), quando ligados a receptores celulares específicos e de alta afinidade. Transduzem sinais para o interior da célula e desencadeiam respostas na célula alvo, tais como a ativação de quinases, fosforilação de proteínas, e produção de fatores de transcrição

(BARBARA; OSTAD; LOPEZ, 1996; RINK e KIRCHNER, 1996; BEUTLER e BAZZONI, 1998).

Citocinas são altamente pleiotrópicas e multipotentes, as mesmas citocinas podem mediar diferentes efeitos nas diferentes concentrações e nos diferentes períodos de gestação. Por exemplo, enquanto o CSF-1 e GM-CSF promove o crescimento do trofoblasto, um excesso destas citocinas impede a gestação inicial (TARTAKOVSKY & BEM-YAIR, 1991, LEA & CLARK, 1993).

Outras citocinas secretadas por células T e macrófagos de decídua podem facilitar ou impedir os eventos que levam à implantação. Estudos *in vitro* mostram que a IL-1b inibe a fixação do blastocisto murino, porém aumenta o desenvolvimento do trofoblasto. O IFN- γ inibe o crescimento do trofoblasto e causa ~~causa~~ alterações degenerativas nestas células, sugerindo que os eventos de implantação podem ser regulados pelos tipos de citocinas presentes e pelo momento de sua secreção em relação ao desenvolvimento embrionário (BECKERMAN, 2000).

As fêmeas de camundongos que carecem de um gene funcional do LIF, fator inibidor de leucemia para adesão e implantação do blastocisto, são férteis, porém os blastocistos não são capazes de implantação e desenvolvimento.

O desenvolvimento do embrião humano exige o seu rápido acesso à circulação materna. Uma vez fixado ao endométrio, um subgrupo distinto de células do citotrofoblasto, que neste estágio circundam os tecidos embrionários do blastocisto são destinadas a diferenciar-se na placenta e na camada externa das membranas fetais, sofre rápida diferenciação, dando origem ao trofoblasto altamente invasivo.

O trofoblasto invasivo erode inicialmente no estroma do endométrio e, a seguir, invade as arteríolas endometriais com 12 dias de gestação no ser humano; a seguir, substitui-se o endotélio materno e o músculo liso vascular, estabelecendo a circulação uteroplacentária revestida por trofoblasto fetal, de dilatação máxima. Apesar de os leucócitos maternos estarem em contato contínuo com estes tecidos fetais que revestem os vasos maternos da decídua e placenta, todas estas estruturas continuam a transportar nutrientes e eliminar detritos do feto durante a gestação, sem qualquer rejeição ou ataque pelo sistema imunológico do feto ou da mãe (BECKERMAN, 2000).

A placenta como um órgão imunológico, é peculiar e tem vida curta. Enquanto produz hormônios protéicos e esteróides que regulam as atividades fisiológicas da gravidez, a placenta também atua como pulmão, rins, intestino e fígado para o feto.

A camada multinucleada de sinciotrofoblasto da placenta era tradicionalmente considerada como uma espécie de “escudo” para o feto, atuando como barreira contra os mecanismos imunológicos efetores maternos. Tornou-se evidente que o trofoblasto difere de todos os outros tipos celulares na sua capacidade de expressar moléculas HLA.

Durante a gravidez, a imunidade das células B é mantida em níveis normais, e não ocorre nenhuma alteração nos níveis séricos de imunoglobulinas. Além disso, algumas manifestações da imunidade mediada por células, como hipersensibilidade tardia, reações cutâneas, rejeição de alo-enxerto de pele e respostas *in vitro* a mitógenos, não são alteradas durante a gravidez (BECKERMAN, 2000).

O trofoblasto secreta citocinas que foram primariamente associadas a fagócitos mononucleares, como CSF-1 e seu receptor c-fms, interleucina 3 (IL-3) e GM-CSF. Como os macrófagos, o trofoblasto expressa altos níveis de LIF, tem a capacidade de fagocitar e de formar sincícios e expressa receptores Fc, CD4 e CD14. Houve um relatório preliminar de expressão de interleucina 10 - IL-10 em trofoblasto, e, com base nos resultados de pesquisas efetuadas em diversos sistemas experimentais diferentes, parece que o trofoblasto responde ao TNF, à interleucina (IL-1), ao TGF β e IL-6 (BECKERMAN, 2000).

Citocinas são abundantes no útero grávido e acredita-se que várias delas sejam críticas para uma gestação bem sucedida face às evidências de que participam nos eventos de comunicação celular necessários à remodelagem do ambiente uterino, para que aceite um embrião semi-alogênico (ROBERTSON et al., 1994; FRIED et al., 1998; RIVERA et al., 1998). Qualquer distúrbio no delicado balanço imunológico que ocorre na interface materno-fetal poderá resultar em perda ou outras complicações gestacionais. Citocinas pró-inflamatórias tais como IFN- γ TNF- α , e citocinas anti-inflamatórias, IL-10 por exemplo, têm sido investigadas como potenciais reguladoras desse equilíbrio que se estabelece entre mãe e embrião (PICCOTTE et al., 1997; FRIED et al., 1998; DARMOCHWAL-KOLARZ, 1999; BROWN et al., 2000; PICCINI et al., 2000).

No estudo de MOREAU et al. (1999), os autores concluíram que IL-10 induz seletivamente a expressão de HLA-G no trofoblasto e monócitos, influenciando o padrão de expressão das moléculas HLA de classe I na interface materno-fetal e protegendo o embrião da rejeição.

TNF- α ativo em concentrações picomolares, inicialmente referido como um produto de macrófago associado a processos inflamatórios e de inibição da proliferação de células tumorais, é ativamente produzido por células do epitélio uterino e células do trofoblasto placentário. Modula o crescimento, a diferenciação celular e a síntese de várias substâncias, admite-se que influencie a embriogênese humana controlando o crescimento e a diferenciação do trofoblasto e limitando a invasão uterina pelo sinciciotrofoblasto. TNF- α biologicamente ativo tem sido também identificado no fluido amniótico, no soro materno, nas secreções vaginais e em explantes placentários. Alguns experimentos têm demonstrado a presença de receptores para TNF- α no tecido da placenta. No entanto, seu possível papel no desenvolvimento embrionário não foi ainda elucidado (CHEN et al., 1991; HUNT e ORR, 1992; HUNT et al., 2000; KRUSE et al; 2000).

Altos níveis de TNF- α sérico e no fluido amniótico têm sido observados em certos distúrbios gestacionais tais como parto prematuro e retardo do crescimento fetal. Sugere-se que seja um mediador importante do abortamento recorrente atribuído a causas imunológicas. ANDERSON et al. (1991) interpretaram tais abortos recorrentes como um “imunodistrofismo gestacional” resultado da liberação de linfocinas e citocinas no ambiente ou tecido placentário. Seus estudos também indicavam que uma resposta imune materna contra antígenos presentes no embrião poderia conduzir a uma ativação imune local e produção inadequada de certas citocinas pró-inflamatórias tais como, TNF, IL-1 e INF- γ , resultando em efeitos adversos ao processo gestacional.

No início da década de 90 HILL descreveu a hipótese do Imunodistrofismo. Visto que certas citocinas são benéficas ao sucesso gestacional, uma deficiência nestas citocinas pode conduzir a uma placentação pobre, crescimento subnormal e até mesmo a morte fetal (CLARK & CHAOUAT, 1989), HILL propôs que os eventos gestacionais normais podem ser afetados adversamente por células efetoras do sistema imune e denominou estes efeitos de ‘munodistrofismo. Ela sustenta que a imunestimulação materna aberrante, imprópria ou inapropriada pode resultar numa

super produção de citocinas que podem vir a causar efeitos deletérios no desenvolvimento do embrião (CLARK & CHAOUAT, 1989; HILL, 1991; WEGMANN et al.; 1993; GENDRON & BAINES, 1988).

2.4- A HIPÓTESE DO IMUNOTROFISMO PLACENTÁRIO

Os estudos de Wegmann, iniciados na década de 70, surpreendentemente sugeriam, naquela época, que produtos de macrófagos e linfócitos T ativados atuavam como fatores de crescimento para células placentárias. Não causavam dano ao embrião mas promoviam seu crescimento e viabilidade. Células T maternas reconhecendo aloantígenos fetais presentes na interface materno-fetal responderiam secretando citocinas, que desencadeariam uma “inflamação ontogênica” que promoveria o crescimento do trofoblasto, um melhor desempenho das funções placentárias, e conseqüentemente uma gestação normal. Argumentava que essa idéia não era sem precedentes uma vez que é bem conhecida a participação de células T e citocinas em fenômenos, tais como, a hematopoiese, a regeneração de fígado e em uma variedade de outros fenômenos de crescimento (GREEN e WEGMANN, 1986).

No início da década de 80 Thomas Wegmann e seus colaboradores aceitavam a placenta como sendo uma barreira imunológica entre a mãe e o feto (CHAOUAT, KOLB & WEGMANN, 1983).

De acordo com a literatura contemporânea da imunologia da reprodução, há duas classes principais de explicação para a sobrevivência dos embriões geneticamente diferentes da mãe. A primeira é de que a atividade supressora atua sistematicamente na resposta imune materna que impede o reconhecimento ou a reatividade para com aloantígenos paternos. A segunda é de que a placenta serve como uma barreira à entrada de moléculas ou células efetoras do sistema imune materno sobre o feto. Ambos os pontos de vista implicam num reconhecimento materno dos aloantígenos fetais, conforme as seguintes evidências: hemaglutininas antipaternas (GOODLIN & HERZENBERG, 1964; KALISS & DAGG, 1964), reações imunes celulares contra o concepto (BREYERE & BARRETT, 1960; BEER et al., 1976; BONAPARTE et al., 1982; HAMILTON & HELLSTRÖN, 1977; O’HEARN & HILGARD, 1981) e modificações no timo materno (CLARKE, 1971, 1979, 1982).

Há muitas publicações que descrevem a existência de substâncias ou células no sistema imune periférico das fêmeas gestantes que são imunossuprimidas numa variedade de experimentos, primeiramente *in vitro*. Alguns destes relatos produziram evidências de uma imunossupressão antígeno-específica, embora outros relataram efeitos não específicos (CHAOUAT, KOLB & WEGMANN, 1983).

Usando uma variedade de combinações entre linhagens de murinos, também foi possível demonstrar supressão *in vitro* da linfólise mediada por células, por células esplênicas de fêmeas grávidas. Desta maneira a supressão pode ser claramente demonstrada como sendo específica para linhagens paternas de aloantígenos (CHAOUAT et al., 1980; CHAOUAT, CHAFFAUX & VOISIN, 1980; CHAOUAT & CHAFFAUX, 1981; CHAOUAT & KOLB, 1982a), e a estar, pelo menos em parte, sob o controle da indução placentária (CHAOUAT, CHAFFAUX & VOISIN, 1980). De acordo com estudos *in vivo* em animais grávidas (FABRIS, PIANTANELLI & MUZZIOLI, 1977; DUCHET SUCHAUX, CHAOUAT & CHAFFAUX, 1979), a resposta de anticorpos a antígenos não relacionados (SRBC) continua não sendo afetada ou acentuada (DUCHET SUCHAUX, CHAOUAT & CHAFFAUX, 1979; CHAOUAT, 1981).

Outros laboratórios têm mostrado evidências de células T supressoras localizadas periféricamente que são ativadas *in vivo*, para ambos os antígenos CPH (BAINES, MILLAR & PROSS, 1980) e H-Y (SMITH & POWELL, 1977; CHANDLER, BENJAMIN & SIMPSON, 1980).

Outra forma possível de supressão da atividade periférica envolve o aumento de anticorpos antipaternos. Seu papel na proteção fetal foi inicialmente sugerida pela presença de linhagens de aglutininas antipaternas em murinas grávidas (GOODLIN & HERZENBERG, 1964; KALISS & DAGG, 1964).

Estudos adicionais indicam que há combinação de linhagens em ratos em que a aloimunização contra antígenos paternos, tanto em fêmeas virgens como em fêmeas gestantes, conduzem a detecção da presença de anticorpos, tanto no soro ou ligado a placenta (CHAOUAT & KOLB, 1982a, b). De todos os experimentos anteriormente expostos, conclui-se que o bloqueio dos anticorpos não é necessária a sobrevivência do alo-enxerto fetal, e para isto não há indicações claras que as fêmeas grávidas não são mais predispostas a produzir anticorpos do tipo bloqueador do que do tipo lítico. Anticorpos placentários solúveis e gamaglobulinas

retroplacentárias podem ser clinicamente úteis em transplantes renais (RIGGIO et al., 1982), e para o tratamento de artrite aguda (CLOT et al., 1982). Outra forma de supressão mediada por anticorpos pode vir a ter uma atividade antiidiopática.

O fato da atividade supressora no sistema imune periférico da mãe não ter um papel crucial na proteção fetal, não exclui a importância da região da placenta, e esta pode ser uma explicação possível de como a barreira placentária funciona. Mas há vários experimentos que indicam que a placenta não serve como uma barreira imunologicamente seletiva, filtrando substâncias potencialmente prejudiciais e células antes de atingir o feto (CHAOUAT, KOLB & WEGMANN, 1983).

Experimentos clássicos de SIMMONS & RUSSEL (1962), indicaram claramente que, considerando que o componente embrionário da unidade fetoplacentária é interpretado e deveria ser rejeitado como um enxerto alogênico. No entanto, os componentes do trofoblasto, obtidos na forma pura no sétimo dia de gestação em murinos, não foram afetados pelos mecanismos de rejeição. Este foi o primeiro experimento controle indicando que o trofoblasto pode ter um papel crucial na sobrevivência do feto alográfico, porque este é o tecido que forma a interface entre a circulação materna e fetal. Experimentos de ROSSANT, MAURO & CROY (1982) e CROY, ROSSANT & CLARK (1981) salientaram o papel *in situ* do trofoblasto. Desta maneira experimentos consistentes sugerem que o trofoblasto, se derivado da mesma espécie que a espécie da mãe, pode atuar com um papel imunoprotetor, igual para a formação de quimeras interespecíficas (CROY et al., 1983).

No início dos anos 70, SWINBURNE propôs que a placenta serve como uma barreira imunoabsorbente para anticorpos anti-CPH paternos produzidos pela gestante durante a alogestação o que fundamenta-se em experimentos posteriores usando anticorpos CPH monoclonais antifetais radio-marcados (WEGMANN et al., 1979; WEGMANN, SINGH & CARLSON, 1979). Se for injetado intravenosamente em fêmeas de rato grávidas no décimo terceiro dia de gestação anticorpos monoclonais anti-Classe I, dirigidos contra o feto ou derivados da porção Fab'2, pode ser visualizado um aumento da resposta na placenta, quando comparado com fêmeas em que o feto não porta antígenos alvo. Estes resultados indicam que a placenta não só absorve os anticorpos retirando-os da circulação como impede o contato dos mesmos com o feto.

Outros experimentos (RAGHUPATHY, 1982; RAGHUPATHY et al., 1981) indicam que anticorpos que se ligam a células da placenta são digeridos intracelularmente, e depois liberados como fragmentos na circulação da fêmea grávida. Uma observação interessante é de que a placenta não é imuno-absorbente para anticorpos monoclonais dirigidos contra antígenos CPH de Classe II, muito embora nem todas as especificidades tenham sido testadas (RAGHUPATHY et al., 1981). Estudos auto-radiográficos, realizados em fêmeas injetadas com anticorpos radio-marcados e depois analisados *in vivo*, indicaram que há dois sítios principais de localização de antígenos de Classe I: um na lateral da placenta, onde o saco vitelínico se insere no lado fetal, e uma ligação muito mais fraca, mas definitivamente positiva que é vista na região do espongioblasto (RAGHUPATHY, 1982) que estão de acordo com observações prévias da localização dos anticorpos antipaternos na placenta por imunofluorescência (VOISIN & CHAOUAT, 1974; CHAOUAT et al., 1979a). Estes estudos indicam que a placenta pode servir como imuno-adsorbente, e também indica que antígenos CPH de Classe I derivados do pai estão em contato direto com a circulação materna.

Há um grande número de artigos que relatam o tráfego imune celular entre a mãe e o feto durante a gestação murina, embora em alguns estudos estas observações não puderam ser repetidas. Um estudo que muito contribuiu nesta área, utilizando marcadores antigênicos CPH, constatou que mais de 30% das células que estão se dividindo no fígado dos animais recém nascidos são de origem materna (COLLINS, CHREST & ADLER, 1981).

Talvez a explicação mais simples no que se refere a barreira placentária é que ela seja tão bem estruturada, que impede anatomicamente as células maternas de entrarem em contato com o feto. De fato, este tipo de explanação tem avançado de diferentes maneiras (KIRBY, 1968; WITEBSKY & REICH, 1982; WEGMMAN & GILL, 1983). Uma alternativa não mutuamente exclusiva é de que algo pode estar provocando uma atividade supressora local. Por exemplo, é razoável imaginar-se em situações normais, que a função de barreira anatômica seja quase eficiente, mas em alguns casos um número pequeno de células do sistema imune materno passe através da barreira placentária. Então, a atividade supressora pode ter um papel muito importante ao impedir que estas células sejam sensibilizadas (bloqueio aferente), ou que reajam contra os tecidos fetais, se pré-sensibilizadas (bloqueio

eferente). Um grande número de experimentos indicam que, desde que exposto a alguns antígenos, a unidade placentária-fetal não é imunogênica para a maioria das células da resposta imune materna (TAYLOR & HANCOCK, 1975; HAMILTON & HELLSTRÖM, 1977; SMITH et al., 1978; TAYLOR, HANCOCK & GOWLAND, 1979; CHAOUAT, MATHIESON & ASOFSKY, 1982a,) com exceção das células disparadoras responsáveis pela produção de MIF (GILL & REPETTI, 1979) e, é claro, células T supressoras. Outra série de experimentos demonstrou que as células placentárias normalmente não atuam como alvo para a imunidade mediada por células *in vivo* (LANMAN, DINENSTEIN & FIKRING, 1962).

Há um grande número de experimentos descrevendo a presença de uma substância supressora nas células da decídua (KIRKWOOD & BELL, 1981; RACHMANN et al., 1981, KOUTTAB et al., 1976; GLOBERSON et al., 1977, GOLANDER et al., 1981; SLAPSYS & CLARK, 1983)

Outra importante área de investigação consiste no papel da atividade supressora na drenagem dos linfonodos da unidade placentária fetal. Isto foi primeiramente proposto pelo trabalho de BEER et al. (1976), que relatou a capacidade proliferativa das células T nos linfonodos na Doença do Enxerto-*versus*-Hospedeiro (NICKLIN & BILLINGTON, 1982). CLARK e colaboradores em seus experimentos indicaram que não há especificidade das células supressoras no linfonodo para-aórtico que drenam o útero durante a gestação murina, e na decídua. Além do mais, a presença de certas células está correlacionada com a existência de fatores solúveis, não específicos, fatores supressores, com funções similares.

Também foi observada uma involução tímica em gestações onde o embrião é geneticamente idêntico à mãe, gestação singênica (Le HOANPHUC et al., 1981; CLARKE 1979, 1982, CHAOUAT et al., 1982).

Experimentos indicaram que o saco vitelínico de 10 dias contém uma subpopulação de células com atividade NK (DAHL, KAHAN & AUERBACH, 1980), o que sugere ainda outro mecanismo possível para a destruição de células maternas, podendo estas passarem para o lado fetal da placenta. De maneira similar, há um artigo indicando que o cordão umbilical humano contém anticorpos IgM específicos para células NK (MIYAGAWA et al., 1982). Além disso, as células T supressoras do cordão umbilical sugerem uma resposta supressora dos linfócitos maternos, poderiam eles quebrar a barreira placentária (OLDING & OLDSTONE, 1976).

Reunindo o conhecimento relacionado à gestação, em 1984, Thomas Wegmann e seus colaboradores postularam a hipótese do Imunotrofismo Placentário. Sua hipótese propõe que o reconhecimento do feto pelas células T maternas conduz a liberação de linfocinas e citocinas tais como: CFS-1, GM-CSF, TNF, LT- α (anteriormente chamado TNF- β), IL-6 e outros, que atuam como fator estimulador do crescimento e diferenciação do trofoblasto e de outras células placentárias, o que resulta numa melhor atuação da placenta e a sobrevivência fetal. Qualquer distúrbio no balanço das citocinas pode resultar em conseqüências deletérias a placenta e ao feto.

A partir desta hipótese quatro premissas passíveis de serem verificados foram testados experimentalmente:

- Linfocinas provenientes de células T estimulam o vigor placentário, crescimento celular e a atividade *in vitro*;
- A remoção de células T maternas durante a gestação pode induzir a redução placentária e o crescimento fetal e em alguns casos ao aborto;
- Linfocinas e citocinas podem ser secretadas por tecidos maternos na vizinhança da interface materno-fetal;
- A injeção de linfocinas pode induzir o crescimento fetal e placentário, assim como diminuir a reabsorção fetal;

As células da decídua numa gravidez alogênica apresentam estas atividades aumentadas quando comparando à gravidez singênica (WEGMANN et al., 1989).

WEGMANN (1993) ampliou sua hipótese argumentando que o conceito se protegeria secretando citocinas como a IL-2, INF γ , e LT- α (referida em sua publicação como TNF- β), que regulariam a expressão daquelas citocinas prejudiciais à gestação. Desta forma, eram muitas as evidências de que durante a gestação existiria uma rede de interações bidirecionais atuando entre o sistema imune materno e a unidade feto-placentária. Isso foi posteriormente confirmado por GARCIA-LLORET et al. (1994) que demonstraram interações funcionais entre a placenta e certas citocinas, principalmente no que se referia à diferenciação do citotrofoblasto e à secreção de hormônios. Nesse trabalho, os autores investigaram a atuação de citocinas linfohematopoiéticas, CSF-1 e GM-CSF, no desenvolvimento placentário de mamíferos e na diferenciação funcional e morfológica *in vitro* do

trofoblasto humano. A produção dessas citocinas estava sob o controle da IL-1 e TNF- α , ambas com funções similares e produzidas pelo trofoblasto.

Considerando-se que certas citocinas são propícias a uma gestação bem sucedida, sua ausência e/ou quantidade inadequada poderia resultar numa implantação mal sucedida, comprometimento do crescimento e até mesmo perdas fetais. Portanto, deveria ocorrer durante a gestação um equilíbrio entre os dois tipos de citocinas, equilíbrio esse que poderia estar alterado favorecendo ou prejudicando o desenvolvimento embrionário (WEGMANN et al.,1993; GARCIA-LLORET et al.,1994).

Foi demonstrado em vários estudos experimentais de modelos animais (PARAND & CHEDID, 1964; CHAOUAT et al., 1990, TANGRI & RAGHUPATHY, 1993; CLARK et al., 1997), e de maneira semelhante em humanos (HILL, 1995; PICCINNI & ROMAGNANI, 1996; RAGHUPATHY et al., 1999) que linfócitos T auxiliares (Th), numa gestação bem sucedida, estariam secretando espontaneamente citocinas e interleucinas do tipo Th2 (IL-4, IL-5 e IL-10), sendo que no balanço entre citocinas Th1/Th2 havia uma mudança que tendia para uma imunidade do tipo Th2. Uma imunidade do tipo Th1 seria incompatível com uma gestação a termo e liberação de TNF no líquido amniótico estaria associada com perdas gestacionais (RAGHUPATHY, 1997).

Na década de 90, estudos mostraram que diferenças inter-individuais significativas são observadas em indivíduos normais e saudáveis com relação à produção de TNF- α e LT- α e constitui-se numa propriedade intrínseca de células T estimuladas por lipopolissacarídeos, fitohemaglutininas, IFN- γ , ConA, entre outros. Os níveis de produção dessas citocinas são estáveis e estão menos sujeitos a flutuações em indivíduos do sexo masculino quando testados em diferentes ocasiões. O mesmo não se observa nas mulheres nas quais essa flutuação só é reduzida no período pós-menopausa, sugerindo que a produção dessas citocinas é também regulada por hormônios sexuais (JACOB et al., 1990). Este esquema de classificação é muito simplificado visto que a vasta maioria das interleucinas e das "citocinas imunes" aparentam ser sintetizadas por células do trato reprodutivo de origem não imune. Um exemplo é a IL-10 que é secretada pelas células do trofoblasto (CHAOUAT et al., 2000; ROTH et al., 1996).

Têm-se observado que a predisposição para uma liberação excessiva de TNF, está parcialmente associada ao genótipo HLA-DR (WILSON et al., 1993). Os alelos *HLA-DR1* e *HLA-DR3* têm sido relacionados à alta produção de citocinas dentre as quais TNF- α e LT- α . Tais citocinas têm sido associadas com efeitos adversos em várias etapas do processo reprodutivo (HILL e CHOI, 2000). O excesso de TNF no fluido amniótico e na interface materno-fetal associa-se também com abortamento espontâneo e nascimento prematuro (DENEYS e DeBRUYERE, 1997; MOHAPELOA et al., 1998).

No entanto, um bom número de novas descobertas sobre as citocinas não correspondem a dicotomia clássica do equilíbrio entre o padrão expresso pelas células Th1/Th2. Além da capacidade de ativar e regular as células NK, pela ação de moléculas de adesão, e pelos efeitos regulatórios no processo de vascularização elas são de grande interesse nas relações materno-fetais (CHAOUAT et al., 2002).

Alguns autores vem a relação materno-fetal como sendo mais semelhante a uma relação entre hospedeiro/tumor ou hospedeiro/parasita do que como uma relação entre hospedeiro e enxerto (LOKE & KING, 1995). CHAOUAT e colaboradores (2002), tendem a acreditar que estas classificações são fúteis, que a relação materno-fetal é única e representativa passo a passo, promovendo uma interação simbiótica. Além de que quando o paradigma do equilíbrio Th1/Th2 foi descrito, a maioria das atenções estavam voltadas para os linfócitos T clássicos. As descobertas mais recentes apontam até agora para um possível papel das células NK (GUIMOND et al., 1997; CHAOUAT et al., 1998), células T gama delta (ARCK et al., 1997), da importância da adesão (APLIN, 1996) e das moléculas inflamatórias na implantação (Mac MASTER et al., 1992; SANFORD et al., 1992; SIMON et al., 1994, 1995; LOKE & KING, 1995), fugindo do conceito de "tolerância".

Inicialmente, às células NK era conferido somente o potencial de invadir o feto. Acreditava-se que a sua ativação poderia levar a destruição da unidade feto-placentária. Além de que, em ratos, o envolvimento das células NK foi demonstrado tanto na correção/impedimento como na indução de aborto no modelo de murinos CBA x DBA/2 (BAINES & De FOUGEROLLES, 1988; KINSKY et al., 1990; GENDRON & BAINES, 1988). Mas que também se mostrou dependente do local de produção de IL-10. Surpreendentemente, a produção de IL-10 pelo trofoblasto

mostrou ser controlada pelas NK, demonstrando pela primeira vez um duplo envolvimento das células NK no processo gestacional (CHAOUAT et al., 1998).

A descoberta de que a placenta murina deficiente de células NK é geralmente hipotrófica, pouco desenvolvida (GUIMOND et al., 1997, 1998), conduzindo a uma morte fetal prematura, redirecionou o balanço Th1/Th2 das células T para as células NK, o que tem sido comprovado por experimentos recentes (GUIMOND et al. 1997). Estes dados mostraram que a produção de citocinas imunotróficas pode estar de fato sendo controlada pelas células NK sugerindo que o aloconhecimento na gestação é exercido pelas mesmas, de forma mais precisa do que pelos linfócitos T, o que poderia ser extrapolado para humanos (CHAOUAT, 2002).

A primeira indicação de que o paradigma "gestação é um fenômeno Th2" poderia não ser universalmente aplicável veio com a descoberta do envolvimento de um meio de implantação semelhante ao pro-inflamatório (WEGMANN et al., 1993).

Os efeitos de tal resposta inflamatória local foram agora ligados a expressão ótima de moléculas de adesão no trofoblasto placentário e nas células da decídua uterina, as quais são necessárias para que a implantação ocorra. Este papel inflamatório na implantação significa que a gestação não representa somente uma resposta do tipo Th2, e aponta a existência de varias "janelas" que selecionam o perfil de citocinas, a janela da implantação é uma destas (CHAOUAT et al., 2002).

Assim, a relação materno-fetal não se trata de um simples fenômeno de tolerância de um tecido geneticamente diferente, mas uma série intrincada de interações mutuas entre as citocinas governando uma regulação seletiva no sistema imune materno e também controlando a adesão e os processos de vascularização durante sua atuação (CHAOUAT et al., 2002). Desta forma não é mais possível classificar as citocinas em "boas e más" como sugerido pelo paradigma Th1/Th2 (CHAOUAT et al., 2002).

3- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLER, R. R.; NG A. K.; ROTE, N. S. Monoclonal antiphosphatidylserina antibody inhibits intercellular fusion of the choriocarcinoma line. **J. Biol. Reprod.**, v. 53, n. 4, p. 905-910, Oct. 1995.

ANDERSON, D. J. ;HILL, J. A.; HAIMOVICI, F.; BERKOWITZ, R. S. Adverse effects of immune cell products in pregnancy. In: WEGMANN,T. G; GILL, T. J. III; NISBET-BROWN (Eds.). **Molecular and Cellular Immunobiology of the Maternal Fetal Interface**. New York, Oxford University Press Inc., 1991, 1^o edição, p.207-218.

APLIN, J. D.; The cell biology of human implantation. *Placenta*, v. 17, n. 5/6, p. 269-277, 1996.

ARCK, A.; FERRICK, D. A.; STEELE NORWOOD, D.; CROITORU, K.; CLARK, D. A. Murine T cell determination of pregnancy outcome. I) Effects of strain, T cell receptor, T cell receptor, and T cell subsets. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 37, n. 6, p. 492-501, 1997.

BAINES, M.; DE FOUGEROLLES, R. Modulation of Natural Killer activity influences resorbtion rates in CBAxDBA/2 matings. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 11, n. 2, p. 147-153, 1988.

BAINES, M. G.; MILLAR, K. G.; PROSS, H. F. Allograft enhancement during normal murine pregnancy. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 121, p. 1389, 1980.

BAINES, M. G.; SPEERS, E. A.; PROSS, H.; MILLAR, K. G. Characteristics of the maternal lymphoid response of mice to paternal strain antigens induced by homologous pregnancy. **Immunology**, v. 31, n. 3, p. 363-369; Sep. 1976.

BEUTLER, B.; BAZZONI, F. TNF, apoptosis and autoimmunity: a commom thread?. **Blood Cells, Molecules and Diseases**, v. 31, p. 216-230, 1998.

BARG, M.; BURTON, R. C.; SMITH, J. A.; LUCKENBACH, G. A.; DECKER, J.; MITCHELL, G. F. Effects of placental tissue on immunological responses. **Clinical Experimental Immunology**, v. 34, n. 3, p. 441-448; Dec. 1978.

BARINI, R.; COUTO, E.; TOSETI, S. R.; LEIBER, S. R.; BATISTA, S. C.; PINTO e SILVA, J. L. Abortamento recorrente de causa imunológica: avaliação de um protocolo de investigação e tratamento. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia**, v. 20, n. 2, p. 83-89, 1998.

BECKERMAN, K. P. Reprodução e Sistema Imunológico. In: STITES, D. P.; TERR, A. I.; PARSLow, G. **Imunologia Médica** Editora Guanabara Koogan, 9^o edição, p.473-486; 2000.

BEER, A. E. Immunological aspects of normal pregnancy and recurrent spontaneous abortion. **Seminars in Reproductive Endocrinology**, v. 6, n. 2, p. 1163, 1988.

BEER, A. E.; BILLINGHAM, R. E. Immunobiology of mammalian reproduction; **In: Advances in Immunology**, New York, Academic Press, v. 14, n. 1, p. 84, 1971.

BEER, A. E.; BILLINGHAM, R. E. Host responses to intrauterine tissue, cellular and fetal allografts. **Journal Reproductive Fertility (Suppl.)**, v. 21, n. 59, 1974.

BEER, A. E.; BILLINGHAM, R. E. **The Immunobiology of Mammalian Reproduction**. Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, N. Journal, p. 76-96, 1976.

BEER, A. E.; BILLINGHAM, R. E.; HOEN, R. A. Elicitation and expression of transplantation immunity in the uterus. **Transplantation Proceedings**, v. 3, n. 1, p. 609-611, Mar. 1971.

BEER, A. E.; HEAD, J. R.; SMITH, W. G.; BILLINGHAM, R. E. Some immunoregulatory aspects of pregnancy in the rats. **Transplantation Proceedings**, v. 8, n. 2, p. 267-273, Jun., 1976.

BEER, A. E.; QUEBBEMAN, J. F.; AYER, J. W. T.; HAINES, R. F. Major histocompatibility antigens, maternal and paternal immune response, and chronic habitual abortions in humans. **American Journal of Obstetric Gynecology**, v. 141, p. 987, 1981.

BEER, A. E.; SCOTT, J. R.; BILLINGHAM, R. E. Histocompatibility and maternal immunological status as determinants of feto-placental weight and litter size in rodents. **Journal of Experimental Medical**, v. 142, n. 1, p. 180-196, Jul. 1975.

BELL, J. Chromosome crawling in the MHC. **Trends Genet.**, v. 5, n. 9, p. 289-290, Sep. 1989.

BERENDT, M. J.; NORTH, R. J. T-cell-mediated suppression of anti-tumor immunity. An explanation for progressive growth of an immunogenic tumor. **Journal Experimental Medical**, v. 151, n. 1, p. 69-80, Jan. 1980.

BERNARD, O. Possible protecting role of maternal immunoglobulins on embryonic development in mammals. **Immunogenetics**, v. 5, 1977.

BEUTLER, B.; BAZZONI, F. TNF, apoptosis and autoimmunity: a common thread? **Blood Cells Molecules and Diseases**, v. 24, n. 2, p. 216-230, Jun. 1998.

BILLINGHAM, R. E. Transplantation immunity and maternal fetal relation. **N. Eng. J. Med.**, v. 270, p. 667, 1964.

BILLINGTON, W. D. The immunobiology of trophoblast. In: SCOTT, J. S.; JOES, W. R., (Eds.), **Immunology of Human Reproduction**, New York Academic, p. 1976-1981, 1976.

BILLINGTON, W. D.; JENKINSON, E. J.; SEARLE, R. F.; SELLEN, M. H. Alloantigen expression during embryogenesis and placenta ontogeny in the mouse:

immunoperoxidase and mixed hemadsorption studies. **Transplantation Proceedings**, v. 9, n. 1371, 1977.

BONAPARTE, Y. P.; COLOMBO, L.; KLEIN, S.; OISGOLD-DAGA, S.; KAPLAN-IKONICOFF, L. Modifications of the grafts versus host responses (G.V.H.R.) in maternal lymphoid cells during allogeneic gestation evolution. **C. R. Acad. Sci. III**, Paris, v. 294, n. 12, p. 577-580, Mar. 1982.

BOUCRAUT, J.; GUILLAUDEUX, T.; ALIZADEH, M.; BORETTO, J.; CHIMINI, G.; MALECAZE, F.; SEMANA, G.; FAUCHET, R.; PONTAROTTI, P.; Le BOUTEILLER, P. HLA-E is the only class I gene that escapes CpG methylation and is transcriptionally active in the trophoblast-derived human cell line **J. Immunogenetics**, v. 38, n. 2, p. 117-130, 1993.

BOUMA, G. J.; VAN CAUBERGH, P.; VAN BREE, S. P.; CASTELLI-VISSER, R. M.; WITVLIET, M. D.; VAN DER MEER-PRIS, E. M.; ROOD, J. J.; CLAAS, F. H. Pregnancy can induce priming of cytotoxic T lymphocytes specific for paternal HLA antigens that is associated with antibody formation. **Transplantation**, v. 62, n. 5, p. 672-678, Sep. 1996.

BOYSE, E. A.; BEAUCHAMP, G. K.; YAMAZAKI, K.; BARD, J.; THOMAS, L. Chemosensory communication; A new aspect of the major histocompatibility complex and other genes in mouse. **Oncodevel. Biol. Med.**, v. 4, n. 1-2, p. 101-116, 1982.

BREYERE, E. J.; BARRETT, M. K. Prolonged survival of skin homografts in parous female mice. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 25, p. 1405, 1960.

BRITTON, S.; PERLMANN, H.; PERLMANN, P. Thymus dependent and thymus independent effector functions of mouse lymphoid cells. Comparison of cytotoxicity and primary antibody formation in vitro. **Cellular Immunology**, v. 8, n. 3, p. 420-434, Sep. 1973.

BROWN, N. L.; ALVI, S. A.; ELDER, M. G.; BENNET, P. R. e SULLIVAN, M. H. F. The regulation of prostaglandin output from term intact fetal membranes by anti-inflammatory cytokines. **Immunology**, v. 99, p. 124-133, 2000.

BULMER, J. N. Immune cells in decidua; In: KURPISZ, M.; FERNANDEZ, N. (Eds.). **Immunology of Human Reproduction**, Oxford, Bio scientific Publishers, p. 313, 1995.

BULMER, J. N.; SMITH, J.; MORRISON, L.; WELLS, M. Maternal and fetal cellular relationships in the human placental basal plate. **Placenta**, v. 9, n. 3, p. 237-246, May-Jun. 1988.

CAMPBELL, R.; TROWSDALE, J. Map of the human MHC. **Immunology Today**, v. 14, n. 7, p. 349-352, Jul. 1993.

CARLSON, G. A.; WEGMANN, T. G. Paternal-strain antigen excess in semiallogeneic pregnancy. **Transplantation Proceedings**, v. 10, n. 2, p. 403-407, Jun. 1978.

CAROSELLA, E. D. HLA-G: fetomaternal tolerance. **C. R. Acad. Sci. III**, v. 323, n. 8, p. 675-680, Aug. 2000.

CAROSELLA, E. D.; ROUAS-FREISS, N.; PAUL, P.; DAUSSET, JOURNAL HLA-G: a tolerance molecule from the major histocompatibility complex. **Immunology Today**, v. 20, n. 2, p. 60-62, Feb. 1999.

CAULFIELD, J. J.; SARGENT, I. L.; FERRY, B. L.; STARKEY, P. M.; REDMAN, C. W. Isolation and characterisation of a subpopulation of human chorionic cytotrophoblast using a monoclonal anti-trophoblast antibody (NDOG2) in flow cytometry. **Journal Reproductive Immunology**, v. 21, n. 1, p. 71-85, Jan. 1982.

CHANDLER, P.; BENJAMIN, D.; SIMPSON, E. Tolerance to H-Y antigen, Abstract 04.08.05 in Book of abstracts, **4th International Congress of Immunology**; Paris 1980.

CHAOUAT, G. Regulation of cellular immune response from the mother to the paternal antigens of the conceptus. In: GLEICHER, N, LISS, A. R. (eds.) **Reproductive Immunology, Progress in Clinical and Biological Research**, v. 70, New York, p. 137-144, 1981.

CHAOUAT, G. (Eds.). **Reproductive Immunology: Materno-Fetal Relationship**. Colloque Inserm, v. 154, Editions INSERM, Paris; 1987.

CHAOUAT, G.; ASSAL-MELIANI, A.; MARTAL, J; RAGHUPATHY, R.; ELLIOT, J. MOSMANN, T.; WEGMANN, T. G. IL-10 prevents naturally occurring fetal loss in the CBAxDBA/2 mating combinations, and local defect of IFN- γ . **Journal of Immunology**, v. 154, p. 4261-4268, 1995.

CHAOUAT, G.; CAYOL, V.; MAIROWITZ, V.; DUBANCHET, S. Localisation of the Th2 cytokines IL-3, IL-4, IL-10 at the foeto maternal interface during human and murine pregnancy and lack of requirement for Fas/Fas1 interaction for a succesful allogeneic pregnancy. In: Gupta, S. K. (Eds.), **Reproductive Immunology**. Narosa Publishing House, New Delhi, p. 61-71, 1999.

CHAOUAT, G.; CHAFFAUX, S. Cellular immunity during allopregnancy. **Journal of Reproductive Immunology**; v. 1, p. 24; 1981.

CHAOUAT, G.; CHAFFAUX, S.; MONNOT, P.; HOFFMAN, M. Regulation of maternal cellular immunity to the conceptus. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 1, p. 18, 1980.

CHAOUAT, G.; CHAFFAUX, S.; VOISIN, G. A. Immunoactive products of the placenta: I) Immunosuppressive properties of crude and water soluble extracts. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 2, p. 121, 1980.

CHAOUAT, G.; KIGER, N.; WEGMANN, T. G. Vaccinations against spontaneous abortions in mice. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 5, n. 6, p. 389-392, Nov. 1983.

CHAOUAT, G.; KINSKY, R. K.; ROBERT, P.; DUC, H. T. The possibility of anti idiotypic activity in pregnant mice. **Ann. Immunol. (Inst. Pasteur)**, v. 130C, p. 601, 1979.

CHAOUAT, G.; KOLB, J. P. Modification du systeme immunitaire et produit de conception: approches in vivo in vitro. Abstract. **Joint meeting of the French society of immunology. Swiss Society of Immunology**, and the Belgian Society of Immunology, Strasbourg, p. 25-26, March 1982a.

CHAOUAT, G.; KOLB, J. P. Immuno suppressive effect of placenta at the effector stage of cell mediated immunity. **1st European Congress of Cellular Biology**, Book of Abstracts, July, 1982b.

CHAOUAT, G.; KOLB, J. P.; KIGER, N.; STANISLAWSKI, M.; WEGMANN, T. G. Immunological consequences of vaccination against abortion in mice. **Journal of Immunology**, v. 134, 1594, 1985.

CHAOUAT, G.; KOLB, J. P.; WEGMANN, T. G. The murine placenta as an immunological barrier between the mother and fetus. **Immunology Reviews**, v. 75, p. 31-60, 1983.

CHAOUAT, G.; MATHIESON, B. J.; ASOFSKY, R. Regulatory mechanisms in the mixed lymphocyte reaction: evidence for the requirement of two T cells to interact in the generation of effective suppression. **The Journal of Immunology**, v. 129, n. 2, p. 502-508, Aug. 1982.

CHAOUAT, G.; MENU, E.; CLARK, D. A.; DY, M.; MINKOWSKI, M. WEGMANN, T. G. Control of fetal survival in CBaxDBA/2 mice by lymphokine therapy. **J. Reprod. Fert.**, v. 89, n. 2, p.447-458, Jul. 1990.

CHAOUAT, G.; MONNOT, P.; HOFFNAN, M.; VOISIN, G. A. Regulatory T cells in pregnancy. IV) Evidence for T cell suppression of CTL generation. **Cellular Immunology**, v. 2, p. 322, 1982.

CHAOUAT, G.; TRANCHOT-DIALLO, J.; VOLUMÉNIÉ, J. L.; MENU, E.; GRAS, G. DELAGE, G.; MOGNETTI, B. Immune suppression and Th1/Th2 balance in pregnancy revisited: a (very) persona tribute to Tom Wegmann. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 37, p. 427-434, 1998.

CHAOUAT, G.; ZOURBAS, S.; OSTOJIC, S.; LAPPRE-DELAGE, G.; DUBANCHET, S.; LEDEE, N.; MARTAL, J. A brief review of recent data on some cytokines expression at the materno-foetal interface which might challenge the classical Th1/Th2 dichotomy. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 53, p. 241-256, 2002.

CHAOUAT, G.; VOISIN, G. A. Regulatory T cells subpopulations in pregnancy I) Evidence for suppressive activity of the early phase of MLR. **Journal of Immunology**, v. 122, n. 4, p. 1383-1388, Apr. 1979.

CHAOUAT, G.; VOISIN, G. A.; DAERON, M.; KANELLOPOULOS, J. Enhancing antibodies and suppressive cells in maternal anti-fetal immune reaction. **Ann. Immunol.**, Paris, v. 128, n. 1-2, p. 21-24, Jan-Mar. 1977.

CHAOUAT, G.; ZOURBAS, S., OSTOJIC, S., LAPPRÉE-DELAGE, G., LEDÉE, N., CAYOL, V., MAIROVITZ, V., DUBANCHET, S., MARTAL J. Tolérance materno ftale. In: MARTAL, J. (Ed.), **Embryon 2000. Biologie, Biotechnologies, Médecine et Bioéthique**. INRA, Paris,2000.

CHEN, H. L.; YANG, Y.; HU, X. L.; YELAVARTHI, K. K.; FISHBACK, J. L.; HUNT, J. S. Tumor Necrosis Factor Alpha mRNA and protein are present in human placental and uterine cells at early and late stages of gestation. **American Journal of Pathology**, v. 139, n. 2, p. 327-335, Aug.; 1991.

CHRISTIANSEN, O. B.; MATHIESEN, O.; HUSTH, M.; LAURITSEN, J. G.; JERSIL, C.; GRUNNET, N. Prognostic significance of maternal DR histocompatibility type in Danish women with recurrent miscarriages. **Human Reproductive**, v .8, n. 11, p. 1843-1847, Nov. 1993.

CHRISTIANSEN, O. B.; RASMUSSEN, K. L.; JERSIL, C.; GRUNNET, N. HLA class II aleles confer susceptibility to recurrent fetal losses in danish women. **Tissue Antigens**, v. 44, p. 225-233, 1994.

CLAMAN, H. N.; MILLER, S. D.; SU SY MAN; MOORHEAD, J. W. Suppressor mechanism involving sensitization and tolerance in contact allergy. **Immunology Reviews**, v. 50, p. 105, 1980.

CLARK, D. A.; CHAOUAT, G. What do we know about spontaneous abortion mechanisms? **American Journal Reproductive Immunology**, v. 19, n. 1, p. 28-37, Jan. 1989.

CLARK, D. A.; CROY, B. A. (Eds.). **Reproductive Immunology**, Elsevier, Amsterdam, 1986.

CLARK, D. A.; McDERMOTT, M. R. Impairment of host vs graft reactions in pregnant mice. I. Suppression of cytotoxic T cell generation in lymph nodes draining the uterus. **Journal of Immunology**, v. 121, n. 4, p. 1389-1393, Oct. 1978.

CLARK, D. A.; McDERMOTT, M. R.; SZEWCZUK, M. R. Impairment of host-versus-graft reaction in pregnant mice. II) Selective suppression of cytotoxic T-cell generation correlates with soluble suppressor activity and with successful allogeneic pregnancy. **Cellular Immunology**, v. 52, n. 1, p. 106-118, Jun. 1980.

CLARK, D. A.; SLAPSYS, R. M.; CROY, B. A.; ROSSANT, J.; McDERMOTT, M. R. Regulation of cytotoxic T cells in pregnant mice. In: WEGMMAN, T. G.; GILL, T. G. (Eds.). **Immunology of Reproduction**, London, Oxford University Press, 1997.

CLARKE, A. G. The effect of maternal preimmunisation on pregnancy in the mouse. **Journal of Reproductive Fertility**, v. 24, n. 3, p. 369-375, Mar. 1971.

CLARKE, A. G. Pregnancy-induced involution of the thymus can be prevented by immunizing with paternal skin grafts: a strain-dependent effect. **Clinical Experimental Immunology**, v. 35, n. 3, p. 421-424, Mar. 1979.

CLARKE, A. G. The behaviour of the thymus during pregnancy. **Brit. Soc. Immun.**, Summer meeting, July, 1982.

CLARKE, B.; KIRBY, D. R. S. Maintenance of histocompatibility polymorphism. **Nature**. London, v. 211, 999, 1966.

CLEMENS, L. E.; SIITERI, P. K.; STITES, D. P. Mechanisms of immunosuppression of progesterone on maternal lymphocytes activation during pregnancy. **Journal of Immunology**, v. 122, n. 5, p. 1978-1985, May. 1979.

CLOT, J.; SANY, J.; COSSO, B.; ANDARY, M.; COMBE, B.; BONNEAU, M. Traitement de la polyarthrite rhumatoïde par des IgG eluées du placenta. **Société Française d'Immunologie**, December, 1982.

COLLINS, G. D.; CHREST, F. J.; ADLER, W. H. Maternal cell traffic in allogeneic embryos. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 2, p. 163, 1981.

COULAM, C. B. Unexplained recurrent pregnancy loss: Epilogue. **Clinical Obstet. Gynecol.**, v. 29, n. 4, p. 999-1004, Sep. 1986.

COULAM, C. B.; STERN, J. J. Endocrine factors associated with recurrent spontaneous abortion. **Clinical Obstet. Gynecol.**, v. 37, n. 3, p. 730-744, Sep. 1994.

CHRISTIANSEN, O. B.; MATHIESEN, O.; HUSTH, M.; LAURITSEN, J. G.; JERSIL, C.; GRUNNET, N. Prognostic significance of maternal DR histocompatibility type in danish women with recurrent miscarriages. **Human Reproductive**, v. 8, n. 11, p.1843-1847, 1993.

CROUAU-ROY, B.; AMADOU, C.; BOUISSOU, C.; CLAYTON, J.; VERENET, C.; RIBOUCHON, M. T.; PONTAROTTI, P. Localization of the OTF3 Gene within the human MHC class I region by physical and meiotic mapping. **Genomics**, v. 21, n. 1, p. 241-243, May. 1994.

CROY, A.; ROSSANT, J.; CLARK, D. A. Is there maternal immune rejection of the fetus in failed murine interspecies pregnancy. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 1, p. 32, 1981.

CROY, B. A.; ROSSANT, J.; CLARK, D. A. Histological and immunological studies of post implantation death of *Mus caroli* embryos in the *Mus musculus* uterus. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 4, n. 5, p. 277-293, Sep. 1982.

CROY, A.; ROSSANT, J.; CLARK, D. A.; WEGMMAN, T. G. Non specific suppression of *in vitro* generation of cytotoxic lymphocytes by allogeneic and xenogeneic embryonic tissues. **Transplantation**, v. 36, n. 6, p. 626-629, Jun. 1983.

CROY, B. A., GUIMOND, M. J.; LUROSS, J.; HAHNEL, A.; WANG, B.; van der HEUVEL, M. Uterine Natural Killer cells do not require interleukin-2 for their differentiation or maturation. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 37, n. 6, p.463-470, Jun. 1997.

CURRIE, G. Immunology of pregnancy: The foeto-materna barrier. **Proc. R. Soc. Med.**, v. 61, n. 11-2, p. 1206-1212, Nov. 1968.

CURRIE, G. A.; BAGSHAWE, K. D. The masking of antigens on trophoblast and cancer cells. **Lancet**, v. 1, n. 74920, p. 708-710 Apr. 1967.

CURRIE, G.; DOORNINCK, W. V.; BAGSHAWE, K. Effect of neurominidase on the immunogenicity of early mouse trophoblast. *Nature*, v. 219, 191, 1968.

DAHL, C. A.; KAHAN, B. W.; AUERBACH, B. W. Studies with mouse embryonic yolk sac cells: an approach to understanding the pattern of ontogeny of cell mediated immune functions. In: HORTON, J. D. (Eds.) **Development and Differentiation of Vertebrate Lymphocytes. 3**. Elsevier North Holland, Biomedical Press, 1980.

DARMOCHWAL-KOLARZ, D.; LESZCZYNSKA-GORZELAK, B.; ROLINSKI, J.; OLESZCZUK, J. T helper 1- and T helper 2-type cytokine imbalance in pregnant women with pre-eclampsia. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, v. 86 (2), p. 165-170, Oct.; 1999.

DEGENNE, D., KHALFOUN, B., BARDOS, P. In vitro inhibitory effect of human syncytiotrophoblast plasma membranes on the cytolytic activities of CTL and NK cells. **American Journal of Reproductive Immunology Microbiol.**, v. 12, n. 4, p. 106-110, Dec. 1986.

DEGENNE, D., THIBAUT, G., GUILLAUMIN, J. M.; LACORD, M.; BARDOS, P. Syncytiotrophoblast plasma membrane inhibits membrane expression of activation markers on PHA-stimulated human lymphocytes. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 20, n. 2, p. 183-187, Jul. 1991.

DENEYS, V.; DeBRUYERE, M. Immunological tolerance of the fetal allograft: efficacy of immunotherapy and IL-4 and TNF- α serum levels in recurrent abortion. **Transplantation Proceedings**, v. 29, p. 2467-2469, 1997.

DORLING, A.; MONK, N. J.; LECHLER, R. I. HLA-G inhibits the transendothelial migration of human NK cells. **European Journal of Immunology**, v. 30, n. 2, p. 586-593, 2000.

DUCHET SUCHAUX, M.; CHAOUAT, G.; CHAFFAUX, S. Effet d'extraits de placenta de souris chez des souris CBA (H-2). **4th International Congress of Reproductive Immunology VARNA-19-22 Sept.**, K. Bratanov (Ed.) Bulgarian Acad. Pres., 1979.

EDIDIN, M. Histocompatibility genes, transplantation and genes, and pregnancy. In: KAHAN, B. D.; REISFELD, R. A. **Transplantation Individuality**, Academic Press, New York, p. 75, 1972.

EDWARDS, R. G.; HOWE, C. W. S.; JOHNSON, M. H. (Eds.) **Immunobiology of Trophoblast**, Cambridge University Press, London, p. 1, 1975.

EROGLU, G.; BETZ, G.; TORREGANO, C. Impact of histocompatibility antigens on pregnancy outcome. **American Journal of Obstetric Gynecology**, v. 166, n. 5, p. 1364-1369, May. 1992.

FABRIS, N.; PIANTANELLI, L.; MUZZIOLI, M. Differential effects of pregnancy or gestagens on humoral or cell mediated immunity. **Clinical Experimental in Immunology**, v. 28, n. 2, p. 306-314, May. 1977.

FAULK, W. P.; HSI, B. L.; MCINTYRE, J. A.; YEH, C. J. G.; MUCCHIELLI, A. Antigens of the human extra-embryonic membranes. **Journal of Reproductive Fertility Suppl.**, v. 31, p. 181-189, 1982.

FERRY, B. L.; STARKEY, P. M.; SARGENT, I. L.; WATT, G. M.; JACKSON, M.; REDMAN, C. W. Cell populations in the human early pregnancy decidua: Natural Killer activity and response to interleukin-2 of CD56-positive large granular lymphocytes. **Immunology**, v. 70, n. 4, p. 446-452, Aug. 1990.

FINCAM, J. R. S.; DAY, P. R. **Fungal genetics**, Davis, Philadelphia, 2nd ed., p. 207-234, 1965.

FRIED, M.; MUGA, R. O.; MISORE, A. O.; DUFFY, P. E. Malaria elicits type 1 cytokines in the human placenta: IFN- γ and TNF- α associated with pregnancy outcomes. **Journal of Immunology**, v. 160, n. 5, p. 2523-2530, Mar. 1998.

FUJII, T.; HAMAI, Y.; KOZUMA, S.; MIKI, A.; YAMASHITA, T.; HYODO, H.; UNNO, N.; TAKETANI, Y. Effects of Sarei-to and Tokishakuyaku-san on cytokine release from peripheral blood mononuclear cell upon recognition of HLA-G protein in the treatment of recurrent abortion. **Methods Find Experimental Clinical Pharmacology**, v. 21, n. 4, p. 261, May. 1999.

GALBRAITH, R. M.; WERNER, P.; KANTOR, R. R.; GALBRAITH, G. M. Studies of the interection between human transferrin and specific receptors on the trophoblast membrane. **Placenta Suppl.**, v. 3, p. 49-59 1981.

GARCIA-LLORET, M. I.; MORRISH, D. W.; WEGMANN, T. G.; HONORE, L.; TURNER, A. R.; GUILBERT, L. J. Demonstration of functional cytokine-placental interactions: CSF-1 and GM-CSF stimulate human cytotrophoblast differentiation and peptide hormone secretion. **Experimental Cell Research**, v. 214, n. 1, p. 46-54,

Sep. 1994.

GEISELHART, A., DIETL, J.; MARZUSCH, K.; RUCK, P.; RUCK, M.; HORNY, H. P.; KAISERLING, E.; HANDGRETINGER, R. Comparative analysis of the immunophenotypes of decidual and peripheral blood large granular lymphocytes and T cells during early human pregnancy. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 33, n. 4, p. 315-322, Apr. 1995.

GENDRON, R. L.; BAINES, M. Immunohistological analyses of decidual natural killer cells during spontaneous abortions in mice. **Cellular Immunology**, v. 113, p. 261-267, 1988.

GERSHON, R. K.; KONDO, K. Cell interactions in the induction of tolerance. The role of thymus-derived lymphocytes. **Immunology**, v. 18, n. 5, p. 723-737, May. 1970.

GILL, T. J. III Immunogenetic aspects of the maternal-fetal interaction; In: WEGMANN, T. G.; GILL, T. J. **Immunology of Reproduction**, Oxford University Press, New York, p. 54, 1983a.

GILL, T. J. III Immunogenetics of spontaneous abortions in humans. **Transplantation**, v. 35, n. 1, p. 1-6, Jan. 1983b.

GILL, T. J. III Reproductive immunology and immunogenetics. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. (Eds.) **The Physiology of Reproduction**; 2nd.edition, Raven Press Ltd., New York, 1994.

GILL, T. J. III; HO, N. H.; HSIEH, Y. C.; YANG, S.Y.; LEE, Y. T. The prevalence of recurrent spontaneous abortions, cancer, and congenital anomalies in the families of couples with recurrent spontaneous abortions or gestacional trophoblastic tumors. **American Journal of Obstetric Gynecology**, v. 165, n. 2, p. 461-466, 1991.

GILL, T. G.; REPETTI, C. F. Immunologic and genetic factors influencing reproduction. **American Journal of Pathology**, v. 95, p. 465, 1979.

GILL, T. J. III; WEGMANN, T. G. (Eds.) **Immunoregulation and Fetal Survival**, Oxford University Press, London, 1987.

GLOBERSON, A.; BAUMINGER, S.; ABEL, L.; PELEY, S. Decidual extracts suppress antibody responses in vitro. **European Journal of Immunology**, v. 7, n. 2, p. 120-122, Feb. 1977.

GLOBERSON, A.; ZINKERNAGEL, R.; UMIEL, T. Immunosuppression by embryonic liver cells, **Transplantation**, v. 20, 480, 1975

GÖETZE, D. **The Major Histocompatibility System in man and animals**. Springer-Verlag, New York, 1977.

GOLANDER, A.; ZAKATH, V.; SCHECHTER, Y.; SPIRER, Z. Suppression of lymphocyte reactivity in vitro by soluble factor secreted by explants of human deciduas. **European Journal of Immunology**, v. 11, n. 10, p. 849-851, Oct. 1981.

GONIK, B.; LOO, L. S.; WEST, S.; KOHL, S. Natural Killer cell cytotoxicity and antibody-dependent cellular cytotoxicity to herpes simplex virus-infected cells in human pregnancy. **American Journal of Reproductive Immunology Microbiol.**, v. 13, n. 23, p. 23-26, Jan. 1987.

GOODFELLOW, P. N.; BARNSTABLE, C. J.; BODMER, W. F.; SNARY, D.; CROMPTON, M. J. Expression of HLA system antigens on placenta. **Transplantation**, v. 22, n. 6, p. 595-603, Dec. 1976.

GOODLIN, R. C.; HERZENBERG, L. A. Pregnancy induced hemagglutinins to paternal H-2 antigens in multiparous mice. **Transplantation**, v. 2, p. 357, 1964.

GOTTESMAN, S. R.; STUTMAN, O. Cellular immunity during pregnancy. I. Proliferative and cytotoxic reactivity in paraaortic lymph nodes. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 1, n. 1, p. 10-17, 1980.

GREEN, D. R.; WEGMANN, T. G. In: CINADER, B.; MILLER R.G. (Eds.) **Progress in Immunology VI**, New York, Academic Press, p.1100-1112, 1986.

GUDSON, J. P. Maternal immune responses. In: SCOTT, J. S.; JONES, W. R. **Pregnancy, Immunology of Human Reproduction**, Edited by Academic Press, London, p. 103-125, 1976.

GUIMOND, M. J.; LUROSS, J. A.; WANG, B.; TERHORST, C.; DANIAL, S.; CROY, B. A. Absence of Natural Killer cells during murine pregnancy is associated with reproductive compromise in TgE26 mice. **Biol. Reproductive**, v. 56, n. 1, p. 169-175, 1997.

HAMILTON, M. S.; HELLSTROM, I. Altered immune responses in pregnant mice. **Transplantation**, v. 23, n. 5, p. 423-430, May. 1977.

HAYNES, M. K., FLANAGAN, M. T.; PERUSSIA, B.; et al. Isolation of decidual lymphocytes from chorionic villus samples: phenotypic analysis and growth in vitro. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 33, p. 190, 1995.

HELLSTRÖM, K. E; HELLSTRÖM, I.; BRAUN, J. Abrogation of cellular immunity to antigenically foreign mouse embryonic cells by a serum factor. **Nature**, v. 224, p. 914, 1969.

HIDAKA, Y.; AMINO, N.; IWATANI, Y.; et al. Changes in Natural Killer cell activity in normal pregnant and postpartum women: increases in the first trimester and postpartum period and decrease in late pregnancy. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 20, p. 73, 1991.

HILGERT, I. The involvement of activated suppressor cells in the maintenance of transplantation tolerance. **Immunology Reviews**, v. 46, p. 27-53, 1979.

HILL, J. A. Implications of cytokines in male and female sterility. In: CHAOUAT, G. A.; MOWBRAY, J. F. (Eds.) **Cellular and Molecular Biology of the Maternal-fetal Relationship**, Paris, INSERM/John Libbey Eurotext, p. 269-275, 1991.

HILL, J. A. T helper 1 immunity to trophoblast: evidence for a new immunological mechanism for recurrent abortion in women. **Human Reproductive**, v. 10, p. 114-120, 1995.

HILL, J. A.; CHOI, B.C. Maternal immunological aspects of pregnancy success and failure. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 55, p. 91-97, 2000.

HIRANO, T.; NORDIN, A. A.; Cell-mediated immune response *in vitro*. II. The mechanism(s) involved in the suppression of the development of cytotoxic lymphocytes. **Journal of Immunology**, v. 117, n. 6, p. 2226-2232 1976.

HO, H. N.; YANG, Y. S.; HSIEH, R. P.; LIN, H. R.; CHEN, S.U.; CHEN, H.F.; HUANG, S. C.; LEE, T.Y.; GILL, T. J. III Sharing of human leukocyte antigens in couples with unexplained infertility affects the success of in vitro fertilization and tubal embryo transfer. **American Journal of Obstetric Gynecology**, v. 170, n. 1, p. 63-71, 1994.

HOGER, T. A., TOKUYAMA, M., YONAMINE, K.; HAYASHI, K.; MASUKO-HONGO, K.; KATO, T.; KOBATA, T.; MIZUSHIMA, Y.; NISHIKA, K.; YAMAMOTO, K. Time course analysis of alpha+beta+T cell clones during normal pregnancy. **European of Journal Immunology**, v. 26, n. 4, p. 834-838, Apr. 1996.

HUNT, J. A.; PETROFF, M. G.; MORALES, P.; SEDLMAYR, P.; GERAGHTY, D. E.; OBER, C. HLA-G in Reproduction: studies on the maternal-fetal interface. **Human Immunology**, New York, v. 61, p. 1113- 1117, 2000.

HUNT, J.; ORR, H.T. HLA and maternal fetal recognition. **The FASEB Journal**, v. 6, n. 6, p. 2344-2348, Mar. 1992.

HUNT, J. S.; ROBERTSON, S. A. Uterine macrophages and environmental programming for pregnancy success. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 32, n. 1, p. 1-25, Nov. 1996.

HUNZIKER, R. D.; GAMBEL, P.; WEGMANN, T. G. Placenta as a Selective Barrier to Cellular Traffic. **Journal of Immunology**, v. 133, n. 2, p. 667-671, Aug. 1984.

ITO, K.; OBATA, F.; TANAKA, T.; TSUTSUMI, N.; KASHIWAGI, N. Analysis of HLA-DR of unexplained recurrent spontaneous aborters in the japonese population by oligonucleotide-DNA typing. **Tissue Antigens**, v. 40, n. 4, p. 204-209, Oct. 1992.

JACOB, C. O.; AISO, S.; MICHIE, S. A., McDEVITT, H. O.; ACHA-ORBEA, H. Prevention of diabetes in nonobese diabetic mice by tumor necrosis factor (TNF):

similarities between TNF-alpha and interleukin 1. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 87, n. 3, p. 968-972, Feb. 1990.

JOHNSON, P. M.; DENIZ, G.; McLAUGHLIN, P. J.; et al. Functional properties of cloned CD3-decidual leucocytes and low-affinity cytokine receptor expression on human trophoblast. **In Reproductive Immunology**, New York, Raven Press, p.141, 1993.

JOHNSON, P. M.; STERN, P. L. Antigen expression at human materno-fetal interfaces. **Prog. Immunology**, v. 6, p.1056-1069, 1986.

JOKHI, P. P.; KING, A.; LOKE, Y. W. Production of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by human trophoblast cells and by decidual large granular lymphocytes. **Human Reproductive**, v. 9, n. 9, p. 1660-1669, Sep. 1994.

KABAWAT, S. E.; MOSTOUFI-ZADEH, M.; DRISCOLL, S. G.; BHAN, A. K. Implantation site in normal pregnancy. A study with monoclonal antibodies. **American of Journal Pathology**. v. 118, n. 1, p. 76-84, Jan. 1985.

KALISS, N.; DAGG, M. D. Immune response engendered in mice by multiparity; **Transplantation**, v. 2, p. 416, 1964.

KASAKURA, S. A factor in maternal plasma during pregnancy that suppress the reactivity of mixed leukocyte cultures. **Journal of Immunology**, v. 107, p. 1296, 1971.

KATANO, K.; OGASAWARA, M.; AOYAMA, T.; OZAKI, Y.; KAJIURA, S.; AOKI, K. Clinical trial of immunostimulation with a biological response modifier in unexplained recurrent spontaneous abortion patients. **Journal of Clinical Immunology**, v. 17, n. 6, p. 472-477, Nov. 1997.

KEARNS, M.; LALA, P. K. Bone marrow origin of decidual cells in the pseudopregnant mouse uterus. **Journal of Experimental Medical**, v. 155, n. 5, p. 1537-1554, May. 1982.

KIGER, N.; CHAOUAT, G.; KOLB, J. P.; WEGMANN, T. G.; GUENET, J. L. Immunogenetic studies of spontaneous abortion in mice. I. Preimmunization of females with allogeneic cells. **Journal of Immunology**, v. 134, n. 5, p. 2966-2970, May. 1984.

KILPATRICK, D. C.; LISTON, W. A. Influence of histocompatibility antigens in recurrent spontaneous abortion and its relevance to leukocyte immunotherapy. **Human Reproductive**, v. 8, n. 10, p. 1645-9, Oct. 1993.

KILSHAW, P. J.; BRENT, L.; PINTO, M. Suppressor T cells in mice made unresponsive to skin allografts. **Nature**, v. 255, n. 5508, p. 489-91, 1975.

KING, A., BURROWS, T., LOKE, Y. W. Human uterine Natural Killer cells. **Nature Immunology**, v. 15, n. 1, p. 41-52, 1996.

KINSKY, R.; DELAGE, G.; ROSIN, N.; THANG, M. N.; HOFFMANN N.; CHAOUAT G. A murine model of NK mediated fetal resorbtion. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 23, n. 3, p. 73-77, 1990.

KIRBY, D. R. S. Transplantation and pregnancy. In: RAPPAPORT, F. T.; DAUSSET, J. (Eds.) **Human Transplantation**, New York, London, 1968.

KIRKWOOD, K. J.; BELL, S. C. Inhibitory activity of supernatant from murine decidual cells on the mixed lymphocyte reaction. **Journal Reproductive of Immunology**, v. 3, n. 4, p. 243-252, Sep, 1981.

KIRSZENBAUM, M.; DJOULAH, S.; HORS, J.; Le GALL, I.; OLIVEIRA, E. B.; PROST, S.; DAUSSET, J.; CAROSESELLA, E. D. HLA-G gene polymorphism segregation within CEPH reference families. **Human Immunology**, v. 53, n. 2, p. 140-147, Apr. 1997.

KOUTTAB, N. M.; FOWLER, A. K.; STRICHLAND, J. E.; HELLMAN, A. Suppression of in vitro lymphocyte stimulation by uterine and placental extracts. **Journal of Immunology**, v. 117, n. 5-1, p. 1644-1650, Nov. 1976.

KOVATS, S.; MAIN, E. K.; LIBRACH, C.; STUBBLEBINE, M.; FISHER, S. J.; DeMARS, R. A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblast. **Science**, v. 248, n. 4952, p. 220-223, Apr. 1990.

KRUSE, N.; GREIF, M.; MORIABADI, N. F.; MARX, L.; TOYKA, K. V.; RIECKMANN, P. Variations in cytokine mRNA expression during normal human pregnancy. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 119, n. 2, p. 317-322, Feb. 2000.

KWAN-KIM, J. Y.; KWAN-KIM, F. M.; AINBINDER, S. W.; RUIZ, A. M.; BEER, A. E. Elevated peripheral blood Natural Killer cells are effectively downregulated by immunoglobulin G infusion in women with recurrent spontaneous abortions. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 35, n. 5, p. 363-369, Apr. 1996.

LACHAPELLE, M. H.; MIRON, P.; HEMMING, R.; ROY, D. C. Endometrial T, B and NK cells in patients with recurrent spontaneous abortion. Altered profile and pregnancy outcome. **Journal of Immunology**, v. 156, n. 10, p. 4027-4034, May. 1996.

LAMM, L. U.; OLAISEN, B. Report of the committee on the genetic constitution of chromosome 5 and 6. **Cytogenet. Cellular Genet.**, v. 40, p. 128, 1985.

LANMAN, J. T.; DINENSTEIN, J.; FIKRING, S. Homograft immunity in pregnancy. Lack of harm to fetus from sensitization of the mother. **Ann. N. Y. Acad. Sc.**, v. 99, p. 706, 1962.

LANMAN, J. T.; HEROD, L. Homograft immunity in pregnancy: The placental transfer of cytotoxic antibody in rabbits. **Journal Experimental Medical**, v. 122, n. 3, p. 579-586, Sep. 1965.

LE BOUTEILLER, P.; SOLIER, C.; PROLL, J.; AGUERRE-GIRR, M.; FOURNEL, S.; LENFANT, F. Placental HLA-G protein expression in vivo: where and what for? **Human Reproductive Update**, v. 5, n. 3, p. 223-233, May. 1999.

Le HOANPHUC, PAPIENNICK, M.; BERRIH, S.; DUVAL, P. Thymic involution in pregnancy. I) Characterization of the remaining thymocyte subpopulation. **Clinical Experimental Immunology**, v. 44, n. 2, p. 247-252, May. 1981.

LEA, R. G.; CLARK, D. A. Effects of decidual cell supernatants and lymphokines on murine trophoblast growth in vitro. **Biol. Reproductive**, v. 48, n. 4, p. 930-935, Apr. 1993

LEIBER, S.; BATISTA, S.; PESEROLI, L. B. L.; BARINI, R. Fenotipagem HLA em casais com história de aborto recorrente. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 20, p. 241, 1997.

LIN, H.; MOSMANN, T. R.; GUILBERT, L.; TUNTIPOTAT, S.; WEGMANN, T. G. Synthesis of T helper 2-type cytokines at maternal-fetal interface. **Journal of Immunology**, v. 151, n. 9, p. 4562-4573, 1993.

LOKE, Y. W. **Immunology and Immunopathology of the Human Foetal-Maternal Interaction**. Elsevier/North Holland Biomedical Press, New York, p. 71-117, 1978.

LOKE, Y. W.; KING, A. **Human Implantation; Cell Biology and Immunology**. Cambridge University Press, Cambridge, 1995.

MAC MASTER, M. T.; NEWTON, R. C.; SUDHANSKI, K. D. E. Y.; ANDREWS, G. K. Activation and distribution of inflammatory cells in the mouse uterus during the preimplantation period. **Journal of Immunology**, v. 148, p. 1699-1705, 1992.

MARONI, E. S.; PARROTT, D. M. Progressive increase of immunity against paternal transplantation antigens after multiple pregnancies. **Clinical Experimental in Immunology**, v. 13, n. 2, p. 253-262, Feb. 1973.

MARONI, E. S.; SOUSA, M. A. B. The lymphoid organs during pregnancy in the mouse. A comparison between a syngeneic and an allogeneic mating. **Clinical Experimental in Immunology**, v. 13, n. 1, p. 107-124, Jan. 1973.

McINTYRE, J. A. Immune recognition at the maternal-fetal interface. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 28, n. 34, p. 127-131, Oct. 1992.

McMASTER, M. T.; LIBRACH, C. L.; ZHOU, Y.; LIM, K. H.; DeMARS, R.; KOVATS, S.; DAMSKY, C.; FISHER, S. J. Human placental HLA-G expression is restricted to differentiated cytotrophoblasts. **Journal of Immunology**, v. 154, n. 8, p. 3771-3778, Apr. 1995.

MEDAWAR, P. B. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. **Symp. Soc. Exp. Biol.**, v. 7, p. 320-338, 1953.

MILGROM, F.; COMINI-ANDRADA, E.; CHAUDHRY, A. P. Fetal and neonatal fatality in rat hybrids from mothers stimulated with paternal skin. **Transplantation Proceedings**, v. 9, n. 2, p. 1409-1415, Jun. 1977.

MIYAGAWA, Y.; KOMIYAMA, A.; AKABANE, T.; UEHARA, Y.; YANO, A.; Cord IgM antibody specific for human killer T cells: T lymphocytotoxic human fetal antibody (TLFA) recognizing maternal killer T cells proliferating in the presence of interleukin 2. **Journal of Immunology**, v. 129, n. 5, p. 1993-1996, Nov. 1982.

MOGIL, R. J.; WEGMANN, T. G. Immunoregulatory effects of lymphokine-driven placental cells on cloned T cells in vitro. **Reg. Immunology**, v. 1, n. 1, p. 69-77, Jul.-Aug. 1988

MOHAPELOA, H.; CHRISTIANSEN, O. B.; GRUNNET, N. HLA-DR typing of women with recurrent late spontaneous abortion and unsuccessful cervical cerclage. **Human Reproduction**, v. 13, n. 4, p. 1079-1082, Apr. 1998.

MOSIER, D. E.; JOHNSON, B. M. Ontogeny of mouse lymphocyte function. II. Development of the ability to produce antibody is modulate by T lymphocytes. **Journal of Experimental Medical**, v. 141, n. 1, p. 216-226, Jan. 1975.

NADLER, L. M.; HODES, R. J.; Regulatory mechanisms in cell-mediated immune responses. I. Regulation of mixed lymphocyte reactions by alloantigen-activated thymus-derived lymphocytes. **Journal of Immunology**, v. 118, n. 5, p. 1886-1895, May. 1977.

NICKLIN, S.; BILLINGTON, W. D. Impairment of graft versus host eactivity by pregnant mice. **Clinical Experimental in Immunology**, v. 49, n. 1, p. 135-141, Jul. 1982.

NISTA, A.; SEZZI, M. L.; BELLELLI, L. Pregnancy rejection induced by neuraminidase-treated placental cells. **Oncology**, v. 28, n. 5, p. 402-410, 1973.

NYMAND, G.; HERON, I.; JENSEN, K. G.; LUNDSGAARD, A. Cytotoxic antibodies in serum of pregnant women at delivery. **Acta Pathol. Microbiol. Scand. (B) Microbiol. Immunology**, v. 79, n. 4, p. 595-598, 1971.

O'HEARN, M.; HILGARD, H. R. Pregnancy induced alterations in graft versus host responsiveness of uterine and peripheral lymph nodes towards fetal alloantigens. **Transplantation**, v. 32, p. 389, 1981.

OBBER, C. HLA and pregnancy: The paradox of the fetal allograft. **American Journal of Human Genetics**, v. 62, n. 1, p. 1-5, Jan. 1998.

OBBER, C.; ROSINSKY, B.; GRIMSLEY, C.; VAN DER VEN, K.; ROBERTSON, A.; RUNGE, A. Population genetic studies of HLA-G allele frequencies and linkage

disequilibrium with HLA-A1. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 32, n. 2, p. 111-123, Dec. 1996.

OBER, C.; VAN DER VEN, K. Immunogenetics of reproduction. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 222, p. 1-23, 1997.

OLDING, L. B.; OLDSTONE, M. B. A. Lymphocytes from human newborns abrogate mitoses of their mother's lymphocytes. **Nature**, v. 249, n. 453, p. 161-162, May. 1974.

OLDING, L. B.; OLDSTONE, M. B. A. Thymus-derived peripheral lymphocytes from human newborns inhibit division of their mothers lymphocytes. **The Journal of Immunology**, v. 116, n. 3, p. 682-686, Mar. 1976.

PARAND, M.; CHEDID, L. Protective effects of chlorpromazine against endotoxin induced abortion. **Proc. Soc. Exp. Biol. Medical**, v.116, n. 1964, p. 906-915, 1964.

PARHAM, P. Antigen presentation by class I major histocompatibility complex molecules: a context for thinking about HLA-G. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 34, n. 1, p. 10-19, Jul. 1995.

PARHAM, P. **O sistema imune**. Tradução Ane Rose Bolner. Porto Alegre, Artmed Editora, 2001.

PARMIANI, G.; DELLA-PORTA, G. Effects of antitumor immunity on pregnancy in the mouse. **Nature New Biol.**, v. 241, n. 105, p. 26-28, Jan. 1973.

PAVIA, C. S.; SIITERI, P. K.; PERLMAN, J. D.; STITES, D. P. Suppression of murine allogeneic cell interactions by sex hormones. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 1, n. 1, p. 33-38, Jan-Feb. 1979.

PAVIA, C. S.; STITES, D. P. Immunosuppressive activity of murine newborn spleen cells. I. Selective inhibition of in vitro lymphocyte activation. **Cellular Immunology**, v. 42, n. 1, p. 48-60, Jan. 1979.

PAVIA, C. S.; STITES, D. P. Trophoblast regulation of maternal-paternal lymphocyte interactions. **Cellular Immunology**, v. 58, n. 1, p. 202-208, Feb. 1981.

PAZMANY, L.; MANDELBOIM, O.; VALES-GOMEZ, M.; DAVIS, D. M.; BECKER, T. C.; REYBURN, H. T.; SEEBACH, J. D.; HILL, J. A.; STROMINGER, J. L. Human leucocyte antigen-G and its recognition by natural killer cells. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 43, n. 2, p.127-137, Jul. 1999.

PENCE, H.; PETTY, W. M.; ROCKLIN, R. E. Suppression of maternal responsiveness to paternal antigens by maternal plasma. **Journal of Immunology**, v. 114, p. 525-528, Jan. 1975.

PERRY, L. L.; BENACERRAT, B.; GREENE, M. I. Regulation of the immune response to tumor antigen. IV. Tumor antigen-specific factor(s) bear I-J determinants

and induce suppressor T cell in vivo. **Journal of Immunology**, v. 121, n. 6, p. 2144-2147, Dec. 1978.

PICCINNI, M. P.; MAGGI, E.; ROMAGNANI, S. Role of hormone-controlled T-cell cytokines in maintenance of pregnancy. **Biochemical Society Transactions**, v. 28, n. 2, p. 212-215, Feb. 2000.

PICCINNI, M. P.; ROMAGNANI, R. Regulation of fetal allograft survival by hormone-controlled Th1- and Th2-type cytokines. **Immunologic Research**, v. 1, p. 141-150, 1996.

PICCOTTI, J. R.; CHAN, S. Y.; VANBUSKIRK, A. M.; EICHWALD, E. J.; BISHOP, D. K. Are Th2 helper T lymphocytes beneficial, deleterious, or irrelevant in promoting allograft survival? **Transplantation**, v. 63, n. 5, p. 619-624, Mar. 1997.

POLLACK, M. S.; KIRKPATRICK, D.; KAPOOR, N.; EVANS, R.; DUPONT, B.; O'REILLEY, R. The identification of intrauterine derived maternal T-cells in four severe combined immunodeficiency disease patients by HLA typing. **N. Engl. J. Med.**, v. 307, (602), 1982.

RACHMANN, F.; BERNARD, O.; SCHEID, M. P.; BENNETT, D. Immunological studies of mouse decidual cells in artificially induced deciduas. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 3, n. 1, p. 41-48, May. 1981.

RAGHUPATHY, R. Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. **Immunology Today**, v. 18, n. 10, p. 478-482, Oct. 1997.

RAGHUPATHY, R. **Expression and Relevance of Paternal MHC Antigens on the Murine Placenta**, Alberta, Edmonton, Canada; 1982, Phd Thesis, University of Alberta.

RAGHUATHY, R. Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm. **Seminars in Immunology**, v. 13, p. 219-227, 2001.

RAGHUPATHY, R.; MAKHSEED, M.; AZIZIEH, F.; HASSAN, N.; AL-AZEMI, M.; AL-SHAMALI, E. Maternal Th1- and Th2-type reactivity to placental antigens in normal human pregnancy and unexplained recurrent spontaneous abortions. **Cellular Immunology**, v. 196, n. 2, p. 122-130, 1999.

RAGHUPATHY, R.; SINGH, B.; BARRINGTON-LEIGH, J.; WEGMMAN, T. G. The ontogeny and turnover kinetics of paternal H-2K antigenic determinants on the allogeneic murine placenta. **Journal of Immunology**, v. 127, 2074, 1981.

RAPER, J. R.; RAPER, C. A. Genetic regulation of sexual morphogenetics in *Schizophyllum commune*. **J. Elisha Scientific Soc.**, v. 84, p. 267-273, 1968.

REED, E.; BEER, A. E.; HUTCHERSON, H.; KING, D. W.; SUCIU-FOCA, N. The alloantibody responses of pregnant women and its suppression by soluble HLA

antigens and anti-idiotypic antibodies. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 20, n. 2, p. 115-128, Jul. 1991.

REINDOLLAR, R. H. Contemporary issues for spontaneous abortion. Does recurrent abortion exist? **Obstet. Gynecol. Clinical North American**, v. 27, n. 3, p. 541-554, Sep. 2000.

REYBURN, H.; MANDELBOIM, O.; VALÉS-GOMÉZ, M.; SHEU, E. G.; PAZMANY, L.; DAVIS, D. M. STROMINGER, J. L. Human NJ cells: their ligands, receptors and functions. **Immunological Reviews**, v.155, p. 119-125, 1997.

RICH, S. S.; RICH, R. R. Regulatory mechanism in cell-mediated immune responses. I. Regulation of mixed lymphocyte reactions by alloantigen-activated thymus-derived lymphocytes. **Journal of Experimental Medical**, v. 149, n. 1, p. 114-126, Jan. 1974.

RIGGIO, R. R.; SUTHANTIRAN, M.; SHEIGH, J. S.; HASCHEMEYER, R. H.; FOHNO, M. A.; STUBENBORD, W. T; STENZEL, K. H.; RUBIN, A. C. Enhanced kidney graft survival with retroplacental source gamma globulin. **Transplantation**, v. 33, n. 6, p. 636-641, Jun. 1982.

RINK, L.; KIRCHNER, H. Recent progress in the tumor necrosis factor- α field. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 111, n. 3, p.199-209, Nov. 1996.

RIVERA, D. L.; OLISTER, S. M.; LIU, X.; THOMPSON, J. H.; ZHANG, X. J.; PENNLIN, K.; AZUERO, R.; CLARK, D. A.; MILLER, J. S. Interleukin-10 attenuates experimental fetal growth restriction and demise. **The FASEB Journal**, v. 12, n. 2, p. 189-197, Feb. 1998.

ROBERTSON, S. A.; SEAMARK, R. F.; GUILBERT, L. J.; WEGMANN, T. G.; The role of cytokines in gestation, **Critical Reviews in Immunology**, v. 14; n. 3-4; p. 239-292; 1994.

ROCKLIN, R. E.; KITZMILLER, J. L.; CARPENTER, C. B.; GARVOY, M.; DAVID, J. R. Maternal-fetal relation. Absence of an immunologic blocking factor from the serum of women with chronic abortions. **N. Engl. J. Med.**, v. 295, n. 22, p. 1209-1213, Nov. 1976.

ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D.; **Immunology**; In St. Louis; Mosby; p.8.8; 1993.

ROMAGNANI, S. Human Th1 and Th2 subsets: Doubt no more. **Immunology Today**, v. 12, n. 8, p. 256-257, Aug. 1991.

ROSSANT, J.; FRELS, W. I. Interspecific chimeras in mammals: successful production of live chimeras between *Mus musculus* and *Mus caroli*. **Science**, v. 208, n. 4442, p. 419-421, Apr. 1980.

ROSSANT, J.; MAURO, V. M.; CROY, B. A. Importance of trophoblast genotype for survival of interspecific murine chimeras. **J. Embryol. Exp. Morphol.**, v. 69, p. 141-149, Jun. 1982.

ROUSSEV, R. G.; VANDERPUYE, O. A.; McINTYRE, J. A. TLX alloantigens and pregnancy; **Immunology of Reproduction**; Ed.: RAJESH K; CRP Press; Inc. p. 169-207; 1993.

ROTH, D. B.; CORRY, R. M.; LOCKSLEY, J. S.; ANRAMS, M. J.; LITTON, S. J. Fisher Human placental cytotrophoblasts produce the immunosuppressive cytokine interleukin 10. **Journal of Experimental Medical**, v. 184, p. 539-548, 1996.

SALINAS, F. A.; SILVER, H. K. B.; SHEIKH, K. M.; CHANDOR, S. B. Natural occurrence of human tumor-associated anti-fetal antibodies during normal pregnancy. **Cancer**, v. 42, n. 3-1, p. 1653-1659, Sep. 1978.

SANDERS, S. K.; GIBLIN, P. A.; KAVATHAS, P. Cell-cell adhesion mediated by CD8 and human histocompatibility leukocyte antigen G, a nonclassical major histocompatibility complex class I molecule on cytotrophoblasts, **Journal of Experimental Medical**, v. 174, n. 3, p. 737-740, Sep. 1991.

SANFORD, T. R.; G. WOOD, M. Expression of colony stimulating factors and inflammatory cytokines in the uterus of CD1 mice during days 1 to days 3 of pregnancy. **Journal of Reproductive Fert.**, v. 94, n. 1, p. 213-220, 1992.

SCHOFIELD, V. L.; SCHLUMBERGER, J. M.; WEST, L. A.; WEISSMAN, I. L.; Protochordate allorecognition is controlled by a MHC-like gene system; **Nature**; London; v. 295; p. 499-502; 1982.

SEARLE, R. F.; SELLENS, M. H.; ELSON, J.; JENKINSON, E. J.; BILLINGTON, W. D. Detection of alloantigens during preimplantation development and early trophoblast differentiation in the mouse by immunoperoxidase labeling. **Journal of Experimental Medical**, v. 143, n. 2, p. 348-359, Feb. 1976.

SELLENS, M. H. Antigen expression on early mouse trophoblast. **Nature**, v. 269, n. 5623, p. 60-61, Sep. 1977.

SELLENS, M. H.; JENKINSON, E. J.; BILLINGTON, W. D. Major histocompatibility complex and non-major histocompatibility complex antigens on mouse ectoplacenta cone and placental trophoblastic cells. **Transplantation**, v. 25, n. 4, p. 173-179, Apr. 1978.

SIMMONS, R. L.; RUSSEL, P. S. The antigenicity of mouse trophoblast. **Ann. N. Y. Acad. Sc.**; v. 99, 717; 1962.

SIMON, C.; FRANCES, A.; PIQUETTE, G. N.; ZURAWSKY, G.; DENG, W.; POLAN, M. L. Interleukin 1 system in the materno trophoblast unit in human implantation. Immuno histo chemical evidence for autocrine/paracrine function. **Journal of Clinical Endocrinol. Metabol.**, v. 878, p. 847-854, 1994.

SLAPSYS, R. M.; CLARK, D. A. Active suppression of host vs. graft reaction in pregnant mice. IV) Local suppressor cells in decidua and uterine blood. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 4, n. 6, p. 355-364, Dec. 1982.

SLAPSYS, R. M.; CLARK, D. A. Active suppression of host vs. graft reaction in pregnant mice: V) Kinetics, specificity, and in vivo activity of non T suppressor cells localized to the genital tract of mice during their first pregnancy. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 3, p. 65, 1983.

SMITH, J. A.; BURTON, R. C.; BARG, M.; MITCHELL, G. F. Maternal alloimmunization in pregnancy. In vitro studies of T cell-dependent immunity to paternal alloantigens. **Transplantation**, v. 25, n. 4, p. 216-220, Apr. 1978.

SMITH, J.; FORT, J. Treatment of rheumatoid arthritis by immunization with mononuclear white blood cells: results of a preliminary trial. **Journal of Rheumatology**, v. 23, n. 2, p. 220-225, Feb. 1996.

SMITH, R. N.; POWELL, A. E. The adoptive transfer of pregnancy-induced unresponsiveness to make skin grafts with thymus-dependent cells. **Journal of Experimental Medical**, v. 146, n. 3, p. 899-904, Sep. 1977.

SOLLINGER, H. W.; BURLIGHAM, W. J.; SPARKS, E. M. F.; GLASS, N. R.; BELZER, F. O. Donor specific transfusions in unrelated and related HLA mismatched donor recipient combinations. **Transplantation**, v. 38, n. 6, p. 612-615, Dec. 1984.

SUNDERLAND, C. A.; NAIEM, M.; MASON, D. Y.; REDMAN, C. W. G.; STIRRAT, G. M. The expression of major histocompatibility antigens by human chorionic villi. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 3, n. 6, p. 323-331, Dec. 1981.

SWINBURNE, L. M. Leucocyte antigens and placental sponge. **Lancet**, v. 2, n. 7673, p. 592-594, Sep. 1970.

TANGRI, S.; RAGHUPATHY, R. Expression of cytokines in placentas of mice undergoing immunologically mediated spontaneous foetal resorptions. **Biol. Reproductive** v. 49, n. 1993, p. 850-856, 1993.

TARTAKOVSKY, B.; BEM-YAIR, E. Cytokines modulate pre-implantation development and pregnancy. **Dev. Biol.**, v. 146, 1991.

TAYLOR, C.; FAULK, W. P. Prevention of recurrent abortion with leucocyte transfusions. **Lancet**, v. 2, n. 8237, p. 68-70, Jul. 1981.

TAYLOR, G. M. The level and distribution of antibody in syngeneic and allogeneic mated pregnant mice preimmunized with H-2 alloantigens. **Immunology**, v. 25, p. 783, 1973.

TAYLOR, P. V.; HANCOCK, K. W. Antigenicity of trophoblast, and possible antigen masking effects during pregnancy. **Immunology**, v. 28, N. 5, P. 973-982, May. 1975.

TAYLOR, P. V.; HANCOCK, K. W.; GOWLAND, G. Effect of neuramiidase on immunogenicity of early mouse trophoblast cells. **Transplantation**, v. 28, n. 3, p. 256-257, Sep. 1979.

TERASAKI, P. I.; McCLELLAND, J. D. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. **Nature**, v. 204, p. 998-1000, 1970.

TIILIKAINEN, A.; SCHRÖDER, J.; DE LA CHAPELLE, A. Fetal leucocytes in the maternal circulation after delivery. II Masking of HLA antigens. **Transplantation**, v. 17, p. 355, 1974.

TOMASI, T. B. J. Suppressive factors in amniotic fluid and newborn serum: is alpha-fetoprotein involved? **Cellular Immunology**, v. 37, n. 2, p. 459-466, May. 1978.

VAN DER VEN, K.; OBER, C. HLA-G polymorphisms in African Americans. **Journal of Immunology**, v.153, n. 12, p. 5628-5633, Dec. 1994.

VAN ROOD, J. J.; CLAAS, F. H. J. The influence of allogeneic cells on the human T and B cell repertoire. **Science**, v. 248, p. 1388-1393, 1990.

VOISIN, G. A.; CHAOUAT, G. Demonstration, nature and properties of maternal antibodies fixed on placenta and directed against paternal antigens. **Journal of Reproductive Fertil.**, 21 (Suppl.), v. 89, 1974.

VOISIN, G. A.; RAGHUPATHY, R. In: KURPISZ, M.; FERNANDEZ, N.; (Eds.) **Immunology of Human Reproduction**, p. 335-353; Bios Scientific Publishers; 1995.

WAGNER, H.; POWITZ, A. S.; PFIZENMAIER, K.; ROLLINGHOFF, M. Regulation of T cell-mediated cytotoxic allograft responses. I. Evidence for antigen-specific suppressor T cells. **European Journal of Immunology**, v. 6, p. 873, 1976.

WANG, H.; ZHANG, M.; SODA, K.; SAMA, A.; TRACEY, K. J. Fetuin protects the fetus from TNF. **Lancet**, v. 350, n. 9081, p. 861-862, Sep. 1997.

WEBB, C. G.; GALL, W. E.; EDELMAN, G. M. Synthesis and distribution of H-2 antigens in preimplantation mouse embryos. **Journal of Experimental Medical**, v. 146, n. 4, p. 923-932, Oct. 1977.

WEETMAN, A. P. The immunology of pregnancy. **Thyroid**, v. 9, n. 7, p. 643-646, Jul. 1999.

WEGMANN, T. G. Fetal protection against abortion: is it immunosuppression or immunostimulation? **Ann. Immunology Inst. Pasteur**, v. 135, p. 309-311, 1984.

WEGMANN, T. G. Self-Sterility, MHC Polymorphism, and Spontaneous Abortion. **Contrib. Gynecol. Obstet.**, v. 14, p.16-22, 1985.

WEGMANN, T. G.; ATHANASSAKIS, I.; GUILBERT, L.; BRANCH, D.; DY, M.; MENU, E.; CHAOUAT, G. The role of M-CFS in fostering placental growth, fetal

growth and fetal survival. **Transplantation Proceedings**, v. 21, n. 1-1, p. 566-568, Feb. 1989.

WEGMANN, T. G.; CARLSON, G. A. Allogeneic pregnancy as immunoabsorbent. **Journal of Immunology**, v. 119, n. 5, p. 1659-1663, Nov. 1977.

WEGMANN, T. G.; GILL, T. G. (Eds.); **Immunology of Reproduction**; Oxford University Press; New York; 1983.

WEGMANN, T. G.; GUILBERT, L. J. Immune signalling at the maternal-fetal interface and trophoblast differentiation. **Dev. Comp. Immunology**, v. 16, n. 6, p. 425-430, Nov-Dec. 1992.

WEGMANN, T. G.; LIN, H.; GUILBERT, L.; MOSMANN, T. R. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: Is successful pregnancy a Th2 phenomenon? **Immunology Today**, v. 14, n. 7, p. 353-356, Jul. 1993.

WEGMANN, T. G.; MOSSMAN, T. R.; CARLSON, G.; OLINGK, O.; SINGH, B. The ability of the murine placenta to absorb monoclonal anti fetal H-2K antibody from the maternal circulation. **Journal of Immunology**, v. 122, n. 3, p. 1020-1023, Sep. 1979.

WEGMANN, T. G.; SINGH, B.; CARLSON, G. A. Allogeneic Placenta is a Paternal Strain Antigen Immunoabsorbent. **Journal of Immunology**, v. 122, n. 1, p. 270-274, Jan. 1979.

WEGMANN, T. G.; WATERS, C. A.; DRELL, D. W.; CARLSON, G. A. Pregnant mice are not primed but can be primed to fetal alloantigens. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 76, n. 5, p. 2410-2414, May. 1979.

WILSON, A. G.; DE VRIES, N.; POCIOT, F.; DI GIOVINE, F. S.; VAN DER PUTTE, L. B. A.; DUFF, G. W. An allelic polymorphism within the human tumor necrosis factor α promoter region is strongly associated with HLA -A1, -B8 and -DR3 alleles. **Journal of Experimental Medicine**, v. 177, n. 2, p. 557-560, Feb. 1993.

WITEBSKY, E.; REICH, H. Zur gruppenspezifischen Differenzierung der Placentaorgane; **Klin. Wochenschr.** v. 11, p. 1960, 1982.

WOOD, G.; REYNARD, J.; KIRSHNAN, E.; RACELA, L. Immunobiology of the human placenta. I. IgG Fc receptors in trophoblastic villi. **Cellular Immunology**, v. 35, p. 191, 1978.

YOUTANANUKORN, V.; MATANGKUSOMBUT, P. Specific plasma factors blocking human maternal cell-mediated immune reactions to placental antigens. **Nature (New Biol.)**, v. 241, 110, 1973.

YOUTANANUKORN, V.; MATANGKOSOUT, P.; SATHANONDH, V. O. Onset of the human maternal cell-mediated immune reaction to placental antigens during the first pregnancy. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 16, 593; 1974.

ZEMBALA, M.; ASHERSON, G. L. T cell suppression of contact sensitivity in the mouse. II. The role of soluble suppressor factors and its interaction with macrophages. **European Journal of Immunology**, v. 2, 141, 1974.

ZIEGLER, A.; FIELD, L. L.; SAKAGUCHI, A. Y. Report of the committee on the genetic constitution of chromosome 6. **Cytogenet. Cell Genet.**, v. 55, n. 1-4, p. 118-121, 1990.

ZUCKERMAN, F.; HEAD, J. Susceptibility of mouse trophoblasts to antibody and complement-mediated damage. **Transplantation Proceedings**, 1984.