

O FATOR DE NECROSE TUMORAL - α (TNF- α) NA REPRODUÇÃO DE FÊMEAS – REVISÃO DE LITERATURA

Maria Inês Lenz Souza¹
Luis Fernando Uribe-Velásquez²

SOUZA¹, M. I. L.; VELÁSQUEZ², L. F. U. O Fator de Necrose Tumoral - α (TNF- α) na Reprodução de Fêmeas - Revisão de Literatura. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar*, Umuarama, v. 11, n. 1, p. 47-53, jan./jun. 2008.

RESUMO: O TNF- α gerado nas células endoteliais, no oócito, na teca e na granulosa dos folículos pré-ovulatórios, tem papel obrigatório no desenvolvimento e diferenciação celular, mediado por receptores, bem como nos mecanismos de debilidade e ruptura ovariana. Resultados indicam que este é um importante fator local na atresia ou no processo inflamatório que resulta na ovulação, mas os efeitos desta citocina dependem do estágio de diferenciação das células-alvo, e da presença ou ausência de outros fatores de crescimento ou reguladores do processo de diferenciação. O TNF- α , combinado ao LH, pode potencializar o processo de ovulação. Já na fase luteal, ele reduz a secreção de estradiol. Também é de fundamental importância na luteogênese e na luteólise, via controle sobre a secreção de prostaglandinas das séries E e F e, conseqüentemente, interferindo nos níveis de progesterona. As diferenças nas respostas celulares podem depender de inter-relações entre os mecanismos de cascata, que podem co-existir dentro de um tipo particular de células.

PALAVRAS – CHAVE: Citocinas. Ovários. Útero. Fêmeas.

THE TUMOR NECROSIS FACTOR-A (TNF-A) IN FEMALE REPRODUCTION – LITERATURE REVIEW

ABSTRACT: TNF- α generated from endothelial cells, oocyte, techa and granulosa of preovulatory follicles has an obligatory role in cellular differentiation and growth, receptor mediated, such as debility mechanisms and ovarian rupture. The results indicate that this is an important local factor in either atresia or inflammatory process which results in ovulation, but the cytokine depends on the differentiation stage of the target-cell as well as the presence or absence of other growth or regulator factors of the differentiation process. TNF- α combined with LH can elicit the ovulation process. However, in the luteal phase, it decreases the oestradiol secretion. It is also important in the luteogenesis and luteolysis through the control of prostaglandins series E and F secretion, consequently interfering with the progesterone levels. Differences in cellular responses can depend on inter-relationships between cascade mechanisms which can co-existent in two particular cell types.

KEYWORDS: Cytokines. Ovary. Uterus. Female.

EL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL-A (TNF-A) EN LA REPRODUCCIÓN DE HEMBRAS – REVISIÓN DE LITERATURA

RESUMEN: El TNF- α se origina desde las células endoteliales, desde el oocito, la teca y desde la granulosa de los folículos preovulatorios con un papel relevante en el desarrollo y diferenciación celular, mediado por receptores, así como en los mecanismos de debilidad y ruptura ovárica. Los resultados prueban que esto es un importante factor local en la atresia o en el proceso inflamatório que resulta en la ovulación, pero los efectos de esta citocina dependen del estadio de diferenciación de las células objeto, y de la presencia o ausencia de otros factores de crecimiento o reguladores del proceso de diferenciación. El TNF- α sumado al LH puede potenciar el proceso de ovulación. Ya en la fase luteal, reduce la secreción del estradiol. No obstante es de fundamental importancia en la luteogênese y en la luteólisis, vía control sobre la secreción de prostaglandinas de las series E y F y, conseqüentemente, interviniendo en los niveles de la progesterona. Las diferencias en las respuestas celulares pueden depender de las interrelaciones entre los mecanismos de la cascada, que pueden coexistir dentro de un tipo particular de células.

PALABRAS CLAVE: Citocinas. Ovarios. Útero. Hembras.

Introdução

A função do sistema reprodutivo é regulada, sistemicamente, pela liberação controlada de vários hormônios. A resposta dos tecidos-alvo a estes hormônios pode ser modificada por fatores locais, os quais têm efeitos autócrinos e parácrinos (PATE, 1995; TERRANOVA, 1997; SKARZYNSKI et al., 2005; ORSI et al., 2007). As citocinas, molé-

culas protéicas solúveis liberadas por células imunes e outros tipos celulares, são produzidas em diferentes locais do organismo, inclusive na hipófise anterior, onde atuam, através de mecanismos autócrinos e parácrinos, como mensageiros intracelulares, modulando o crescimento celular e a produção hormonal (BAUR et al. 2000; GÉRARD et al. 2004).

Os efeitos do sistema imune são mediados por alterações do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, bem como atra-

¹ Médica Veterinária, MSc., Dra., Pós-Doutora, Professora Adjunta, Departamento de Morfofisiologia, UFMS, Av. Felinto Müller, 1555, Campo Grande, MS, 79070-900, mariaines@nin.ufms.br, autor para correspondência.

² Médico Veterinário, Mestre, Doutor, Pós-Doutor, Professor, Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia.

vés de interações diretas com as células ovarianas, pois os esteróides gonadais são importantes moduladores da resposta imune (PATE, 1995; NILSSON, et al., 2006).

O TNF- α e suas ações no ovário:

O fator de necrose tumoral (TNF- α) foi, originalmente, identificado como um fator envolvido na inflamação, com efeitos na redução do crescimento de tumores, sendo encontrado em células ovarianas e no fluido folicular de várias espécies, como roedores, animais domésticos e humanos, inclusive nos oócitos, nas células da granulosa e da teca, nas células endoteliais e nos macrófagos e, ainda, no corpo lúteo (TERRANOVA 1997; SAKUMOTO; OKUDA, 2004; WIJAYAGUNAWARDANE; MIYAMOTO, 2004; ORSI et al., 2007). Este fator tem sido amplamente estudado em sua relação com os processos reprodutivos, especialmente a ovulação. Para Murdoch (1985), a ovulação é um processo complexo, envolvendo a ruptura da parede de um folículo ovariano, permitindo a expulsão de seu oócito maduro, em resposta a um processo inflamatório agudo. As células imunes e suas citocinas secretadas têm, segundo Brännström et al. (1995), Kalra et al. (1998) e Gérard et al. (2004), um importante papel na regulação da função dos órgãos sexuais femininos. Várias células e moléculas mediadoras imunes aparecem no ovário e no fluido folicular dos animais domésticos e de laboratório, ao redor do momento da ovulação e da luteólise (TERRANOVA 1997; RAMADAN et al., 2001; ARMSTRONG et al., 2002; HATTORI; TABATA, 2006; OKANO et al., 2006; ORSI et al., 2007), com a presença de uma grande população de macrófagos residentes e flutuações em seus números celulares, bem como em outras subpopulações de leucócitos, em diferentes fases do ciclo estral (BRÄNNSTRÖM et al., 1995; ARMSTRONG, et al., 2002; OKANO et al., 2006) e na gestação (WIJAYAGUNAWARDANE; MIYAMOTO, 2004; ORSI et al., 2007; HANSEN, 2007). A matriz de colágeno das paredes dos folículos periovulatórios é degradada e remodelada durante a ruptura ovariana ovulatória e a luteinização (GOTTSCH et al., 2000; DEPTULA et al., 2001; ARMSTRONG et al. 2002).

A citocina, fator de necrose tumoral- α (TNF- α) é secretada, no ovário, conforme afirmam vários autores (BRÄNNSTRÖM et al., 1995; PATE, 1995; MURDOCH et al., 1997; TERRANOVA, 1997; SPICER, 2001; SAKUMOTO; OKUDA, 2004; NILSSON et al., 2006), em grandes quantidades, por macrófagos e neutrófilos ativados, bem como por distintas células não imunes, como células endoteliais e fibroblastos. O TNF- α foi localizado nas células endoteliais de folículos ovarianos pré-ovulatórios ovinos, parecendo ser liberado na área da ruptura folicular, uma vez que a injeção intrafolicular de anti-soro TNF- α bloqueou a ovulação nesta espécie (MURDOCH et al., 1997). Desta forma, estes mesmos autores concluem que o TNF- α gerado das células endoteliais dos folículos pré-ovulatórios ovinos tem um papel obrigatório nos mecanismos de debilidade e ruptura ovariana, e pode ser um importante fator local no processo inflamatório, resultando na ovulação (BRÄNNSTRÖM et al., 1995).

Avaliando ovários de búfalas durante as fases folicular e luteal do ciclo estral, Ramadan et al. (2001) verificaram maior número de macrófagos, linfócitos, neutrófilos, células

plasmáticas e eosinófilos em folículos maduros, comparados aos pré-antrais. A presença dos eosinófilos em números significativos, em grandes folículos antrais, pode, segundo eles, indicar a presença de fatores quimioatrativos no folículo, e a ocorrência de um processo imune no folículo não rompido. Outro membro da família de citocinas, envolvida na fisiologia e afluxo de leucócitos, é a proteína quimioatrativa de monócitos 1 (MCP-1), com evidências de que também esteja envolvida na luteólise (PENNY, 2000; ORSI et al. 2007).

Prange-Kiel et al. (2001) e Sakumoto e Okuda (2004) afirmam que receptores funcionais são requeridos para o TNF cumprir suas funções no ovário, havendo dois tipos maiores deles: o tipo I (TNFRI) e o tipo II (TNFRII). Destes, citam que o tipo I parece ser tipicamente expresso no ovário, confirmando os efeitos do TNF sobre o desenvolvimento e diferenciação celular, devidos à via mediada por receptores.

O TNF- α e seus receptores também estão presentes no corpo lúteo bovino, com as maiores expressões na luteólise (SKARZYNSKI et al., 2005; OKANO et al., 2006), sendo um potente estimulador das prostaglandinas luteais e da endotelina-1, em uma ação luteotrófica na fase luteal inicial (SAKUMOTO; OKUDA, 2004; ACOSTA et al., 2007). Zhao et al. (1998), trabalhando com corpos lúteos suínos, observaram que as citocinas, particularmente o TNF- α , têm efeitos inibitórios sobre a produção de progesterona das células luteais mas, contrariamente, nos estágios luteais iniciais, o TNF- α pode ter um efeito luteotrófico. Conforme conclusões de Okano et al. (2006), o TNF- α tem um importante papel na função do corpo lúteo de muitas espécies mamíferas, através da indução de apoptose por fragmentação do DNA das células luteais durante o ciclo estral.

Terranova (1997), em uma ampla revisão, cita que os três processos ovarianos que regulam a expressão do TNF ovariano são o desenvolvimento folicular, a ovulação e a regressão luteal. Em pequenos folículos em desenvolvimento, o TNF suprime a resposta do ovário às gonadotrofinas, enquanto em folículos pré-ovulatórios ele suprime a esteroidogênese. Estas observações, ainda segundo este autor, sugerem a hipótese de que o TNF, liberado do folículo dominante, possa atuar como um fator parácrino, suprimindo o desenvolvimento dos folículos maiores. Contudo, no folículo pré-ovulatório, o TNF promove a produção de progesterona, um mediador da ovulação.

A associação do TNF- α a outros fatores de crescimento e diferenciação:

Os efeitos das citocinas dependem do estágio de diferenciação das células-alvo, bem como da presença ou ausência de outros fatores de crescimento e reguladores dos processos diferenciativos (PATE, 1995; ORSI et al. 2007). A superfamília TNF pode, de acordo com Hunt e Phillips (2000), estimular apoptose ou regular a expressão de genes, através da indução de muitos fatores de transcrição. Corroborando, Gottsch et al. (2000) afirmam que o TNF- α é um mediador da colagenólise (das paredes foliculares) e da ovulação, ativando a expressão do gene colagenase intersticial (MMP-1) em vários locais, inclusive nos folículos ovarianos. Fatores de crescimento, produzidos localmente, podem ter importantes papéis modulatórios no crescimento folicular

ovariano final (BERISHA et al., 2000). O sucesso da ovulação requer potentes mediadores inflamatórios, para auxiliar na ruptura do folículo maduro (RAMADAN et al., 2001).

Já Kelley (2000) verificou a importância do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) sobre as ações do TNF- α , em que o IGF-1 não somente aumenta a atividade mitótica de células pró-mielóides, mas atua como fator de sobrevivência e promove diferenciação em neutrófilos e macrófagos, produtores de TNF- α . Por outro lado, relatam que o TNF- α age por silenciar os sinais que emanam de receptores ativados para IGF-1, induzindo a resistência do receptor. Os receptores para TNF- α e IGF, segundo Spicer (2001), variam, drasticamente, entre os tipos celulares e, nas células da teca e da granulosa, são diferentemente regulados por hormônios. Este mesmo autor descreve, ainda, que a interação entre TNF- α , IGF-1, insulina e gonadotrofinas difere entre células da teca e da granulosa, a despeito do fato de que o TNF- α inibe a esteroidogênese de ambos os tipos celulares. O TNF- α atua, também, bloqueando a habilidade da progesterona em inibir o recrutamento folicular e aumentar o percentual de oócitos não recrutados no ovário (NILSSON et al., 2006).

Moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) são marcadores de superfície celular, requeridos para o reconhecimento de antígenos pelos linfócitos T, durante uma resposta imune. As moléculas MHC classe II, no tecido luteal, são de interesse, porque podem ser o centro de respostas imunes mediadas por linfócitos T, particularmente durante a luteólise (PENNY et al., 1999; OKANO et al., 2006; ACOSTA et al., 2007; CANNON et al., 2007; ORSI et al., 2007). Estas moléculas e seus receptores são mais expressados a partir da metade da fase luteal (CANNON et al., 2007).

O TNF- α , *in vitro*, pode sinergizar com o LH, para induzir a ovulação (TERRANOVA, 1997). Em ovários de ratas perfundidos *in vitro*, o TNF- α induziu ovulações em um pequeno grau; porém, quando a mesma dosagem desta citocina foi combinada com LH, a resposta ovulatória induzida por este último foi amplificada em quatro vezes, conforme relatam Brännström et al. (1995).

É relatado um efeito inibitório do TNF- α sobre as células esteroidogênicas ovarianas menos diferenciadas, e uma ação estimulatória sobre aquelas mais completamente diferenciadas (BRÄNNSTRÖM et al., 1995; PATE, 1995; TERRANOVA, 1997). A produção de TNF dos oócitos, células da granulosa e/ou macrófagos, tem um papel na regulação da esteroidogênese, com a ação primária sobre os folículos em desenvolvimento, residindo na inibição da produção de progesterona e andrógenos pela teca (estimuladas pelas gonadotrofinas), e inibição da progesterona e da aromatase (e secreção de estradiol) nas células da granulosa (TERRANOVA, 1997; SAKUMOTO; OKUDA, 2004; NILSSON et al., 2006). Ele afeta a esteroidogênese e a secreção protéica nas células da teca e da granulosa bovinas, indicando efeitos fisiológicos no desenvolvimento folicular e luteal, bem como na regressão luteal (SAKUMOTO et al., 2000; OKANO et al., 2006; ACOSTA et al., 2007; ORSI et al., 2007). Assim, esta citocina tem importante papel no estabelecimento da atresia folicular ou da ovulação (SAKUMOTO; OKUDA, 2004). Sabe-se que o óxido nítrico (NO) é um fator luteolítico que tem um papel crucial na regulação do ciclo estral em luteólise estrutural, por induzir apoptose das células lu-

teais bovinas (SKARZYNSKI et al., 2005; KORZEKWA et al., 2006). O TNF- α atua, via NO, para estimular a secreção de prostaglandinas pelo endométrio bovino, além de ter um efeito fundamental na produção de prostaglandinas e NO no oviduto bovino (DEPTULA et al., 2001; GÉRARD et al., 2004; WIJAYAGUNAWARDANE; MIYAMOTO, 2004; HATTORI; TABATA, 2006). Nesta ação no oviduto, o TNF- α , originado das células epiteliais do oviduto, das células imunes presentes no oviduto e do embrião, modula a liberação local de substâncias relacionadas à contração, tais como prostaglandinas, endotelina-1 e angiotensina II, contribuindo para um criar um ambiente local adequado para o transporte de gametas e do embrião (WIJAYAGUNAWARDANE; MIYAMOTO, 2004). O TNF- α e o NO induzem a morte celular apoptótica no corpo lúteo, por modularem a expressão dos genes da família bcl-2 e por estimularem a expressão e atividade da caspase-3, determinantes do processo de apoptose (SKARZYNSKI et al., 2005; OKANO et al., 2006), além de se associarem a outros fatores luteolíticos, como o interferon- γ e a proteína Fas L (SAKUMOTO; OKUDA, 2004; ORSI et al., 2007).

O processo ovulatório, descrito por Ushigoe et al. (2000), é semelhante a uma reação inflamatória, caracterizado por infiltração de leucócitos, especialmente neutrófilos. Estes, provavelmente, facilitam a ovulação por produzirem vários mediadores-chave, como os eicosanóides, o fator ativador de plaquetas (PAF) e os ativadores do plasminogênio. As prostaglandinas causam a ruptura do folículo, por elevarem a contratilidade e adelgaçarem a parede folicular, via engrandecimento da atividade colagenolítica. Os ativadores do plasminogênio, sintetizados pelas células da granulosa, convertem o plasminogênio em plasmina e, esta, ativa a colagenase, a qual contribui para a decomposição do tecido conectivo da parede folicular (GOTTSCHE et al., 2000; USHIGOE et al., 2000).

O sistema interleucina-1 (IL-1) e seus componentes (ligante e receptores) foram demonstrados como sendo sintetizados em vários locais no ovário, tais como oócitos, células da teca e da granulosa, podendo estar envolvidos nos eventos associados à ovulação, como a síntese de proteases, a regulação do fator ativador do plasminogênio e a produção de óxido nítrico e prostaglandinas, além de regular a esteroidogênese ovariana (GÉRARD, et al., 2004; ORSI, et al., 2007).

O processo de ovulação necessita, conforme Ramadan et al. (2001), debilidade das camadas de tecido conectivo da túnica albugínea e da teca externa, antes da parede folicular ser rompida. Estas modificações, por sua vez, requerem a transição de fibroblastos tecais quiescentes a células proliferativas, de uma maneira característica de resposta inflamatória tissular. Neste processo, existem muitos fatores envolvidos.

O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é produzido pelas células da granulosa, em resposta ao estímulo de gonadotrofinas, a fim de criar as condições vasculares requeridas para o crescimento e atividade folicular (BERISHA et al., 2000; MATTIOLI et al., 2001; PAPA, et al., 2007). Ele estimula a permeabilidade, a migração e o desenvolvimento proliferativo e morfológico das células endoteliais, eventos importantes para a foliculogênese e a luteogênese (FURLAN et al., 2001). Em vacas, Berisha et al. (2000) observaram que as famílias de fatores de crescimento

vascular endotelial (VEGF) e fibroblasto básico (FGF) estão envolvidas na proliferação capilar que acompanha a seleção do folículo pré-ovulatório, resultando em um suprimento aumentado de nutrientes e precursores, suportando o crescimento do folículo dominante. Em búfalas, Papa et al. (2007) verificaram influências parácrinas e autócrinas do VEGF sobre a capacidade esteroidogênica de células luteais. O FGF-2 existe no citoplasma de pequenos folículos, servindo como um indicador das modificações ocorridas desde estágios proliferativos até secretórios, em folículos terciários (GARCIA et al., 2006). Em muitas espécies (camundongos, humanos, suínos, ovinos, bovinos, felinos) revisadas por Behl e Pandey (2001), há evidências de que o fator de crescimento epidermal (EGF) regule a atividade das células da granulosa, por estimulação de receptores para FSH e produção de progesterona, bem como por inibição de receptores para LH, induzidos por FSH, secreção de inibina e atividade aromatase. Em caprinos, eles citam que o EGF parece estar envolvido na prevenção da atresia folicular, por estimular a secreção de progesterona, regulando a atividade das células da granulosa e, com isto, prevenindo a apoptose celular. O EGF tem, também, um papel na maturação de oócitos (GOFF et al., 2001). Um outro fator, a endotelina-1 (ET-1) inibe a secreção de progesterona pelo tecido luteal, por dispersar as células luteais, e é estimulada pela PGF_{2α} (HINCKLEY; MILVAE, 2001; ORSI et al., 2007).

O fator de crescimento de fibroblasto (TGF)-β1 tem sido descrito como inibidor da secreção de estradiol em folículos estimulados por FSH, sem nenhuma relação com a progesterona, e sua secreção reduzida pode ser parte do mecanismo de seleção de um folículo dominante (OUELLET-TE et al., 2005).

Uma forma solúvel, bioativa, de TNF-α, gerada das células endoteliais do folículo tem, pelas afirmações de Brännström et al. (1995) e Murdoch et al. (1997), um papel obrigatório nos biomecanismos de debilidade apical folicular e ruptura ovariana (processo inflamatório ovulatório), que levam à ovulação. A reorganização de um folículo ovulatório em um corpo lúteo completamente competente recebe, conforme Gottsch et al. (2000), a contribuição do TNF-α via indução da collagenase (MMP-2). Trabalhando com corpos lúteos bovinos em diferentes fases de desenvolvimento, Penny et al. (1999) verificaram a presença de maior número de linfócitos T, de macrófagos e de moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) classe II nos estágios finais desta estrutura lútea (após o dia 16), antes da luteólise funcional, como também verificaram Cannon et al. (2007). Já o RNAm para TNF-α e interferon γ (IFN-γ) foi detectado no tecido luteal próximo à luteólise natural e após luteólise induzida por PGF_{2α}, o que evidencia o papel do sistema imune em afetar a função reprodutiva na vaca, o que corroboram Sakumoto e Okuda (2004), Cannon et al. (2007) e Orsi et al. (2007). Nos ovários bovinos, o TNF-α está localizado no corpo lúteo, em camadas das células da granulosa que forram o *antrum* dos folículos, e em toda a membrana da granulosa de folículos atresícos (SPICER, 2001).

O fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) é conhecido por influenciar a ciclicidade ovariana e o desenvolvimento embrionário, com seus efeitos parecendo ser mediados, ao menos em ratos, indiretamente, por populações de macrófagos na camada da teca, os quais

regulam as secreções esteroidogênicas (GILCHRIST et al., 2000; ORSI et al., 2007).

Vários estudos sobre os efeitos do TNF-α em culturas imaturas de células da granulosa, bem como em células tecais e intersticiais, revisados por Brännström et al. (1995), mostraram um efeito inibitório desta citocina sobre a formação de receptores para LH (estimulados por gonadotrofinas) e a esteroidogênese. Por outro lado, em ratas cíclicas adultas, estes autores citam que foi demonstrado o estímulo do TNF-α à esteroidogênese da camada teca de folículos pré-ovulatórios e, em animais imaturos tratados com eCG, aumentou marcadamente a síntese de prostaglandinas nos folículos. Trabalhando com folículos pré-ovulatórios suínos, Prange-Kiel et al. (2001) concluíram que o TNF exerce uma influência inibitória sobre a luteinização e influencia o balanço entre crescimento folicular (proliferação) e atresia (apoptose), com o que também concordam Sakumoto e Okuda (2004) e Nilsson et al. (2006).

Mecanismos de ação do TNF-α:

As diferenças nas respostas celulares podem depender de inter-relações entre os mecanismos de cascata intracelulares (por exemplo, as vias da proteína quinase C e do AMPc), que podem co-existir dentro de um tipo particular de células (SPICER, 2001). Afirmações de Terranova (1997) relatam que, nas células da teca, o TNF-α inibe o AMPc estimulado pelo LH, pela progesterona, pela androsterona e pela androstenediona, enquanto nas células da granulosa ele inibe o LH, bem como o acúmulo de AMPc estimulado pelo FSH, pela progesterona e pelo estradiol. Este autor revisou, ainda, que o TNF-α tem sido mostrado modulando a esteroidogênese em múltiplos níveis na via de transdução do sinal. Estas incluem redução no número de receptores de LH, na atividade adenilato ciclase, no AMPc, na proteína quinase A e na expressão do RNAm do local de clivagem da cadeia de colesterol. Ele sugere que, durante os estágios iniciais do desenvolvimento folicular, TNF oocítico e de macrófagos, difunde-se próximo às células da granulosa (e células tecais), module a esteroidogênese e estimule a divisão celular, enquanto o folículo cresce. É possível que as células da granulosa mais distantes do oócito escapem das ações modulatórias do TNF sobre a esteroidogênese, pois ele pode estar em concentrações muito baixas longe do centro de produção (oócito). As células do *cumulus* da granulosa exibem, ao redor do oócito, reduzida capacidade esteroidogênica, quando comparadas com a granulosa mural. O TNF oocítico talvez modifique as células da granulosa e participe na produção das características do *cumulus*, isto é, baixa aromatase e união de LH e baixo potencial esteroidogênico. Uma função das células do *cumulus*, como resultado do TNF oocítico, deve ser proteger o oócito do estradiol elevado. Sozinho, o TNF tem pouco efeito sobre a esteroidogênese ovariana mas, na presença de IGF-1 ou insulina, Spicer (2001) afirma que tem efeitos inibitórios dramáticos sobre este processo. No entanto, o autor cita que o efeito inibitório do TNF-α sobre a produção de estradiol (induzida pelo IGF-1) não se deve ao TNF afetar o número de receptores para IGF-1 ou competir pela união ao seu receptor nas células da granulosa. Nas células da teca, o TNF-α pode, diretamente, diminuir o número de locais de união do IGF-1, mas não competir por estes locais.

As células imunes ou suas citocinas podem estar envolvidas nas modificações funcionais associadas à regressão luteal (PATE, 1995; SKARZYNSKI et al., 2005; OKANO et al., 2006; ACOSTA et al., 2007; ORSI et al., 2007). Penny et al. (1999), Gérard et al. (2004), Skarzynski et al. (2005) e Acosta et al. (2007) definem que as citocinas (especialmente TNF- α , IFN- γ e interleucina - IL-1 β), sozinhas ou em combinação, têm efeito primariamente luteolítico, reduzindo a produção de progesterona e incrementando a secreção de uma variedade de prostaglandinas, incluindo a PGF $_2\alpha$. Avaliações do corpo lúteo de vacas, feitas por Friedman et al. (2000), cujas células cultivaram-se *in vitro*, demonstraram que o TNF- α induzido pela morte celular programada durante a luteólise estrutural, mediado por seu receptor tipo I (TNFRI), afetou primariamente as células endoteliais. O declínio na progesterona, precedendo a luteólise estrutural, é um pré-requisito para o início da apoptose das células endoteliais (NILSSON et al., 2006). De forma semelhante, os resultados de Sakumoto et al. (2000), indicam a produção local de TNF- α e a presença de TNFRIs funcionais no corpo lúteo bovino, ao longo do ciclo estral, e sugerem que esta citocina tenha papéis na regulação da função do corpo lúteo bovino, durante o ciclo estral. A progesterona é imunossupressiva e pode, também, suprimir a receptividade das células-alvo às citocinas (PATE, 1995). O corpo lúteo, em estágios próximos à luteólise, está sofrendo as alterações funcionais para este evento e a presença de células imunes e moléculas MHC classe II, em números elevados, suporta a ação deste sistema na rápida dissolução do tecido luteal (PENNY et al., 1999; CANNON et al., 2007; ORSI et al., 2007).

O TNF- α é uma citocina relevante que suprime a secreção de estradiol, induzida pelo FSH, e o crescimento folicular durante a fase luteal do ciclo (TERRANOVA, 1997).

No estudo do corpo lúteo suíno, Zhao et al. (1998) verificaram altos níveis de TNF- α bioativo secretados por subpopulações de macrófagos luteais, enquanto quantidades mínimas foram detectadas nas células endoteliais e células luteais pequenas, evidenciando que os macrófagos locais são a principal fonte desta citocina neste local. No corpo lúteo, Terranova (1997) faz referência à localização do TNF- α em macrófagos (presentes em grande quantidade nas fases finais da vida do corpo lúteo), células paraluteais (derivadas da teca), granulosa-luteais (luteais grandes), endoteliais e cordões tecais, com a sua localização ligada às várias funções, relacionadas ao desenvolvimento, manutenção e regressão luteal e modulação do crescimento folicular durante a fase luteal. O TNF- α promove a formação do corpo lúteo, por aumentar a proliferação e a esteroidogênese das células da granulosa (PATE, 1995), com estes efeitos modulatórios associados com aumentos na PGE $_2$ e na PGF $_2\alpha$, esta última inibindo a atividade adenilato ciclase das células luteais, juntamente com o TNF- α (TERRANOVA, 1997; MIYAMOTO et al., 2000; SAKUMOTO et al., 2000; MURAKAMI et al., 2001; SKARZYNSKI et al., 2005). Em búfalas, Ramadan et al. (2001) encontraram alto conteúdo de macrófagos, linfócitos e neutrófilos no corpo lúteo maturo, acreditando que estas células possam ter uma ação na luteólise estrutural e funcional deste local. Há significativa correlação entre o número de macrófagos no corpo lúteo e a quantidade de TNF- α liberada neste momento; um aumento no número de receptores de TNF ou uma súbita liberação deste podem inibir a ação lute-

otrófica do LH e induzir a regressão luteal (TERRANOVA, 1997; OKANO et al., 2006; ACOSTA et al., 2007; ORSI et al., 2007).

As citocinas, incluindo o TNF- α , têm sido sugeridas como potentes moduladores das enzimas-chave em todos os passos da biossíntese e do metabolismo das prostaglandinas (DEPTULA et al., 2001; MURAKAMI et al., 2001; SAKUMOTO; OKUDA, 2004; HATTORI; TABATA, 2006; ACOSTA et al., 2007). O TNF- α inibe a produção de progesterona suportada pelas gonadotrofinas, nas células luteais de camundongos, suínos e bovinos, indicando que suas ações sobre a função do corpo lúteo são concernentes com a regressão luteal (SAKUMOTO et al., 2000; NILSSON et al., 2006; ORSI et al., 2007). Terranova (1997) afirma que o TNF pode ter efeitos nos estágios finais da regressão luteal, tais como a remoção de células luteais degenerativas e debris, e participação nas etapas finais do declínio da progesterona luteal. O ingresso de células produtoras de TNF (leucócitos e macrófagos) no corpo lúteo pode explicar, de acordo com este autor, a secreção aumentada desta citocina, observada durante a regressão luteal. As células endoteliais, dentro do corpo lúteo, também são fontes de TNF, e a destruição do sistema vascular endotelial, no momento da regressão luteal, pode induzir a liberação de TNF destas células, determinando a regressão do corpo lúteo. O TNF- α induz um aumento significativo na expressão de glicoproteínas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC), as quais são reconhecidas pelas células T citotóxicas, levando à destruição das células luteais (SAKUMOTO et al., 2000; CANNON et al., 2007; ORSI et al., 2007).

A ação das citocinas sobre as células luteais *in vivo* pode ser suprimida quando o corpo lúteo está completamente funcional mas, quando as concentrações de progesterona comecem a declinar, a supressão será abolida, permitindo que as células luteais se tornem receptivas às citocinas (PATE, 1995).

No endométrio bovino, receptores para TNF- α estão presentes durante todo o ciclo estral, indicando que esta substância pode ser o gatilho para o início da produção de PGF $_2\alpha$, na luteólise e, também, regular a função do endométrio ao longo de todo o ciclo (MIYAMOTO et al., 2000; DEPTULA et al., 2001; MURAKAMI et al., 2001; HATTORI; TABATA, 2006). Além disto, o TNF- α estimula, primariamente, a produção de PGE $_2$, com função luteoprotetora, produzida pelas células estromais do endométrio, posteriormente convertida em PGF $_2\alpha$ pela enzima PGE $_2$ -9-cetorreductase (MURAKAMI et al., 2001).

Considerações Finais

A atividade ovariana é dependente de fatores autócrinos e parácrinos, produzidos por células do próprio ovário ou de estruturas a ele relacionadas e do sistema imune. Estes fatores são responsáveis pela mediação, de forma estimulatória ou inibitória, de acordo com a fase do ciclo estral, da cascata de eventos intracelulares envolvendo a ativação de receptores, segundos mensageiros, produção e transcrição de RNAm e síntese protéica. Assim, controlam os processos de foliculogênese, atresia e dominância foliculares, ovulação, luteogênese, luteólise e esteroidogênese. O conhecimento da secreção de citocinas e fatores de crescimento permite a ma-

nipulação destes eventos reprodutivos da fêmea, de forma a engrandecer a produtividade dos rebanhos, através do desenvolvimento de protocolos reprodutivos que potencializem estas substâncias.

Referências

- ACOSTA, T. J. et al. Effects of storage and passage of bovine luteal endothelial cells on endothelin-1 and prostaglandin F_{2α} production. **Journal of Reproduction and Development**, Tokyo, v. 53, n. 3, p. 473-480, Mar. 2007.
- ARMSTRONG, D. G. et al. Insulin-like growth factor (IGF) system in the oocyte and somatic cells of bovine preantral follicles. **Reproduction**, Cambridge, v. 123, n. 6, p. 789-797, June 2002.
- BAUR, A. et al. Effects of proinflammatory cytokines on anterior pituitary 5'-deiodinase type I and type II. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 167, n. 3, Dec. p. 505-515, 2000.
- BEHL, R.; PANDEY, R. S. Effect of epidermal growth factor on steroidogenesis by caprine granulosa cells in culture: interaction with FSH. **Small Ruminant Research**, Lennoxville, v. 40, n. 1, p. 57-62, July 2001.
- BERISHA, B. et al. Expression and localization of vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (FGF2) during the final growth of bovine ovarian follicles. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 167, n. 3, p. 371-382, Dec. 2000.
- BRÄNNSTRÖM, M. et al. Effects of human necrosis factor α (TNF α) on ovulation in the rat ovary. **Reproduction Fertility and Development**, Collingwood, v. 7, n. 1, p. 67-73, Mar. 1995.
- CANNON, M. J.; DAVIS, J. S.; PATE, J. L. Expression of co-stimulatory molecules in the bovine corpus luteum. **Reproductive Biology and Endocrinology**, London, v. 5, n. 5, p. 1-13, Jan. 2007.
- DEPTULA, K. M.; BAH, M. M.; OKUDA, K. Tumor necrosis factor- α regulates prostaglandin F_{2 α} and E₂ secretion from bovine oviduct: possible role of nitric oxid. **Biotechnology Agronomy Society and Environment**, Gembloux, v. 5, p. 48, July 2001.
- FRIEDMAN, A. et al. Role of tumor necrosis factor and its type I receptor in luteal regression: induction of programmed cell death in bovine corpus luteum-derived endothelial cells. **Biology of Reproduction**, Wisconsin, v. 63, n. 6, p. 1905-1912, Dec. 2000.
- FURLAN, V. et al. ELISA and RIA VEGF in bovine follicular fluid. **Biotechnology Agronomy Society and Environment**, Gembloux, v. 5, p. 79, July 2001.
- GARCIA, R.A. et al. Changes in fibroblast growth factor-2 in ovine follicle development. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 41, n. 2s, p. 105, Oct. 2006.
- GÉRARD, N. et al. Interleukin-1 system and female reproduction. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v.180, n. 2, p. 203-212, Feb. 2004.
- GILCHRIST, R. B. et al. T. Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor deficiency on ovarian follicular cell function. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 120, n. 2, p. 283-292, Nov. 2000.
- GOFF, A. K. et al. Protein synthesis during maturation of bovine oocytes, effect of epidermal growth factor. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 36, n. 1, p. 19-24, Feb. 2001.
- GOTTSCH, M. L.; VAN KIRK, E. A.; MURDOCH, W. J. Tumor necrosis factor α up-regulates matrix metalloproteinase-2 activity in periovulatory ovine follicles: metamorphic and endocrine implications. **Reproduction Fertility Development**, Collingwood, v. 12, n. 1-2, p. 75-80, Mar. 2000.
- HANSEN, P. J. Regulation of immune cells in the uterus during pregnancy in ruminants. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 85, n. 13, p. E30-E31, Mar. 2007.
- HATTORI, M. A.; TABATA, S. Nitric oxide and ovarian function. **Animal Science Journal**, Tokyo, v. 77, n. 2, p. 275-284, Apr. 2006.
- HINCKLEY, S. T.; MILVAE, R. A. Endothelin-1 mediates prostaglandin F_{2 α} -induced luteal regression in the ewe. **Biology of Reproduction**, Wisconsin, v. 64, n. 6, p. 1619-1623, June 2001.
- HUNT, J. S.; PHILLIPS, T. A. Immune privilege and the tumor necrosis factor superfamily. In: ANNUAL MEETING BIOLOGY OF REPRODUCTION, 33., 2000, Wisconsin. **Abstracts...** Wisconsin: SSR, 2000. n. 3.
- KALRA, P. S. et al. The anti-gonadotropic effects of cytokines: the role of neuropeptides. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 15, n. 5, p. 321-32, Sept. 1998.
- KELLEY, K. W. At the interface of environment-immune interactions: cytokine and growth factor receptors. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 78, p. 3, Jan. 2000.
- KORZEKWA, A. J. et al. Nitric oxide induces apoptosis in bovine luteal cells. **Journal of Reproduction and Development**, Tokyo, v. 52, n. 3, p. 353-361, June 2006.
- MATTIOLI, M. et al. Follicle activation involves vascular endothelial growth factor production and increased blood vessel extension. **Biology of Reproduction**, Wisconsin, v. 65, n. 4, p. 1014-1019, Oct. 2001.
- MIYAMOTO, Y.; SKARZYNSKI, D. J.; OKUDA, K. Is tumor necrosis factor a trigger for the initiation of endometrial prostaglandin F₂ release at luteolysis in cattle? **Biology of Reproduction**, Wisconsin, v. 62, n. 5, p. 1109-1115, May 2000.

- MURAKAMI, S. et al. Effects of tumor necrosis factor- α on secretions of prostaglandins E_2 and $F_2\alpha$ in bovine endometrium throughout the estrous cycle. **Theriogenology**, New York, v. 55, n. 8, p. 1667-1678, May 2001.
- MURDOCH, W. J. Follicular determinants of ovulation in the ewe. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 2, n. 3, p. 105-21, July 1985.
- MURDOCH, W. J.; COLGIN, D. C.; ELLIS, J. A. Role of tumor necrosis factor-alpha in the ovulatory mechanisms of ewes. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 75, n. 6, p. 1601-5, June 1997.
- NILSSON, E. E.; STANFIELD, J.; SKINNER, M. K. Interactions between progesterone and tumor necrosis factor- α in the regulation of primordial follicle assembly. **Reproduction**, Cambridge, v. 132, n. 6, p. 877-886, Dec. 2006.
- OKANO, A. et al. Tumor necrosis factor- α induces apoptosis in cultured porcine luteal cells. **Journal of Reproduction and Development**, Tokyo, v. 52, n. 2, p. 301-306, Feb. 2006.
- ORSI, N. M. et al. Uterine and serum cytokine arrays in the mouse during estrus. **Animal Reproduction Science**, New York, v. 100, n. 3-4, p. 301-310, Oct. 2007.
- OUELLETTE, Y.; PRICE, C. A.; CARRIÈRE, P. D. Follicular fluid concentration of transforming growth factor- β 1 is negatively correlated with estradiol and follicle size at the early stage of development of the first-wave cohort of bovine ovarian follicles. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 29, n. 4, p. 623-633, Nov. 2005.
- PAPA, P. C. et al. VEGF system expression in different stages of estrous cycle in the corpus luteum of non-treated and superovulated water buffalo. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 33, n. 4, p. 79-89, Nov. 2007.
- PATE, J. L. Involvement of immune cells in regulation of ovarian function. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 105, suppl. 49, p. 365-377, Dec. 1995.
- PENNY, L. A. Monocyte chemoattractant protein 1 in luteolysis. **Reviews of Reproduction**, Cambridge, v. 5, n. 2, p. 63-66, May 2000.
- PENNY, L. A. et al. Immune cells and cytokine production in the bovine corpus luteum throughout the estrous cycle and after induced luteolysis. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 115, n. 1, p. 87-96, Jan. 1999.
- PRANGE-KIEL, J. et al. Role of tumor necrosis factor in preovulatory follicles in swine. **Biology of Reproduction**, Wisconsin, v. 65, n. 3, p. 928-935, September, 2001.
- RAMADAN, A. A. et al. Immune regulation of ovarian function in buffaloes (*Bubalus bubalus*). **Theriogenology**, New York, v. 55, n. 2, p. 661-669, January, 2001.
- SAKUMOTO, R.; OKUDA, K. Possible actions of tumor necrosis factor- α in ovarian function. **Journal of Reproduction and Development**, Tokyo, v. 50, n. 1, p. 39-46, February, 2004.
- SAKUMOTO, R. et al. Tumor necrosis factor- α and its receptor in bovine corpus luteum throughout the estrous cycle. **Biology of Reproduction**, Wisconsin, v. 62, n. 1, p. 192-199, January, 2000.
- SKARZYNSKI, D. J.; JAROSZEWSKI, J. J.; OKUDA, K. Role of tumor necrosis factor- α and nitric oxide in luteolysis in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 29, n. 2, p. 340-346, August, 2005.
- SPICER, L. J. Receptors for insulin-like growth factor-I and tumor necrosis factor- α are hormonally regulated in bovine granulosa and thecal cells. **Animal Reproduction Science**, New York, v. 67, n. 1-2, p. 45-58, July, 2001.
- TERRANOVA, P. F. Potential roles of tumor necrosis factor- α in follicular development, ovulation, and the life span of the corpus luteum. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 14, n. 1, p. 1-15, January, 1997.
- USHIGOE, K. et al. Production and regulation of cytokine-induced neutrophil chemoattractant in rat ovulation. **Biology of Reproduction**, Wisconsin, v. 63, n. 1, p. 121-126, July, 2000.
- WIJAYAGUNAWARDANE, M. P. B.; MIYAMOTO, A. Tumor necrosis factor α system in the bovine oviduct: a possible mechanism for embryo transport. **Journal of Reproduction and Development**, Tokyo, v. 50, n. 1, p. 57-62, February, 2004.
- ZHAO, Y.; BURBACH, J. A.; ROBY, K. F.; TERRANOVA, P. F.; BRANNIAN, J. D. Macrophages are the major source of tumor necrosis factor α in the porcine corpus luteum. **Biology of Reproduction**, Wisconsin, v. 59, n. 6, p. 1385-1391, December, 1998.

Recebido em: 06/12/2007

Aceito em: 28/08/2008