

Artigo / Article

Atividade fagocitária do sistema mononuclear fagocitário na gravidez *Phagocytic function of reticuloendothelial system during pregnancy*

Leonardo S. Vasconcellos¹Kelly R. Sabino²Andy Petroianu³Carlos J. R. Sima⁴

As alterações imunitárias que ocorrem durante a gravidez são ainda pouco compreendidas. Para determinar a influência da gravidez na atividade fagocitária do sistema mononuclear fagocitário (SMF) foram utilizadas vinte ratas adultas. Os animais foram divididos em dois grupos (n=10): Grupo 1 – controle, Grupo 2 – ratas prenhas. A função do sistema mononuclear fagocitário foi determinada pela captação de enxofre coloidal marcado com ^{99m}Tc pelos órgãos do SMF, além de avaliar a permanência do radiofármaco em coágulo sanguíneo. O peso e a radiação de cada amostra foram medidas. Realizou-se também análise histológica desses órgãos. Os resultados foram comparados pelo teste t de Student. Em todos os animais, a captação do radiofármaco foi maior no fígado, seguido pelo baço e pulmão. O coágulo sanguíneo apresentou uma quantidade mínima de radiação. As ratas grávidas registraram menor captação do colóide no fígado e maior captação no pulmão em relação ao grupo controle. Não foram evidenciadas alterações na histoarquitetura desses órgãos. Em rata grávida, a atividade fagocitária do SMF diminuiu no fígado, porém aumentou no pulmão. Rev. bras. hematol. hemoter. 2003;25(4):213-218.

Palavras-chave: Gravidez; sistema mononuclear fagocitário; ^{99m}Tc enxofre coloidal.

Introdução

O sistema mononuclear fagocitário (SMF) responsabiliza-se por grande parte da imunidade celular, atuando na defesa contra microorganismos,

incluindo bactérias, fungos, vírus, parasitas e corpos estranhos, bem como na remoção de células mortas, partículas inaladas, entre outros. Suas células apresentam motilidade e respondem a fatores quimiotáticos derivados principalmente de

¹ Médico de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da UFMG.

² Médico de Cirurgia Geral do Hospital Luxemburgo de Belo Horizonte.

³ Professor titular do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina – UFMG, Docente Livre da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, Docente Livre da Escola Paulista de Medicina – Unifesp.

Doutor em Fisiologia e Farmacologia – ICB / UFMG, Pesquisador IA do CNPq.

⁴ Professor adjunto do Departamento de Propeidêutica Complementar da Faculdade de Medicina – UFMG. Doutor em Medicina, Médico Nuclear.

Instituição: Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG

Correspondência para: Prof. Andy Petroianu

Av. Afonso Pena, n° 1626, Apto 1901

30130-005 – Belo Horizonte-MG

Fone (Fax): (31) 3274-7744 – E-mail: petroian@medicina.ufmg.br

linfócitos T.¹ As células do SMF são produzidas na medula óssea, lançadas na corrente sanguínea sob a forma de monócitos e posteriormente migram para os tecidos, na forma de macrófagos ou histiócitos, onde permanecem a maior parte do tempo. O SMF também atua na modulação do sistema imune humoral, controle da hematopoiese, produção e síntese de enzimas, componentes do sistema complemento, proteínas de ligação, citocinas, fatores de coagulação, fatores para angiogênese e fatores de crescimento.²

Durante a gravidez, o organismo materno sofre diversas adaptações anatômicas, fisiológicas, bioquímicas e psíquicas. Muitas dessas alterações já foram estudadas na literatura, tais como: náuseas, vômitos, aumento do apetite, ganho ponderal, aumento dos fatores de coagulação, além de diminuição da albumina, aumento da fosfatase alcalina, elevação da volemia, aumento da frequência cardíaca, hipocloridria, hipercolesterolemia, redução do peristaltismo, etc.³ Contudo, são conflitantes as informações disponíveis sobre os efeitos da gravidez no sistema de defesa.

Os níveis de imunoglobulinas séricas (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE) e o número de células linfocitárias do tipo B são mantidos em níveis normais durante o período gestacional segundo a maioria dos autores.^{4,5} Por outro lado, diversos trabalhos identificaram uma queda sérica de anticorpos humorais, provavelmente por efeito hemodilucional, decorrente do aumento da volemia no período gestacional.^{6,7}

Quanto à imunidade celular, é conhecida a leucocitose durante a gravidez (14.000 a 16.000 céls/mm³), que se torna mais pronunciada no período do trabalho de parto. Ela é principalmente constituída por polimorfonucleares, com diferencial variável de basófilos e eosinófilos.^{3,4,8}

Além das alterações quantitativas, as variações funcionais das células imunitárias também já foram foco de estudo durante a gestação. Krause et al (1987) observaram diminuição da quimiotaxia e da atividade fagocitária entre o segundo trimestre do período gestacional e o primeiro trimestre pós-parto.^{4,9} Outros estudos relacionaram a depressão imunitária gestacional com possível melhora clínica de doenças auto-imunes.^{10,11}

Na década de 1980, alguns trabalhos postulavam que o sistema imune pode ser regulado pelos esteróides sexuais, por interações no eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal-tímico.¹¹⁻¹³ Atualmente,

essa teoria tem sido subsidiada pela possibilidade de hormônios gonadais modularem a resposta imune e contribuir para o tratamento de doenças auto-imunes. Por outro lado, a redução dos hormônios sexuais diminui a função dos macrófagos e aumenta a susceptibilidade para infecção.¹²

As enzimas antioxidantes dos macrófagos, a catalase e a superóxido dismutase também sofrem influência dos hormônios femininos, principalmente do estrogênio, que eleva a ação da catalase.^{14,15} Mondal & Raí (2002) relataram que o aumento do nível circulante de IL-1 produzida por macrófagos esplênicos pós-gonadectomia sugere ação inibitória dos hormônios gonadais na atividade citotóxica dos macrófagos.¹⁶

Diante das alterações imunitárias descritas durante a gestação, o presente trabalho teve como objetivo verificar a influência da gravidez na função fagocitária do sistema mononuclear fagocitário.

Material e Métodos

Este trabalho foi realizado de acordo com as recomendações das Normas Internacionais de Proteção aos Animais e do Código Brasileiro de Experimentação Animal (1988), e aprovado pela Comissão de Ética do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.^{17,18}

O presente estudo foi conduzido em vinte ratas Wistar, pesando entre 200 e 220 gramas, com aproximadamente 90 dias de idade. As ratas foram divididas aleatoriamente em dois grupos (n=10): Grupo 1 – controle; e Grupo 2 – ratas grávidas.

Os animais do Grupo 1 ficaram alojados em gaiolas próprias para rato (5 ratas/gaiola) e receberam água e ração à vontade. Para a indução de gravidez, as ratas do Grupo 2 permaneceram três dias em gaiolas individuais com um macho sabidamente fértil e posteriormente reagrupadas em duas gaiolas.

Decorridos quinze dias após a separação do macho, sob anestesia com éter sulfúrico, administraram-se a todos os animais uma solução de enxofre coloidal marcada com ^{99m}Tc, e atividade de 3 mCi (110 MBq), na dose de 1 ml/kg de peso, pela veia femoral. Após trinta minutos, os animais foram mortos com dose excessiva de éter sulfúrico. Em seguida, através de toracotomia mediana ampla, foram retirados segmentos, medindo um centímetro, do lobo hepático direito, da parte mé-

dia do baço e do lobo inferior do pulmão esquerdo. Coletou-se também um coágulo sangüíneo obtido pela secção da veia cava caudal. Aproveitou-se ainda essa fase do experimento para confirmação de gravidez nas ratas do Grupo 2.

Os fragmentos de cada órgão e o coágulo sangüíneo foram pesados e colocados em copos de plástico de 20 ml. A radioatividade contida em cada amostra foi determinada colocando-se os copos com as amostras no centro do colimador de um cintilógrafo (Siemens, modelo Orbiter), para mensuração dos raios gama (gama-câmara). Previamente, três copos vazios foram colocados no colimador da gama-câmara para a certificação da completa ausência de atividade radioativa. A radiação foi calculada por grama de tecido. Atribuiu-se à somatória da radioatividade emitida pelas quatro amostras o valor de 100. Com base nessa soma, a radioatividade de cada tecido específico (fígado, baço, pulmão e sangue) foi convertida para valores percentuais.

As médias das radiações das amostras de cada animal e dos diferentes grupos foram comparadas utilizando-se a análise de variância e o teste t de Student. Foram consideradas significativas as diferenças correspondentes a $p < 0,05$.

Foram realizados estudos histológicos do fígado, baço e pulmão, de todos os animais, com o objetivo de avaliar possíveis alterações na celularidade do SMF. As amostras foram fixadas em formol a 10%, processadas em lâminas e posteriormente coradas com hematoxilina e eosina, para observação à microscopia óptica com aumentos de 10X, 40X e 100X.

Resultados

Os animais permaneceram sem anormalidades aparentes durante o período de acompanhamento. Todas as ratas do Grupo 2 tiveram sua gravidez comprovada pela identificação de fetos em seus úteros. A Tabela 1 apresenta os valores proporcionais dos registros de radioatividade nas amostras dos órgãos, bem como do coágulo sangüíneo, avaliados. A captação de enxofre coloidal em ambos os grupos foi maior no fígado ($p < 0,05$), seguido pelo baço, pulmão e coágulo sangüíneo. No Grupo 1, a captação hepática foi proporcionalmente maior do que no Grupo 2 ($p < 0,05$). Em compensação, a captação pulmonar foi menor no Grupo-controle ($p < 0,05$).

Tabela 1
Valores percentuais (média \pm erro padrão da média) dos registros de radioatividade em amostras de órgãos do sistema mononuclear fagocitário e coágulo sangüíneo, em ratas Wistar não grávidas (Grupo 1) e grávidas (Grupo 2)

Amostras	Radioatividade (%/g)	
	Grupo 1	Grupo 2
Fígado	58,42 \pm 11,92	48,37 \pm 12,12*
Baço	28,32 \pm 15,13	32,85 \pm 10,93
Pulmão	10,64 \pm 4,54	17,29 \pm 10,41*
Coágulo	2,52 \pm 2,48	1,81 \pm 1,53

* captação hepática e pulmonar diferente entre os grupos 1 e 2 ($p < 0,05$)

A histoarquitetura hepática, esplênica e pulmonar não evidenciou diferenças entre as ratas de ambos os grupos. Não foram encontradas alterações na celularidade desses órgãos. Afecções inflamatórias, proliferativas ou degenerativas também não foram constatadas.

Discussão

A avaliação da função do SMF vem sendo estudada em uma linha de pesquisa desde 1981, por meios da captação celular de enxofre coloidal marcado com ^{99m}Tc (19-22). Esse método consiste na fagocitose de uma substância radioativa identificada como antígeno pelas células do SMF. A eficácia dessa captação celular é medida por um aparelho de gama-câmara, que quantifica a radioatividade emitida por pequenas amostras. A radiação é proporcional ao número de partículas radioativas fagocitadas. O tempo de trinta minutos aguardado após a inoculação intravenosa de enxofre coloidal marcado com ^{99m}Tc permitiu que o colóide fosse fagocitado pelos órgãos do SMF, mesmo sabendo que 90% da depuração sangüínea ocorre em cinco minutos.²²

No presente estudo, para a análise da função do sistema mononuclear fagocitário, avaliou-se a captação do colóide apenas no fígado, pulmão e baço, por serem os órgãos do SMF.^{21,23} Acrescentou-se também o estudo do colóide remanescente no sangue com o objetivo de verificar a eficácia da função depuradora do SMF. A manutenção de valores muito reduzidos de colóide radioativo na circulação indica que o SMF das ratas de ambos os grupos desempenhou adequadamente o seu papel

de remover partículas anômalas da circulação. A mensuração da captação do enxofre coloidal nos demais órgãos do SMF, tais como timo, placas de Peyer, medula óssea e linfonodos, não se procedeu por não ser, rotineiramente, factível. Em trabalhos anteriores observamos que a quantidade de radiação desses tecidos é muito pequena para uma mensuração confiável por meio do método utilizado nesta linha de pesquisa.²⁰⁻²²

Para a marcação de diferentes estruturas biológicas, diversos radiofármacos vêm sendo utilizados, tais como: carbono, gálio, hidrogênio, rênio, tecnécio, dentre outros.²⁴⁻²⁶ O emprego do tecnécio no presente estudo foi devido às suas características físico-químicas e biológicas e por permitir um método de marcação simples, embora meticuloso, efetivo, rápido, de fácil avaliação e de baixo custo. Contudo, outros autores acreditam que a depuração de bactérias possa constituir um método mais complexo que a depuração de substâncias coloidais, fornecendo indícios mais seguros da atividade fagocitária dos órgãos do SMF.²⁴

Em estudos experimentais que abordam gravidez, a utilização de rata Wistar é bastante comum devido às suas importantes características biológicas previamente conhecidas: facilidade para cópula e período gestacional relativamente curto, em torno de 21 dias.^{27,28} Outras características importantes são o pequeno porte, grande resistência a procedimentos cirúrgicos e a facilidade de manuseio e confinamento.²⁰

A maior captação do radiofármaco pelo fígado foi esperada para ambos os grupos, tendo em vista o grande fluxo sanguíneo hepático e a maior quantidade de tecido de SMF, representada principalmente pelas células de Kupffer, que é responsável por quase metade da capacidade fagocitária do organismo.^{20,21}

A redução da depuração hepática em presença de gravidez não pode ser explicada apenas com base nos achados do presente trabalho. Tindall & Beazley (1965), estudando as funções do fígado na gravidez, encontraram uma relação entre o elevado nível de estrogênio circulante e as alterações funcionais desse órgão.²⁹ Hiperbilirrubinemia, desglicogenização, aumento do teor de aminoácidos e a hepatomegalia também já foram descritos durante o período gestacional.³⁰

O baço é responsável por 25% a 30% da depuração sanguínea, seguido pelos pulmões – 5% a 10%.^{19,31,32} Neste trabalho não foi verificada mu-

dança na captação do colóide devido à gravidez. Entretanto, houve aumento da depuração pulmonar do grupo com gravidez. Sabe-se que durante o período gestacional ocorre elevação dos níveis de progesterona responsável pelo aumento do volume corrente e frequência respiratória.³¹ A hiperventilação, com conseqüente aumento da PaO₂ e diminuição da PaCO₂, poderia influenciar no sistema de defesa celular.³³

Embora a gravidez não seja uma condição predisponente a sepse, observou-se aumento da mortalidade de gestantes por influenza.³⁴ É provável que níveis elevados de progesterona e de 17-beta estradiol propiciem aumento da incidência de infecções fúngicas pulmonares.^{35,36} Neste experimento não foram dosados os hormônios circulantes por dificuldade metodológica, tendo em vista a grande quantidade de sangue necessária para formação do coágulo e por não ter sido objetivo do estudo a avaliação endócrina. Não foram observadas alterações morfológicas nos órgãos estudados. Todavia, Oner et al (2002), ao pesquisarem os efeitos de hormônios gonadais na histoarquitetura do timo, observaram aumento de seu peso em presença de gonadectomia. Após a reposição hormonal, houve redução desse órgão e elevação do número de macrófagos e mastócitos.³⁷

Conclusões

Com base nos dados do presente trabalho, conclui-se que em presença de gravidez murina houve diminuição da fagocitose no fígado e aumento da função fagocitária pulmonar, sem alterar a depuração do colóide sanguíneo.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Sr. Darcy Ferreira dos Santos pela gentil concessão dos animais utilizados nesta pesquisa.

Abstract

Alterations of the immune function during the pregnancy are not well understood. To assess the influence of pregnancy on the phagocytic function of the reticuloendothelial system twenty adult female rats were divided into two groups: Group 1 (n=10) – control, Group 2 (n=10) – pregnant rats. The assessment

of the phagocytic function of the reticuloendothelial system was by the uptake of sulphur colloid labeled with Tc^{99m} by the reticuloendothelial system organs as well as to assess the permanence of the radio isotope in blood clots. The weights and radioactive levels of the samples were measured. Histologic analyses of these organs were performed as well. The results were compared using the Student t-test, with significance at $p < 0.05$. The scintigraphic values were higher in the liver followed by spleen and lung. The blood clot presented with only a low amount of radiation. The pregnant rats registered lower radiation levels in the liver and higher in the lung when compared with the control group. The histo-architecture of the studied organs did not show any alterations. Pregnancy reduces the phagocytic function of the liver but increases the role of the reticuloendothelial system function of the lung. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2003;25(4):213-218.

Key words: Pregnancy; reticuloendothelial system; ^{99m}Tc sulphur colloid.

Referências Bibliográficas

- Weinberg JB. Mononuclear phagocytes. In Lee GR, Foerster J, Lukens J, et al (eds): Wintrobe's Clinical Hematology, 10th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1999, p337-9.
- Johnston RB Jr. Current concepts: immunology, monocytes and macrophages. *N Engl J Med* 1988; 318: 747-52.
- Souza AI, Malaquias B, Ferreira LOC. Alterações hematológicas e gravidez. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2002; 24:29-36.
- Krause PJ, Ingardia CJ, Pontilus LT, Malech HL, LoBello TM, Maderazo EG. Host defense during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1987;157:274-80.
- Patton PE, Coulam CB, Bergstrahl E. The prevalence of autoantibodies in pregnant and nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 1987;157:1345-50.
- Klein HH, Pich S. Cardiovascular changes during pregnancy. *Herz* 2003;28:173-4.
- Jensen E, Wood C, Keller-Wood M. The normal increase in adrenal secretion during pregnancy contributes to maternal volume expansion and fetal homeostasis. *J Soc Gynecol Investig* 2002;9:362-71.
- Bjorksten B, Soderstrom T, Damber MG, Von Schoultz B, Stigbrand T. Polymorphonuclear leukocyte function during pregnancy. *Scan Immunol* 1978;8:257-62.
- Takeuchi A, Persellin RH. The inhibitory effect of pregnancy serum on polymorphonuclear leukocyte chemotaxis. *J Clin Lab Immunol* 1980;3:121-4.
- Ahmed AS, Hissong BD, Verthelyi D, Donner K, Becker K, Karpuzpuzoglu SE. Gender and risk of autoimmune diseases. *Environ Health Perspect* 1999;107:681-4.
- Ahmed AS, Penhale WJ, Talal N. Sex hormones, immune responses, and autoimmune diseases. *Am J Pathol* 1985; 121:531-51.
- Knoferl MW, Angele MK, Diodato MD, Schwacha MG, Ayala A, Cioffi WG, Bland KI, Chaudry IH. Female sex hormones regulate macrophage function after trauma-hemorrhage and prevent increased death rate from subsequent sepsis. *Ann Surg* 2002; 235:105-12.
- Grossman CJ. Interactions between the gonadal steroids and the immune system. *Science* 1985;227:257-61.
- Azevedo RB, Rosa LF, Lacava ZG, Curi R. Gonadectomy impairs lymphocyte proliferation and macrophage function in male and female rats. *Cell Biochem Funct* 1997;15:293-8.
- Azevedo RB, Lacava ZG, Miyasaka CK, Chaves SB, Curi R. Regulation of antioxidant enzyme activities in male and female rat macrophages by sex steroids. *Braz J Med Biol Res* 2001;34:683-7.
- Mondal S, Rai U. In vitro effect of sex steroids on cytotoxic activity of splenic macrophages in wall lizard. *Gen Comp Endocrinol* 2002;125:264-71.
- Cooper JE. Ethics and Laboratory animals. *Vet Rec*, 1985;116:594-595.
- Petroianu A - Pesquisa experimental. In Petroianu A. Ética, Moral e Deontologia Médicas. Rio de Janeiro. Ganabara Koogan, 2000, 185-90.
- Duval IA, Simal CJR, Lage RP, Hanriot RM, Petroianu A. Tc sulphur colloid uptake by rats liver, spleen and lungs in early biliary obstruction. *Med Science* 1996; 24:245-6.
- Almeida LM, Melo MAB, Simal CJR, Petroianu A. Efeito da heparina sobre o sistema mononuclear fagocitário. *Acta Cir Bras* 1996;11:15-6.
- Petroianu A, Simal CJR, Barbosa AJA. Impairment of phagocytosis by mammalian splenic macrophages by ^{99m}Tc sulphur colloid. *Med Sci Res* 1992;20:874-9.
- Petroianu A, Simal CJR. Shifts in the reticuloendothelial system uptake pattern induced by carbon colloid in the rats. *Med Sci Res* 1993;21:311-2.
- Wexler WM, Kantor FS. Reticuloendothelial function in pregnancy. *Yale J Biol Med* 1966;38:315-22.
- Bernardo-Filho M, Pereira JAA, Boasquevisque EM. Labeling of *Klebsiella pneumoniae* with technetium- 99m . *Rev Microbiol* 1986;17:188-93.
- Katz S, Merkel GJ, Folkner WJ, Rosenthal RS, Grosfeld JL. Blood clearance and organ localization of *Candida albicans* and *E. coli* following dual infection in rats. *J Pediatr Surg* 1993;28:329-33.
- Holdsworth RJ, Neill GD, Irving AD, Cuschieri A. Blood clearance and tissue distribution of ^{99m}Tc -labelled pneumococci following splenectomy in rabbits. *Br J Exp Pathol* 1989;70:669-77.

27. Mattheij JA, Swarts JJ. Quantification and classification of pregnancy wastage in 5-day cyclic young through middle-aged rats. *Lab Anim* 1991;25:30-4.
28. Albrecht ED. Pregnancy in young and aged rats: Peripheral serum progesterone concentrations. *Biol Reprod* 1985;33:432-5.
29. Tindall VR, Beazley JM. An assessment of changes in liver function during normal pregnancy – using a odified bromsulphthalein test. *J Obstet Gynaecol Br Common* 1965;72:717-37.
30. Combes B, Adams RH. Pathophysiology of the liver in pregnancy. In Assali NS. *Pathophysiology of Gestation, Vol I*. New York, Academic Press, 1971.
31. Hosea SW, Brown EJ, Hamburger MI, Frank MM. Opsonic requirements for intracellular clearance after splenectomy. *N Engl J Med* 1981;304:245-50.
32. Brown EJ, Hosea SW, Frank MM. The role of complement in the localization of pneumococci in the slanchnic reticuloendothelial system during experimental bacteremia. *J Immunol* 1981;126:2230-5.
33. Milne JS, Howie AD, Pack AI. Dyspnoea during normal pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1978;85:260-3.
34. Okonta PI, Okali UK, Otoide VO, Twomey D. Exploring the causes of and risk factors for maternal deaths in a rural Nigerian referral hospital. *J Obstet Gynaecol* 2002; 22:626-9.
35. Finland M, Dublin TD. Pneumococcus pneumonia complicating pregnancy and the puerperium. *Jama* 1939;112:1027-32.
36. Garland SM, Ni Chuileannain F, Satzke C, Robins-Browne R. Mechanisms, organisms and markers of infection in pregnancy. *J Reprod Immunol* 2002;57:169-83.
37. Oner H, Ozan E. Effects of gonadal hormones on thymus gland after bilateral ovariectomy and orchidectomy in rats. *Arch Androl* 2002;48:115-26

Avaliação:

Editor e dois revisores externos.

Conflito de interesse: não declarado**Financiamento:**

CNPq e Fapemig

Recebido: 24/06/03**Aceito após modificações:** 23/08/03