

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP

Curso de Pós-graduação “lato-sensu” em Biologia Molecular e Imunologia

Nível de Especialização

ABORTO: “ERRO” NO SISTEMA IMUNE?

JAMILE MARIA BERGAMO LOPES

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ CARLOS DE MATTOS

Revisão apresentada a Academia de Ciências e Tecnologia para Conclusão do Programa de Pós Graduação em Biologia Molecular e Imunologia.

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO – SP

2012

RESUMO

O abortamento espontâneo afeta aproximadamente 5% dos casais, sendo que diversos trabalhos tentam apontar possíveis causas, dentre as quais se destaca a de origem imunológica. Ou seja, o sistema imune em alguns casos reconhece o feto como não próprio, pois o mesmo carrega 50% de material genético paterno e 50% de material genético de origem materna.

Durante a gestação o corpo feminino sofre diversas alterações inclusive em seu perfil imunológico, para se adaptar a presença do feto. Desta forma, mecanismos específicos devem agir para modular e moderar o sistema imune materno, impedindo que mulheres grávidas rejeitem seus fetos.

O sistema imune materno entra em contato com antígenos fetais e, através de diferentes mecanismos de imunomodulação desencadeia a tolerância imunológica na interface materno-fetal.

O objetivo do presente trabalho é estudar os “erros” do sistema imune que impedem que a gestação chegue até o fim, bem como possíveis tratamentos propostos. Para tanto, realizou-se uma pesquisa teórica sobre o tema, na qual será abordado o sistema imune na gestação de sucesso, a resposta imune, o aborto espontâneo, falhas do sistema imune, diagnóstico e tratamento.

INTRODUÇÃO

O presente artigo tem como objeto de estudo o sistema imune na gestação. O abortamento espontâneo afeta aproximadamente 5% dos casais, sendo que diversos trabalhos tentam apontar possíveis causas, dentre as quais se destaca a de origem imunológica. Ou seja, o sistema imune em alguns casos reconhece o feto como não próprio, pois o mesmo carrega 50% de material genético paterno e 50% de material genético de origem materna.

O sistema imune é o conjunto das barreiras físico-química e celulares do organismo com função de defesa. (Girello, 2011)

Segundo Silva (2008), o sistema imunológico é constituído por um conjunto de células e moléculas que circulam por todo corpo através da linfa e do sangue. Ele defende o organismo contra elementos estranhos, reconhecendo o que pode ser lesivo ao organismo, no intuito de manter sua

integridade. Estes elementos estranhos são denominados “imunógenos”, pois são capazes de iniciar uma resposta.

As células do sistema imune estão distribuídas por todo o organismo, sendo encontradas alojadas nos tecidos desempenhando o papel de sentinela e circulando por vasos sanguíneos e linfáticos esperando o sinal de que o organismo foi invadido. (Silva, 2008)

Vianna (2009) afirma que as células do sistema imune (leucócitos) estão organizadas de forma que diferentes tipos celulares desempenham funções distintas dentre elas: reconhecer uma área infectada, recrutar outras células para esta área, capturar e apresentar o imunógeno para as células responsáveis, neutralizar o imunógeno, além de eliminar células infectadas. Dentre os diversos tipos de leucócitos, podemos citar os linfócitos T e B.

Os linfócitos B no seu processo de maturação ganham receptores de membrana e entram em contato com antígenos próprios, e aqueles que apresentarem alta afinidade morrerão por apoptose, e aqueles que não interagirem terminarão seu processo de maturação e migrarão para os órgãos linfoides secundários. Quando ativados se transformam numa célula denominada plasmócito, que secreta anticorpos específicos. Anticorpos são proteínas denominadas gamaglobulinas ou imunoglobulinas que exercem varias atividades. Realizam funções como: Opsonização, ativadores de complemento, neutralizadores de substancias toxicas, aglutinação e neutralização de bactérias. (Silva, 2008)

Silva (2008) ainda cita que os linfócitos T são peças centrais do sistema imune, responsáveis pela imunidade celular (cuja resposta é diretamente realizada por células). Esses linfócitos T recebem receptores e moléculas, onde podemos citar as moléculas CD4 e CD8. Por apresentarem as 2 moléculas, os mesmos passam por um processo de seleção natural, no qual precisam reconhecer seu ligante na células apresentadoras de antígeno (APC). O ligante é complexo de histocompatibilidade (MHC). Os linfócitos T que reconhecerem seu ligante continuarão no processo e os que não forem capazes morrerão por apoptose. Isso ocorre para que seja possível diferenciar o próprio do não próprio.

Segundo Vianna (2009), os tipos principais de células T são: células T citotóxica, células T auxiliares (T helper) e as células T regulatórias. As células

T citotóxica agem no combate a infecção por patógeno intracelulares e no combate as células cancerígenas. São chamadas também de células NK (natural killer). Esses linfócitos possui receptores CD8, que tem a função de reconhecer o MHC 1 expressada por células rejeitadas (transplantes e enxertos). Esta célula ataca diretamente as células estranhas que expressam o MHC 1 e lisa as células. O marcador mais usado atualmente para detecta-los é CD16 ou CD56.

As células T auxiliares são responsáveis pela formação de 2 tipos principais de respostas celulares efetoras frente a ocasiões distintas: resposta TH1 (resposta T helper 1) ou TH2 (resposta T helper 2), a diferença entre essas duas, consiste no perfil das citocinas produzidas, tanto em termos de quantidade como em tipo de citocina frente ao antígeno encontrado. (Vianna, 2009)

O linfócito T helper possui receptor CD4 na superfície, é o mensageiro mais importante do sistema imune. É a célula que interage com os macrófagos, reconhecendo o epítopo que lhe é apresentado. (Vianna, 2009)

Os linfócitos T reguladores produzem citocinas que suprimem varias respostas imunes excessivas, inibindo proliferação de outras células T. (Vianna, 2009)

OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho é estudar os “erros” do sistema imune que impedem que a gestação chegue até o fim, bem como possíveis tratamentos propostos. Para tanto, realizou-se uma pesquisa teórica sobre o tema, na qual será abordado o sistema imune na gestação de sucesso, a resposta imune, o aborto espontâneo, falhas do sistema imune, diagnóstico e tratamento.

METODOLOGIA

A metodologia utilizada para elaboração deste trabalho foi pesquisa online em bancos de dados como :SCIELO e BIREME.

O SISTEMA IMUNE NA GESTAÇÃO DE SUCESSO

Desde o primeiro contato do espermatozóide com a mucosa vaginal observam-se os primeiros sinais de resposta imune. Ocorre à comunicação de linfócitos presentes na superfície da mucosa, com outros, encontrados no espaço subepitelial. Por volta de seis a sete dias após a fertilização, inicia-se o processo de implantação do embrião. A interação blastocisto-endométrio está, pelo menos em parte, sob controle de mediadores imunológicos como as citocinas. (SILVA , 2008)

Segundo Michelin et al 2006, Vianna 2009 e Mandadori 2010, mencionam em seu trabalho, que o primeiro estudo a propor a possibilidade de um ambiente fetal imunologicamente tolerante foi em 1953 pelo pesquisador Peter Medawar, prêmio Nobel de Fisiologia/Medicina em 1960- que formulou uma teoria a partir 3 observações: (1) a separação física existente entre tecidos maternos e fetais; (2) a imaturidade antigênica do sistema imune fetal; (3) a “preguiça” imunológica do sistema imune materno.

Conforme Vianna (2009) durante a gestação o corpo feminino sofre diversas alterações endócrinas, físicas, psicológicas e também seu perfil imunológico para se adaptar a presença do feto. O sistema imune materno esta em intimo contato com células e tecidos do feto semi-alogênico, que possuem 50% de material genético paterno, o que o caracteriza como estranho ao organismo materno. Desta forma, mecanismos específicos devem agir para modular e moderar o sistema imune materno, impedindo que mulheres grávidas rejeitem seus fetos.

O excepcional é que de alguma forma esse embrião é reconhecido pelo sistema imune materno, sem que seja disparada uma resposta contra a sua permanência e desenvolvimento naquele ambiente, como ocorreria em qualquer outra circunstância de exposição ao material genético proveniente de outro indivíduo não idêntico (ex.: transplante de órgãos induzindo rejeição). (Vianna, 2009)

Com isso, garante um ambiente favorável para o desenvolvimento do conceito até um estado de maturação com capacidade de vida extrauterina. Esse fenômeno pode ser designado “tolerância imunológica”. (Michelon et al, 2006)

Lourenço (2009) afirma que na gestação normal, durante o processo inicial do desenvolvimento da placenta e do embrião, o sistema imune materno

entra em contato com antígenos fetais e, através de diferentes mecanismos de imunomodulação, desencadeia a tolerância imunológica na interface materno-fetal. Portanto, a placenta é considerada um local de tolerância, uma vez que as células imunes, presentes na decídua uterina, atuam como barreira física e imunológica, permitindo o desenvolvimento do feto e o sucesso da gestação.

A tolerância imunológica ao semi-enxerto fetal é um mecanismo ativo, no qual os tecidos fetais não são reconhecidos como estranhos e/ou não são rejeitados pelas células do sistema imune materno. Durante a invasão das arteríolas espiraladas por células trofoblásticas a resposta imune materna é modificada por antígenos fetais, por células imunes como monócitos, macrófagos e linfócitos, e por hormônios presentes no trofoblasto. O resultado é uma resposta complexa, sendo o equilíbrio entre essas interações mediado por citocinas e fatores de crescimento secretados na interface materno-fetal. (Lourenço, 2009)

A aceitação materna do feto resulta do isolamento do embrião num ambiente semi-permeável. Deste modo, a resposta imunitária materna é modulada, permitindo esse reconhecimento, e tornando-se compatível com o desenvolvimento de uma gravidez bem sucedida. (Sarafana et al, 2007)

Porém, Filho, Oliveira, Maia (2008) afirma que há consenso na literatura de que durante a gestação, o organismo materno desenvolve uma resposta imune ao feto, levando a tolerância materno-fetal e não a reações patogênicas. Assim, antígenos fetais são processados pelas células apresentadoras de antígenos (APC) e apresentados aos linfócitos T, na sua superfície, em associação aos antígenos do complexo principal de histocompatibilidade (MHC/HLA).

Vianna (2009) cita que há diversos fatores imunológicos que atuam na manutenção da homeostase durante a gestação; o perfil de produção de citocinas do tipo TH2, a presença de células T regulatórias, o papel das células dendríticas, a depleção local de triptofano inibindo a proliferação de células T, a expressão do fator inibitório de leucemia, assim como a importante ação imunossupressora da molécula HLA-G.

O feto recebe nutrientes e também células maternas que atravessam a interface materno-fetal através da placenta. (Vianna, 2009)

O sistema imune do feto exerce uma função muito importante ao evitar o “ataque” pelas células maternas que atravessam a placenta através da ação de células T regulatórias fetais que podem permanecer em circulação (após o nascimento) por até 17 anos como memória imunológica, sendo capaz de reconhecer as células maternas. Este evento parece ocorrer através dos mesmos mecanismos utilizados pelo sistema imune materno quando este usa as células T regulatórias maternas evitando a rejeição do feto, conclui (Vianna, 2009).

Componentes Celulares e Hormônios

De acordo com Filho, Oliveira, Maia (2008) os hormônios esteróides induzidos no momento da ovulação possuem efeito imunossupressor sobre a mucosa do sistema reprodutor feminino. Esses hormônios também modulam a atividade das células apresentadoras de antígenos (APC).

A progesterona possui atividade peculiar sobre o sistema imune materno. Ela é capaz de suprimir a função dos linfócitos T, possui ação imunomodulatória sobre os mesmos, os quais possuem receptores do tipo $\gamma\delta$ (gamadelta), fazendo com que esses linfócitos sintetizem a proteína imunomodulatória chamada de Fator Bloqueador Induzido pela Progesterona (Progesterone Induced Blocking Factor – PIBF), que inibe a liberação do ácido aracdonico e a atividade das células NK, e modificando a liberação de citocina. (Filho, Oliveira, Maia, 2008)

Os leucócitos são as principais células que colonizam a decídua, incluindo células Natural Killer (NK), macrófagos e linfócitos T, sendo elas as responsáveis por alertarem o sistema imune materno para a presença de aloantígenos durante a gestação. (Filho, Oliveira, Maia, 2008)

Os linfócitos T do útero têm pelo menos, duas funções conhecidas. Em primeiro lugar, estas células têm atividades efectoras/citotóxicas, eliminando antígenos nocivos de bactérias e vírus. Em segundo lugar, a regulação das células T define as propriedades fundamentais da tolerância imunológica. Assim, no interior do útero, as células T podem contribuir para o ambiente imunossupressivo local, que permite a sobrevivência do feto. No início da

gravidez, o número de linfócitos T agregados no endométrio diminui e aumenta na decídua à medida que a gravidez avança. (Sarafana et al, 2007)

Verifica-se igualmente, através da expressão de citocinas, que os linfócitos T intra-uterinos se compõem de diferentes fenótipos. As citocinas Th2 (IL-4, IL-10) podem diminuir as respostas Th1 (IL-2 e IFN-g), formando um micro-ambiente essencial para uma boa evolução da gravidez. (Sarafana et al, 2007)

O Trofoblasto (Células Sinciotrofoblasto e Citotrofoblasticas) e Expressão de HLA (“HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN G”)

De acordo com Michelon et al (2006), o trofoblasto é a camada de células da mesoectoderme que reveste o blastocisto e contribui para a formação da placenta. As células do trofoblasto têm características imunológicas específicas, nomeadamente no que se refere à expressão de HLA .

As células do sinciotrofoblasto, responsáveis pela nutrição do embrião, produção de β hCG e progesterona, são originadas a partir do citotrofoblasto, envolvem praticamente toda a superfície fetal e não expressam moléculas HLA. Por outro lado, as células citotrofoblásticas (vilositárias, extravilositárias, endovasculares e intersticiais) expressam pequena quantidade de moléculas HLA de classe I. (Michelon *et al*, 2006)

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

O HLA-G tem sido descrito como mediador da tolerância materno-fetal, pois está expresso nas células citotrofoblásticas extravilosas invasivas, células do endotélio endovascular fetal e células do tecido e líquido amniótico que entram em contato com o sistema imune materno. (Alves et al, 2007)

A influência do HLA-G na evolução da gestação não é totalmente elucidada, mas tem sido sugerido seu envolvimento na diferenciação do tecido

fetal, implantação do blastocisto, angiogênese placentária e principalmente na prevenção do ataque ao trofoblasto inibindo ação das células NK (Natural Killer) e T citotóxicas. (Alves et al, 2007)

O HLA-G pode ser expresso através de cinco isoformas: três isoformas de HLA-G transmembrana (-G1, -G2, -G3) e duas isoformas solúveis circulantes (-G5 e -G6). É possível que estas últimas atuem como imunossupressores na gravidez, principalmente inibindo a expressão de CD8, indispensável na ativação da cito toxicidade mediada por células. Porém, o baixo polimorfismo do HLA-G por si só pode ser indutor da tolerância materna. (Alves et al, 2007)

Segundo Daher, Mattar (2009), a expressão do Ag HLA não clássico HLA-G é característica da gravidez. Estudos experimentais revelam a presença de Ag HLA-G em placenta e em citotrofoblasto extraviloso, em maior intensidade no primeiro trimestre, decrescendo com o decorrer da gestação. Estes antígenos de membrana promovem a interação com diferentes tipos celulares e, conseqüentemente, determinam e coordenam muitas funções imunológicas que incluem a modulação do padrão de citocinas e fatores de crescimento produzidos, inibição da atividade lítica de células NK, a apresentação de peptídeos virais para células T e ainda, influenciam o processo de apoptose de células T ativadas. Assim, os Ag HLA-G desempenham um papel central no desencadeamento e manutenção de tolerância imunológica materno-fetal e na defesa contra infecções.

No caso de gestação normal, as células do sinciotrofoblasto constituem alvo de ligação de anticorpos maternos, dirigidos contra as moléculas HLA paternas presentes nos tecidos embrionários. Estes anticorpos são conhecidos como “anticorpos bloqueadores”, uma vez que funcionam como proteção à resposta citotóxica materna contra o embrião. (Michelon *et al*, 2006)

Quando o casal compartilha dos mesmos antígenos HLA DQ α , as moléculas HLA-G desenvolvidas nos tecidos placentários são exatamente as mesmas que um dia a mãe utilizou para o seu próprio desenvolvimento intraútero. Como resultado, não ocorre a formação de anticorpos bloqueadores e o sistema imune materno reconhece a gestação como um tecido próprio com crescimento anômalo desenfreado. Portanto, de forma simplificada, podemos inferir que as moléculas HLA-G representam o estímulo paterno para a

produção de anticorpos bloqueadores que protegerão o embrião e permitirão o desenvolvimento dos tecidos placentários. (Michelon *et al*, 2006)

Linfócitos T e citocinas

Os leucócitos decíduais podem contribuir direta e indiretamente pela expressão de receptores que potencialmente medeiam o reconhecimento do trofoblasto fetal, a invasão trofoblástica e a produção de citocinas que regulam e modulam a resposta imune materna e a função vascular. (Michelon *et al*, 2006)

Em uma gestação normal, as células trofoblásticas são resistentes à lise por linfócitos T citotóxicos, cito toxicidade direta pelas células NK e cito toxicidade dependente de anticorpo, esta última também ação das células NK locais . (Michelon *et al*, 2006)

As citocinas podem ser produzidas por macrófagos, linfócitos, células NK e pelas próprias células trofoblásticas e agem através de vias complexas de feedback positivo ou negativo controlando o nível de ativação inflamatória nesse microambiente. (Michelon *et al*, 2006)

As citocinas estão envolvidas em vários aspectos da gestação incluindo: implantação, placentação, ativação uterina e no amadurecimento cervical. (Vianna, 2009)

Subpopulações de linfócitos T induzem a produção de um grupo distinto de citocinas, responsáveis pela evolução ou pela interrupção da gestação. Dessa forma, linfócitos T *helper* tipo 1 (Th1) produzem IL-2, interferon gama (INFg) e fator de necrose tumoral beta (TNFb), que são caracteristicamente indutoras da imunidade celular e de abortamento. Linfócitos T *helper* tipo 2 (Th2), todavia, produzem IL-3, IL-4 e IL-10, as quais promovem a produção de anticorpos bloqueadores da atividade citotóxica, mantêm as células NK decíduais inibidas e têm potencial anti-inflamatório. (Michelon *et al*, 2006)

É interessante observar que parte do mecanismo pró-inflamatório promovido pelo IFNg é resultante da indução da expressão de moléculas HLA de classe I e II, as quais constituirão alvo para uma “alo-rejeição” materno-fetal, cujo reconhecimento pelas células T maternas será facilitado pela presença de TNF no meio. (Michelon *et al*, 2006)

Ao contrário, células Th2 têm o potencial de suprimir essa ativação deletéria à gestação, especialmente pela ação de IL-4 e IL-10, inibindo a ativação de células NK uterinas. (Michelon *et al*, 2006)

Células NK

As células NK são células do sistema imune inato que possuem antígenos de superfície que as caracterizam: CD16 e CD56. CD16 é um receptor de baixa afinidade para IgG, está presente na maioria das células NK e é responsável pela função de cito toxicidade celular dependente de anticorpo. Essas células podem ainda ser diferenciadas em duas populações: CD56dim e CD56bright. (Michelon *et al*, 2006)

Na gestação normal, as células trofoblásticas produzem IL-4 e IL-7, que induzem uma estimulação de linfócitos Th2 e um aumento do número de receptores inibidores nas células NK decíduais, mantendo as células NK com fenótipo não-ativado, ou seja, CD56+CD16-. Essas células são chamadas de células NK uterinas, são capazes de reconhecer o HLA-G fetal e ainda são produtoras de fatores supressores da cito toxicidade. (Michelon *et al*, 2006)

As citocinas Th1 são ditas indutoras de abortamento devido à sua capacidade de induzir na interface materno-fetal a diferenciação fenotípica das células NK em células ativadas, ou seja, CD56+CD16+. (Michelon *et al*, 2006)

Por fim, acredita-se que durante a gestação ocorra no território decidual, à semelhança do que ocorre no timo, um processo de maturação linfocitária, o qual é crucial para o bom desenvolvimento da gestação. Dessa forma, a base para a fisiopatologia do abortamento espontâneo de repetição estaria centrada na ativação de células NK através de citocinas, ou seja, transformando-as de células CD56+CD16-(produtoras de fatores supressores, pró-Th2) em células CD56+CD16+ (citotóxicas e pró-inflamatórias), ou de outra forma, a não transformação do fenótipo das células NK para um padrão não-citolítico. Além da deficiência de células NK uterinas com fenótipo CD56+CD16-, pacientes que apresentam abortamentos espontâneos de repetição também possuem um número aumentado de células NK ativadas (CD56+CD16+) na decídua e no sangue periférico. (Michelon *et al*, 2006)

Células T regulatórias

Existe o consenso de que a população de células T CD4+CD25high é a responsável por essa atividade imuno-regulatória antígeno-específica. Essas células estão envolvidas com os mecanismos de tolerância periférica, tolerância aos transplantes e tolerância materno-fetal, sendo, portanto, chamadas células “T regulatórias” (Treg). Podem ser encontradas em sangue periférico, timo, linfonodos e sangue de cordão umbilical. (Michelon *et al*, 2006)

As células CD4+CD25high expressam um gene chamado FoxP3. Quando FoxP3 é expresso em células T CD4+CD25-, ocorre uma diferenciação dessas células em linfócitos T CD4+CD25+ com capacidade imunoregulatória. (Michelon *et al*, 2006)

Essas células inibem a imune estimulação convencional das células T através de contato célula-a-célula ou através de citocinas imunossupressoras, como IL10 e TGFb. Outros mecanismos ainda têm sido propostos, como a estimulação da indoleaminadioxigenase (IDO) nesses linfócitos, enzima importante no metabolismo do triptofano e essencial para a ativação linfocitária em geral. (Michelon *et al*, 2006)

Na gestação, essa atividade é especificamente dirigida aos aloantígenos paternos, regulando toda a intrincada rede de atividade imune relacionada ao alo reconhecimento, implantação, placentação e desenvolvimento fetal. Apesar de os mecanismos específicos de sua ação imunomodulatória na gestação ainda estarem sendo estudados, a proporção de células Treg na decídua e no sangue periférico aumenta na fase de gestação precoce. Além disso, a ausência de células Treg leva à perda gestacional devido a uma rejeição imunológica ao feto. (Michelon *et al*, 2006)

Segundo Mandadori (2010), as células CD4+CD25high localizam-se preferencialmente na decídua, ou seja, na região de íntimo contato materno-fetal (constituindo 22% dos linfócitos T deciduais), em comparação ao sangue periférico (6,5% das células T periféricas), demonstrando sua importância na criação de um ambiente imunotolerante para o feto semi-alogênico. Essa população celular apresenta níveis séricos elevados em gestação bem-sucedida, assim como baixos níveis deciduais em abortos espontâneos, sendo necessária para a correta manutenção da gestação.

Lectina Ligadora de Manose (MBL)

A MBL, um componente da imunidade inata, é relacionada como importante mediador da inflamação durante a gestação, garantindo a manutenção de um ambiente inflamatório primordial para uma boa placentação. A presença de MBL na interface materno-fetal pode contribuir para a ativação de fagócitos engajados na eliminação de restos celulares e células apoptóticas. (Vianna, 2009)

ABORTO ESPONTÂNEO

O abortamento é definido como a interrupção da gravidez antes de atingida a viabilidade fetal. É a mais freqüente intercorrência obstétrica, ocorrendo em cerca de 20% de todas as gestações. (Daher, Mattar, 2009)

Segundo Mondadori (2010), qualquer alteração nos fatores necessários para a imunomodulação na gestação pode levar a um desequilíbrio na homeostase imunológica, acarretando, muitas vezes, o insucesso gestacional através da rejeição do concepto.

Uma das principais causas de perda fetal durante a gestação é a malformação congênita – defeito na formação/estrutura de algum órgão ou de um conjunto de órgãos do feto levando a uma anomalia morfológica estrutural de um órgão ou de todo o organismo, causada por fatores genéticos, ambientais ou mistos. (Mondadori, 2010)

Aproximadamente 60-70% da ocorrência de abortos espontâneos é devida a anomalias cromossômicas. (Mondadori, 2010)

Outras importantes causas de abortos além das malformações congênitas são as infecções (ex: toxoplasmose), doenças autoimunes, doenças gestacionais – pré-eclampsia, diabetes gestacionais – e doenças cardíacas congênitas. Por mais que existam muitas disfunções que levam a perda do embrião/feto, ainda cerca de 30-50% dos abortos decorrem de causas desconhecidas. (Mondadori, 2010)

ABORTO ESPONTÂNEO RECORRENTE (AER)

Bellelis, Carvalho, Zugaib (2009) afirma que o abortamento espontâneo recorrente (AER) é definido, usualmente, como a perda de três ou mais

gestações e comumente refere-se àqueles até a vigésima semana de gestação.

O AER afeta aproximadamente 5% dos casais férteis e pode ser classificado em primário e secundário, São consideradas primárias mulheres sem história de gestação viável e que tenham apresentado três ou mais abortos consecutivos com o mesmo parceiro. Por outro lado são identificadas como secundárias as pacientes que apresentaram uma gestação que tenha evoluído além de 20 semanas, e posteriormente três ou mais abortos consecutivos com o mesmo parceiro. (Daher, Mattar, 2009) (Bellelis, Carvalho, Zugaib, 2009)

Segundo pesquisa feita no Brasil, 1 milhão de casais apresente esta condição clínica por ano. (Barini et al 2006)

A literatura demonstra que a chance de uma nova perda gestacional é de aproximadamente 24% após duas perdas, 30% após três perdas e 40% após quatro perdas consecutivas. Em boa parte dos casos, a causa é desconhecida e diversas hipóteses foram levantadas e publicadas. Dentre elas, podemos citar: a cromossômica, a genética, a anatômica, a endocrinológica, as anomalias placentárias, as infecções, o tabagismo, o etilismo, a exposição a fatores ambientais como mercúrio, óxido de etileno e radiações ionizantes e os fatores psicológicos. Além disso, certamente, as causas autoimunes e aloimunes exercem papel muito importante nas hipóteses imunológicas. (Bellelis, Carvalho, Zugaib, 2009)

Fatores como idade, número prévio de abortos, infertilidade e aspectos emocionais também têm sido relatados como possíveis etiologias para AER. (Caetano, 2004)

Com relação à idade materna, foi encontrado maior percentual de aborto recorrente em faixas etárias consideradas inferiores a 30 ou superiores a 40 anos. Analisando essas mesmas faixas etárias, encontraram taxa de 25% de repetição do aborto nas mulheres com 30 anos ou menos, e de 52% nas mulheres com 40 anos ou mais. (Caetano, 2004)

O Ministério da Saúde (BRASIL, 2004) estima pouco mais de 58 milhões de mulheres em idade fértil. Supondo que 1% a 2% destas tenham como complicação o AER clínico, mais de um milhão de casais poderiam estar

envolvidos com esta ocorrência. Para melhorar esse contexto são necessários novos estudos. (Caetano, 2004)

AER: FALHAS DO SISTEMA IMUNE

O fator alo-imune envolve o reconhecimento da carga HLA paterna pelo sistema imunológico materno e produção de anticorpos anti-HLA paterno, mais especificamente anti-HLA-G. (Barini et al 2006)

Apesar dos inúmeros estudos realizados, ainda existem muitos aspectos questionáveis nesta área. Um dos pontos mais importantes parece ser a compatibilidade entre casais. Embora controverso, existem indicações de que em casos de AER há maior frequência de compatibilidade de Ag HLA entre o casal. Mais significativa, parece ser a relação entre compatibilidade no sistema HLA entre parceiros e a menor fertilidade e a maior incidência de patologias congênitas. (Daher, Mattar, 2009)

Alterações na expressão trofoblástica do *HLA* de classe I, particularmente o *-G* e *-E*, são sugeridas como causadores do AER. Certos alelos polimórficos associados ao *HLA-G* que interferem na gênese das formas transmembrana (G1) e solúveis (G5) dessa molécula, particularmente os alelos *HLA-G*0104*, *-G*0105N* e *-G*01013*, se associam à expressão defeituosa ou diminuída destas, além de exercer interferência negativa na expressão e ação do *HLA-E*. Tais fatores resultariam na quebra da tolerância materna ao feto e conseqüente aborto. (Alves et al 2007)

O fator alo-imune envolve também a hiperatividade de células natural killer (NK) e o desequilíbrio na resposta inflamatória Th1 e Th2 endometrial, que não favorece o crescimento embrionário. (Barini et al 2006)

Ainda restrito a laboratórios de pesquisa, o reconhecido papel das citocinas na fisiopatologia do aborto tem sido muito explorado. Baseados no paradigma Th1-Th2, os estudos iniciais focalizavam a avaliação destas citocinas. Concordantemente têm-se detectado níveis mais elevados de IFN- γ , TNF e outras citocinas inflamatórias em pacientes com AER. Estas alterações podem ser observadas tanto em sangue periférico como em endométrio, líquido amniótico e placenta. (Daher, Mattar, 2009)

Rai e Regan, em 2006, publicaram uma revisão que questionava a hipótese de que altos níveis séricos de células NK poderiam estar relacionados

ao AER. Na realidade, os autores demonstraram que tais pacientes têm um aumento nos níveis de células NK na mucosa uterina, contribuindo para que elas tenham uma resposta imune do tipo Th-1 ao invés da Th-2, ocasionando uma rejeição maior do produto conceptual. (Bellelis, Carvalho, Zugaib, 2009)

Mais recentemente, modelos experimentais de abortamento focaram o local de implantação placentária e mostraram que o sucesso da gravidez depende da inibição de mediadores inflamatórios locais. Proteínas inibitórias de complemento, linfócitos T maternos reguladores, enzimas catabolizadoras de triptofano e citocinas imunorreguladoras parecem estar relacionados à imunotolerância na interface materno-fetal. (Bellelis, Carvalho, Zugaib, 2009)

Segundo pesquisa feita por Mondadori (2010) da proteína HLA-G na membrana celular, revelaram que tanto em linfócitos quanto em monócitos, esses níveis estavam diminuídos em mulheres com Pré-Eclampsia. Além disso, em gestantes que não apresentavam complicações gestacionais, a expressão de HLA-G tanto em monócitos quanto em linfócitos, estava bem elevada (media de expressão em monócitos $78,2\% \pm 9,5$; media de expressão em linfócitos $5,2\% \pm 2,0$). Em um estudo longitudinal com mulheres que desenvolveram uma gravidez normal verificaram um pico de expressão de HLA-G em monócitos estimulados com IFN- γ de 75%. A baixa expressão de HLA-G de membrana em monócitos e linfócitos demonstrados corroboram com a teoria da “má adaptação imunológica” como uma das causas da pré-eclampsia, visto que, a molécula HLA-G é responsável por diversos processos de tolerância imunológica necessária para uma gestação bem-sucedida.

DIAGNÓSTICO

Em 1998, Barini et al. publicaram um protocolo de investigação e tratamento, baseando-se na hipótese de que a aloimunidade seria uma das principais causas de AER. A pesquisa do fator aloimune se fez por meio da tipagem HLA do casal, da cultura mista de linfócitos com identificação de fator inibidor no soro materno e na resposta celular materna contra linfócitos do parceiro, tratados com mitomicina (CML), e da reação de prova cruzada por microlinfocitotoxicidade (PC). Considerou-se causa aloimune quando, em CML, a capacidade do soro da paciente em inibir a resposta autóloga aos linfócitos do parceiro foi menor que 50% e/ou quando a prova cruzada entre o soro da

paciente e os linfócitos do parceiro foi negativa. (Bellelis, Carvalho, Zugaib, 2009)

A reação de prova cruzada por microlinfotoxicidade é um teste utilizado para rastrear reatividade humoral pré-gestacional contra células do parceiro na concepção. (Bellelis, Carvalho, Zugaib, 2009)

Tem sido frequentemente solicitado o exame de prova cruzada (cross-match), que avalia a existência de anticorpos maternos contra antígenos de histocompatibilidade presentes nos linfócitos paternos (HLA). A ausência de tais anticorpos poderia tornar o trofoblasto susceptível a destruição pelo sistema imune. (Gonçalves, 2008)

A avaliação imunológica, no entanto, frequentemente não servira para completo esclarecimento etiológico da fertilidade, mas, sim, para sugerir que o sistema imune, de alguma forma, não está funcionando de forma harmônica. Os exames do perfil imunológico servem, portanto, para avaliação global do sistema imune, que devera ser interpretada e valorizada à luz da história clínica. Somente assim haverá condições de tomar condutas pertinentes para cada passo. (Gonçalves, 2008)

TRATAMENTOS

Com o avanço na tecnologia hoje já é possível fazer exames de laboratório que apontem a incompatibilidade entre o casal e até mesmo como o Sistema imune da mulher vai se comportar durante uma gravidez. Exemplos de exames seriam: pesquisa de fator antinúcleo, anti-DNA, anticorpos anticardiolipina, fator anticoagulante lúpico e cariótipo do casal. Com isso algumas técnicas vêm sendo implantadas, como a vacina do marido, onde é coletado sangue do marido e desprezada a série vermelha. A série branca é lavada, diluída em soro fisiológico e injetada na mulher. A partir disso é feita uma prova cruzada para saber se a mulher já reconhece o marido imunologicamente. (Silva, 2008)

A proposta terapêutica de utilizar linfócitos do parceiro ou doador surgiu da observação de pacientes submetidos a transplantes renais que, após várias transfusões sangüíneas, apresentavam menor taxa de rejeição. A imunização com linfócitos tem por objetivo suprimir a atividade das células NK, possibilitando o desenvolvimento do concepto. Mulheres que receberam

injeção intradérmica de linfócitos do parceiro apresentaram melhores resultados gestacionais do que as que não receberam esse tratamento. (Silva, 2008)

Um estudo em 2002 com 473 mulheres que foram submetidas a um protocolo de investigação para AER, sem detectar qualquer etiologia. Ofereceu aos casais o tratamento com injeção de linfócitos do marido. As que aceitaram utilizar as injeções tiveram 79,6% de sucesso gestacional, e as que não fizeram qualquer tratamento abortaram em 64,1% dos casos. (Caetano, 2004)

Contudo, algumas mulheres tratadas de forma regular, incluindo tanto a aloimunidade quanto a autoimunidade, continuam a apresentar recorrência de aborto. É provável que existam outros fatores complicadores em alguns grupos ou associações de várias causas que contribuam para o insucesso. (Caetano, 2004)

Segundo Mondadori (2010), a diminuição do número de células NK uterinas pela administração de prednisona, um glicocorticoide sintético, e ativação *in vitro* da secreção de hCG pelo trofoblasto promovida por glicocorticóides sintéticos são algumas ações benéficas que podem ser mediadas por glicocorticóides para uma gestação inicial bem-sucedida. O hormônio hCG auxilia, por ação local, na implantação do embrião e na diferenciação trofoblástica, além de ser fundamental na manutenção da secreção de progesterona pelo corpo lúteo até que ocorra a mudança lúteo-placentária, por volta da 8ª semana de gestação, na síntese de progesterona. Já a possível influência dos glicocorticóides no aumento da apoptose decidual e placentária e na diminuição da síntese e sinalização de citocinas pró-inflamatórias são algumas ações que impedem o sucesso gestacional no início da gravidez.

O médico deve ainda abranger todas as possibilidades diagnósticas para aumentar as chances de sucesso do tratamento, e não encerrar a investigação quando encontrar um fator causal, visto que, em cerca de 30 a 40% das vezes, o AER é multicausal. Quando o diagnóstico e tratamento são realizados de forma correta, 84% dos casais se tornam pais após duas perdas consecutivas. Se o tratamento específico não for feito, este índice cai para 30%. (Barini et al, 2006)

A prática clínica tem mostrado resultados favoráveis com a utilização de corticosteróides, imunoglobulina endovenosa e mesmo imunização com linfócitos paternos para alguns casos. Não obstante, tais tratamentos somente deveriam ser praticados em âmbito experimental, estando a paciente ciente de seus riscos, limitações e da ausência de evidências claras quanto à sua eficácia. (Barini et al, 2006)

Em linhas gerais, os tratamentos atualmente prescritos podem ser assim resumidos:

Imunização com linfócitos paternos (ILP) para casais submetidos ao *cross-match* com resultado negativo, ou seja, ausência de anticorpos maternos direcionados contra antígenos leucocitários paternos. (Barini et al, 2006)

Corticosteróides para pacientes com evidências de atividade autoimune, como positividade do fator anti núcleo ou dos anticorpos antitireóide. (Barini et al, 2006)

Imunoglobulina endovenosa para mulheres com aumento do percentual de células NK citotóxicas em sangue periférico ou para casos de não-conversão do *cross-match* quando realizada ILP. (Gonçalves, 2008)

A imunização com linfócitos paternos (ILP) é talvez o tratamento mais controverso em toda a imunologia reprodutiva. Além da indução dos anticorpos bloqueadores, como já foi citado, ela poderia induzir algum tipo de imunomodulação em termos de atividade de células NK e do equilíbrio de citocinas Th1 x Th2. (Gonçalves, 2008)

É bem provável que a ILP atue por diferentes mecanismos, promovendo graus variáveis de imunomodulação benéfica ao desenvolvimento da gestação, embora haja poucos estudos a esse respeito. O problema é: a ILP não pode ter como pretexto de indicação um exame de *cross-match* negativo de um casal em que a mulher é sabidamente nuligesta. Se aceitarmos a teoria dos anticorpos bloqueadores e, baseados nela, quisermos agir de forma coerente, o *cross-match* (e, conseqüentemente, a ILP) deve ficar reservado para os casos de abortamentos de repetição. É possível que a imunomodulação promovida pela ILP resulte até mesmo em taxas mais altas de nascidos vivos em pacientes com história de falhas repetidas em FIV, mas a quantidade de informação ainda é insuficiente para qualquer conclusão. (Gonçalves, 2008)

Para casos de abortamento de repetição, é importante citar, no entanto, que metanálises Cochrane não mostraram diferença entre placebos e tratamentos, como

imunização com linfócitos paternos ou infusão endovenosa de imunoglobulina, em termos de taxas de nascidos vivos. (Gonçalves, 2008)

Pacientes com indícios de atividade auto-imune se beneficiariam, teoricamente, de um tratamento antiinflamatório ou imunossupressor leve. Esta é a justificativa para a utilização de corticosteróides em doses baixas para mulheres com FAN e/ou anticorpos antitireoidianos positivos. Entre outras ações, os corticosteróides levam a certo grau de supressão da ativação e diferenciação de células inflamatórias e da produção de citocinas pró-inflamatórias. Essas medicações já vêm sendo utilizadas, temporariamente, em ciclos de FIV, no período peri implantacional e alguns estudos sugerem que sua utilização pode aumentar as taxas de implantação e gravidez em mulheres com FAN positivo. (Gonçalves, 2008)

O sucesso do tratamento só existe se houver o nascimento de um bebê saudável. Em todas as etapas do tratamento, ainda, são inúmeros os fatores que podem, direta ou indiretamente, afetar o resultado. Quando um casal paga por um tratamento de infertilidade, diferentemente do que aconteceria no caso de uma cirurgia plástica, por exemplo, não se está comprando um resultado. Está se comprando uma possibilidade. (Gonçalves, 2008)

Etiologias multifatoriais e ausência de obrigatório compromisso com o resultado positivo (pois o tratamento pode, simplesmente, "dar errado", como se sabe) fazem com que a Reprodução Humana seja um campo muito vulnerável a experimentos, novas práticas e técnicas alternativas, tanto clínicas como laboratoriais. Nada há de errado com isso. O problema existe quando tais práticas perdem o caráter científico e passam a ser indiscriminadamente adotadas como condutas estabelecidas. (Gonçalves, 2008)

Uma paciente não tem condições de diferenciar, em essência, a prescrição de um antibiótico para combater uma pneumonia de uma vacina com células do marido para tratar sua infertilidade. É preciso estar atento a isso. As evidências de que o sistema imune e suas alterações são absolutamente importantes em muitos casos de infertilidade são cada vez mais fortes. Mas é inadmissível que se usem novos exames e tratamentos imunológicos como mais uma "carta na manga" para justificar a infertilidade em um casal mal-investigado, a falha de um tratamento anterior ou apenas para oferecer mais uma luz no fim do túnel e fazer com que o casal não desista ainda do tratamento ou opte por procurar outro profissional. (Gonçalves, 2008)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base na pesquisa bibliográfica realizada, a taxa de abortamento por causas imunológicas ou desencadeadas pelo Sistema Imune, deve ser considerada de relativa importância, e, portanto estudada com maior interesse, uma vez que a resposta imune materna começa a partir do contato do sêmen com a mucosa vaginal, e durante a gestação o sistema imune materno está em íntimo contato com células e tecidos do feto semi-alogênico, que possuem 50% de material genético paterno, caracterizando como estranho ao organismo materno. Por isso, mecanismos específicos devem agir para modular e moderar o sistema imune materno, impedindo que mulheres grávidas rejeitem seus fetos. Por algum motivo esse processo não ocorre provocando assim o aborto espontâneo.

Os prováveis “erros” ou “falhas” do sistema imune:

- Altos níveis de células NK na mucosa uterina, contribuem para uma resposta imune do tipo Th-1 ao invés da Th-2, ocasionando uma rejeição maior do produto conceitual; alterações na expressão trofoblástica do *HLA* de classe I, particularmente o *-G*, *-E* e os alelos *HLA-G*0104*, *-G*0105N* e *-G*01013*, se associam à expressão defeituosa ou diminuída destas, além de exercer interferência negativa na expressão e ação do *HLA-E*. Tais fatores resultariam na quebra da tolerância materna ao feto e consequente aborto;

- Baixa expressão de *HLA-G* de membrana em monócitos e linfócitos demonstrados corroboram com a teoria da “má adaptação imunológica”;

- A ausência de células Treg leva à perda gestacional devido a uma rejeição imunológica ao feto;

- As células *CD4+CD25high* é muito importante para criação de um ambiente imunotolerante, uma vez que essas células estão localizadas na região de íntimo contato materno-fetal, ou seja, na decídua. Já em casos de abortos espontâneos, elas estão em baixos níveis deciduais;

Em relação ao tratamento, existem alguns estudos demonstrando a falta de resultados que comprovem a total garantia dos mesmos como citados na revisão acima.

Portanto, conclui-se a necessidade de mais pesquisas direcionadas ao diagnóstico, tratamento e prevenção de Aborto Espontâneo de origem imunológica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Sarafana S, *et al.* Aspectos da Imunologia da Gravidez. *Acta Med Port* 2007; 20: 355-358.

Vianna P. Imunorregulação da Gestação: Rumo Ao Sucesso [Tese Doutorado]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociência, 2009.

Mondadori AG. Imunorregulação da Pré-Eclampsia: Papel da Molécula HLA-G e Funções Celulares Efetoras na Gestação [Trabalho Conclusão de Curso]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, 2010.

Alves C, *et al.* O Papel do Complexo Principal de Histocompatibilidade na Fisiologia da Gravidez e na Patogênese de Complicações Obstétricas. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.*, 2007, 7 (4): 357-363. Recife.

Michelon T, *et al.* Imunologia da Gestação. *Revista da Amrigs*, 2006, 50 (2): 145-151. Porto Alegre.

Daher S, Mattar R. Gestação: Um Fenômeno Imunológico?. *Rev. Bras. Alerg. Immunopatol.*, 2009, 32 (2): 63-67.

Lourenço NCV. Avaliação de Citocinas Pro e Anti-Inflamatórias e de Fatores Pro e Anti-Angiogênicos em Placenta de Gestantes com Pré-Eclampsia [Tese Doutorado]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociência, 2009.

Gerasimenko T. Sistema Imunológico de Fetos Funciona de uma Forma Muito Diferente. *Ciência Diária* [Internet], 2010 Dez [citado 2012 Set 18]; Disponível em: <http://Blogs.Estadao.Com.Br/Ciencia-Diaria/Sistema-Imunologico-De-Fetos-Funciona-De-Uma-Forma-Muito-Diferente-De-Adultos/>

Rosillo MGR, Robledo GBV. Mecanismos Inmunológicos Involucrados En El Embarazo. *Ginecol Obstet Mex*, 2012; 80(5): 332-340. México.

Gonçalves SP. Imunologia Reprodutiva na Prática Clínica: Uma Visão Crítica. *Femina*, 2008, 36 (3): 151-158.

Filho EAF, Oliveira VM, Maia TL. Efeitos Adversos Materno-Fetais Associados às Trombofilias e a Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide. *Femina*, 2008, 36 (4): 223-229.

Rodriguez SV, *et al.* Mecanismos De Tolerancia Inmunológica En El Embarazo. *Perinatol Reprod Hum*, 2011; 25 (1): 39-45. México.

Silva CMV. Imunologia na Reprodução [Trabalho Conclusão Pós Graduação]. Brasília, 2008.

Cetano MR. Fatores de Prognóstico Gestacional em Mulheres com Aborto Espontâneo Recorrente [Dissertação de Mestrado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, 2004.

Bellelis P, Carvalho MHB, Zugaib M. Aborto de causa aloimune: diagnóstico e tratamento. *Femina*, 2009, 37 (5): 261-266

Barini R, *et al.* Revisão sobre as diferentes etiologias no aborto espontâneo recorrente. *Femina*, 2006, 34 (8): 533 -536.

Neves C, Medina JL, Delgado JL. Alterações Endócrinas e Imuno-modulação na gravidez. *Arquivos de medicina*, 2007, 21 (5/6): 175-182