

Papel da Apoptose em Obstetrícia

Antonio Braga^{1,2,3,4,6}

Leda Ferraz^{1,2}

Marcelo Burlá^{1,2,3}

Fernanda Freitas^{1,2}

Patrícia de Fátima Lopes^{1,5}

Joffre Amim-Júnior^{1,4}

Jorge Rezende-Filho^{1,4}

Izildinha Maestá⁶

RESUMO

Apoptose, ou morte celular programada, é um mecanismo fisiológico universal entre mamíferos que regula o equilíbrio entre proliferação e morte celular a fim de manter a homeostase tecidual. Nesse processo, a apoptose poderá ser iniciada intrinsecamente por via mitocondrial ou, extrinsecamente, mediada por sinalização via receptor de morte ou em resposta a elementos exógenos como citocinas e processos não excludentes, complementares e com ativação cruzada. As moléculas envolvidas no controle das vias de ativação da apoptose são as proteínas anti, pró-apoptóticas e caspases. Esse fenômeno biológico, além de desempenhar um papel importante no controle de diversos processos vitais, está associado a inúmeras complicações da gravidez como toxemia, crescimento intrauterino restrito, parto pré-termo, diabetes gestacional, abortamento, gravidez ectópica e a transformação maligna da mola hidatiforme. No denominador comum dessas doenças está o desconhecimento de sua etiopatogenia e o desenvolvimento/funcionamento placentário anormal. Compreender todas essas alterações deverá interessar não apenas ao pesquisador dessas moléstias, mas também aos clínicos que tratam essas doenças no intuito de se incorporar novas tecnologias na rotina médica e na melhoria das perspectivas prognósticas e terapêuticas dentro da obstetrícia.

Descritores:

Apoptose; Gravidez; Obstetrícia

ABSTRACT

Apoptosis, or programmed cell death, is a universal physiological mechanism in mammals, which regulates the balance between cell proliferation and death in order to maintain tissue homeostasis. In this process, apoptosis can be initiated intrinsically or extrinsically by mitochondrial pathway, mediated by death receptor signaling or in response to exogenous factors such as cytokines and processes not mutually exclusive, complementary and cross-activation. The molecules involved in the control of apoptosis activation pathways are anti and pro-apoptotic proteins as well as caspases. This biological phenomenon, besides play an important role in the control of many vital processes, is associated with many complications of pregnancy such as toxemia, intrauterine growth, preterm birth, gestational diabetes, miscarriage, ectopic pregnancy and malignant in transformation hydatiform mole. The common denominator of these diseases is the lack of knowledge about its pathogenesis and development/abnormal placental function. Understand all these changes should interest not only to the researchers, but also for clinicians who treat these diseases in order to incorporate new technologies in the medical routine and in improving prognostic and therapeutic perspectives in obstetrics.

Keywords:

Apoptosis; Pregnancy; Obstetrics

1,4. Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **2,3,5.** Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil. **6.** Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil. **Autor correspondente:** Professor Dr. Antônio Braga. Rua das Laranjeiras, 180, 22240-003, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. bragamed@yahoo.com.br. **Data de Submissão:** 29/06/2016. **Data de Aprovação:** 01/08/2016.

INTRODUÇÃO

A apoptose caracteriza a morte celular programada, termo cunhado por Lockshin & Williams, 1964, em alusão ao grego “queda das folhas das árvores”.⁽¹⁾ Trata-se de mecanismo fisiológico universal entre mamíferos que regula o equilíbrio entre proliferação e morte celular a fim de manter a homeostase tecidual.

A apoptose envolve caminhos sinalizadores e microambiente superespecializados, descrito primeiramente por Kerr *et al.* (1972).⁽²⁾ A similaridade no processo de apoptose entre diferentes espécies e tecidos sugere que o mecanismo de controle seja altamente preservado. Seu entendimento é fundamental ao tocólogo devido às suas repercussões no desenvolvimento normal da gravidez, bem como na ocorrência de importantes complicações obstétricas.

A depender do estímulo, a apoptose poderá ser iniciada intrinsecamente por via mitocondrial ou, extrinsecamente, mediada por receptor de morte ou em resposta a elementos exógenos como citocinas, processos não excludentes, complementares e com ativação cruzada.⁽³⁾ Ambas as vias culminam na ativação de cisteína-proteases aspartato específicas, denominadas caspases (*cysteine – aspartic acid – proteases*), encarregadas de mediar a morte celular por proteólise no resíduo aminoácido aspartato. São descritas 14 enzimas proteolíticas, subdivididas em caspases iniciadoras (2, 7, 9, 10) e efetoras (3, 6, 7). Para contrabalançar esse processo, muitos são os inibidores endógenos da ativação das caspases como as proteínas inibidoras FLICE-like (caspase 8) – FLIPs, inibidores de apoptose – IAPs e membros da família anti-apoptótica Bcl-2.⁽³⁾

Ainda que a apoptose seja fundamental no desenvolvimento placentário normal, sua ação também está presente nos desvios do funcionamento placentário. Complicações da gravidez como a toxemia, o crescimento intrauterino restrito (CIR), parto pré-termo, diabetes gestacional, abortamento, gravidez ectópica e transformação maligna da mola hidatiforme (MH) são responsáveis por grande parte das complicações obstétricas e por significativa parcela das causas de morbi-mortalidade materna e perinatal. No denominador comum dessas doenças está o desconhecimento de sua etiopatogenia e o desen-

volvimento/funcionamento placentário anormal. Compreender o papel da apoptose nos processos fisiológicos e fisiopatológicos em Obstetrícia será objeto desse artigo.

APOPTOSE NA GESTAÇÃO NORMAL

O desenvolvimento placentário normal depende da capacidade trofoblástica de diferenciação e invasão. Nesse processo, há rápida divisão celular a fim de formar a interface entre mãe e concepto, bem como invadir a decídua e remodelar as arteríolas espiraladas, transformando-as de vasos de resistência para de capacitância, garantindo adequado aporte sanguíneo para desenvolvimento do feto.⁽⁴⁾ Sob essa égide, a placenta apresenta-se como órgão em constante remodelamento tecidual em que a apoptose é o processo-chave dessas modificações, detalhadamente descritos a seguir.

Aposição e adesão do trofoblasto

A implantação do zigoto à decídua é o primeiro papel da apoptose na gestação. O processo de implantação consiste em três fases consecutivas: aposição, adesão e invasão do ovo, estando a apoptose intimamente envolvida nessas situações.

Na aposição, pré-adesão, há interação entre blastocisto e decídua. Demonstrou-se que a presença de blastocisto reduziu a porcentagem de apoptose de células epiteliais do endométrio humano (CEEh) quando comparado à cultura de CEEh sem blastocisto. Foi sugerido que o embrião produziria fatores anti-apoptóticos que promoveriam melhores condições de adesão do trofoblasto à decídua.⁽⁴⁾

Uma vez aderido, todavia, é observada importante reação de apoptose ao longo do sítio de implantação, fazendo-se pensar que o trofoblasto tenha atuação apoptótica parácrina no endométrio decidualizado. Essa ação decorreria do sistema Fas/FasL (*First apoptosis signal / First apoptosis signal Ligant*), que são, respectivamente, uma proteína e seu ligante, relacionados ao processo de apoptose.^(4,5) Grande parte da decídua expressa Fas em sua superfície e o FasL é produzido pelo trofoblasto.

Por ocasião da invasão do blastocisto, há ligação entre Fas/FasL e conseqüente apoptose, permitindo que o embrião quebre a barreira das CEEh, aninhando-se na intimidade decidual. Na presença de anticorpos bloqueadores



anti-Fas, observou-se que adesão e crescimento do trofoblasto eram significativamente reduzidos, em culturas de CEEh com blastocisto de rato, quando comparado com culturas controle sem anti-Fas.⁽⁵⁾

Invasão do trofoblasto extraviloso e transformação da arteríola espiralada

O trofoblasto pode ser dividido em duas populações distintas: viloso e extraviloso. O trofoblasto viloso corresponde às células do citotrofoblasto que se fundem em uma camada de células multinucleadas, o sinciotrofoblasto, que é a segunda camada de trofoblasto em contato direto com a circulação materna. Já o trofoblasto extraviloso agrupa população de células do citotrofoblasto especializadas, capazes de invadir a decídua e remodelar os vasos uterinos a fim de estabelecer adequado aporte sanguíneo ao feto. É de hábito subdividir o trofoblasto extraviloso em linhagem celular intersticial, que invade o interstício ou o miométrio, e endovascular, que se infiltra e modifica as arteríolas espiraladas.

É sabido que o trofoblasto extraviloso infiltra as arteríolas espiraladas, migrando através da luz vascular, promovendo verdadeira destruição da camada músculo-elástica desses vasos. Tem-se sugerido que essa transformação vascular é mediada pela indução de apoptose nas células endoteliais da intimidade vascular, desencadeada pela invasão trofoblástica. Foi demonstrado que apenas as arteríolas que exibiam trofoblasto em sua luz apresentavam as modificações endoteliais típicas da gravidez.⁽⁴⁾ Nessas arteríolas, ainda foi encontrada a presença de enzima associada à apoptose (poli-ADP-ribose-polimerase).

A apoptose na arteríola espiralada parece ser mediada pelo sistema Fas/FasL, uma vez que o endotélio expressa Fas e a presença de anticorpos bloqueadores anti-FasL impedem as modificações na musculatura lisa endotelial.⁽⁵⁾ Defeitos nesse processo podem explicar anomalias na transformação das arteríolas espiraladas, arroladas em complicações obstétricas, como a toxemia gravídica, melhor analisada adiante.

Tolerância imunológica materna

Há meio século, o feto era considerado um aloenxerto que devia evadir-se da resposta imunológica para adquirir êxito. Sabe-se hoje que essa relação é modulada pela tolerância materno-placentária.

O trofoblasto, por exibir antígenos paternos, *non-self* ao sistema imunológico da grávida, deveria, juntamente

com o ovo, ser rejeitado pelo organismo materno. Felizmente não é o que acontece pelo geral. Muitas teorias propõem-se explicar esse privilégio imunológico do ovo através da expressão de moléculas de antígeno leucocitário humano (HLA) não-clássicas e proteínas de complemento regulatórias de deleção de determinados tipos de linfócitos T e imunossupressão mediada por linfócitos T regulatórios.⁽⁶⁾ De fato, a apoptose em leucócitos, notadamente em linfócitos T, tem sido encontrada no espaço intervilloso de placentas normais e a deleção de linfócitos T é relatada durante a gravidez⁽⁶⁾, demonstrando claramente que o sistema imune materno não é indiferente ao feto, como se pensava em passado recente.

Pelo fato do sistema Fas/FasL ser encarregado de remover os linfócitos T da circulação após a resposta imune, tem-se sugerido que esse mesmo mecanismo esteja envolvido na supressão de células T envolvidas no reconhecimento de antígenos paternos.⁽⁴⁾ Estudo demonstrou que células trofoblásticas obtidas de placentas de ratas foram capazes de induzir apoptose em células T que expressavam Fas, diferentemente de linfócitos T sem Fas. Ao contrário, em células trofoblásticas purificadas de placentas de ratas que não expressavam FasL (por apresentar doença linfoproliferativa generalizada – homozigose *gld*), não foi observada apoptose na presença de linfócito T Fas +.⁽⁴⁾

De forma interessante, certas linhagens tumorais também expressam FasL como uma forma de driblar o sistema imune, induzindo apoptose mediada pelo sistema Fas/FasL nas células de defesa que reconheçam o tumor, processo chamado “contra-ataque Fas”.⁽⁷⁾ Foi ainda demonstrado que FasL é expressa no citoplasma de células de câncer de ovário, da mesma forma que em células trofoblásticas do primeiro trimestre. Essas células podem secretar formas funcionais de FasL envolvidas em microvesículas. Após a ruptura destas vesículas, FasL é capaz de induzir apoptose em células imunes na gravidez, sugerindo ser esse um dos mecanismos promotores da tolerância materna aos antígenos paternos e da prevenção da rejeição fetal durante gravidez.⁽⁴⁾

Diferenciação e renovação do trofoblasto viloso

Outra importante função da apoptose durante a gravidez é a regulação do crescimento e renovação da parte vilosa da placenta. O trofoblasto viloso é uma estrutura ativa que está em constante renovação celular em um

bem orquestrado processo de remodelação tecidual, regido pela apoptose. Contudo, a porcentagem de células trofoblásticas que sofre apoptose aumenta com a evolução da gestação, sugerindo que esse processo é regulado pelo desenvolvimento da gravidez, ligado à senescência placentária.⁽⁴⁾ Atuais desvios obstétricos da normalidade, como na toxemia ou no CIR, tem-se observado grande incidência de apoptose no trofoblasto viloso, sugerindo que a apropriada regulação da apoptose é importante para o curso de gravidez normal.⁽⁴⁾

As células do sinciotrofoblasto não possuem capacidade de proliferação, dependendo assim do citotrofoblasto para seu crescimento e renovação celular. Esse processo inicia-se no citotrofoblasto, com diferenciação de suas células, culminando na fusão dessas células diferenciadas com o sinciotrofoblasto. Após a fusão sincicial, um segundo processo de diferenciação ocorre na camada de células mais distais do sinciotrofoblasto, onde cada núcleo envelhecido é colocado dentro de um nó sincicial, expelido pela placenta. Esses nós sinciciais ao caírem na circulação materna constituirão os êmbolos trofoblásticos, completando assim a renovação do trofoblasto viloso. Muitos componentes da cascata de apoptose são expressos nesses processos. Estudos recentes mostraram o papel das caspases como importantes mediadoras no processo de diferenciação do citotrofoblasto e na eliminação de núcleos senis do sinciotrofoblasto.⁽⁴⁾

APOPTOSE E COMPLICAÇÕES NA GRAVIDEZ

Apesar dos avanços no conhecimento das intercorrências no ciclo gravídico-puerperal, a compreensão da etiopatogenia de muitas doenças próprias à gravidez ainda permanece obscura. Em muitas dessas anomalias, como a toxemia, CIR, parto pré-termo, diabetes gestacional, abortamento, gravidez ectópica e a transformação maligna da mola hidatiforme, desvios nos mecanismos fisiológicos da apoptose são observados e podem ser relacionados à etiopatogenia dessas intercorrências obstétricas. Entender suas correlações deverá interessar não apenas ao pesquisador dessas moléstias, mas aos clínicos que tratam essas doenças.

Apoptose na toxemia gravídica

Ainda que ocorra em 7-10% das gravidezes, a toxemia gravídica é uma importante causa de obituário materno-perinatal, cuja etiologia permanece obscura, mantendo atual o adágio "toxemia é doença das teorias".

A toxemia gravídica é hoje entendida como doença em dois estágios, iniciada por placentação defeituosa que ocasionará estresse oxidativo e deflagrará as alterações endoteliais responsáveis pelas anomalias clínicas observadas nessa afecção (hipertensão, proteinúria, coagulopatias e lesão hepática). No bojo da disfunção placentária está a ausência da segunda onda de migração do fluxo trofoblástico, impedindo a destruição da capa músculo-elástica da arteríola espiralada do segmento miometrial.

Estudos encontraram níveis elevados de apoptose em placentas de pacientes com toxemia quando comparadas com controles normais.⁽⁸⁾ Já foi dito que a apoptose na arteríola espiralada parece ser mediada pelo sistema Fas/FasL.⁽⁴⁾ Normalmente, FasL expresso no trofoblasto induz apoptose nos linfócitos T circulantes, permitindo que o trofoblasto endovascular penetre na intimidade endotelial da arteríola espiralada, sem ativação de resposta imunológica à presença do aloenxerto. Já a expressão de Fas no trofoblasto extraviloso determina que o linfócito T, que expressa FasL, induza apoptose no citotrofoblasto a fim de regular o grau de invasão miometrial.

Nos casos de maior expressão de Fas no trofoblasto, há apoptose acentuada do citotrofoblasto que será incapaz de migrar pelas arteríolas espiraladas e promover as transformações vasculares necessárias ao maior aporte sanguíneo na gravidez, determinando alterações endoteliais típicas de estresse oxidativo.⁽⁴⁾ Os níveis diminuídos da proteína Bcl-2 acentuam a ação do sistema Fas/FasL, que inibe a apoptose, como encontrado nas placentas de pacientes com toxemia.⁽⁴⁾

O excesso de macrófago ao redor e dentro da parede das arteríolas espiraladas que não receberam a migração trofoblástica também foi observado em pacientes com pré-eclâmpsia. Ainda que sua presença não possa ser explicada, esses macrófagos liberavam citocinas, notadamente fator de necrose tumoral (TNF)- α , capazes de induzir apoptose mediada pela via do receptor 1 do TNF, presente apenas no citotrofoblasto, fortalecendo a anomalia placentária.⁽⁹⁾

Uma vez que o adequado suporte sanguíneo placentário esteja ausente, o estresse oxidativo vai promover aumento na expressão de TNF, que pode estar envolvida na ativação de macrófagos e lesões ateroscleróticas.

Níveis elevados de apoptose na pré-eclâmpsia também estão relacionados ao colapso da integridade vilosa,



determinando maior deportação de fragmento de sinciotrofoblasto para a corrente sanguínea materna,⁽⁴⁾ que concorrerá para ativação endotelial e suas nefastas consequências clínicas.

Apoptose e crescimento intrauterino restrito

A condição de incapacidade do feto alcançar seu potencial de crescimento genético devido a um ambiente uterino desfavorável caracteriza o CIR, cursando com elevado risco para mortalidade perinatal. A fisiopatogenia do CIR é, em muitos casos, atribuída à má perfusão placentária, gerando anóxia fetal. A toxemia, o tabagismo e a anemia grave podem determinar essa anomalia, mas a disfunção placentária ocupa espaço central nessa doença.

Há relatos que placentas das pacientes com fetos que apresentavam CIR manifestavam apoptose exacerbada, quando comparadas às placentas de pacientes com gravidez normal.⁽⁴⁾ Demonstrou-se que hipóxia induzia apoptose em cultura de trofoblasto humano, tanto pelo aumento de fatores pró-apoptóticos como a proteína p53 e Bax (*B-cell lymphoma 2 associated X protein*), também chamada proteína reguladora da apoptose, quanto pela diminuição da expressão de proteínas anti-apoptóticas como Bcl-2, ainda que *in vivo* apenas níveis elevados de p53 fossem encontrados.⁽¹⁰⁾

Foi ainda encontrada intensa atuação do sistema Fas/FasL, bem como presença discreta de FasL na decídua de pacientes com fetos apresentando CIR, indicando redução no privilégio imunológico dessa região e consequente acentuação da apoptose. Esse aumento da apoptose, determinando redução da massa trofoblástica disponível para regular as trocas materno-fetais, pode contribuir para disfunção placentária e culminar com CIR.⁽⁴⁾

Apoptose e parto pré-termo

Parto pré-termo é aquele que se antecipa à 37ª semana de gravidez, causando importante repercussão na morbimortalidade perinatal e mobilizando considerável recurso hospitalar para garantir a sobrevivência do prematuro. Ainda que cerca de 25% destes partos ocorram após infecção da cavidade amniótica, mais de 60% deles permanecem com etiologia desconhecida.⁽¹¹⁾

Mesmo na ausência de infecção, citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β e TNF parecem atuar de modo crucial na ativação do útero quiescente. Essas citocinas estimulam a produção de proteínas de ativação uterina, como a prostaglandina, notadamente a PGF2 α , metaloproteínas da

matriz (MMP) e receptores de ocitocina. Caberá ao TNF estimular expressão de ciclo-oxigenase-2 trofoblástica a produzir prostaglandina, ativando MMP, notadamente as tipo 2 e 9, encarregadas de promover degradação da matriz extracelular da membrana corio-amniótica.⁽⁴⁾ Experimentos *in vivo* com macacos fêmeas mostraram que injeção de TNF e IL-1 β foi capaz de deflagrar trabalho de parto pré-termo⁽¹²⁾, mesmo ausente infecção.

Outros marcadores de apoptose também parecem estar envolvidos no parto pré-termo, como Bcl-2, fator anti-apoptótico, cuja expressão diminuída esteve significativamente marcada em placentas no pré-termo, quando comparadas àquelas do termo.⁽¹³⁾

Da mesma maneira, causa importante de parto pré-termo repousa na rotura prematura de membranas pré-termo (RPMP), intimamente relacionada com ativação das MMP e degradação da membrana, deflagrada pela apoptose. Estudos sugerem que o principal fator indutor da apoptose nos casos de RPMP é o lipossacarídeo das bactérias gram-negativas, que estimula o TNF- α e inicia cascata apoptótica, atribuindo à infecção papel fundamental nesses casos. Independentemente da causa, parece haver consenso de que apoptose está aumentada nos casos de RPMP.⁽⁴⁾

Grande avanço na prevenção do parto pré-termo está na suplementação de progesterona às mulheres com alto risco para o parto pré-termo, não obstante seu mecanismo ainda seja obscuro. Há, todavia, uma hipótese que associa a capacidade da progesterona de bloquear citocinas pró-inflamatórias (como TNF alfa), capazes de induzir a apoptose na membrana fetal – e com isso a rotura prematura das membranas, desencadeando o trabalho de parto pré-termo.⁽¹¹⁾

Apoptose e diabetes gestacional

Diabetes gestacional é uma desordem confinada à gravidez, caracterizada por elevada resistência insulínica periférica devido à ação do lactogênio placentário humano, cuja ação se faz notar entre 24-28 semanas de gravidez. Esse estado hiperglicêmico inibe a proliferação trofoblástica através da modulação da atividade mitocondrial.⁽¹⁴⁾

Sgarbosa *et al.* (2006)⁽¹⁵⁾, ao comparar incidência de apoptose em placentas de pacientes normoglicêmicas, com hiperglicemia diária e com diabetes gestacional, encontrou níveis significativamente elevados de morte celular programada nas placentas das pacientes com

diabetes gestacional, bem como níveis diminuídos do fator anti-apoptótico Bcl-2. Moley (2001)⁽¹⁴⁾ relatou que a hiperglicemia elevava o p53, promovendo a via apoptótica mitocondrial, bem como diminuiria a expressão dos transportadores de glicose, GLUT 1, 2 e 3, gerando estresse oxidativo induzido pela privação celular de glicose, deflagrando liberação de Bax (proteína pró-apoptótica) e ativação de caspases.

Apoptose e abortamento

A reprodução humana é processo extremamente ineficiente quando comparada a outros mamíferos. Cerca de 70% das gravidezes são perdidas antes de alcançar 12 semanas, 85% em falha de implantação e 15% em abortamento clínico. Apesar do abortamento apresentar muitas causas como as genéticas, imunológicas, anatômicas, hormonais e infecciosas, em grande número de casos a etiologia permanece desconhecida. Parece que esses abortamentos cursam com limitada invasão do trofoblasto extraviloso, resultando em adesão incompleta nas arteríolas espiraladas durante as primeiras semanas de gravidez.⁽⁴⁾ Essas alterações promovem estresse oxidativo em época que as defesas antioxidantes da placenta são inadequadas, resultando em anomalia no desenvolvimento placentário e abortamento.

Minasi *et al.* (2007)⁽¹⁶⁾ encontraram associação entre abortamento em humanos e presença de FasL nos linfócitos deciduais, aumento da expressão de Fas no trofoblasto extraviloso e níveis elevados de apoptose no trofoblasto intersticial. Os autores propuseram que esses fenômenos eram mediados pelo neuropeptídeo hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e seu principal receptor, urocortina, capazes de potencializar os efeitos citotóxicos do FasL dos linfócitos deciduais contra as células do trofoblasto extraviloso que expressam Fas.

O papel dos desvios da apoptose parece ser mais marcante ainda em se tratando de abortamento de repetição. Nesses casos há aumento de citocinas T helper (Th) 1 e diminuição das Th2. A expressão de citocinas pró-inflamatórias (Th1) como TNF e IL-1 favorece o ovo durante período pré-implantacional e nas primeiras semanas de gestação. A gravidez, contudo, está associada ao decréscimo nos níveis de Th1 e elevação das citocinas Th2, de natureza anti-inflamatória, importantes para reduzir rejeição do aloenxerto fetal. Havendo liberação exagerada de citocinas Th1, o equilíbrio entre as citocinas Th1/Th2 é quebrado e o processo de abortamento, induzido por apoptose, pode ser desencadeado. O pro-

cesso infeccioso pode motivar essa situação pela limitada secreção de HLA-G pelo trofoblasto ou ainda pela inexpressiva presença de células NK na decídua.⁽⁴⁾

Fato é que são observados níveis 40 a 70% mais elevados de TNF e interferon (INF) γ em placentas de pacientes com abortamento do que nas de controle, bem como níveis reduzidos de receptores de TNF solúveis.⁽⁴⁾ Promissor trabalho encontrou melhora nos resultados perinatais entre mulheres com abortamento de repetição tratadas com inibidores do TNF⁽¹⁷⁾, apontando para perspectivas terapêuticas em futuro breve.

Apoptose e gravidez ectópica

A gravidez ectópica, 95% das vezes tubária, tumultua cerca de 1% das gestações, não raro evoluindo para rotura e abdome agudo. Na gravidez tubária, o ovo penetra no epitélio, aninhando-se na camada muscular, estando ausente a submucosa nesse órgão. Há reação decidual na tuba, ainda que mínima, quando comparada ao endométrio. O embrião frequentemente não subsiste, sendo relacionada a apoptose do sinciotrofoblasto como causa importante para esse decesso.

De fato, parece que na ausência da decídua e do status imunológico privilegiado inerente à decidualização, o sinciotrofoblasto sofre morte celular, não mais provendo nutrição ao ovo e impedindo seu desenvolvimento.⁽⁴⁾

Kokawa *et al.* (1998)⁽¹⁸⁾ analisaram o comportamento trofoblástico na gravidez tubária, observando uma diminuição no índice apoptótico. Neste estudo, sugeriram que a capacidade mais agressiva de invadir a camada muscular da tuba, levando à sua rotura, é consequente à ilimitada capacidade de proliferação trofoblástica e ausência da regulação apoptótica. Tem-se atribuído à elevada expressão de Bcl-2, proteína anti-apoptótica no sinciotrofoblasto, causa predisponente ao acidente hemorrágico da gravidez ectópica. Esses autores relacionaram a possibilidade do Bcl-2 de servir como marcador de risco para discriminar os casos de maior gravidade para a rotura tubária.

Recente trabalho relacionou o citrato de clomifeno, em uso prolongado, com gravidez tubária.⁽¹⁹⁾ Esse medicamento, muito utilizado em reprodução assistida, é capaz, em altas doses, de induzir apoptose em células ciliares ístmicas de ratas, bem como diminuir a velocidade de transporte do ovo na tuba uterina, levando à gravidez ectópica. Em humanos esse medicamento não é indene, já conhecida sua associação com gravidez tubária.⁽⁴⁾



Apoptose e doença trofoblástica gestacional

Doença trofoblástica gestacional (DTG) é blastoma que se origina do tecido de revestimento das vilosidades coriárias, que se exhibe sob formas clínicas benignas (MH – parcial e completa) e malignas (mola invasora, coriocarcinoma, tumor trofoblástico do sítio placentário e tumor trofoblástico epitelióide), caracterizando a neoplasia trofoblástica gestacional (NTG).⁽²⁰⁾ A presença invulgar de marcador biológico-tumoral, gonadotrofina coriônica – hCG, irá indicar a remissão espontânea da DTG ou sua progressão para NTG, que ocorre em 5% das molas parciais e 20% das molas completas, em que se faz necessária quimioterapia para promover a cura das pacientes.⁽²⁰⁾

Antever o desfecho da MH preocupa aqueles que lidam com esta anomalia trofoblástica.⁽²⁰⁾ Estes afirmam que conhecer as pacientes com MH, que vão cursar com NTG, significaria instaurar segmento pós-molar mais sistemático a fim de despistar a transformação maligna. Os entusiastas da quimioterapia profilática argumentam que se houvesse método sensível e específico no rastreio prognóstico das pacientes que iriam evoluir para NTG, essas poderiam ser candidatas à quimioprofilaxia.

Por outro lado, conhecer as pacientes com probabilidade mínima de cursar com DTG persistente permitiria acompanhamento mais espreado e alta precoce, diminuindo a angústia do seguimento e seu custo hospitalar.⁽²⁰⁾

Exceto a avaliação seriada da hCG, muitos parâmetros falharam em prever o desenvolvimento de NTG pós-molar. A morfologia histológica do trofoblasto e a avaliação citométrica de sua ploidia forneceram predição limitada da transformação maligna da mola hidatiforme. Outros estudos que avaliaram marcadores de proliferação celular como o antígeno nuclear de proliferação celular e o antígeno ki-67, bem como vários oncogenes (p53, mdm2, p21_{WAF1/CIP1} e bcl-2), foram incapazes de antever as MH que iriam progredir para NTG.⁽²¹⁾

Poucos trabalhos na literatura analisam o papel da apoptose no prognóstico da MH. Wong *et al.* (1999)⁽²²⁾ foram pioneiros em demonstrar que o índice apoptótico esteve elevado nos casos de remissão espontânea da MH, indicando que a apoptose poderá fornecer valor prognóstico à doença.

Utilizando-se do anticorpo monoclonal M30 CythoDeath, capaz de detectar o sítio de clivagem da caspase 3 e 7 na citoqueratina 18, Chiu *et al.* (2001)⁽²³⁾ observaram que

a média do índice apoptótico era maior nas MH e coriocarcinomas do que nas placentas normais e nos abortos. Concluíram que quanto menor a presença do M30 na mola hidatiforme, maior a incidência de transformação maligna do trofoblasto.

Harma *et al.* (2005)⁽²⁴⁾ estudaram a presença de caspase 3 e compararam seu valor prognóstico na MH completa e na NTG. Analisaram três pacientes com mola completa, duas pacientes com NTG e três placentas obtidas após o parto de gravidezes normais de mulheres saudáveis, como grupo controle. Os resultados mostraram níveis elevados de caspase 3 na DTG/NTG quando comparados ao grupo de controle. Concluíram os autores, de forma diversa aos trabalhos anteriores, que níveis baixos de caspase 3 foram mais frequentes nas MH do que nas NTG. Ainda assim, ressaltaram que mais estudos devam ser realizados, com casuística mais encorpada, para que conclusões mais sólidas possam ser obtidas.

Fong *et al.* (2006)⁽²⁵⁾ analisaram a oncoexpressão de caspases 8 e 10 em linhagens de células de coriocarcinoma e placentas normais de primeiro trimestre. Observaram que estas caspases tiveram presença diminuída nos coriocarcinomas em relação a outros tecidos trofoblásticos.

Em um estudo retrospectivo com mulheres brasileiras com mola hidatiforme completa, acompanhadas entre 1995 e 2014 nos Centros de Referência em DTG do Rio de Janeiro e de Botucatu, onde se avaliou marcadores pró-apoptótico (caspase 3) e anti-apoptótico (survivin), pode-se concluir que o índice apoptótico obtido pela análise da imunoexpressão da caspase 3 esteve significativamente associado à ocorrência de NTG pós-molar.⁽²¹⁾

4. CONCLUSÃO

Como visto, o papel da apoptose em obstetrícia é essencial para o desenvolvimento normal da gestação, bem como intimamente ligada às grandes síndromes obstétricas.

Compreender esses pormenores será de valia àqueles ligados à pesquisa na área básica em tocologia, vislumbradas aqui inúmeras possibilidades para investigações futuras. Não obstante, esse conhecimento deverá ainda fazer parte das ferramentas do obstetra ligado à assistência, mercê da rápida incorporação de novas tecnologias na rotina médica e das perspectivas alvissareiras, prognósticas e terapêuticas, que a apoptose traz para a Obstetrícia.

REFERÊNCIAS

1. Lockshin RA, Williams CM. Programmed cell death. II. Endocrine potentiation of the breakdown of the intersegmental muscles of silkworms. *J Insect Physiol* [periódicos na Internet] 1964[acesso em 7 mai 2017]; 10(4): 643-649. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022191064900344>
2. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* [periódicos na Internet] 1972 [acesso em 7 mai 2017]; 26(4): 239-57. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4561027>
3. Fadeel B, Orrenius S. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in human disease. *J Intern Med* [periódicos na Internet] 2005[acesso em 7 mai 2017]; 258(6): 479-517. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16313474>
4. Straszewski-Chavez SL, Abrahams VM, Mor G. The role of apoptosis in the regulation of trophoblast survival and differentiation during pregnancy. *Endocrine Reviews* [periódicos na Internet] 2005[acesso em 7 mai 2017]; 26(7): 877-97. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15901666>
5. Boeddeker SJ, Hess AP. The role of apoptosis in human embryo implantation. *J Reprod Immunol*. [periódicos na Internet] 2015[acesso em 7 mai 2017]; 108:114-22. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25779030?report=docsum>
6. Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat Immunol* [periódicos na Internet] 2004[acesso em 7 mai 2017]; 5(3): 266-71. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14758358>
7. O'Connell J, Bennett MW, O'Sullivan GC, Collins JK, Shanahan F. The Fas counterattack: cancer as a site of immune privilege. *Immunol Today* [periódicos na Internet] 1999[acesso em 7 mai 2017]; 20(1): 46-52. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10081230>
8. Can M, Guven B, Bektas S, Arkan I. Oxidative stress and apoptosis in preeclampsia. *Tissue Cell*. [periódicos na Internet] 2014[acesso em 7 mai 2017]; Dec;46(6):477-81. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25200618>
9. Reister F, Frank HG, Kingdom JCP, Heyl W, Kaufmann P, Rath W, et al. Macrophage-induced apoptosis limits endovascular trophoblast invasion in the uterine wall of preeclamptic women. *Lab Invest* [periódicos na Internet] 2001[acesso em 7 mai 2017]; 81(8): 1143-52. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11502865>
10. Heazell AE, Sharp AN, Baker PN, Crocker IP. Intra-uterine growth restriction is associated with increased apoptosis and altered expression of proteins in the p53 pathway in villous trophoblast. *Apoptosis*. [periódicos na Internet] 2011[acesso em 7 mai 2017]; 16(2):135-44. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21052841>
11. Luo G, Abrahams VM, Tadesse S, Funai EF, Hodgson EJ, Gao J, et al. Progesterone inhibits basal and TNF-alpha-induced apoptosis in fetal membranes: a novel mechanism to explain progesterone-mediated prevention of preterm birth. *Reprod Sci*. [periódicos na Internet] 2010[acesso em 7 mai 2017]; 17(6):532-9. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20360593>
12. Sadowsky DW, Adams KM, Gravett MG, Witkin SS, Novy MJ. Preterm labor is induced by intraamniotic infusions of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha but not by interleukin-6 or interleukin-8 in a nonhuman primate model. *Am J Obstet Gynecol* [periódicos na Internet] 2006[acesso em 7 mai 2017]; 195(6): 1578-89. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17132473>
13. Daher S, Guimarães AJ, Mattar R, Ishigai MMS, Barreiro EG, Bevilacqua E. Bcl-2 and Bax Expressions in Pre-Term, Term and Post-Term. *Am J Reprod Immunol* [periódicos na Internet] 2008[acesso em 7 mai 2017]; 60(2): 172-8. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18705844>
14. Moley KH. Hyperglycemia and apoptosis: mechanisms for congenital malformations and pregnancy loss in diabetic women. *Trends Endocrinol Metab* [periódicos na Internet] 2001[acesso em 7 mai 2017]; 12(2): 78-82. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11167126>
15. Sgarbosa F, Barbisan LF, Brasil MAM, Costa E, Calderon IMP, Gonçalves CR, et al. Changes in apoptosis and Bcl-2 expression in human hyperglycemic, term placental trophoblast. *Diab Resear Clin Pract* [periódicos na Internet] 2006[acesso em 7 mai 2017]; 73(2): 143-9. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16563550>
16. Minas V, Jescheke U, Kalantaridou SN, Richter DU, Reimer T, Mylonas I, et al. Abortion is associated with increased expression of FasL in decidual leukocytes and apoptosis of extravillous trophoblasts: a role for CRH and urocortin. *Mol Hum Reprod* [periódicos na Internet] 2007[acesso em 7 mai 2017]; 13(9): 663-73. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17704118>
17. Winger EE, Reed JL. Treatment with tumor necrosis factor inhibitors and intravenous immunoglobulin improves live birth rates in women with recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* [periódicos na Internet] 2008[acesso em 7 mai 2017]; 60(1): 8-16. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18422811>
18. Kokawa K, Shikone T, Nakano R. Apoptosis in human chorionic villi and decidua in normal and ectopic pregnancy. *Mol Hum Reprod* [periódicos na Internet] 1998[acesso em 7 mai 2017]; 4(1): 87-91. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9510017>
19. Shao R, Nutu M, Weijdegard B. Clomiphene citrate causes aberrant tubal apoptosis and estrogen receptor activation in rat fallopian tube: implications for tubal ectopic pregnancy. *Biol Reprod* [periódicos na Internet] 2009[acesso em 7 mai 2017]; 80(6): 1262-71. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19211805>
20. Seckl MJ, Sebire NJ, Fisher RA, Golfier F, Massuger L, Sessa C. ESMO Guidelines Working Group. Gestational trophoblastic disease: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. [periódicos na Internet] 2013[acesso em 7 mai 2017]; 24 (suppl 6):vi39-50. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23999759>
21. Braga A, Maestá I, Soares RR, Elias KM, Domingues MA, Barbisan LF, et al. Apoptotic index for prediction of post-molar gestational trophoblastic neoplasia. *Am J Obstet Gynecol*. [periódicos na Internet] 2016. [acesso em 7 mai 2017]pii: S0002-9378(16)30051-5. doi: 10.1016/j.ajog.2016.04.010. [Epub ahead of print]. PubMed PMID: 27094961. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27094961>
22. Wong SY, Ngan HY, Chan CCW, Cheung ANY. Apoptosis in gestational trophoblastic disease is correlated with clinical outcome and Bcl-2 expression but not Bax expression. *Mod Pathol* [periódicos na Internet] 1999[acesso em 7 mai 2017]; 12(11): 1025-33. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10574599>
23. Chiu PM, Ngan YS, Khoo US, Cheung AN. Apoptotic activity in gestational trophoblastic disease correlates with clinical outcome: assessment by the caspase-related M30 CytoDeath antibody. *Histopathology* [periódicos na Internet] 2001[acesso em 7 mai 2017]; 38(3): 243-9. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11260306>
24. Harma MI, Harma M, Dilsiz N. Western blot determination of caspase-3 apoptotic activity in complete hydatidiform mole and persistent trophoblastic disease. *J Turkish German Gynecol Assoc* [periódicos na Internet] 2005[acesso em 7 mai 2017]; 6(3): 226-8. Disponível em: http://journals.lww.com/ijgc/Citation/2004/09001/WESTERN_BLOT_DETERMINATION_OF_CASPASE_3_APOPTOTIC.175.aspx
25. Fong PY, Xue WC, Ngan HY, Chiu PM, Chan KY, Tsao SW, et al. Caspase activity is downregulated in choriocarcinoma: a cDNA array differential expression study. *J Clin Pathol* [periódicos na Internet] 2006 [acesso em 7 mai 2017]; 59(2): 179-83. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16443735>