

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 18/07/2025.



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

Patrícia Braga da Silva

**PERFIL DE RECEPTORES DE TNF- α EXPRESSOS EM
LINFÓCITOS CD4⁺ Th17 NO SANGUE PERIFÉRICO DE
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.

Orientadora: Profa. Titular Maria Terezinha Serrão Peraçoli
Coorientadora: Dra. Mariana Romão Veiga

**Botucatu
2023**

Patrícia Braga da Silva

PERFIL DE RECEPTORES DE TNF- α EXPRESSOS EM
LINFÓCITOS CD4⁺ Th17 NO SANGUE PERIFÉRICO DE
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.

Orientadora: Profa. Titular Maria Terezinha Serrão Peraçoli
Coorientadora: Dra. Mariana Romão Veiga

Botucatu
2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA ANDRADE CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Silva, Patrícia Braga da.

Perfil de receptores de TNF- α expressos em linfócitos CD4+ Th17 no sangue periférico de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia / Patrícia Braga da Silva. - Botucatu, 2023

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Maria Terezinha Serrão Peraçoli
Coorientador: Mariana Romão-Veiga
Capes: 21104000

1. Pré-eclâmpsia. 2. Fator de necrose de tumor.
3. Receptores Tipo I de Fatores de Necrose Tumoral.
4. Receptores Tipo II do Fator de Necrose Tumoral. Células Th17.

Palavras-chave: Pré-eclâmpsia; TNF; TNFR1; TNFR2; Th17.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A pesquisa poderá auxiliar na melhor compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na fisiopatologia da pré-eclâmpsia e na identificação de alvos para novas oportunidades terapêuticas afim de minimizar a sua resposta inflamatória sistêmica. Dessa forma, futuramente, intervenções adequadas poderão contribuir para melhorar as práticas clínicas e o prognóstico das gestantes com essa patologia.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The research will help to better understand the molecular mechanisms involved in the pathophysiology of preeclampsia and to identify targets for new therapeutic opportunities in order to minimize its systemic inflammatory response. Thus, in the future, appropriate interventions may contribute to improving clinical practices and the prognosis of pregnant women with this pathology.

Financiamento



Bolsa FAPESP – Mestrado

Processo nº 2021/12564-2

Período de Vigência: Março/2022 a Julho/2023

Bolsa FAPESP – BEPE - Mestrado

Processo nº 2022/11362-0

Período de Vigência: Janeiro/2023 a Março/2023

Trabalho realizado no Laboratório de Imunologia da Reprodução do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas, Setor de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP.



—



Dedicatória

—

Dedico este trabalho aos meus pais, José Roberto e Maria, que são meus exemplos de vida. Eles que sempre me amaram incondicionalmente, sempre me desejaram o melhor e também nunca mediram esforços para que eu pudesse superar cada obstáculo em meu caminho e chegasse até aqui, além de todo apoio e incentivo que serviram de alicerce para as minhas realizações. Sou quem sou hoje graças a vocês. Obrigada por tudo!

“A verdadeira felicidade está na própria casa, entre as alegrias da família”.

Léon Tolstoi



Agradecimientos



AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha orientadora Maria Terezinha Serrão Peraçoli, por ter me dado a oportunidade de fazer parte de seu grupo de pesquisa e por ter assumido esse desafio comigo. Por todos os conselhos, paciência e por ter me ensinado tanto durante esses anos. Uma referência pessoal e profissional que me espelho todos os dias. Obrigada por todo o carinho e por sempre ter acreditado e depositado sua confiança em mim.

*“Há pessoas que entram por acaso em nossas vidas...
Mas não é por acaso que elas têm o privilégio de permanecer”.*

William Shakespeare

AGRADECIMENTOS

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

Ao meu namorado Leonardo, que sempre esteve comigo me dando suporte, acompanhando toda minha trajetória e desafios que vieram durante esse mestrado. Obrigada por ser um dos meus maiores incentivadores, por ter sonhado comigo e permitido que eu sonhasse com você, além de me fazer acreditar que eu seria capaz de tudo aquilo que me propus a realizar.

Aos meus irmãos Haroldo, Fernando e a minha irmã Verônica, agradeço por todo o incentivo, pelas preocupações e por se fazerem sempre presentes, fazendo de tudo para me apoiar e me deixar feliz.

Aos meus sobrinhos, Heloá, Nicholas e Gabriel, que são minhas alegrias e o motivo para eu querer ser melhor.

À toda a minha família, minhas cunhadas e meu cunhado, meus tios e tias, à minha avó, que vibram e se orgulham com todas as minhas conquistas.

À minha Coorientadora Mariana Romão-Veiga, por todo o conhecimento, pelas conversas, risadas e acima de tudo, pela parceria, dedicação e amor colocado nesse trabalho. Sem você, nada disso teria acontecido. Obrigada por sempre me impulsionar em direção ao melhor.

Às minhas amigas do LAB 03, Vanessa e Gabriela, pela amizade, paciência, pela ajuda e ensinamentos que vocês me proporcionam todos os dias. Obrigada por tornarem nosso ambiente de trabalho um lar.

Ao Professor José Maurício Sforcin, do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas, Setor de Microbiologia e Imunologia, que é responsável pelo laboratório de citometria e a Dr^a Larissa Ragozo, por me auxiliar na elaboração de uma parte fundamental do meu trabalho e por destinar o seu tempo para participar desta pesquisa.

À Professora Lorena Machado Amaral, minha supervisora durante meu estágio no exterior. Obrigada por abrir as portas do seu laboratório para mim, me dar todo o suporte e além de tudo, pela amizade e carinho.

Aos meus amigos, Lucas (Mormaço), Natiele (Nati) e Suellen (Suzinha) pela nossa amizade que só se fortalece com o tempo. Obrigada por estarem sempre comigo em cada conquista e permitir que eu esteja nas de vocês também.

A todos os docentes, funcionários e colegas do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas, por toda cooperação e pela boa convivência.

Ao Dr. Peraçoli e ao Dr. Joelcio do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Botucatu, pela cuidadosa seleção das pacientes e por sempre estarem disponíveis a me ajudar.

Aos funcionários da Unidade Saúde da Família dos Comercários - Botucatu, pela atenção e auxílio disponibilizado durante a pesquisa.

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 FAPESP, pelos auxílios financeiros para realização deste projeto. Processos nº 2021/12564-2 e 2022/11362-0.

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

*“Todo mundo tem dentro de si um fragmento de boas notícias.
A boa notícia é que você não sabe quão extraordinário você pode ser!
O quanto você pode amar! O que você pode executar! E qual é o seu potencial!”*

Anne Frank



—



Sumário

SUMÁRIO

PREFÁCIO	17
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	18
Capítulo I.....	20
RESUMO.....	21
ABSTRACT	23
1. INTRODUÇÃO	25
2. OBJETIVOS.....	29
2.1. Objetivo Geral.....	29
2.2. Objetivos específicos	29
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	30
3.1. Casuística.....	30
3.2. Critérios de inclusão	30
3.3. Critérios de não inclusão	30
3.4. Cálculo do tamanho amostral e aspectos éticos	31
3.5. Colheita de sangue e separação do plasma.....	31
3.6. Determinação de sTNF, sTNFR1 e sTNFR2 no plasma.....	31
3.7. Isolamento de células mononucleares do sangue periférico (PBMC)	31
3.8. Análise da expressão de TNFR1 e TNFR2, fator de transcrição ROR γ t, TNF e IL-17A em linfócitos T CD4 ⁺ por citometria de fluxo.....	32
3.9. Análise estatística.....	32
4. RESULTADOS.....	33
4.1. Características clínicas das pacientes	33
4.2. Determinação de receptores solúveis de TNF (sTNFR1 e sTNFR2) e sTNF no plasma de gestante portadoras de PE e gestantes normotensas.	33
4.3. Expressão dos receptores de TNF (TNFR1 e TNFR2) em linfócitos T CD4 ⁺ por citometria de fluxo	34

4.4. Expressão do fator de transcrição ROR γ t e dos receptores TNFR1 e TNFR2 em linfócitos por citometria de fluxo.....	35
4.5. Expressão intracitoplasmática de TNF e seus receptores TNFR1 e TNFR2 em linfócitos TCD4 ⁺ por citometria de fluxo.....	36
4.6. Determinação da expressão intracitoplasmática de IL-17A e TNFR1 e TNFR2 em linfócitos TCD4 ⁺ por citometria de fluxo.....	37
4.7. Correlação entre expressão dos receptores de TNF em linfócitos CD4 ⁺ e concentração plasmática de sTNF, sTNFR1 e sTNFR2 nas gestantes portadoras de PE e nas gestantes NT.....	38
5. DISCUSSÃO.....	40
6. CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	45
Capítulo II.....	51
RESUMO.....	52
ABSTRACT.....	53
1. INTRODUÇÃO.....	55
2. OBJETIVOS.....	58
2.1. Objetivo Geral.....	58
2.2. Objetivos específicos.....	58
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	58
3.1. Cultura Celular.....	58
3.2. Análise da expressão dos receptores de TNF em células Jurkat por citometria de fluxo.....	59
3.3. Obtenção de Plasma e Aspectos Éticos.....	59
3.4. Determinação de sTNFR1, sTNFR2 e TNF- α no plasma e de sTNFR1, sTNFR2, TNF- α e IL-10 no sobrenadante.....	59
3.5. Análise Estatística.....	60
4. RESULTADOS.....	60
4.1. Características clínicas das pacientes.....	60

4.2. Determinação da concentração de sTNFR1, sTNFR2 e TNF- α no plasma de gestantes com pré-eclâmpsia e de gestantes normotensas por ELISA.....	60
4.3. Determinação da percentagem dos receptores de TNF- α expressos em células Jurkat por citometria de fluxo.....	61
4.4. Determinação da concentração de sTNFR1, sTNFR2, TNF- α e IL-10 no sobrenadante das células Jurkat por ELISA	62
5. DISCUSSÃO	63
6. CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS	65
ANEXOS	70

PREFÁCIO



O documento elaborado para a Defesa de Dissertação, para obtenção do título de Mestra em Tocoginecologia intitulado “Perfil de receptores de TNF- α expressos em linfócitos CD4⁺ TH17 no sangue periférico de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia”, encontra-se dividido em dois capítulos.

O capítulo I têm como foco o estudo da expressão dos receptores do fator de necrose tumoral (TNFR1 e TNFR2) em células CD4⁺ Th17 de sangue periférico e sua associação com níveis plasmáticos de TNF solúvel (sTNF) e da forma solúvel desses receptores (sTNFR1 e sTNFR2) em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia (PE) e em gestantes normotensas (NT). Dessa forma, são apresentados os resultados da percentagem da subpopulação Th17 pela expressão do fator de transcrição ROR γ t e da citocina IL-17A intracitoplasmática, características dessa subpopulação de células T CD4⁺. Além disso, também são apresentados a expressão de TNFR1 e TNFR2 na subpopulação Th17. Esses dados mostram que gestantes portadoras de PE possuem perfil inflamatório devido à expressão mais elevada de TNFR1 por linfócitos CD4⁺ Th17 e também pelo aumento de citocinas inflamatórias, como TNF e IL-17A por essas células. Ao final deste capítulo, são apresentadas as próximas etapas que serão desenvolvidas até a defesa da dissertação de mestrado.

O capítulo II aborda os efeitos da progesterona sobre a expressão dos receptores do fator de necrose tumoral (TNFR1 e TNFR2) por células Jurkat, estimuladas com plasma de gestantes com PE. Nessa seção são apresentados, inicialmente, as concentrações de sTNFR1, sTNFR2 e TNF- α detectadas no plasma das gestantes com PE e das gestantes NT, que foi utilizado para a estimulação das células Jurkat. Em seguida, os resultados da expressão de TNFR1 e TNFR2 por células Jurkat após cultura com ou sem progesterona e plasma de gestantes com PE ou de gestantes NT, além da determinação da concentração de sTNFR1, sTNFR2, TNF- α e IL-10 no sobrenadante da cultura dessas células. Os resultados obtidos mostram que a progesterona tem um efeito modulador potencial sobre os receptores de TNF, contribuindo com a diminuição da expressão de TNFR1 e com o aumento de TNFR2. Além disso, nessa mesma seção também é demonstrado como a progesterona apresenta influência nos níveis dos receptores e das citocinas TNF- α e IL-10 no sobrenadante de cultivo das células Jurkat.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS



Alexa 488: fluorocromo alexa fluor 488

Alexa 647: fluorocromo alexa fluor 647

APC-H7: fluorocromo aloficocianina conjugado com o análogo de um cianina 7

CD: cluster of differentiation

CD3: cluster de diferenciação 3, molécula marcadora de células T

CD4: cluster de diferenciação 4, molécula marcadora de células T helper

CD25: cluster de diferenciação 25, molécula marcadora de células T reguladoras

EDTA: ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA: ensaio de imunoabsorção enzimática

FoxP3: *forkhead box P3*, fator de transcrição de células T reguladoras

GATA-3: *GATA binding protein 3*, fator de transcrição de células Th2

h: horas

IFN- γ : interferon gama

IL: interleucina

NF- κ B: fator de transcrição nuclear kappa B

ng: nanograma

NT: normotensa

°C: graus Celsius

PBMCs: células mononucleares do sangue periférico

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: progesterona

ROR γ t: *retinoic-acid-receptor-related orphan nuclear receptor gamma t*

rpm: rotações por minuto

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

s: segundos

STAT: *Signal transducer and activator of transcription*. Transdutor de sinal e ativador da transcrição

STAT3: transdutor de sinal e ativador da transcrição 3

STAT4: transdutor de sinal e ativador da transcrição 4

STAT5: transdutor de sinal e ativador da transcrição 5

STAT6: transdutor de sinal e ativador da transcrição 6

sTNF: fator de necrose tumoral solúvel

T-bet: *T box transcription factor*, fator de transcrição de células Th1

Th1: célula T *helper* 1

Th17: célula T *helper* 17

Th2: célula T *helper* 2

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

Treg: célula T reguladora

mg: miligramas

mL: mililitro

mm: milímetro

mmHg: milímetro de mercúrio

pg: picograma

U/mL: unidade por mL

µg: micrograma

µL: microlitro

%: percentagem

17-OHPC: 17- α -hydroxyprogesterone caproate

Capítulo I

**PERFIL DE RECEPTORES DE TNF- α EXPRESSOS EM LINFÓCITOS
CD4⁺ Th17 NO SANGUE PERIFÉRICO DE GESTANTES
PORTADORAS DE PRÉ-ECLÂMPsia**



RESUMO

Introdução: Gestantes portadoras de pré-eclâmpsia (PE) apresentam desvio da resposta imune para perfil inflamatório. A ativação de monócitos do sangue periférico, com produção exacerbada de citocinas inflamatórias como fator de necrose tumoral (TNF) e outros mediadores inflamatórios pode causar ativação de células da imunidade adaptativa, gerando células T CD4⁺ inflamatórias. O TNF pode exercer diferentes efeitos funcionais sobre as subpopulações de linfócitos T CD4⁺ através da interação com os receptores de TNF (TNFR1 e TNFR2). A ligação de TNF a esses dois receptores ativa diferentes vias de sinalização. O TNFR1 induz morte celular por apoptose ou necrose e é também importante para o desenvolvimento de células T efectoras inflamatórias, enquanto o TNFR2 é preferencialmente expresso por células T reguladoras (Treg). Já é conhecido que na PE a resposta de linfócitos T está desviada para perfil inflamatório Th1 e Th17 em detrimento de perfil regulador, podendo esse balanço entre células Treg e Th17 ser crítico para a tolerância ao feto e para a prevenção da doença. **Objetivos:** O presente projeto teve por objetivo comparar a expressão de receptores de TNF (TNFR1 e TNFR2) em células CD4⁺ Th17 de sangue periférico e sua associação com níveis plasmáticos de TNF e da forma solúvel desses receptores (sTNFR1 e sTNFR2) por gestantes portadoras de PE e gestantes normotensas (NT). **Métodos:** Foram avaliadas 36 gestantes, sendo 20 portadoras de PE e 16 NT, pareadas pela idade gestacional. O plasma obtido foi analisado pela técnica de ELISA. Foram avaliadas a percentagem de células CD4⁺ Th17 pela expressão do fator de transcrição ROR γ t, a expressão dos receptores de TNF (TNFR1 e TNFR2) nessa subpopulação, além da expressão intracitoplasmática de TNF, IL-17A por citometria de fluxo. Os resultados foram analisados por meio de testes não-paramétricos com nível de significância de 5%. **Resultados:** A expressão do receptor TNFR1 apresentou-se aumentada e a do receptor TNFR2 diminuída em linfócitos T CD4⁺, assim como em linfócitos de perfil Th17, de gestantes com PE quando comparadas com gestantes NT. Além disso, a expressão do fator de transcrição ROR γ t e das citocinas intracitoplasmáticas TNF e IL-17A também se mostraram elevados no grupo PE em relação ao grupo NT. Observou-se correlação positiva entre a expressão de TNFR2 por linfócitos CD4⁺/Th17 e a concentração plasmática de sTNFR2 em gestantes pré-eclâmpicas ($r = 0,5397$; $p = 0,0171$) enquanto não se observou correlação entre esses marcadores em gestantes NT. Houve correlação positiva entre as concentrações plasmáticas de sTNF e sTNFR1 em gestantes com PE ($r = 0,5112$; $p = 0,0257$) e em gestantes normotensas ($r = 0,5604$; $p = 0,0365$). A comparação entre sTNFR1 e sTNFR2 mostrou correlação positiva tanto em gestantes com PE ($r = 0,4500$; $p = 0,349$) como em

gestantes NT ($r = 0,5818$; $p = 0,0302$). **Conclusão:** Os resultados confirmam que gestantes portadoras de PE apresentam uma inflamação sistêmica, com células $CD4^+$ direcionadas para um perfil inflamatório, devido à alta expressão de TNFR1 por linfócitos $Th17/ROR\gamma^t^+$ e também pelo aumento de citocinas inflamatórias, como TNF e IL-17A, produzidas por essas células. A maior expressão de TNFR1 em células Th17 e a concentração elevada desse receptor no plasma sugerem seu papel na patogênese da PE. Estudos futuros sobre a expressão de marcadores anti-inflamatórios em células Treg/FoxP3⁺ poderão contribuir para o conhecimento do papel dessas células no balanço Th17/Treg observado na PE.

Palavras-chave: pré-eclâmpsia, Th17, TNF, TNFR1, TNFR2, IL-17A.

ABSTRACT

Introduction: Pregnant women with pre-eclampsia (PE) have a shift in the immune response towards an inflammatory profile. The activation of peripheral blood monocytes, with exacerbated production of inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor (TNF) and other inflammatory mediators, can cause activation of adaptive immunity cells, generating inflammatory CD4⁺ T cells. TNF can exert different functional effects on CD4⁺ T lymphocytes subpopulations through interaction with TNF receptors (TNFR1 and TNFR2). TNF binding to these two receptors activates different signaling pathways. TNFR1 induces cell death by apoptosis or necrosis and is also important for the development of inflammatory effector T cells, whereas TNFR2 is preferentially expressed by regulatory T cells (Treg). It is already known that in PE the T lymphocytes response is skewed towards the Th1 and Th17 inflammatory profile to the detriment of the regulatory profile, and this balance between Treg and Th17 cells may be critical for tolerance to the fetus and for disease prevention. **Objectives:** This project aimed to compare the expression of TNF receptors (TNFR1 and TNFR2) in peripheral blood CD4⁺ Th17 cells and their association with plasma levels of TNF and the soluble form of these receptors (sTNFR1 and sTNFR2) by pregnant women with PE and normotensive pregnant women (NT). **Methods:** 36 pregnant women were evaluated, 20 with PE and 16 with NT, matched by gestational age. The blood collected from these pregnant women was centrifuged, the plasma separated and stored at -80°C for measurement of TNF and soluble receptors sTNFR1 and sTNFR2 using the ELISA technique. The percentage of CD4⁺ Th17 cells was evaluated by the expression of the ROR γ t transcription factor, the expression of TNF receptors (TNFR1 and TNFR2) in this subpopulation and, the intracytoplasmic expression of TNF, IL-17A by flow cytometry. The results were analyzed using non-parametric tests with a significance level of 5%. **Results:** The expression of the TNFR1 receptor was increased in CD4⁺ T lymphocytes, as well as in Th17 profile lymphocytes, from pregnant women with PE when compared to NT pregnant women. In addition, the expression of the transcription factor ROR γ t and the intracytoplasmic cytokines TNF and IL-17A were also elevated in the PE group compared to the NT group. A positive correlation was observed between the expression of TNFR2 by CD4⁺ lymphocytes and the plasmatic concentration of sTNFR2 in preeclamptic pregnant women ($r = 0.5397$; $p = 0.0171$) while no correlation was observed between these markers in NT pregnant women. There was a positive correlation between plasma concentrations of sTNF and sTNFR1 in pregnant women with PE ($r = 0.5112$; $p = 0.0257$) and in normotensive pregnant women ($r = 0.5604$; $p = 0.0365$). The comparison between sTNFR1 and

sTNFR2 showed a positive correlation both in pregnant women with PE ($r=0.4500$; $p=0.349$) and in NT pregnant women ($r=0.5818$; $p=0.0302$). **Conclusion:** The results confirm that pregnant women with PE have systemic inflammation, with $CD4^+$ cells directed towards an inflammatory profile, due to the high expression of TNFR1 by Th17/ROR γ t $^+$ lymphocytes and also by the increase of inflammatory cytokines, such as TNF and IL-17A, produced by these cells. The greater expression of TNFR1 in Th17 cells and the high concentration of this receptor in plasma suggest its role in the pathogenesis of PE. Future studies on the expression of anti-inflammatory markers in Treg/FoxP3 $^+$ cells may contribute to the understanding of the role of these cells in the Th17/Treg balance observed in PE.

Keywords: pre-eclampsia, Th17, TNF, TNFR1, TNFR2, IL-17A.

1. INTRODUÇÃO

A pré-eclâmpsia (PE) é uma síndrome específica da gestação humana, caracterizada por estado de má-adaptação imunológica, representada por desvio da resposta imune para perfil inflamatório de caráter multissistêmico e resultante de ativação endógena de células da imunidade inata e adaptativa (Ribeiro et al., 2017; Romão-Veiga et al., 2020).

As manifestações clínicas e laboratoriais que identificam a PE são a associação de hipertensão arterial e proteinúria após a 20ª semana de gestação, ou na ausência de proteinúria, a associação de hipertensão e manifestação de disfunções maternas como insuficiência renal, envolvimento hepático, complicações neurológicas ou hematológicas, disfunção útero-placentária e restrição de crescimento fetal (Brown et al., 2018; ACOG, 2020).

Embora a etiologia da PE permaneça desconhecida, sua fisiopatologia parece ser influenciada pela placenta, uma vez que os sintomas de PE geralmente são normalizados logo após o parto (Chaiworapongsa et al., 2014; Cheng et al., 2016). A hipótese mais discutida na literatura enfatiza a má adaptação da resposta imune e a invasão inadequada das arteríolas espiraladas pelo trofoblasto, que resultam em lesão tecidual causada por isquemia/hipóxia (Huppertz, 2008). A diminuição da oferta local de oxigênio e nutrientes está associada à morte celular aumentada do trofoblasto (Wu et al., 2012). Atualmente sabe-se que a isquemia placentária é de fundamental importância nesse processo, uma vez que a liberação de mediadores e debris pela placenta, caem na circulação materna e pode levar à disfunção endotelial sistêmica (Burton et al., 2019). Esses produtos de má-perfusão também ativam células da imunidade inata, como leucócitos circulantes, determinando uma reação inflamatória sistêmica, semelhante à observada na gestação normal, porém de maior intensidade (Redman & Sargent, 2005; Brewster et al., 2008; Tranquilli & Landi, 2010). Assim, o distúrbio imunológico, que ocorre na PE, parece ter sua origem na placenta e pode contribuir para a patogênese da doença (Kharfi et al., 2003; Harmon et al., 2016; Miller et al., 2021).

Essa reação inflamatória sistêmica exacerbada, que ocorre na PE, é caracterizada por produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias como Interleucina-1 (IL-1 β), IL-6, IL-17, fator de necrose tumoral- α (TNF) e de quimiocinas (Luppi & Deloya, 2006; Szarka et al., 2010; Peraçoli et al., 2007; 2013; Raghupathy, 2013; Ribeiro et al., 2017; Romão-Veiga et al., 2020), bem como deficiência na síntese da citocina anti-inflamatória IL-10, importante fator capaz de regular a resposta inflamatória (Cristofalo et al., 2013; Raghupathy, 2013; Aggarwal et al., 2019). Assim, a ativação de células da imunidade inata, com produção exacerbada de citocinas

e outros mediadores inflamatórios pode causar ativação de células da imunidade adaptativa, gerando células T CD4⁺ inflamatórias na PE.

A diferenciação de células T está relacionada com ativadores (Saito et al., 2010) e fatores de transcrição (Jianjun et al., 2010), sendo a diferenciação regulada por ambos. As subpopulações têm como ativadores e fatores de transcrição, respectivamente: Th1 - STAT4 (*Signal transducer and activator of transcription 4*) e T-bet (*T box transcription factor*); Th2 - STAT6 (*Signal transducer and activator of transcription 6*) e GATA-3 (*GATA binding protein 3*); Th17 - STAT3 (*Signal transducer and activator of transcription 3*) e ROR γ t (*retinoic acid-related orphan receptor gamma t*); Treg -STAT5 (*Signal transducer and activator of transcription 5*) e FoxP3 (*forkhead box P3*). Estudos recentes mostram que as células Th1, Th2, Th17 e T reguladoras estão relacionadas e possuem plasticidade podendo se converter umas nas outras (Peck & Mellins, 2010; Saito et al., 2010; Figueiredo & Schumacher, 2016).

Durante as fases iniciais da gestação, é observado um balanço adequado entre as células da imunidade adaptativa TCD4⁺, classificadas em subpopulações Th1, Th2, Th17 e T reguladora (Treg), de acordo com o perfil de citocinas que produzem. Na gestação normal esse balanço está fisiologicamente desviado em favor do perfil Th2, resultando na implantação da tolerância materna e no desenvolvimento fetal (Raghupathy, 2008), além do aumento do número e função de células Treg (Santner-Nanan et al., 2009; Toldi et al., 2012). Células Th17 e Treg estão envolvidas no estabelecimento da defesa e da tolerância, respectivamente. Essa atividade do sistema imune garante um nível apropriado de proteção e, o equilíbrio entre essas duas subpopulações e sua rede de interações, promove a homeostase do organismo. Assim, durante a gestação ocorre um fino balanço entre células Th17 e Treg, que medeia a tolerância materna ao feto (Aluvihare et al., 2004; Lee et al., 2011), sem comprometer a capacidade do organismo materno de combater infecções e doenças (Figueiredo & Schumacher, 2016).

Na gestação normal, as células Th17 e Treg atuam para manter a homeostase e interagem com outros tipos celulares para orquestrar a resposta imune. No entanto, na PE ocorre um desequilíbrio na diferenciação dessas células, que pode ser um importante fator no desenvolvimento da doença (Zhang et al., 2018).

Vários estudos relataram um aumento das células com perfil Th17 no sangue periférico de mulheres com PE quando comparadas com grávidas normais (Santner-Nanan et al., 2009; Cao et al., 2015; Zhang et al., 2017; Muyayalo et al., 2019; Eghbal-Fard et al., 2019; Chang et al., 2021). Estudos realizados em nosso laboratório, avaliando expressão gênica e proteica dos fatores de transcrição, característicos de subpopulações de células T CD4⁺ demonstraram maior expressão de T-bet (Th1) e ROR γ t (Th17) associada à menor expressão de GATA-3 (Th2) e

FoxP3 (Treg) na população de linfócitos T circulantes das gestantes pré-eclâmpticas em comparação às gestantes normotensas. A produção endógena aumentada de TNF e IL-17 e a diminuição de IL-10 no sobrenadante dessas células comprovam o perfil inflamatório dessas subpopulações de células T na PE (Ribeiro et al., 2017; Romao-Veiga et al., 2022).

Em conjunto, esses resultados demonstram que a inflamação sistêmica é uma característica fundamental na PE, representada por níveis circulantes excessivos de citocinas pró-inflamatórias TNF e IL-17, associados à redução da citocina anti-inflamatória IL-10 e fenótipo anormalmente ativado das subpopulações de células Th1 e Th17 (Ribeiro et al., 2017).

O desbalanço entre citocinas pró e anti-inflamatórias na PE já está bem caracterizado, havendo predominância da concentração de TNF sobre a de IL-10 no plasma (Peraçoli et al., 2013) e na placenta, determinando assim, aumento da relação TNF/IL-10, principalmente nos casos mais graves de PE (Weel et al., 2016) e associados com desfecho materno desfavorável (Nunes et al., 2021). Portanto, os níveis circulantes elevados de TNF em gestantes pré-eclâmpticas, descritos na literatura (Peraçoli et al., 2013; Raghupathy, 2013; Ribeiro et al., 2017) refletem sua produção pela placenta (Weel et al., 2016) e por células mononucleares do sangue periférico, principalmente monócitos, que se encontram ativados na PE (Peraçoli et al., 2011; Medeiros et al., 2014; Romão-Veiga et al., 2018; 2020). Os resultados sugerem que os efeitos deletérios das concentrações elevadas de TNF podem estar associados ao estresse oxidativo (Peraçoli et al., 2011) e às formas mais graves de PE (Peraçoli et al., 2007; 2013; Minuz et al., 2015), podendo interferir com os mecanismos das imunidades inata e adaptativa.

O TNF, inicialmente descrito como TNF- α é uma proteína pleiotrópica produzida por diferentes células, tais como macrófagos, células dendríticas, células T e B, células endoteliais, mastócitos e células neurais em resposta a infecções e estímulos inflamatórios (Sethi et al., 2008; Croft, 2009). Essa citocina está envolvida na patogênese de processos fisiológicos que controlam a inflamação e homeostase do sistema imune, desempenha papel central no início da resposta imune a patógenos e no desenvolvimento de várias doenças autoimunes (Grivennikov et al., 2005; McInnes & Schett, 2011; Mehta et al., 2018). O TNF é produzido como uma proteína de transmembrana (tmTNF) que pode ser proteoliticamente clivada pela enzima conversora de TNF (TACE) dando origem ao TNF solúvel (sTNF). Tanto tmTNF quanto sTNF podem exercer diferentes efeitos funcionais sobre células T CD4⁺, por meio da interação com seus receptores específicos (TNFR1-p55 e TNFR2-p75), presentes na superfície dessas células (Bystrom et al., 2018; Chen et al., 2021). Assim, o TNF liga-se ao TNFR1 que é expresso em vários tipos celulares e é reconhecido como o principal receptor para TNF solúvel, enquanto TNFR2 tem padrão de expressão restrito a poucos tipos celulares, principalmente células T

reguladoras (Bystrom et al., 2018; Yang et al., 2018; Atretkhany et al., 2020). TNFR1 pode ser ativado por ligação com ambos tmTNF e sTNF, enquanto TNFR2 é principalmente ativado por tmTNF (Richter et al., 2012; Sedger & McDermott MF., 2014), mas também pode responder ao sTNF. Por outro lado, ambos TNFR1 e TNFR2 podem ser encontrados na forma solúvel, atuando como antagonistas de TNF (Atretkhany et al., 2020).

A ligação de TNF a esses dois receptores, estruturalmente diferentes, ativa diferentes vias de sinalização, que são parcialmente sobrepostas e induzem respostas diversas (Atretkhany et al., 2020). Ambos tmTNF e sTNF são ativos como homotrímeros e ligam-se a TNFR1 e TNFR2. A interação com TNFR1 ativa a via canônica do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B) e as vias das quinases p38MAPK e JNK, enquanto a interação de TNFR2 ativa a via da MAP quinase e leva à ativação não canônica do NF- κ B (Sedger & McDermott, 2014). Embora TNFR1 induza primariamente morte celular por apoptose ou necrose, é também importante para o desenvolvimento de células T efectoras, sendo expresso tanto em Treg como Th17 (Park et al., 2016). TNFR2 é predominantemente expresso por células T reguladoras CD4 FoxP3⁺ humanas e de camundongos e, a co-expressão de CD25 com TNFR2 identifica células com a maior capacidade supressora (Chen et al., 2010). O bloqueio seletivo de TNFR2 em células T CD4⁺ parece ser suficiente para promover a diferenciação para Th17 (Miller et al., 2015).

Estudo recente, desenvolvido por Yang et al., (2019) mostrou que a sinalização de TNFR1 é importante para a diferenciação de Th1 e Th17. Empregando camundongos deficientes de TNFR1 ou de TNFR2 os autores observaram que o estímulo *in vitro* de células CD4⁺ com TNF facilitava a diferenciação e função de células Treg, enquanto que a deficiência de TNFR2 impedia essa atividade. Por outro lado, a deficiência de TNFR1 diminuiu a diferenciação de células T inflamatórias como Th1 e Th17 em modelos experimentais de colite e de encefalomielite autoimune experimental. Segundo os autores, os resultados *in vivo* e *in vitro* demonstram que o TNF exógeno promove diferenciação, proliferação e ativação de células Treg via sinalização TNFR2, implicando esse receptor como molécula imunorreguladora crítica em doenças inflamatórias autoimunes. Além disso, a expressão desse receptor pode estar diminuída em algumas doenças autoimunes acompanhadas por altos níveis sistêmicos de TNFR1.

Diferenças na expressão dos receptores TNFR1 e TNFR2 em células T parecem ser responsáveis pelo desbalanço Th17/Treg em doenças autoimunes (Chee et al., 2011). Em modelo de diabetes tipo 1 em camundongos NOD, a deficiência de TNFR1 protege os animais por promover a expansão e função de Treg, via TNFR2. No modelo de psoríase em

camundongos, induzida por imiquimod, a deficiência do receptor TNFR1 inibiu o desenvolvimento dessa doença de pele. Em nítido contraste, a deficiência do receptor TNFR2 levou à psoríase mais grave, que foi associada a respostas Th1 e Th17 aumentadas e número reduzido de células Tregs $CD4^+$ FoxP3⁺ (Chen et al., 2021). O estudo indicou claramente que o TNFR1 era patogênico na psoríase em camundongos, enquanto o TNFR2 foi protetor neste modelo. Segundo os autores, o emprego de antagonista específico do TNFR1 ou de agonista específico do TNFR2 pode ser útil no tratamento de pacientes com psoríase. Portanto, o emprego de moléculas agonistas de receptores da família do TNF como TNFR2 poderá ser uma alternativa menos tóxica sistemicamente para tratamento de pacientes com doenças autoimunes e inflamatórias no futuro (Yang et al., 2019).

Na PE a resposta inflamatória sistêmica exacerbada parece estar associada em parte com o balanço Th17/Treg desviado para um perfil inflamatório, com aumento do número de células Th17, maior produção de TNF e IL-17 por subpopulações de células $CD4^+$ Th1 e Th17, respectivamente e concentrações elevadas de TNF e do seu receptor TNFR1 no plasma das gestantes (Peraçoli et al., 2013; Ribeiro et al., 2017; 2022). Entretanto, não se conhece a distribuição dos receptores TNFR1 e TNFR2 em células $CD4^+$ de gestantes portadoras de PE e seu papel na patogênese dessa importante síndrome da gestação. Em vista disso, a determinação desses receptores na subpopulação de células T $CD4^+$ /Th17 associada à concentração plasmática de TNF e seus receptores solúveis em gestantes pré-eclâmpticas poderá trazer novos conhecimentos para a compreensão da resposta inflamatória sistêmica e o desbalanço das subpopulações de células T nessa patologia.

•

6. CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que as gestantes portadoras de PE apresentam inflamação sistêmica, com aumento de moléculas inflamatórias presentes no plasma e capazes de induzir perfil inflamatório. A progesterona pode ter um efeito modulador na expressão dos receptores de TNF, desviando as células para um perfil anti-inflamatório com maior expressão de TNFR2, semelhante ao apresentado por gestantes normotensas.

REFERÊNCIAS

- Alijotas-Reig J, Esteve-Valverde E, Ferrer-Oliveras R, Llurba E, Gris JM. Tumor Necrosis Factor-Alpha and Pregnancy: Focus on Biologics. An Updated and Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2017; 53:40-53.
- American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics, 2020. Gestational hypertension and preeclampsia: ACOG practice bulletin, number 222. *Obstet. Gynecol*. 135, e237–e260.
- Aggarwal R, Jain AK, Mittal P, Kohli M, Jawanjal P, Rath G. Association of pro- and anti-inflammatory cytokines in preeclampsia. *J Clin Lab Anal*. 2019; 33:e22834.
- Amaral LM, McCray M, Evans K, Lawson F, Wallace K, Ibarhim T, Hogg III JP, Reeve K, Solise D, Herrock O, Campbell N, Turner TY, Lamarca B. 17-OHPC reduces blood pressure, markers of inflammation and prolongs time to delivery during preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2022 (Supplement); S512.

- Beckmann I, Efrain SB, Vervoort M, Visser W, Wallenburg HC. Tumor necrosis factor-alpha in whole blood cultures of preeclamptic patients and healthy pregnant and nonpregnant women. *Hypertens Pregnancy*. 2004; 23(3):319-29.
- 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.
- Bystrom J, Clanchy FI, Taher TE, Mangat P, Jawad AS, Williams RO, Mageed RA. TNF α in the regulation of Treg and Th17 cells in rheumatoid arthritis and other autoimmune inflammatory diseases. *Cytokine*. 2018; 101:4-13.
- Cabal-Hierro L, Lazo PS. Signal transduction by tumor necrosis factor receptors. *Cell Signal* 2012; 24:1297–305.
- Chen S, Lin Z, Xi L, Zheng Y, Zhou Q, Chen X. Differential role of TNFR1 and TNFR2 in the development of imiquimod-induced mouse psoriasis. *J Leukoc Biol*. 2021 Sep 8. doi: 10.1002/JLB.2MA0121-082R.
- Chen X, Subleski JJ, Hamano R, Howard OM, Wilttrout RH, Oppenheim JJ. Co-expression of TNFR2 and CD25 identifies more of the functional CD4+FOXP3+ regulatory T cells in human peripheral blood. *Eur J Immunol*. 2010; 40:1099-106.
- Cortés-Fernández I, Sureda A, Adrover M, Caprioli G, Maggi F, Gil-Vives L, Capó X. Antioxidant and anti-inflammatory potential of rhizome aqueous extract of sea holly (*Eryngium maritimum* L.) on Jurkat cells. *J Ethnopharmacol*. 2023; 305:116120.
- Cristofalo R, Bannwart-Castro CF, Magalhães CG, Borges VT, Peraçoli JC, Witkin SS, Peraçoli MT. Silibinin attenuates oxidative metabolism and cytokine production by monocytes from preeclamptic women. *Free Radic Res*. 2013; 47:268-75.
- Devi S, Zimmermann-Klemd AM, Fiebich BL, Heinrich M, Gründemann C, Steinberger P, Kowarschik S, Huber R. Immunosuppressive activity of non-psychoactive Cannabis sativa L. extract on the function of human T lymphocytes. *Int Immunopharmacol*. 2022; 103:108448.
- Kiprono LV, Wallace K, Moseley J, Martin J Jr, Lamarca B. Progesterone blunts vascular endothelial cell secretion of endothelin-1 in response to placental ischemia. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 209:44.e1-6.
- Lok CA, Jebbink J, Nieuwland R, Faas MM, Boer K, Sturk A, Van Der Post JA. Leukocyte activation and circulating leukocyte-derived microparticles in preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2009; 61:346-59.
- Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*. 2001; 104:487-501.
- Luppi P, Deloia JA. Monocytes of preeclamptic women spontaneously synthesize pro-inflammatory cytokines. *Clin Immunol*. 2006; 118:268-75.
- 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*. 2021:103286.
- 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.
- Miller PG, Bonn MB, McKarns SC. Transmembrane TNF-TNFR2 impairs Th17 differentiation by promoting IL2 expression. *J Immunol*. 2015; 195:2633-47.
- 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.

- Moffett A, Hiby S. How does the maternal immune system contribute to the development of preeclampsia? *Placenta* 2007; 28:S51-S56.
- Park Y, Jin HS, Lopez J, Lee J, Liao L, Elly C, Liu YC. SHARPIN controls regulatory T cells by negatively modulating the T cell antigen receptor complex. *Nat Immunol.* 2016;17:286-96.
- 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; 66:460-7.
- 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.
- Raghupathy R. Cytokines as key players in the pathophysiology of preeclampsia. *Med Princ Pract.* 2013; 22:8-19.
- Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science.* 2005; 308:1592-4.
- Reslan OM, Khalil RA. Molecular and vascular targets in the pathogenesis and management of the hypertension associated with preeclampsia. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 2010; 8:204–26.
- 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.
- Ribeiro VR, Romao-Veiga M, Nunes PR, de Oliveira LRC, Romagnoli GG, Peraçoli JC, Peraçoli MTS. Immunomodulatory effect of vitamin D on the STATs and transcription factors of CD4⁺ T cell subsets in pregnant women with preeclampsia. *Clin Immunol.* 2022; 234:108917.
- Romao-Veiga M, Matias ML, Ribeiro VR, 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; 21:159-65.
- 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.
- Romero R, Yeo L, Chaemsaihong P, Chaiworapongsa T, Hassan SS. Progesterone to prevent spontaneous preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med* 2014; 19:15-26.
- Santner-Nanan B, Peek MJ, Khanam R, Richarts L, Zhu E, Fazekas de St Groth B, Nanan R. Systemic increase in the ratio between Foxp3⁺ and IL-17-producing CD4⁺ T cells in healthy pregnancy but not in preeclampsia. *J Immunol.* 2009; 183:7023-30.
- Shah NM, Imami N, Johnson MR. Progesterone modulation of pregnancy-related immune responses. *Front. Immunol* 2018; 9:1293.
- Szarka A, Rigó J Jr, Lázár L, Beko G, Molvarec A. Circulating cytokines, chemokines, and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC Immunol.* 2010; 11:59.
- Tulchinsky D, Hobel CJ, Yeager E, Marshall JR. Plasma estrone, estradiol, estriol, progesterone, and 17-hydroxyprogesterone in human pregnancy. I. Normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1972; 112:1095-100.
- 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.

- Xanthoulea 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 Aug 2;200(3):367-76.
- Xu S, Zhang X, Ma Y, Chen Y, Xie H, Yu L, Wang J, Xu SG, Pan F. FOXO3a Alleviates the inflammation and oxidative stress via regulating TGF- β and HO-1 in ankylosing spondylitis. *Front Immunol*. 2022; 13: 935534.
- Wang B, Jiang X, Li Y, Xu H, Ying B, Qiu J, Huang Z, Shao X. YY1 alleviates lupus nephritis-induced renal injury by reducing the Th17/Treg **cell** ratio via the IFN- γ /Fra2 axis. *Lab Invest*. 2022 Aug;102(8):872-884.
- 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.
- Zhang Q, Huang Y, Zhang K, Yan Y, Wu J, Wang F, Zhao Y, Xu H, Jiang W, Yu D, Chen Y, Ye D. Progesterone attenuates hypertension and autoantibody levels to the angiotensin II type 1 receptor in response to elevated cadmium during pregnancy. *Placenta* 2018; 62:16-24.