

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 26/02/2028.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

Gabriela de Oliveira Franco

**ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES DE TNF SOBRE A POLARIZAÇÃO DE
MONÓCITOS EM GESTANTES PORTADORAS DE PRÉ-ECLÂPSIA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de
Mestra em Tocoginecologia.

Orientador: Prof. Titular José Carlos Peraçoli
Coorientadora: Dra. Vanessa Rocha Ribeiro Vasques

Botucatu
2026

Gabriela de Oliveira Franco

ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES DE TNF SOBRE A
POLARIZAÇÃO DE MONÓCITOS EM GESTANTES
PORTADORAS DE PRÉ-ECLÂMPsia

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestra em
Tocoginecologia.

Orientador: Prof. Titular José Carlos Peraçoli
Coorientadora: Dra. Vanessa Rocha Ribeiro Vasques

Botucatu
2026

F825e	Franco, Gabriela de Oliveira Envolvimento dos receptores de TNF sobre a polarização de monócitos em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia / Gabriela de Oliveira Franco. -- Botucatu, 2026 68 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu Orientador: José Carlos Peraçoli Coorientadora: Vanessa Rocha Ribeiro-Vasques 1. Pré-eclâmpsia. 2. Monócitos. 3. Fator de necrose tumoral. 4. Receptores de fator de necrose tumoral. 5. Citometria de fluxo. I. Título.
-------	---

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE GABRIELA DE OLIVEIRA FRANCO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TOCGINECOLOGIA, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 26 de fevereiro de 2026, às 14h, no(a) Sala da Pós-Graduação do Instituto de Biociências de Botucatu - IBB/UNESP, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de GABRIELA DE OLIVEIRA FRANCO, intitulada "ENVOLVIMENTO DE RECEPTORES DE TNF SOBRE A POLARIZAÇÃO DE MONÓCITOS EM GESTANTES PORTADORAS DE PRÉ-ECLÂMPSIA

". A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. JOSÉ CARLOS PERAÇOLI (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Ginecologia e Obstetrícia / UNESP / Câmpus de Botucatu - FMB, Profa. Dra. MARIA LAURA COSTA DO NASCIMENTO (Participação Virtual) do(a) Depto. de Tocoginecologia / FCM/Campinas - Unicamp, Profa. Dra. IRACILDA ZEPPONE CARLOS (Participação Presencial) do(a) Departamento de Análises Clínicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara da Unesp, Após a exposição pela mestranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA _____. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.


Prof. Dr. JOSÉ CARLOS PERAÇOLI

Financiamento



Bolsa FAPESP – Mestrado

Processo nº 2024/01285-3

Período de Vigência: agosto/2024 a fevereiro/2026

Bolsa FAPESP – BEPE - Mestrado

Processo nº 2025/05503-8

Período de Vigência: agosto/2025 a outubro/2025



Bolsa CAPES – Mestrado

Processo nº 88887.963899/2024-00

Período de Vigência: março/2024 a julho/2026

Trabalho realizado no Laboratório de Imunologia da Reprodução do Departamento de Genética, Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP.



—



Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, Lucimara e Silvio, que são meu alicerce e minha maior inspiração. Agradeço pelo amor incondicional, pelo apoio incansável e por nunca medirem esforços para que eu pudesse sonhar, crescer e alcançar meus objetivos. Tudo o que sou e tudo o que conquistei existem porque vocês sempre estiveram comigo. Obrigada!

“A família é um dos tesouros mais valiosos da humanidade”.

Papa João Paulo II



Agradecimentos



AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador, Prof. Titular. José Carlos Peraçoli, e à minha mentora, Profa. Titular Maria Terezinha Serrão Peraçoli, por me concederem a oportunidade de integrar seu grupo de pesquisa e por acreditarem e confiarem em mim. Referências pessoais e profissionais nas quais me inspiro diariamente. Agradeço profundamente por todo o apoio, carinho e pelos valiosos ensinamentos ao longo dessa trajetória.

“A educação é um ato de amor e, por isso, um ato de coragem”.

Paulo Freire

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me proporcionar perseverança durante todos os dias da minha vida.

Ao meu irmão, João Lazaro, pela presença, e apoio incondicional durante esse processo. Sou profundamente grata por poder caminhar ao seu lado e te ver crescer ano após ano.

Às minhas avós e avôs que já partiram. Sei que mesmo de longe continuam olhando e torcendo por mim.

À toda a minha família, meus tios e tias, primos e primas, que vibraram junto a mim por cada conquista e sempre torcem pelo meu crescimento.

À minha Coorientadora Vanessa Rocha Ribeiro Vasques, pela parceria, amizade e apoio constantes ao longo de toda esta trajetória. Sua disponibilidade, generosidade e dedicação foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço profundamente pela confiança, pelos ensinamentos compartilhados e por caminhar ao meu lado.

Às minhas amigas do Laboratório de Imunologia da Reprodução, Mariana e Patrícia, por me acompanharem durante o desenvolvimento desse trabalho, com profissionalismo, leveza e incentivo em todos os momentos. A caminhada não teria sido a mesma sem a presença de vocês no meu dia a dia.

Às minhas amigas, Beatriz, Tatiane, Luiza, Mayara, Jaqueline e Maria, por serem presença, apoio e acolhimento em todos os momentos. Obrigada por caminharem comigo, por ouvirem, incentivarem e tornarem essa jornada mais leve, mesmo nos dias mais difíceis. É muito especial crescer e acompanhar o crescimento de vocês.

Ao Dr. Gil Mor, meu supervisor de estágio no exterior, pela orientação, confiança e pela oportunidade de aprendizado científico e profissional. Agradeço a disponibilidade, os ensinamentos compartilhados e por contribuir de forma significativa para o meu crescimento acadêmico ao longo dessa experiência.

Aos amigos que fiz no exterior, pelo acolhimento, apoio e companheirismo que tornaram essa experiência mais leve e especial.

À Dra. Larissa Ragozo Cardoso de Oliveira, por me auxiliar na elaboração de uma parte fundamental do meu trabalho, por destinar o seu tempo para participar desta pesquisa.

À amiga Dra. Priscila Rezeck Nunes e ao amigo Me. Luis Fernando Pereira Passetti, membros do Sandrim Lab, pela troca de conhecimentos, pelo apoio ao longo dessa trajetória e amizade de vocês.

A todos os docentes, funcionários e colegas do Departamento de Genética, Microbiologia e Imunologia, por toda cooperação e pela boa convivência.

Às gestantes que aceitaram participar desse trabalho, muito obrigada, sem vocês nada seria possível.

Ao programa de Pós-graduação em Tocoginecologia, por possibilitar a realização deste trabalho, e aos funcionários pela disponibilidade, simpatia, gentileza e eficiência em todas as necessidades.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, pelos auxílios financeiros para realização deste projeto. Processos nº 2024/0128-53 e 2025/05503-8.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho e que principalmente contribuíram para a minha formação.

“A ignorância teme a complexidade; a ciência a enfrenta.”



—



Sumário

SUMÁRIO

PREFÁCIO	15
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	16
CAPÍTULO I	18
RESUMO.....	19
ABSTRACT	21
1. INTRODUÇÃO	23
2. OBJETIVOS	25
2.1. Objetivo Geral.....	25
2.2. Objetivos específicos	25
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	25
3.1. População de estudo	25
3.2. Critérios de inclusão	25
3.3. Critérios de não inclusão	26
3.4. Cálculo do tamanho amostral e aspectos éticos.....	26
3.5. Dosagem de proteinúria	26
3.6. Colheita de sangue e separação do plasma	26
3.7. Dosagem de TNF, IL-10, IL-1 β , sTNFR1 e sTNFR2 no plasma	27
3.8. Isolamento e cultura de monócitos	27
3.9. Análise da expressão dos receptores de membrana em subpopulações de monócitos por citometria de fluxo	27
3.10. Análise estatística	28
4. RESULTADOS.....	28
4.1. Características clínicas e laboratoriais das pacientes.....	28
4.2. Expressão de receptores de monócitos M1-like e M2-like.....	29
4.3. Expressão dos receptores de TNF (TNFR1 e TNFR2).....	31
4.4. Expressão do receptor TNFR1 em monócitos M1-like e M2-like	32

4.5. Expressão do receptor TNFR2 em monócitos M1-like e M2-like	34
4.6. Determinação plasmática de TNF, sTNFR1 e sTNFR2	36
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS	43
CAPÍTULO II	48
RESUMO	49
ABSTRACT	50
1. INTRODUÇÃO	51
2. OBJETIVO	54
3. MÉTODOS	54
3.1. Linhagens celulares experimentais utilizadas.....	54
3.2. Geração dos esferóides	55
3.3. Ensaio de migração trofoblástica.....	55
3.4. Ensaio de invasão trofoblástica	55
4. RESULTADOS.....	56
4.1. Modelo de migração trofoblástica	56
4.2. Modelo 3D in vitro de invasão trofoblástica	57
5. CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	60
ANEXOS	64

PREFÁCIO



O documento elaborado para a Defesa de Dissertação, para obtenção do título de mestra em Tocoginecologia, intitulado “Envolvimento dos receptores de TNF na polarização de monócitos em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia”, encontra-se dividido em dois capítulos.

O capítulo I tem como foco o estudo da expressão dos receptores do fator de necrose tumoral (TNFR1 e TNFR2) em subpopulações de monócitos (M1-like e M2-like) de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia (PE) e de gestantes normotensas (NT). São apresentados os resultados da percentagem e da média de intensidade de fluorescência (MIF) de monócitos M1-like, caracterizados pela expressão dos receptores TLR4 e CD64, e de monócitos M2-like, caracterizados pela expressão dos receptores CD163 e CD206. Também são apresentadas a percentagem e a MIF da expressão de TNFR1 e TNFR2 por ambas as subpopulações. Esses dados mostram que gestantes portadoras de PE possuem perfil inflamatório devido à maior expressão, tanto da percentagem quanto da MIF de TNFR1 por monócitos CD14⁺ TLR4⁺ e CD14⁺ CD64⁺ e pelo aumento da concentração de citocinas inflamatórias, como TNF e IL-1 β por essas células.

O Capítulo II refere-se ao projeto de Estágio de Pesquisa no Exterior, intitulado “Modelo 3D in vitro de implantação placentária utilizando células trofoblásticas de primeiro trimestre de gestação”, desenvolvido na Wayne State University, em Detroit, Michigan, Estados Unidos, sob a supervisão do Dr. Gil Mor. Esse projeto foi fundamental para a aquisição e o aprofundamento de conhecimentos técnicos e conceituais relacionados à aplicação de modelos tridimensionais in vitro, que mimetizam os eventos iniciais da implantação placentária, em especial os processos de migração e invasão do trofoblasto extraviloso sobre o estroma endometrial, característicos dos primeiros dias após a fertilização. O modelo foi estabelecido a partir do uso de células trofoblásticas da linhagem SW.71 e células estromais endometriais da linhagem hESC. O desenvolvimento e a aplicação desse protocolo visam contribuir para investigações científicas voltadas à compreensão dos mecanismos celulares e moleculares envolvidos no desenvolvimento embrionário e na gestação, bem como para o estudo de patologias gestacionais associadas a falhas na placentação, como a PE.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS



%: percentagem

°C: graus Celsius

Alexa 488: fluorocromo alexa fluor 488

Alexa 647: fluorocromo alexa fluor 647

BLS: *spheroid-liked blastocyst* (esferoide semelhante a blastocisto)

CD: cluster of differentiation

DMEM: *Dulbecco's Modified Eagle Medium*

EDTA: ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA: ensaio de imunoabsorção enzimática

h: horas

hESC: células estromais humanas

IL: interleucina

mg: miligramas

MIF: mediana de intensidade de fluorescência

min: minutos

mL: mililitro

mm: milímetro

mmHg: milímetro de mercúrio

NF-κB: fator de transcrição nuclear kappa B

NLRP: *Nod-like receptors with a pyrin domain*

ng: nanograma

NT: normotensa

PE: fluorocromo ficoeritrina

PE: pré-eclâmpsia

PE-Cy7: fluorocromo ficoeritrina conjugado com corante cianina

PerCP-Cy5.5: fluorocromo proteína piridina clorofila conjugado com corante cianina

pg: picograma

rpm: rotações por minuto

RPMI: *Roswell Park Memorial Institute*, meio sintético complexo

s: segundos

sTNFR: receptor solúvel de TNF

SW.71: células trofoblásticas de primeiro trimestre de gestação

TLR: receptor do tipo Toll

tmTNF: fator de necrose tumoral transmembrana

TNF: fator de necrose tumoral

TNFR1: receptor 1 do fator de necrose tumoral

TNFR2: receptor 2 do fator de necrose tumoral

U/mL: unidade por mL

µg/mL: micrograma por mL

µg: micrograma

µL: microlitro

Capítulo I

**ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES DE TNF SOBRE A
POLARIZAÇÃO DE MONÓCITOS EM GESTANTES PORTADORAS
DE PRÉ-ECLÂMPsia**



RESUMO

Introdução: A pré-eclâmpsia (PE) é uma síndrome específica da gestação, caracterizada por intensa resposta inflamatória sistêmica e ativação de monócitos, que se encontram polarizados para um perfil inflamatório, com produção exacerbada de citocinas pró-inflamatórias. Embora, sejam descritas concentrações elevadas de fator de necrose tumoral (TNF) e de seus receptores (TNFR1 e TNFR2) no plasma de gestantes com PE, não se conhece a distribuição desses receptores em monócitos e seu papel na patogênese da PE. Portanto, a determinação desses receptores em subpopulações de monócitos, associada à concentração plasmática de TNF e de seus receptores solúveis, poderá trazer novos conhecimentos para a compreensão da resposta inflamatória sistêmica nessa síndrome. **Objetivos:** Avaliar o envolvimento da expressão de receptores de TNF (TNFR1 e TNFR2) por subpopulações de monócitos na resposta inflamatória sistêmica em gestantes portadoras de PE. **Métodos:** Monócitos isolados de 20 gestantes com PE e de 20 gestantes normotensas (NT) foram analisados por citometria de fluxo quanto à expressão dos receptores TLR4, CD64, CD163 e CD206, utilizados para caracterizar os perfis M1-like e M2-like, respectivamente, bem como os receptores TNFR1 e TNFR2. As concentrações plasmáticas das citocinas pró-inflamatórias TNF e interleucina (IL)-1 β , da citocina anti-inflamatória IL-10 e dos receptores solúveis sTNFR1 e sTNFR2 foram determinadas por ensaio imunoenzimático (ELISA). A análise estatística foi realizada por meio de testes não paramétricos, considerando-se nível de significância de 5%. **Resultados:** Gestantes com PE apresentaram maior expressão dos marcadores pró-inflamatórios TLR4 e CD64 em monócitos, concomitante à redução da expressão dos marcadores associados ao perfil anti-inflamatório CD163 e CD206, em comparação às gestantes NT. Observou-se aumento da percentagem de monócitos M1-like e M2-like expressando os receptores TNFR1 e TNFR2 no grupo PE. Entretanto, a mediana da intensidade de fluorescência (MIF) do TNFR2 foi significativamente menor em monócitos de gestantes com PE, quando comparada à de gestantes NT. No plasma, as concentrações de TNF, IL-1 β e sTNFR1 foram significativamente maiores nas gestantes pré-eclâmpicas, enquanto os níveis de IL-10 e sTNFR2 foram reduzidos em relação ao grupo controle. **Conclusão:** Conclui-se que a PE está associada a uma polarização predominante dos monócitos para um perfil pró-inflamatório M1-like, concomitante à redução do perfil imunorregulador M2-like, evidenciando o papel central dessas células na inflamação exacerbada característica dessa síndrome. Esse desequilíbrio imunológico relaciona-se não apenas à ativação exacerbada do eixo TNF–TNFR1, mas também à deficiência nos

mecanismos regulatórios mediados pelo TNFR2. Adicionalmente, as alterações observadas nas concentrações plasmáticas das formas solúveis desses receptores reforçam a existência de desbalanço na sinalização do TNF, favorecendo a manutenção da resposta inflamatória mediada pela imunidade inata na PE.

Palavras-chave: pré-eclâmpsia, subpopulações de monócitos, TNF, receptores de TNF, citometria de fluxo.

ABSTRACT

Introduction: Preeclampsia (PE) is a pregnancy-specific syndrome characterized by an intense systemic inflammatory response and monocyte activation, with these cells polarized toward a pro-inflammatory phenotype and exhibiting exacerbated production of pro-inflammatory cytokines. Elevated levels of tumor necrosis factor (TNF) and its receptors (TNFR1 and TNFR2) have been reported in the plasma of women with PE. However, the distribution of these receptors among monocyte subpopulations and their role in PE pathogenesis remain poorly understood. In this context, characterizing TNFR1 and TNFR2 expression in monocyte subpopulations, along with assessing plasma concentrations of TNF and its soluble receptors, may provide new insights into the systemic inflammatory response associated with this syndrome. **Objectives:** To evaluate the involvement of TNF receptor expression (TNFR1 and TNFR2) by monocyte subpopulations in the systemic inflammatory response of women with PE. **Methods:** Monocytes isolated from 20 women with PE and 20 normotensive pregnant women (NT) were analyzed by flow cytometry for the expression of TLR4, CD64 and CD163, CD206, respectively, which were used to characterize M1-like and M2-like phenotypes, as well as for the expression of TNFR1 and TNFR2. Plasma concentrations of the pro-inflammatory cytokines TNF and interleukin (IL)-1 β , the anti-inflammatory cytokine IL-10, and the soluble receptors sTNFR1 and sTNFR2 were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Statistical analyses were performed using non-parametric tests, with a significant level set at 5%. **Results:** Women with PE exhibited increased expression of the pro-inflammatory markers TLR4 and CD64 on monocytes, concomitant with reduced expression of the anti-inflammatory markers CD163 and CD206, compared to NT pregnant women. An increased percentage of both M1-like and M2-like monocytes expressing TNFR1 and TNFR2 was observed in the PE group. However, the median fluorescence intensity (MFI) of TNFR2 was significantly lower in these monocyte subpopulations in women with PE than in NT women. Plasma concentrations of TNF, IL-1 β , and sTNFR1 were significantly higher in preeclamptic women, whereas levels of IL-10 and sTNFR2 were lower than in the control group. **Conclusion:** In conclusion, PE is associated with a predominant polarization of monocytes toward a pro-inflammatory M1-like profile, concomitant with a reduction in the immunoregulatory M2-like profile, highlighting the central role of these cells in the exacerbated inflammatory state characteristic of this syndrome. This immunological imbalance is related not only to the enhanced activation of the TNF–TNFR1 axis but also to a deficiency in TNFR2-mediated regulatory mechanisms. Additionally, alterations in the plasma concentrations of the

soluble forms of these receptors reinforce the presence of dysregulated TNF signaling, favoring the maintenance of innate immune-mediated inflammatory responses in PE.

Keywords: preeclampsia; monocyte subpopulations; TNF; TNF receptors; flow cytometry.

1. INTRODUÇÃO

A pré-eclâmpsia (PE) é uma síndrome específica da gestação que acomete aproximadamente 2 a 8% das gestações e permanece como uma das principais causas de morbimortalidade materna e perinatal em todo o mundo. Clinicamente, caracteriza-se pela manifestação de hipertensão arterial (PAS $\geq$ 140 ou PAD $\geq$ 90 mmHg) associada à proteinúria ($\geq$ 300 mg/24 h), após a 20ª semana de gestação ou no puerpério, em mulheres previamente normotensas. Na ausência de proteinúria, disfunções sistêmicas, incluindo comprometimento hepático, neurológico ou hematológico, disfunção útero-placentária e restrição do crescimento fetal também caracterizam essa doença, refletindo seu caráter multissistêmico (Brown et al., 2018; ACOG, 2020; Lee et al., 2024; Roberts, 2024; Karrar et al., 2025). Do ponto de vista fisiopatológico, a PE é marcada por uma intensa resposta inflamatória sistêmica e por estresse oxidativo, considerados elementos centrais na progressão da doença (Redman & Sargent, 2005; Faas et al., 2014; Rana et al., 2022).

Células do sistema imune inato exercem papel central na resposta inflamatória e estão diretamente envolvidas na fisiopatologia da PE (Faas et al., 2014; Vishnyakova et al., 2019). Evidências sugerem que monócitos maternos são ativados durante sua passagem pela placenta, em resposta à exposição a citocinas, microvesículas e exossomos liberados pelo sinciciotrofoblasto, perpetuando o estado inflamatório sistêmico característico da doença (Sokolov et al., 2016; Weel et al., 2016; Nonn et al., 2019). Essas células apresentam elevada plasticidade funcional e podem ser polarizadas em perfis pró-inflamatórios (M1-like) ou anti-inflamatórios/imunorregulatórios (M2-like), de acordo com os estímulos do microambiente (Mantovani et al., 2004). Monócitos/macrófagos M1-like expressam altos níveis dos receptores TLR (Toll-like receptor) 4 e CD64 (receptor opsonínico do tipo Fc γ RI) e produzem citocinas inflamatórias, enquanto células M2-like apresentam maior expressão de CD163 (receptor “scavenger” para complexo haptoglobina-hemoglobina) e CD206 (receptor de manose) e produzem interleucina (IL)-10 e fator de crescimento transformador beta (TGF- β), contribuindo para a resolução da inflamação (Mantovani et al., 2004; Sica et al., 2008; Akila et al., 2012).

Monócitos circulantes de gestantes com PE encontram-se endogenamente ativados, e polarizados para o perfil M1-like, com aumento da expressão de TLR4 e CD64 e diminuição de CD163 e CD206, além de ativação dos inflamassomas *Nod-like receptors with a pyrin domain* (NLRP1 e NLRP3) e produção exacerbada de TNF, IL-1 β e IL-18, concomitante à diminuição de IL-10 (Medeiros et al., 2014; Matias et al., 2015; Romão-Veiga et al., 2018; Vishnyakova et al., 2019).

O desbalanço entre citocinas pró- e anti-inflamatórias na PE está bem estabelecido, sendo caracterizado pela predominância de TNF em relação à IL-10, tanto no plasma quanto na placenta, o que resulta em aumento da razão TNF/IL-10, especialmente nos casos mais graves da doença (Weel et al., 2016; Nunes et al., 2021). As elevadas concentrações de TNF descritas em gestantes

pré-eclâmpticas refletem sua produção tanto pela placenta quanto por células mononucleares do sangue periférico, sobretudo monócitos ativados, e estão associadas ao estresse oxidativo, à gravidade da manifestação clínica da PE e a desfechos maternos desfavoráveis (Peraçoli et al., 2013; Minuz et al., 2015; Romão-Veiga et al., 2020).

O TNF é secretado por células do sistema imune, especialmente por monócitos e macrófagos ativados. Essa citocina é expressa na forma transmembrana (tmTNF) e pode ser clivada proteoliticamente para a forma solúvel (TNF) pela ação da enzima conversora de TNF (TACE/ADAM17) presente na superfície dessas células (Moss et al 1997; Brenner et al., 2015). O TNF interage com dois receptores de membrana distintos, TNFR1-p55 (CD120a) e TNFR2-p75 (CD120b), ativando diferentes vias de sinalização intracelulares. TNFR1 pode ser ativado por ligação a ambos, tmTNF e sTNF, enquanto TNFR2 é principalmente ativado por tmTNF (Richter et al., 2012; Sedger & McDermott MF., 2014), mas também pode responder ao TNF (Krippner-Heidenreich et al., 2002; Fischer et al., 2020; Siegmund & Wajant, 2023). Quando ligado ao TNFR1, o TNF ativa a via canônica do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B) e as vias da p38MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) e JNK (c-Jun N-terminal cinase), causando desregulação metabólica em monócitos e promovendo inflamação. Por outro lado, a ligação entre TNF e TNFR2 ativa a via não canônica do NF- κ B e a via da p38MAPK associadas à resposta anti-inflamatória (Wajant & Siegmund, 2019; Wang et al., 2025). Assim, a interação de TNFR2 com TNF pode aumentar a produção de IL-10 por monócitos, contribuindo para a resolução da inflamação (Gane et al., 2016).

A literatura mostra que o TNFR1 se expressa na maioria das células, enquanto a expressão do TNFR2 é restrita apenas às células imunes (Atretkhany et al., 2020; Hansen et al., 2021). A metaloproteinase TACE/ADAM17 também atua clivando os receptores de TNF (sTNFR) em formas solúveis, encontradas na circulação e que podem neutralizar o TNF no plasma (Feng et al., 2015; Ruiz et al., 2021). Em gestantes com PE, concentrações plasmáticas elevadas de TNF e de sTNFR1 têm sido descritas e associadas à maior gravidade materna e fetal, podendo persistir por meses após a resolução da gestação (Peraçoli et al., 2013; Minuz et al., 2015; Estensen et al., 2015). Em contraste, os dados referentes ao sTNFR2 ainda são inconsistentes, possivelmente devido às diferentes formas de manifestação clínica da PE e aos métodos empregados, ressaltando a necessidade de investigações adicionais (Perucci et al., 2014; Atretkhany et al., 2020).

Frente a este contexto, torna-se relevante investigar a expressão dos receptores TNFR1 e TNFR2 em subpopulações de monócitos com perfis M1 e M2 em gestantes com PE. Considerando que a distribuição desses receptores nessas subpopulações celulares representa uma lacuna na literatura, especialmente na PE, a análise integrada da expressão de TNFR1 e TNFR2 em monócitos, associada às concentrações plasmáticas de TNF e de seus receptores solúveis, poderá contribuir para uma melhor compreensão da inflamação sistêmica mediada pela imunidade inata nessa síndrome. Esses achados também poderão indicar novos biomarcadores de gravidade e potenciais alvos terapêuticos para o controle da PE.

REFERÊNCIAS

- Akila P, Prashant V, Suma MN, Prashant SN, Chaitra TR. CD163 and its expanding functional repertoire. *Clin Chim Acta*. 2012; 413:669-74.
- American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins— Obstetrics. Gestational hypertension and preeclampsia: ACOG practice bulletin, number 222. *Obstet. Gynecol*. 2020; 135, e237–e260.
- Atrekhany KN, Gogoleva VS, Drutskaya MS, Nedospasov SA. Distinct modes of TNF signaling through its two receptors in health and disease. *J Leukoc Biol*. 2020; 107:893- 905.
- Befekadu R, Grenegård M, Larsson A, Christensen K, Ramström S. Levels of soluble tumor necrosis factor receptor 1 and 2 are associated with survival after ST segment elevation myocardial infarction. *Sci Rep*. 2022; 12:14762
- Brenner D, Blaser H, Mak TW. Regulation of tumour necrosis factor signalling: live or let die. *Nat Rev Immunol*. 2015; 15(6):362-74.
- Brown MA, Magee LA, Kenny LC, Karumanchi SA, McCarthy FP, Saito S, Hall DR, Warren CE, Adoyi G, Ishaku S; International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). Hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis, and management recommendations for international practice. *Hypertension*. 2018; 72:24-43.
- C Weel I, Romão-Veiga M, Matias ML, Fioratti EG, Peraçoli JC, Borges VT, Araujo JP Jr, Peraçoli MT. Increased expression of NLRP3 inflammasome in placentas from pregnant women with severe preeclampsia. *J Reprod Immunol*. 2017; 123:40-47.
- Cabal-Hierro L, Lazo PS. Signal transduction by tumor necrosis factor receptors. *Cell Signal* 2012; 24:1297–305.
- da Silva PB, Romão-Veiga M, Ribeiro-Vasques VR, Peraçoli JC, Peraçoli MTS, Amaral LM. Progesterone modulates TNF receptors expression by Jurkat cells cultured with plasma from pregnant women with preeclampsia. *Int Immunopharmacol*. 2024; 130:111701.
- Deng X, Li X, Huang G, Zhang J, Xu T, Feng Y, Wang X. HMGB1 promotes immune abnormalities in preeclampsia by recruiting monocyte/decidual macrophages and inducing M1 polarization†. *Biol Reprod*. 2025; 112:1273-1288.
- Estensen ME, Grindheim G, Remme EW, Godang K, Henriksen T, Aukrust P, Aakhus S, Gullestad L, Ueland T. Elevated inflammatory markers in preeclamptic pregnancies, but no relation to systemic arterial stiffness. *Pregnancy Hypertens*. 2015; 5:325-9.
- Faas MM, Spaans F, De Vos P. Monocytes and macrophages in pregnancy and pre-eclampsia. *Front Immunol*. 2014; 5:298.
- Feng Y, Tsai YH, Xiao W, Ralls MW, Stoeck A, Wilson CL, Raines EW, Teitelbaum DH, Dempsey PJ. Loss of ADAM17-Mediated Tumor Necrosis Factor Alpha Signaling in Intestinal Cells Attenuates Mucosal Atrophy in a Mouse Model of Parenteral Nutrition. *Mol Cell Biol*. 2015; 35:3604-21.
- Fischer R, Maier O, Naumer M, Krippner-Heidenreich A, Scheurich P, Pfizenmaier K. Ligand-induced internalization of TNF receptor 2 mediated by a di-leucin motif is dispensable for activation of the NFκB pathway. *Cell Signal*. 2011; 23(1):161-70.

- Fischer R, Kontermann RE, Pfizenmaier K. Selective Targeting of TNF Receptors as a Novel Therapeutic Approach. *Front Cell Dev Biol.* 2020; 8:401.
- Franco GO, Romao-Veiga M, Ribeiro-Vasques VR, Braga da Silva P, de Oliveira LRC, Peracoli MTS, Peracoli JC. Modulatory effect of magnesium sulfate on NLRP3 inflammasome expression by human monocytes stimulated in vitro with monosodium urate. *Hum Immunol.* 2026;87(3):111668.
- Gane JM, Stockley RA, Sapey E. TNF- α Autocrine Feedback Loops in Human Monocytes: The Pro- and Anti-Inflammatory Roles of the TNF- α Receptors Support the Concept of Selective TNFR1 Blockade In Vivo. *J Immunol Res.* 2016; 2016:1079851.
- Gomes VJ, Nunes PR, Matias ML, Ribeiro VR, Devides AC, Bannwart-Castro CF, Romagnoli GG, Peraçoli JC, Peraçoli MTS, Romao-Veiga M. Silibinin induces in vitro M2-like phenotype polarization in monocytes from preeclamptic women. *Int Immunopharmacol.* 2020; 89:107062.
- Hansen RB, Laursen CCH, Nawaz N, Madsen JS, Nielsen HH, Kruuse C, Møller A, Degn M, Lambertsen KL. Leukocyte TNFR1 and TNFR2 Expression Contributes to the Peripheral Immune Response in Cases with Ischemic Stroke. *Cells.* 2021; 10:861.
- Holtrop T, Budding K, Brandsma AM, Leusen JHW. Targeting the high affinity receptor, Fc γ RI, in autoimmune disease, neuropathy, and cancer. *Immunother Adv.* 2022; 2:ltac011.
- Karrar SA, Martingano DJ, Hong PL. Preeclampsia. 2024 Feb 25. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. PMID: 34033373.
- Krippner-Heidenreich A, Tübing F, Bryde S, Willi S, Zimmermann G, Scheurich P. Control of receptor-induced signaling complex formation by the kinetics of ligand/receptor interaction. *J Biol Chem.* 2002; 277:44155-63
- Lampé R, Kövér Á, Szűcs S, Pál L, Árnay E, Ádány R, Póka R. Phagocytic index of neutrophil granulocytes and monocytes in healthy and preeclamptic pregnancy. *J Reprod Immunol.* 2015; 107:26-30.
- Laskowska M, Laskowska K, Leszczyńska-Gorzela B, Oleszczuk J. Maternal and umbilical sTNF-R1 in preeclamptic pregnancies with intrauterine normal and growth retarded fetus. *Hypertens Pregnancy.* 2007; 26:13-21.
- Lee NMW, Chaemsaitong P, Poon LC. Prediction of preeclampsia in asymptomatic women. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2024; 92:102436.
- Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol* 2004; 25:677-86.
- Matias ML, Romão M, Weel IC, Ribeiro VR, Nunes PR, Borges VT, Araújo JP Jr, Peraçoli JC, de Oliveira L, Peraçoli MT. Endogenous and uric acid-induced activation of NLRP3 inflammasome in pregnant women with preeclampsia. *PLoS One.* 2015; 10:e0129095.
- Matias ML, Gomes VJ, Romao-Veiga M, Ribeiro VR, Nunes PR, Romagnoli GG, Peracoli JC, Peracoli MTS. Silibinin Downregulates the NF- κ B Pathway and NLRP1/NLRP3 Inflammasomes in Monocytes from Pregnant Women with Preeclampsia. *Molecules.* 2019; 24:1548.
- Matias ML, Romao-Veiga M, Ribeiro VR, Nunes PR, Gomes VJ, Devides AC, Borges VT, Romagnoli GG, Peracoli JC, Peracoli MT. Progesterone and vitamin D downregulate the activation of the NLRP1/NLRP3 inflammasomes and TLR4-MyD88-NF- κ B pathway in monocytes from pregnant women with preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2021; 144:103286.

- Medeiros LT, Peraçoli JC, Bannwart-Castro CF, Romão M, Weel IC, Golim MA, de Oliveira LG, Kurokawa CS, Medeiros Borges VT, Peraçoli MT. Monocytes from pregnant women with preeclampsia are polarized to a M1 phenotype. *Am J Reprod Immunol*. 2014; 72:5- 13.
- Minuz P, Fava C, Hao S, Pedraza P, Amen G, Meneguzzi A, Vattei G, Marini M, Zanconato G, Ferreri NR. Differential regulation of TNF receptors in maternal leukocytes is associated with severe preterm preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2015; 28:869-75.
- Moss ML, Jin SL, Milla ME, Bickett DM, Burkhart W, Carter HL, Chen WJ, Clay WC, Didsbury JR, Hassler D, Hoffman CR, Kost TA, Lambert MH, Leesnitzer MA, McCauley P, McGeehan G, Mitchell J, Moyer M, Pahel G, Rocque W, Overton LK, Schoenen F, Seaton T, Su JL, Becherer JD, et al. Cloning of a disintegrin metalloproteinase that processes precursor tumour-necrosis factor- α . *Nature*. 1997;385:733–736.
- Nonn O, Güttler J, Forstner D, Maninger S, Zadora J, Balogh A, Frolova A, Glasner A, Herse F, Gauster M. Placental CX3CL1 is Downregulated by Angiotensin II and Contributes to a Pro- Inflammatory Trophoblast-Monocyte Interaction. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(3). pii: E641.
- Nunes PR, Romão-Veiga M, Peraçoli JC, Araujo Costa RA, de Oliveira LG, Borges VTM, Peraçoli MT. Downregulation of CD163 in monocytes and its soluble form in the plasma is associated with a pro-inflammatory profile in pregnant women with preeclampsia. *Immunol Res*. 2019; 67: 194-201.
- Nunes PR, Romao-Veiga M, Borges, VTM, Matias ML, Ribeiro VR, Costa RA, Peraçoli MTS, Peraçoli JC. Association between adverse maternal clinical outcomes and imbalance of cytokines and angiogenic factors in preterm preeclampsia. *RBGO Gynecology & Obstetrics*. 2021; 43:247-52.
- Núñez-González JR, Sanabria-Vera CJ, Romero-Adrián T. Measurement of the serum concentrations of tumor necrosis factor α and its soluble receptors in normal and pre-eclamptic pregnant patients. *Invest Clin*. 2001; 42:171-81.
- Peraçoli JC, Rudge MVC, Peraçoli MTS. Tumornecrosis factor- α in gestation and puerperium of women with gestational hypertension and pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2007; 57:177-85.
- Peraçoli MTS, Bannwart CF, Cristofalo R, Medeiros Borges VT, Araújo Costa RA, Witkin SS, Peraçoli JC. Increased Reactive Oxygen Species and Tumor Necrosis Factor- α Production by Monocytes are Associated with Elevated Levels of Uric Acid in Pre- Eclamptic Women. *Am J Reprod Immunol*. 2011; 66:460-467.
- Peraçoli JC, Bannwart-Castro CF, Romao M, Weel IC, Ribeiro VR, Borges VT, Rudge MV, Witkin SS, Peraçoli MT. High levels of heat shock protein 70 are associated with pro- inflammatory cytokines and may differentiate early- from late-onset preeclampsia. *J Reprod Immunol*. 2013; 100:129-34.
- Perucci LO, Gomes KB, Freitas LG, Godoi LC, Alpoim PN, Pinheiro MB, Miranda AS, Teixeira AL, Dusse LM, Sousa LP. Soluble endoglin, transforming growth factor- β 1 and soluble tumornecrosis factor α receptors in different clinical manifestations of preeclampsia. *PLoS One*. 2014; 9:e97632.
- Rana S, Burke SD, Karumanchi SA. Imbalances in circulating angiogenic factors in the pathophysiology of preeclampsia and related disorders. *Am J Obstet Gynecol*. 2022; 226(2S):S1019-S1034.
- Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*. 2005; 308:1592-4.
- Ribeiro VR, Romao-Veiga M, Romagnoli GG, Matias ML, Nunes PR, Borges VTM, Peraçoli JC, Peraçoli MTS. Association between cytokine profile and transcription factors produced by T-cell subsets in early- and late-onset pre-eclampsia. *Immunology*. 2017; 152:163-73.

- Richter C, Messerschmidt S, Holeiter G, Tepperink J, Osswald S, Zappe A, Branschädel M, Boschert V, Mann DA, Scheurich P, Krippner-Heidenreich A. The tumor necrosis factor receptor stalk regions define responsiveness to soluble versus membrane-bound ligand. *Mol Cell Biol.* 2012; 32:2515-29.
- Roberts JM. Preeclampsia epidemiology(ies) and pathophysiology(ies). *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2024; 94:102480.
- Romão-Veiga M, Matias ML, Ribeiro VR, Nunes PR, M Borges VT, Peraçoli JC, Peraçoli MTS. Induction of systemic inflammation by hyaluronan and hsp70 in women with pre-eclampsia. *Cytokine.* 2018; 105:23-31.
- Romão-Veiga M, Bannwart-Castro CF, Borges VTM, Golim MA, Peraçoli JC, Peraçoli MTS. Increased TLR4 pathway activation and cytokine imbalance led to lipopolysaccharide tolerance in monocytes from preeclamptic women. *Pregnancy Hypertens.* 2020; 21:159-165.
- Romao-Veiga M, Ribeiro VR, Matias ML, Nunes PR, Romagnoli GG, Peraçoli JC, Peraçoli MTS. DAMPs are able to skew CD4⁺ T cell subsets and increase the inflammatory profile in pregnant women with preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2022; 149:103470.
- Romao-Veiga M, Devides AC, Ribeiro-Vasques VR, Matias ML, Gomes VJ, Romagnoli GG, Peraçoli MTS, Peraçoli JC. M1 Monocyte Polarization and Deficient Immunomodulation in Preeclampsia. *Immunol Invest.* 2025; 54:1081-1098.
- Rossol M, Meusch U, Pierer M, Kaltenhäuser S, Häntzschel H, Hauschildt S, Wagner U. Interaction between transmembrane TNF and TNFR1/2 mediates the activation of monocytes by contact with T cells. *J Immunol.* 2007; 179(6):4239-48.
- Ruiz A, Palacios Y, Garcia I, Chavez-Galan L. Transmembrane TNF and Its Receptors TNFR1 and TNFR2 in Mycobacterial Infections. *Int J Mol Sci.* 2021; 22:5461.
- Ruspi G, Schmidt EM, McCann F, Feldmann M, Williams RO, Stoop AA, Dean JL. TNFR2 increases the sensitivity of ligand-induced activation of the p38 MAPK and NF-κB pathways and signals TRAF2 protein degradation in macrophages. *Cell Signal.* 2014; 26:683-90.
- Sawoo R, Dey R, Ghosh R, Bishayi B. TLR4 and TNFR1 blockade dampen M1 macrophage activation and shifts them towards an M2 phenotype. *Immunol Res.* 2021; 69:334-351.
- Sedger LM, McDermott MF. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants - past, present and future. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014; 25:453-72.
- Sica A, Larghi P, Mancino A, Rubino L, Porta C, Totaro MG, Rimoldi M, Biswas SK, Allavena P, Mantovani A. Macrophage polarization in tumour progression. *Semin Cancer Biol.* 2008; 18:349-55.
- Siegmund D, Wajant H. TNF and TNF receptors as therapeutic targets for rheumatic 14 diseases and beyond. *Nat Rev Rheumatol.* 2023;19:576–591.
- Sokolov DI, Ovchinnikova OM, Korenkov DA, Viknyanschuk AN, Benken KA, Onokhin KV, Selkov SA. Influence of peripheral blood microparticles of pregnant women with preeclampsia on the phenotype of monocytes. *Transl Res.* 2016; 170:112-23.
- Vishnyakova P, Elchaninov A, Fatkhudinov T, Sukhikh G. Role of the Monocyte-Macrophage System in Normal Pregnancy and Preeclampsia. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(15). pii: E3695.
- Vishnyakova P, Poltavets A, Nikitina M, Midiber K, Mikhaleva L, Muminova K, Potapova A, Khodzhaeva Z, Pyregov A, Elchaninov A, Fatkhudinov T, Sukhikh G. Expression of Estrogen

- Receptor α by Decidual Macrophages in Preeclampsia. *Biomedicines*. 2021 Feb 14;9(2):191. doi: 10.3390/biomedicines9020191. PMID: 33672970; PMCID: PMC7917975.
- Vishnyakova P, Gantsova E, Kiseleva V, Lazarev D, Knyazev E, Poltavets A, Iskusnykh M, Muminova K, Potapova A, Khodzhaeva Z, Elchaninov A, Fatkhudinov T, Sukhikh G. MicroRNA miR-27a as a possible regulator of anti-inflammatory macrophage phenotype in preeclamptic placenta. *Placenta*. 2024; 145:151-161.
- Visser W, Beckmann I, Knook MA, Wallenburg HC. Soluble tumor necrosis factor receptor II and soluble cell adhesion molecule 1 as markers of tumor necrosis factor- α release in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2002; 81:713-9.
- Wajant H. Principles of antibody-mediated TNF receptor activation. *Cell Death Differ*. 2015; 22:1727-41.
- Wajant H, Siegmund D. TNFR1 and TNFR2 in the control of the life and death balance of macrophages, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2019; 7:91.
- Wang J, Li R, Peng Z, Hu B, Rao X, Li J. HMGB1 participates in LPS-induced acute lung injury by activating the AIM2 inflammasome in macrophages and inducing polarization of M1 macrophages via TLR2, TLR4, and RAGE/NF- κ B signaling pathways. *Int J Mol Med*. 2020; 45:61-80.
- Wang S, Xiao R, Chen Y, Ye Y, He T, Yang Y, Chen X, Chou CK. Anti-tumor necrosis factor therapy in the treatment of systemic autoinflammatory diseases: the responses of innate immune cells. *J Leukoc Biol*. 2025; 117:qiaf026.
- Weel IC, Baergen RN, Romão-Veiga M, Borges VT, Ribeiro VR, Witkin SS, Bannwart-Castro C, Peraçoli JC, De Oliveira L, Peraçoli MT. Association between placental lesions, cytokines and angiogenic factors in pregnant women with preeclampsia. *PLoS One*. 2016; 11:e0157584.
- Xanthouleas S, Pasparakis M, Kousteni S, Brakebusch C, Wallach D, Bauer J, Lassmann H, Kollias G. Tumor necrosis factor (TNF) receptor shedding controls thresholds of innate immune activation that balance opposing TNF functions in infectious and inflammatory diseases. *J Exp Med*. 2004; 200:367-76.