

MIRIAM RUBIO FARIA

**EXPRESSÃO TECIDO ESPECÍFICA DO FATOR DE
INIBIÇÃO DE MIGRAÇÃO DE MACRÓFAGOS (Mif) NA
INTERFACE MATERNO FETAL EM CAMUNDONGOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração:
Biologia Celular e Tecidual

Orientadora:
Profa. Dra. Estela Bevilacqua

SÃO PAULO
2009

RESUMO

FARIA, M.R. EXPRESSÃO TECIDO ESPECÍFICA DO FATOR DE INIBIÇÃO DE MIGRAÇÃO DE MACRÓFAGOS (Mif) NA INTERFACE MATERNO FETAL EM CAMUNDONGOS. 74 f. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2009.

O fator de inibição de migração de macrófagos (MIF) desempenha papéis essenciais como um fator pró-inflamatório afetando as funções de macrófagos e linfócitos e agindo como antagonista dos efeitos dos glicocorticóides nas respostas inflamatórias e imunológicas. Estudos recentes também sugerem uma função importante do MIF durante o processo de implantação embrionária e no desenvolvimento de embriões humanos. Neste estudo objetivamos caracterizar a expressão de Mif nas células trofoblásticas, placentárias e deciduais ao longo da gestação em camundongos. A imunolocalização de Mif foi realizada em sítios de implantação nos dias de gestação (dg) 7,5, 10,5, 13,5 e 17,5. Cones ectoplacentários e placenta fetais foram dissecados dos tecidos maternos e utilizados para ensaios de *Western blotting* e qRT-PCR nos mesmos dias de gestação. Amostras de decídua mesometrial também foram submetidas à reação de PCR em tempo real. Durante o período de pós-implantação (7,5 dg) as células trofoblásticas gigantes apresentaram forte imunomarcação para Mif, assim como as células deciduais. Em fases posteriores da placenta (10,5–17,5 dg) o Mif mostrou-se concentrado na zona juncional, em células trofoblásticas gigantes e no espongiotrofoblasto. Nestas fases da gestação, na decídua, a reatividade ao anticorpo anti-Mif mostrou-se menos intensa que no período de pós-implantação. A expressão protéica de Mif no compartimento fetal da placenta aumentou significativamente do 7,5 dg para o 10,5 dg ($p=0,005$) e do 7,5 dg para o 13,5 dg ($p=0,03$). A maior expressão de RNAm de *Mif* foi encontrada no 10,5 dg e foi estatisticamente diferente dos dias 13,5 ($p=0,048$) e 17,5 de gestação ($p=0,009$). Ao contrário do compartimento fetal, na decídua, maior expressão gênica para *Mif* foi observada aos 7,5 dg, o que foi significativamente diferente dos dias 10,5 (0,012) e 13,5 (0,032) de gestação. O aumento da expressão de Mif na placenta fetal no 10,5 dg coincide com o estágio no qual este órgão assume uma organização estratificada composta pelas camadas células trofoblásticas gigantes secundárias, espongiotrofoblasto, labirinto e placa coriônica. Ainda é neste período que tem início a circulação fetal. Em conjunto, esta distribuição temporal e tecido-

específica sugere um papel modulador para o MIF no início da placentação ou ainda, na adaptação da placenta ao ambiente uterino. Além disto, a expressão de Mif por ambos os compartimentos placentários, materno e fetal, reforça a idéia de que sua presença é fundamental para a homeostase da interface placentária e sucesso gestacional.

Palavras-chave: Citocinas inflamatórias. Gestação. Placenta. Trofoblasto. Decidua.

ABSTRACT

FARIA, M.R. **Tissue specific expression of macrophage migration inhibitory factor (Mif) at the mouse maternal fetal interface.** 74 p. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Macrophage migration inhibitory factor (MIF) has special pro-inflammatory roles, affecting the functions of macrophages and lymphocytes and counter-regulating the effects of glucocorticoids on the inflammatory and immune response. Recent evidence also suggests a critical role during human implantation and early embryonic development. The overall goal of this study was to characterize MIF expression by trophoblast and embryo placental cells and by decidua during mouse pregnancy. MIF was immunolocalized at implantation sites (trophoblast and decidual cells) on gestation days (gd) 7.5, 10.5, 13.5 and 17.5. Ectoplacental cones and fetal placentas dissected from the maternal tissues were used for Western blotting. Ectoplacental cones, fetal placentas and decidua were used for qRT-PCR assays on the same gestation days. During the early post-implantation period (gd. 7.5), decidual cells and trophoblast giant cells showed strong MIF reactivity. In later placentation phases (gds 10.5–17.5), MIF appeared to be concentrated in the junctional zone on giant and spongiotrophoblast cells. At these gestational periods, decidual reactivity to the MIF antibody was weaker than early post-implantation stage. MIF protein expression at fetal placental compartment increased significantly from gd 7.5 to 10.5 ($p=0.005$) and from gd 7.5 to 13.5 ($p=0.03$). Higher mRNA expression was found on gd 10.5 and was significantly different from gds 13.5 ($p=0.048$) and 17.5 ($p=0.009$). On contrary, MIF gene expression at decidua on gd 7.5 was significantly greater than those on gds 10.5 (XXX), 13.5 (XXX) and 17.5 (XXX). The up-regulation of MIF on gd 10.5 coincides with the stage in which the placenta assumes its four-layered organization (with secondary giant cells, spongiotrophoblast, labyrinth and chorionic plate) and the fetal blood circulation begins. Altogether, this temporal tissue-specific distribution and expression data suggests that MIF may play a modulator role in the onset of placentation or in the adaptation of the placenta to the uterine environment. Moreover, it reinforces the idea that MIF is crucially important for placental interface homeostasis and successful gestation.

Key words: Inflammatory cytokines. Pregnancy. Placenta. Trophoblast. Decidua.

1 INTRODUÇÃO

Um dos fatores mais intrigantes da gestação em mamíferos é o relacionamento imunológico entre mãe e feto. Nestes animais, ao longo da gestação desenvolve-se uma placenta do tipo hemocorial, o que pressupõe uma íntima relação entre os tecidos uterinos e as células embrionárias/fetais.

Nas primeiras fases da gestação, com o início do processo de implantação embrionária, as células embrionárias denominadas trofoblásticas aderem ao epitélio uterino para em seguida, ultrapassá-lo e invadir o estroma endometrial decidualizado. A implantação prossegue e culmina com a intrusão de células trofoblásticas na parede de vasos sanguíneos endometriais, principalmente para assegurar oxigênio e nutrientes necessários para o embrião em desenvolvimento. Conforme a gestação progride, a interação materno-fetal se aprimora por meio da diferenciação de estruturas maternas e fetais formando a placenta: órgão responsável por trocas moleculares entre ambos. Longe de ser um processo passivo, entretanto, a interação materno-fetal implica em uma troca constante de informações entre os dois organismos para que a gestação tenha sucesso.

A interação materno-fetal ocorre entre organismos geneticamente distintos, que são mantidos em íntimo contato ao longo de toda a gestação. Neste contexto, o sucesso da gestação depende da “tolerância imunológica” materna em relação ao feto, que possui genes herdados, maternos e paternos. Mesmo os mais modernos conceitos da Imunologia Molecular ainda não conseguem explicar adequadamente os processos imunológicos que ocorrem na relação materno-fetal que, aparentemente, é guiada por regras próprias.

Na última década, uma ampla gama de moléculas liberadas na interface materno-embrionária tem sido estudada em uma tentativa de se compreender como esta ação recíproca auxilia na manutenção da gestação, em seus vários aspectos.

Neste sentido, o estudo sobre o fator de inibição de migração de macrófagos, uma molécula com funções peculiares, pode contribuir para o melhor entendimento da interlocução entre mãe e embrião/feto nas diversas fases da gestação. Trabalhos enfocando a ação do MIF durante a gestação em humanos têm sido realizados utilizando-se placenta a termo ou em fases iniciais de desenvolvimento ou ainda, provindas de abortos. Estudos mais profundos entretanto, requerem manipulação experimental, o que restringe a utilização de material humano. O uso de roedores e particularmente de camundongos têm, neste sentido, se mostrado um excelente modelo para a caracterização da interação materno-fetal. Ele permite a realização

de manipulações genéticas e experimentais em diferentes níveis e fases gestacionais além do tempo relativamente curto de gestação, que é uma vantagem também a ser destacada.

A expressão ao longo da cadeia evolutiva, sua ampla distribuição em diversos órgãos e em diferentes tipos celulares e, sua natureza pleiotrófica coloca o MIF em destaque na literatura atual. Sua implicação em processos que envolvem migração e proliferação celular, angiogênese, modulação de moléculas de adesão, interação com outras citocinas pró inflamatórias e contra regulação de glicocorticoides alertam para a importância do MIF na imunidade inata e adquirida, inflamação, doenças autoimunes e tumorigênese. Ainda, o fato de poder ser armazenado no citoplasma, o que o habilita a ser liberado prontamente após estímulos específicos, faz com que o MIF seja cogitado como uma citocina-chave no desencadeamento de respostas orgânicas, como por exemplo, uma reação inflamatória.

Na medida em que processos inflamatórios e etapas fundamentais da gestação como a implantação embrionária e diferenciação placentária, guardam profundas semelhanças entre si, conforme mostram inúmeros trabalhos da literatura, torna-se pertinente a abordagem do MIF como uma molécula participante na interlocução materno-fetal.

Em vista do exposto, neste estudo, a expressão de Mif foi analisada na interface materno-fetal de camundongos ao longo das diferentes fases da gestação.

7 CONCLUSÕES

Baseado nos achados deste estudo pode-se concluir que:

- 1 –** O fator de inibição de migração de macrófagos (MIF) está presente na interface materno-fetal ao longo de toda a gestação em camundongos.
- 2 –** Tanto componentes fetais (trofoblasto/placenta fetal) quanto componentes materno (decídua) da interface participam da produção de MIF.
- 3 –** A expressão gênica de *Mif* na placenta fetal e materna obedece a um padrão temporal e tecido específico ao longo da gestação.
- 4 -** Na placenta fetal, a maior expressão protéica e gênica de *Mif* se dá aos 10,5 dg.
- 5 –** Na decídua, a maior expressão gênica de *Mif* se dá aos 7,5 dg.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAMSOHN, P.A.; ZORN, T.M. Implantation and decidualization in rodents. **J. Exp. Zool.**, v. 266, n. 6, p. 603-28, 1993.

ADAMSON, S.L.; LU, Y.; WHITELEY, K.J.; HOLMYARD, D.; HEMBERGER, M.; PFARRER, C.; CROSS, C. Interactions between trophoblast cells and the maternal and fetal circulation in the mouse placenta. **Dev. Biol.**, v. 250, p. 358-373, 2002.

AIN, R.; CANHAM, L.N.; SOARES, M.J. Gestation stage-dependent intrauterine trophoblast cell invasion in the rat and mouse: novel endocrine phenotype and regulation. **Dev. Biol.**, v. 260, p. 176-190, 2003.

AIN, R.; SOARES, M.J. Is the metrial gland really a gland? **J. Reprod. Immunol.**, v. 61, p. 129-131, 2004.

AMIN, M.A.; HAAS, C.S.; ZHU, K.; MANSFIELD, P.J.; KIM, M.J.; LACKOWSKI, N.P.; KOCH, A.E. Migration inhibitory factor up-regulates vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 via Src, PI3 kinase, and NFkB. **Blood**, v. 107, p. 2252-2261, 2006.

AMIN, M.A.; VOLPERT, O.V.; WOODS, J.M.; KUMAR, P.; HARLOW, L.A.; KOCH, A.E. Migration inhibitory factor mediates angiogenesis via mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol kinase. **Circ. Res.**, v. 93, p. 321-329, 2003.

ANSON-CARTWRIGHT, L.; DAWSON, K.; HOLMYARD, D.; FISHER, S.J.; LAZZARINI, R.A.; CROSS, J.C. The glial cells missing-1 protein is essential for branching morphogenesis in the chorioallantoic placenta. **Nat. Genet.**, v. 25, p. 311-4, 2000.

APLIN, J.D. Embryo implantation: the molecular mechanism remains elusive. **Reprod. Biomed. Online**, v. 13, p. 833–839, 2006.

APTE, R.S.; SINHA, D.; MAYHEW, E.; WISTOW, G.J.; NIEDERKORN, J.Y. Role of macrophage migration inhibitory factor in inhibiting NK cell activity and preserving immune privilege. **J. Immunol.**, v. 160, p. 5693-5696, 1998.

ARCURI, F.; BUCHWALDER, L.; TOTI, P.; CINTORINO, M.; TOSI, P.; LOCKWOOD, C.J.; RYBALOV, B.; SCHATZ F. Differential regulation of colony stimulating factor 1 and macrophage migration inhibitory factor expression by inflammatory cytokines in term human decidua: implications for macrophage trafficking at the fetal-maternal interface. **Biol. Reprod.**, v. 76, n. 3, p. 433-9, 2007.

De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ARCURI, F.; CINTORINO, M.; VATTI, R.; CARDUCCI, A.; LIBERATORI, S.; PAULESU, L. Expression of macrophage migration inhibitory factor transcript and protein by first-trimester human trophoblast. **Biol. Reprod.**, v. 60, p. 1299-1303, 1999.

ARCURI, F.; RICCI, C.; IETTA, F.; CINTORINO, M.; TRIPODI, S.A.; CETIN, I.; GARZIA, E.; SCHATZ, F.; KLEMI, P.; SANTOPIETRO, R.; PAULESU, L. Macrophage migration inhibitory factor in the human endometrium: Expression and localization during the menstrual cycle and early pregnancy. **Biol. Reprod.**, v. 64, p. 1200-1205, 2001.

ASHKAR, A.A.; DI SANTO, J.P.; CROY, B.A. Interferon γ contributes to initiation of uterine vascular modification, decidual integrity, and uterine natural killer cell maturation during normal murine pregnancy. **J. Exp. Med.**, v. 192, p. 259-269, 2000.

BAINES, M.G.; DUCLOS, A.J.; ANTECKA, E.; HADDAD, E.K. Decidual infiltration and activation of macrophages leads to early embryo loss. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 37, p. 471-477, 1997.

BALBÍN, M; FUEYO, A.; KNAUPER, V.; LÓPEZ, J.M.; ÁLVAREZ, J.; SÁNCHEZ, L.M.; QUESADA, V.; BORDALLO, J.; MURPHY, G.; OTÍN, C.L. Identification and enzymatic characterization of two diverging murine counterparts of human interstitial collagenase (MMP-1) expressed at sites of embryo implantation. **J. Biol. Chem.**, v. 276, p. 10253-10262, 2001.

BARNES, P.J. How corticosteroids control inflammation: Quintiles Prize Lecture 2005. **Br. J. Pharmacol.**, v. 148, p. 245-254, 2006.

BAUGH, J.A.; BUCALA, R. Macrophage migration inhibitory factor. **Crit. Care Med.**, v. 30, p. 27-35, 2002.

BERNHAGEN, J.; CALANDRA, T.; MITCHELL, R.A.; MARTIN, S.B.; TRACEY, K.J.; VOELTER, W.; MANOGUE, K.R.; CERAMI, A.; BUCALA, R. MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxaemia. **Nature**, v. 365, p. 756-759, 1993.

BERNHAGEN, J.; KROHN, R.; LUE, H.; GREGORY, J.L.; ZERNECKE, A.; KOENEN, R.R.; DEWOR, M.; GEORGIEV, I.; SCHÖBER, A.; LENG, L.; KOOISTRA, T.; FINGERLE-ROWSON, G.; GHEZZI, P.; KLEEMANN, R.; MCCOLL, S.R.; BUCALA, R.; HICKEY, M.J.; WEBER, C. MIF is a noncognate ligand of CXC chemokine receptors in inflammatory and atherogenic cell recruitment. **Nat. Med.**, v. 13, p. 587-596, 2007.

BESWICK, E.J.; REYES, V.E. CD74 in antigen presentation, inflammation, and cancers of the gastrointestinal tract. **World J. Gastroenterol.**, v. 15, n. 23, p. 2855-2861, 2009.

BIJOVSKY, A.T.; ZORN, T.M.; ABRAHAMSOHN, P.A. Remodeling of the mouse endometrial stroma during the preimplantation period. **Acta Anat.**, v. 144, n. 3, p. 231-4, 1992.

BONDZA, P.K.; METZ, C.N.; AKOUM, A. Postgestacional effects of macrophage migration inhibitory factor on embryonic implantation in mice. **Fertil. Steril.**, v. 90, n. 4, p. 1433-43, 2008.

BOZZA, M.; SATOSKAR, A.R.; LIN, G.; LU, B.; HUMBLES, A.A.; GERARD, C.; DAVID, J.R. Targeted Disruption of Migration Inhibitory Factor Gene Reveals Its Critical Role in Sepsis. **J. Exp. Med.**, v. 189, p. 341-346, 1999.

CALANDRA, T.; BERNHAGEN, J.; METZ, C.N.; SPIEGEL, L.A.; BACHER, M.; DONNELLY, T.; CERAMI, A.; BUCALA, R. MIF as a glucocorticoid-induced modulator of cytokine production. **Nature**, v. 377, p. 68-71, 1995.

CALANDRA, T.; BERNHAGEN, J.; MITCHELL, A.; BUCALA, R. The macrophage is an important and previously unrecognized source of macrophage migration inhibitory factor. **J. Exp. Med.**, v. 179, p. 1895-1902, 1994.

CALANDRA, T.; ROGER, T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. **Nat. Rev.**, v. 3, p. 791-800, 2003.

CHAIASAVANEEYAKORN, S.; LUCCHI, N.; ABRAMOWSKY, C.; OTHORO, C.; CHAIYAROJ, S.C.; SHI, Y.P.; NAHLEN, B.L.; PETERSON, D.S.; MOORE, J.M.; UDHAYAKUMAR, V. Immunohistological Characterization of Macrophage Migration Inhibitory Factor Expression in *Plasmodium falciparum*-Infected Placentas. **Infect. Immun.**, v. 7, n. 36, p. 3287-3293, 2005.

CHAMOVITZ, D.A.; SEGAL, D. JAB1/CSN5 and the COP9 signalosome. A complex situation. **EMBO Rep.**, v. 2, p. 96-101, 2001.

CHEN, L.; NAKAI, M.; BELTON, R.J.; NOWAK, R.A. Expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer and matrix metalloproteinase during mouse embryonic development. **Reproduction**, v. 133, p. 405-414, 2007.

CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Anal. Biochem.**, v. 162, n. 1, p. 156-9, 1987.

CROSS, J.C. How to Make a Placenta: Mechanisms of Trophoblast Cell Differentiation in Mice – A Review. **Placenta**, v. 26, n. A, p. S3-9, 2005.

CROSS, J.C.; HEMBERGER, M.; LU, Y.; NOZAKI, T.; WHITELEY, K.; MASUTANI, M.; ADAMSON, S.L. Trophoblast functions, angiogenesis and remodeling of the maternal vasculature in the placenta. **Mol. Cel. Endocrinol.**, v. 187, p. 207-212, 2002.

CROSS, J.C.; WERB, Z.; FISHER, S.J. Implantation and the placenta: key pieces of the development puzzle. **Science**, v. 266, p. 1508-18, 1994.

CROY, B.A.; HE, H.; ESADEG, S.; WEI, Q.; MCCARTNEY, D.; ZHANG, J.; BORZYCHOWSKI, A.; ASHKAR, A.A.; BLACK, G.P.; EVANS, S.S.; CHANTAKRU, S.; HEUVEL, M.; PAFFARO, V.A.; YAMADA, A.T. Uterine natural killer cells: insight

sinto their cellular and molecular biology from mouse modelling. **Reproduction**, v. 126, p. 149-160, 2003.

DAUN, J.M.; CANNON, J.G. Macrophage migration inhibitory factor antagonizes hydrocortisone-induced increases in cytosolic I κ B α . **Am. J. Physiol.**, v. 279, p. R1043-R1049, 2000.

DAVID, J.R. Delayed hypersensitivity in vitro: its mediation by cell-free substances formed by lymphoid cell-antigen interaction. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 56, p. 72-77, 1966.

DRAPER, N.; STEWART, P.M. 11b-Hydroxysteroid dehydrogenase and the pre-receptor regulation of corticosteroid hormone action. **J. Endocrinol.**, v. 186, p. 251-271, 2005.

FERRO, E.A.; MINEO, J.R.; IETTA, F.; BECHI, N.; ROMAGNOLI, R.; SILVA, D.A.; SORDA, G.; BEVILACQUA, E.; PAULESU, L.R. Macrophage migration inhibitory factor is up regulated in human first-trimester placenta stimulated by soluble antigen of Toxoplasma gondii, resulting in increased monocyte adhesion on villous explants. **Am. J. Pathol.**, v. 172, p. 50-58, 2008.

FINGERLE-ROWSON, G.; KOCH, P.; BIKOFF, R.; LIN, X.; METZ, C.N.; DHABHAR, F.S.; MEINHARDT, A.; BUCALA, R. Regulation of macrophage migration inhibitory factor expression by glucocorticoids in vivo. **Am. J. Pathol.**, v. 162, p. 47-56, 2003.

FLASTER, H.; BERNHAGEN, J.; CALANDRA, T.; BUCALA, R. The macrophage migration inhibitory factor – glucocorticoid dyad: Regulation of inflammation and immunity. **Mol. Endocrinol.**, v. 21, p. 1267-1280, 2007.

GARDNER, R.L.; PAPAIOANNOU, V. E.; BARTON, S. C. Origin of the ectoplacental cone and secondary giant cells in mouse blastocysts reconstituted from isolated trophoblast and inner cell mass. **Embryol. Exp. Morphol.**, v. 30, n. 3, p. 561-572, 1973.

GEORGIADES, P.; FERGUSON-SMITH, A.C.; BURTON, G.J. Comparative developmental anatomy of murine and human definitive placenta. **Placenta**, v. 23, p. 3-19, 2002.

GORE, Y.; STARLETS, D.; MAHARSHAK, N.; HERMAN, S.; KANEYUKI, U.; LENG, L.; BUCALA, R.; SHACHAR, I. Macrophage Migration Inhibitory Factor Induces B Cell Survival by Activation of a CD74-CD44 Receptor Complex. **J. Biol. Chem.**, v. 283, p. 2784-2792, 2008.

GUILIANO, D.B.; HALL, N.; JONES, S.J.M.; CLARK, L.N.; CORTON, C.H.; BARRELL, B.G.; BLAXTER, M.L. Conservation of long-range synteny and microsynteny between the genomes of two distantly related nematodes. **Genome Biol.**, v. 3, p. 1-14, 2002.

HE, X.X.; CHEN, K.; YANG, J.; LI, X.Y.; GAN, H.Y.; LIU, C.Y.; COLEMAN, T.R.; AL-ABED, Y. Macrophage Migration Inhibitory Factor Promotes Colorectal Cancer. **Mol. Med.**, v. 15, p. 1-10, 2009.

HEMBERGER, M.; NOZAKI, T.; MASUTANI, M.; CROSS, J.C. Differential expression of angiogenic and vasodilatory factors by invasive trophoblast cells depending on depth of invasion. **Dev. Dyn.**, v. 227, p. 185-191, 2003.

HERNANDEZ-PIGEON, H.; JEAN, C.; CHARRUYER, A.; HAURE, M.J.; BAUDOUIN, C.; CHARVERON, M.; QUILLET-MARY, A.; LAURENT, G. UVA induces granzyme B in human keratinocytes through MIF. **J. Biol. Chem.**, v. 282, p. 8157-8164, 2007.

HONDA, A.; ABE, R.; MAKINO, T.; NORISUGI, O.; FUJITA, Y.; WATANABE, H.; NISHIHARA, J.; IWAKURA, Y.; YAMAGISHI, S.; SHIMIZU, H.; SHIMIZU, T. Interleukin-1b and macrophage migration inhibitory factor (MIF) in dermal fibroblasts mediate UVA-induced matrix metalloproteinase-1 expression. **J. Dermatol. Sci.**, v. 49, p. 63-72, 2008.

HUDSON, J.D.; SHOAIBI, A.; MAESTRO, R.; CARNERO, A.; HANNON, G.J.; BEACH, D.H. A proinflammatory cytokine inhibits p53 tumor suppressor activity. **J. Exp. Med.**, v. 190, p. 1375-1382, 1999.

HURSKAINEN, T.; SEIKI, M.; APTE, S.S.; SYRJAKALLIO-YLITALO, M.; SORSA, T.; OIKARINEN, A.; AUTIO-HARMAINEN, H. Production of membrane-type matrix metalloproteinase-1 (MT-MMP-1) in early human placenta: A possible role in placenta implantation? **J. Histochem. Cytochem.**, v. 46, p. 221-229, 1998.

IETTA, F.; TODROS, T.; TICCONI, C.; PICCOLI, E.; ZICARI, A.; PICCIONE, E.; PAULESU, L. Macrophage migration inhibitory factor in human pregnancy and labor. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 48, p. 404-409, 2002.

IETTA, F.; WU, Y.; ROMAGNOLI, R.; SOLEYMANLOU, N.; ORSINI, B.; ZAMUDIO, S.; PAULESU, L.; CANIGGIA, I. Oxygen regulation of macrophage migration inhibitory factor in human placenta. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 292, p. E272-E280, 2007.

JAWORSKI, D.C.; JASINSKAS, A.; METZ, C.N.; BUCALA, R.; BARBOUR, A.G. Identification and characterization of a homologue of the pro-inflammatory cytokine Macrophage Migration Inhibitory Factor in the tick, Amblyomma americanum. **Insect. Mol. Biol.**, v. 10, 323-331, 2001.

JI, R.P.; PHOON, C.K.L.; ARISTIZÁBAL, O.; MCGRATH, K.E.; PALIS, J.; TURNBULL, D.H. Onset of cardiac function during early mouse embryogenesis coincides with entry of primitive erythroblasts into the embryo proper. **Circ. Res.**, v. 92; p. 133-135, 2003.

JUNG, H.; SEONG, H.A.; HA, H. Critical role of cysteine residue 81 of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in MIF-induced inhibition of p53 activity. **J. Biol. Chem.**, v. 283, p. 20383-20396, 2008.

KATS, R.; AL-AKOUM, M.; GUAY, S.; METZ, C.; AKOUM, A. Cycle dependent expression of macrophage migration inhibitory factor in the human endometrium. **Human Reprod.**, v. 20, p. 3518-3525, 2005.

KLEEMANN, R.; HAUSSER, A.; GEIGER, G.; MISCHKE, R.; BURGER-KENTISCHER, A.; FLIEGER, O.; JOHANNES, F.J.; ROGER, T.; CALANDRA, T.; KAPURNIOTU, A.; GRELL, M.; FINKELMEIER, D.; BRUNNER, H.; BERNHAGEN, J. Intracellular action of the cytokine MIF to modulate AP-1 activity and the cell cycle through Jab1. **Nature**, v. 408, p. 211-216, 2000.

LAGADARI, M.; BLOIS, S.; MARGNI, R.; MIRANDA, S. Analysis of macrophage presence in murine placenta: influence of age and parity status. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 51, p. 49-55, 2004.

LENG, L.; METZ, C.N.; FANG, Y.; XU, J.; DONNELLY, S.; BAUGH, J.; DELOHERY, T.; CHEN, Y.; MITCHELL, R.A.; BUCALA, R. MIF signal transduction initiated by binding to CD74. **J. Exp. Med.**, v. 197, p. 1467-1476, 2003.

LOKE, Y.W.; KING, A. Immunology of implantation. **Baillieres Clin. Obstet. Gynaecol.**, v. 14, p. 827-837, 2000.

LUE, H.; THIELE, M.; FRANZ, J.; DAHL, E.; SPECKGENS, S.; LENG, L.; FINGERLE-ROWSON, G.; BUCALA, R.; LUSCHER, B.; BERNHAGEN, J. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) promotes cell survival by activation of the Akt pathway and role for CSN5/JAB1 in the control of autocrine MIF activity. **Oncogene**, v. 26, p. 5046-5059, 2007.

MA, Y.; KADNER, S.S.; GULLER, S. Differential effects of lipopolysaccharide and thrombin on interleukin-8 expression in syncytiotrophoblasts and endothelial cells: implications for fetal survival. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1034, p. 236-244, 2004.

MA, Y.; MOR, G.; ABRAHAMS, V.M.; BUHIMSCHI, I.A.; BUHIMSCHI, C.S.; GULLER, S. Alterations in syncytiotrophoblast cytokine expression following treatment with lipopolysaccharide. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 55, p. 12-18, 2006.

MACAULEY, A.; CROSS, J.C.; WERB, Z. Reprogramming the cell cycle for endoreduplication in rodent trophoblast cells. **Mol. Biol. Cell.**, v. 9, n. 4, p. 795-807, 1998.

MATZA, D.; KEREM, A.; MEDVEDOVSKY, H.; LANTNER, F.; SHACHAR, I. Invariant chain-induced B cell differentiation requires intramembrane proteolytic release of the cytosolic domain. **Immunity**, v. 17, p. 549-560, 2002.

MEDZHITOV, R.; PRESTON-HURLBURT, P.; JANeway JR, C.A. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptiveimmunity. **Nature**, v. 388, n. 24, p. 394-397, 1997.

MEYER-SIEGLER, K.L.; ICZKOWSKI, K.A.; LENG, L.; BUCALA, R.; VERA, P.L. Inhibition of macrophage migration inhibitory factor or its receptor (CD74) attenuates growth and invasion of DU-145 prostate cancer cells. *J. Immunol.*, v. 177, p. 8730-8739, 2006.

MITCHELL, R.A.; LIAO, H.; CHESNEY, J.; FINGERLE-ROWSON, G.; BAUGH, J.; DAVID, J.; BUCALA, R. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) sustains macrophage proinflammatory function by inhibiting p53: regulatory role of innate immune response. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 99, p. 345-350, 2002.

MOR, G.; ABRAHAMS, V.M. Potencial role of macrophages as immunoregulators os pregnancy. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, v. 1, p. 119-226, 2003.

MOSSMAN, H.W. Comparative morphogenesis og the fetal membranes and accessory uterine structures. *Contr. Embryol. Carneg. Metab.*, v. 76, p. 237-244, 1937.

MUNN, D.; ZHOU, M.; ATTWOOD, J.T.; BONDAREV, I.; CONWAY, S.J.; MARSHALL, B. et al. Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. *Science*, v. 281, p. 1191-3, 1998.

NAUJOKAS, M.F.; MORIN, M.; ANDERSON, M.S.; PETERSON, M.; MILLER, J. The chondroitin sulfate form of invariant chain can enhance stimulation of T cell responses through interaction with CD44. *Cell*, v. 74, p. 257-266, 1993.

NEMAJEROVA, A.; MOLL, U.M.; PETRENKO, O.; FINGERLE-ROWSON, G. Macrophage migration inhibitory factor coordinates DNA damage response with the proteasomal control of the cell cycle. *Cell Cycle*, v. 6, p. 1030-1034, 2007.

ONODERA, S.; NISHIHARA, J.; IWABUCHI, K.; KOYAMA, Y.; YOSHIDA, K.; TANAKA, S.; MINAMI, A. Macrophage migration inhibitory factor up regulates matrix metalloproteinase-9 and 13 in rat osteoblasts. Relevance to intracellular signaling pathways. *J. Biol. Chem.*, v. 277, p. 7865-7874, 2002.

ONODERA, S.; OHSHIMA, S.; TOHYAMA, H.; YASUDA, K.; NISHIHARA, J.; IWAKURA, Y.; et al. A novel DNA vaccine targeting macrophage migration inhibitory factor protects joints from inflammation and destruction in murine models of arthritis. *Arthritis Rheum.*, v. 56, p. 521-30, 2007.

PASTRANA, D.V.; RAGHAVAN, N.; FITZGERALD, P.; EISINGER, S.W.; METZ, C.; BUCALA, R.; SCHLEIMER, R.P.; BICKEL, C.; SCOTT, A.L. Filarial nematode parasites secrete a homologue of the human cytokine macrophage migration inhibitory factor. *Infect. Immun.*, v. 66, p. 5955-5963, 1998.

PAULESU, L.; CATENI, C.; ROMAGNOLI, R.; IETTA, F.; DANTZER, V. Variation in macrophage inhibitory factor immunoreactivity during porcine gestation. *Biol. Reprod.*, v. 72, p. 949-953, 2005.

PEEL S. Granulated metrial gland cells. *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.*, v. 115, p. 1-112, 1989.

PIJNENBORG, R.; ROBERTSON, W.B.; BROSENS, I.; DIXON, G. Trophoblast invasion and the establishment of haemochorionic placentation in man and laboratory animals. **Placenta**, v. 2, p. 71-91, 1981.

RENAUD, S.J.; GRAHAM, C.H. The Role of Macrophages in Utero-placental Interactions During Normal and Pathological Pregnancy. **Immunol. Invest.**, v. 37, p. 535–564, 2008.

ROGER, T.; CHANSON, A.L.; KNAUP-REYMOND, M.; CALANDRA, T. Macrophage migration inhibitory factor promotes innate immune responses by suppressing glucocorticoid-induced expression of mitogen-activated protein kinase phosphatase-1. **Eur. J. Immunol.**, v. 35, p. 3405-3413, 2005.

ROGER, T.; DAVID, J.; GLAUSER, M.P.; CALANDRA, T. MIF regulates innate immune responses through modulation of toll-like receptor 4. **Nature**, v. 414, p. 920-924, 2001.

ROSARIO, G.X.; KONNO, T.; SOARES, M.J. Maternal hypoxia activate endovascular trophoblast cell invasion. **Dev. Biol.**, v. 314, n. 2, p. 362–375, 2008.

ROSEN, T.; KRIKUN, G.; MA, Y.; WANG, E.Y.; LOCKWOOD, C.J.; GULLER, S. Chronic antagonism of nuclear factor-kappaB activity in cytotrophoblasts by dexamethasone: a potential mechanism for antiinflammatory action of glucocorticoids in human placenta. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 83, n. 10, p. 3647–3652, 1998.

SALINOVICH, O.; MONTELARO, R.C. Reversible staining and peptide mapping of proteins transferred to nitrocellulose after separation by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. **Anal. Biochem.**, v. 156, p. 341–347, 1986.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. **Molecular Cloning – A Laboratory Manual**. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SASHINAMI, H.; SAKURABA, H.; ISHIGURO, Y.; MUNAKATA, A.; NISHIHARA, J.; NAKANE, A. The role of macrophage migration inhibitory factor in lethal Listeria monocytogenes infection in mice. **Microb. Pathog.**, v. 41, p. 111–118, 2006.

SATO, A.; UINUKE-OOL, T.S.; KURODA, N.; MAYER, W.E.; TAKEZAKI, N.; DONGAK, R.; FIGUEROA, F.; COOPER, M.D.; KLEIN, J. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) of jawed and jawless fishes: implications for its evolutionary origin. **Dev. Comp. Immunol.**, v. 27: p. 401-412, 2003.

SCHWARTZ, V.; LUE, H.; KRAEMER, S.; KORBEL, J.; KROHN, R.; OHL, K; BUCALA, R.; WEBER, C.; BERNHAGEN, J. A functional heteromeric MIF receptor formed by CD74 and CXCR4. **FEBS Letters**, v. 583, p. 2749-2757, 2009.

SHI, X.; LENG, L.; WANG, T.; WANG, W.; DU, X.; LI, J.; MCDONALD, C.; CHEN, Z.; MURPHY, J.W.; LOLIS, E.; NOBLE, P.; KNUDSON, W.; BUCALA, R. CD44 is the signaling component of the macrophage migration inhibitory factor – CD74 receptor complex. **Immunity**, v. 25, p. 594–606, 2006.

SIMMONS, D.G.; CROSS, J.C. Determinants of trophoblast lineage and cell subtype specification in the mouse placenta. **Dev. Biol.**, v. 284, p. 12–24, 2005.

SONG, G.; OUYANG, G.; BAO, S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. **J. Cell. Mol. Med.**, v. 9, p. 59-71, 2005.

STARLETS, D.; GORE, Y.; BINSKY, I.; HARAN, M.; HARPAZ, N.; SHVIDEL, L.; BECKER-HERMAN, S.; BERREBI, A.; SHACHAR, I. Cell surface CD74 initiates a signaling cascade leading to cell proliferation and survival. **Blood**, v. 107, p. 4807-4816, 2006.

STEEG, P.S.; BEVILACQUA, G.; KOPPER, L.; THORGEIRSSON, U.P.; TALMADGE, J.E.; LIOTTA, L.A.; SOBEL, M.E. Evidence for a Novel Gene Associated With Low Tumor Metastatic Potential. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 80, p. 200-204, 1988

STEWART I.; PEEL S. Granulated metrial gland cells at implantation sites of the pregnant mouse uterus. **Anat. Embryol.**, v. 160, n. 2, p. 227-38, 1980.

SUZUKI, H.; KANAGAWA, H.; NISHIHARA, J. Evidence for the presence of macrophage migration inhibitory factor in murine reproductive organs and early embryos. **Immunol. Lett.**, v. 51, p. 141-147, 1996.

SUZUKI, H.; NISHIHARA, J.; KOYAMA, Y.; KANAGAWA, H. The role of macrophage migration inhibitory factor in pregnancy and development of murine embryos. **Biochem. Mol. Biol. Int.**, v. 38, p. 409-416, 1996.

TOHYAMA, S.; ONODERA, S.; TOHYAMA, H.; YASUDA, K.; NISHIHARA, J.; MIZUE, Y.; HAMASAKA, A.; ABE R.; KOYAMA, Y. A novel DNA vaccine-targeting macrophage migration inhibitory factor improves the survival of mice with sepsis. **Gene Ther.**, v. 15, p. 1513–1522, 2008.

TORRY, D. S.; LEAVENWORTH, J.; CHANG, M.; MAHESHWARI, V.; GROESCH, K.; BALL, E. R.; TORRY, R. J. Angiogenesis in implantation. **J. Assist. Reprod. Genet.**, v. 24, p. 303–315, 2007.

WEISER, W.Y.; TEMPLE, P.A.; WITEK-GIANNOTTI, J.S.; REMOLD, H.G.; CLARK, S.C.; DAVID, J.R. Molecular cloning of a cDNA encoding a human macrophage migration inhibitory factor. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 86, p. 7522–6, 1989.

WELSH, A.O.; ENDERS, A.C. Trophoblast-decidua cell interaction and establishment of maternal blood circulation in the parietal yolk sac placenta of the rat. **Anat. Rec.**, v. 217, p. 213-219, 1987.

WEST, P.W.; PARKER, L.C.; WARD, J.R.; SABROE, I. Differential and cell-type specific regulation of responses to Toll-like receptor agonists by ISO-1. **Immunology**, v. 125, p. 101–110, 2008.

WILSON, J.M.; COLETTA, P.L.; CUTHBERT, R.J.; SCOTT, N.; MACLENNAN, K.; HAWCROFT, G.; LENG, L.; LUBETSKY, J.B.; JIN, K.K.; LOLIS, E.; MEDINA, F.; BRIEVA, J.A.; POULSOM, R.; MARKHAM, A.F.; BUCALA, R.; HULL, M.A. Macrophage migration inhibitory factor promotes intestinal tumorigenesis. *Gastroenterology*, v. 129, p. 1485-1503, 2005.

WISTOW, G.J.; SHAUGHNESSY, M.P.; LEE, D.C.; HODIN, J.; ZELENKA, P.S. A macrophage migration inhibitory factor is expressed in the differentiating cells of the eye lens. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 90, p. 1272-1275, 1993.

XU, B.; MAKRIS, A.; THORNTON, C.; HENNESSY, A. Glucocorticoids inhibit placental cytokines from cultured normal and preeclamptic placental explants. *Placenta*, v. 26, p. 654-660, 2005.

YAMADA, H.; KATO, E.H.; MORIKAWA, M.; SHIMADA, S.; SAITO, H.; WATARI, M.; MINAKAMI, H.; NISHIHARA, J. Decreased serum levels of macrophage migration inhibition factor in miscarriages with normal chromosome karyotype. *Hum. Reprod.*, v. 18, p. 616-620, 2007.