

ADRIANA FRAGA COSTA SAMOS PARIS

**O FATOR DE INIBIÇÃO DE MIGRAÇÃO DE MACRÓFAGOS (MIF) E A
SOBREVIVÊNCIA DAS CÉLULAS DECIDUAIS. ESTUDO *in vitro***

Dissertação 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 Mestre em Ciências.

Área de concentração:
Biologia Celular e Tecidual

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. Estela Bevilacqua

Versão original

São Paulo
2012

RESUMO

COSTA, A. F. **O fator de inibição de migração de macrófagos (MIF) e a sobrevivência das células decíduais. Estudo *in vitro*.** 2012. 82 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Tecidual) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Estudos prévios em nosso laboratório mostraram na interface materno-fetal de camundongos, aos 10 dias de gestação, a expressão máxima do fator de inibição de migração de macrófagos (MIF) pelas células trofoblásticas e de seus receptores (CD44/CD74) pelas células decíduais, tornando estas células potenciais alvos da ação desta citocina. Dentre funções atribuídas a esta citocina, destacam-se ações pró-inflamatórias sobre a resposta imunológica e sobre processos de proliferação e sobrevivência celular. Neste contexto, este estudo tem como objetivo analisar uma possível participação de MIF na ativação de processos de sobrevivência celular mediados pela proteína quinase Akt, nas células decíduais de camundongo, *in vitro*. Utilizou-se cultivo primário de células decíduais que receberam MIF recombinante de camundongo (mrMIF) associado ou não a inibidores da via PI3K/AKT (LY294002 e Wortmannin). As culturas foram analisadas por meio de reações imuno-histoquímicas, Western blot e ensaios de morte celular. Assim como *in vivo*, o complexo receptor de MIF, CD74/CD44 foi imunolocalizado nas células decíduais cultivadas. A adição de MIF exógeno reduziu os níveis de apoptose. MIF também interferiu no processo de sobrevivência das células decíduais *in vitro* diminuindo as taxas de morte por apoptose quando desafiadas com peróxido de hidrogênio. Além disto, as células tratadas com mrMIF apresentaram maior expressão de pAKT e pMDM2. Dados da literatura mostram que a via AKT é responsável por ativar mecanismos de sobrevivência celular e sua ativação por MIF nas células decíduais pode indicar um papel para esta citocina na homeostase decidual, garantindo a integridade da barreira materno-fetal e, desta forma, a manutenção desta interface imprescindível para o sucesso da gestação.

Palavras-chave: MIF. Sobrevivência celular. AKT. Decídua.

ABSTRACT

COSTA, A. F. **The macrophage migration inhibitory factor (MIF) and decidual cells survival. *In vitro* study.** 2012. 82 p. Masters thesis (Sciences in Tissue and Cell Biology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Previous studies from our laboratory showed that the maternal-fetal interface in mouse at gestation day 10 exhibits high levels of macrophage inhibiting migration factor (MIF) expressed by trophoblast cells and its receptors (CD44/CD74) by decidual cells, making these cells potential targets for this cytokine action. Among the roles attributed to this cytokine, it can be highlighted the pro inflammatory actions on the immune response and on proliferation and cellular survival processes. In this context, this study aim to analyze the possible role of MIF in the activation of survival mechanisms mediated by the protein kinase Akt in mouse decidual cells *in vitro*. We have used primary culture of decidual cells receiving recombinant mouse MIF (mrMIF) with or without the PI3K/AKT pathway inhibitor (LY294002 and Wortmannin). Cultures were analyzed by immunohistochemical reactions, Western blotting and cell death analysis. As *in vivo*, the MIF receptor complex, CD74/CD44 was immunolocalized in the cultured decidual cells. The addition of exogenous MIF reduced the apoptotic rates in decidual cells. MIF also interfered in the process of survival of decidual cells *in vitro* by decreasing rates of cell death by apoptosis when challenged with hydrogen peroxide. In addition, cells treated with mrMIF have higher expression of pAKT and pMDM₂. Recent studies show that AKT pathway is responsible for cell survival. In this context, AKT activation by MIF in decidual cells may indicate a role for this cytokine in decidual homeostasis by ensuring the integrity of the maternal-fetal barrier and thereby, maintaining this essential interface and successful pregnancy.

Keywords: MIF. Cell survival. AKT. Decidua

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Implantação e desenvolvimento inicial

Em mamíferos, para que uma gestação tenha sucesso adaptações funcionais e anatômicas são necessárias no organismo materno, na interface materno-fetal e na placenta. Estes mecanismos guardam semelhanças entre si nas diferentes espécies, ao mesmo tempo em que seguem rumos próprios dentro de cada uma delas. Em primatas e roedores, por exemplo, encontramos uma condição ímpar caracterizada pela formação de uma placenta do tipo hemocorial em que células embrionárias pertencentes à placenta estabelecem um íntimo contato com o sangue materno (MOSSMAN, 1937; WELSH; ENDERS, 1987). Desta forma, a barreira placentária que em algumas espécies é formada por inúmeros tecidos maternos e fetais, nestas espécies fica reduzida a uma estreita e altamente especializada membrana fetal, o cório (CROSS et al., 2002).

Independente da espécie e do caminho evolutivo seguido, entretanto, a gestação depende primordialmente de complexos e multifatoriais mecanismos de interação, comunicação e tolerância. Estes eventos iniciam-se precocemente e têm sido estudados durante o processo de implantação embrionária e placentação.

Particularmente em roedores, a implantação embrionária inicia-se ao redor do quinto dia de gestação (FINN, 1971; RESTAL; BINDON, 1971). O embrião na fase de blastocisto na cavidade uterina adere ao epitélio uterino e, através de diferentes mecanismos moleculares, invade o endométrio até se inserir completamente no estroma uterino (BEVILACQUA; ABRAHAMSOHN, 1989; TACHI S; TACHI C; LINDNER, 1970).

Ao mesmo tempo em que o embrião adentra o endométrio, este sofre alterações importantes para permitir o alojamento e desenvolvimento embrionário. Este processo denomina-se reação decidual, envolve modificações morfológicas dos fibroblastos e de outros componentes da mucosa uterina (ABRAHAMSOHN, 1983; ABRAHAMSOHN; ZORN, 1993; ENDERS; SCHLAFKE, 1978; FINN, 1971; KLEINFELD; MORROW; DEFEO, 1976; MOSSMAN, 1937) e mudanças nos padrões funcionais do endométrio, dentre as quais se destacam: receptividade ao conceito, produção de hormônios e moléculas reguladoras, tolerância imunológica, remodelação vascular e atividade angiogênica (CROSS et al., 2002; PLAISIER, 2011).

Durante a formação da decídua, fibroblastos locais sofrem um processo de rediferenciação, assumem forma poligonal, acumulam glicogênio e lipídeos, tornam-se volumosas e justapostas, estabelecem junções especializadas entre células vizinhas (BEVILACQUA; ABRAHAMSOHN, 1989; FINN, 1971), alteram a expressão de proteínas e de componentes da matriz extracelular (ABRAHAMSOHN; ZORN, 1993; ALBERTO-RINCON; ZORN; ABRAHAMSOHN, 1989; BIJOVSKY; ZORN; ABRAHAMSOHN, 1992; OLIVEIRA et al., 1995; ZORN; BEVILACQUA; ABRAHAMSOHN, 1986, ZORN et al., 1989) e acumulam filamentos intermediários de desmina (CAN; TEKELIOGLU; BALTACI, 1995; GLASSER; JULIAN, 1986; GLASSER et al., 1987; ZORN; DE OLIVEIRA; ABRAHAMSOHN, 1990). Essas células constituem desta forma, uma população celular de características próprias, associadas à gestação e, principalmente, voltadas para a interação com o organismo embrionário.

Na medida em que o processo de implantação embrionária prossegue o embrião de roedor ultrapassa a camada epitelial uterina e gradualmente invade o estroma endometrial (AMOROSO, 1955; APLIN, 2006; CROY, 2003; FERRO; BEVILACQUA, 1994). Este processo é mediado pelas células de revestimento do blastocisto que se diferenciam ao contato com o endométrio para formar células poliplóides, gigantes, fagocíticas e altamente invasivas (BEVILACQUA; ABRAHAMSOHN, 1989; TACHI S; TACHI C; LINDNER, 1970). Através de um ativo processo invasivo estas células alcançam os vasos sanguíneos subepiteliais, substituindo células endoteliais e passando a fazer contato direto com o sangue materno em toda a periferia embrionária (AMOROSO, 1955; APLIN, 2006; BEVILACQUA; ABRAHAMSOHN, 1989; CROY, 2003). Esta condição permite as trocas moleculares entre os organismos materno e embrionário, mesmo nas fases mais precoces da gestação e antes que a placenta esteja plenamente formada (ENTRICAN, 2002; ROBERTSON, 2007).

Além de ancorar o embrião no endométrio a implantação embrionária caracteriza uma fase de intenso diálogo materno-fetal. A interface materno-fetal formada pelas células trofoblásticas gigantes que circundam o embrião, e a decídua com todos seus tipos celulares peculiares e células do sistema imunológico e de defesa orgânica, passam a interagir física e funcionalmente (AMARANTE-PAFFARO et al., 2004; GUILBERT; ROBERTSON; WEGMANN, 1993; LIN et al., 1993; PAVIA, 1983; RUTANEN, 1993).

Dekel et al. (2010) mostraram que um ambiente inflamatório é favorável à implantação. Os autores estudaram mulheres com baixa receptividade no endométrio e altos índices de aborto espontâneo, mostrando aumento de receptividade uterina em mulheres em que uma reação inflamatória indiretamente foi induzida pela obtenção de biópsias endometriais poucos dias antes do procedimento de fertilização *in vitro*, reação inflamatória com um aumento na expressão de moléculas que melhoram esta receptividade.

Após o oitavo dia de gestação com a gastrulação, o mesenquima alantoideano alcança o trofoblasto polar denominado de cone ectoplacentário, e com as células mais basais desta estrutura forma o cório. O cório e as células trofoblásticas mais periféricas do cone ectoplacentário formarão a placenta (CROSS et al., 2002).

A partir da placa coriônica será formada a região do labirinto placentário nos dias subseqüentes. A região labiríntica é responsável pelas trocas metabólicas e gasosas entre sangue materno e fetal e, é formada por três camadas de células trofoblásticas sendo duas sinciciais e uma de células individualizadas (ANSON-CARTWRIGHT et al., 2000; CROSS et al., 2002). A superfície externa da camada de células trofoblásticas é banhada por sangue materno enquanto que a face interna repousa sobre o mesenquima vascularizado.

A região mais periférica do cone ectoplacentário, formado por células trofoblásticas gigantes e não gigantes é designada de zona juncional (CROSS et al., 2002). As células gigantes estabelecem contato com as células decíduais, com os vasos uterinos e entre outras células trofoblásticas através de seus prolongamentos, formando uma malha celular por onde percola o sangue materno. As células trofoblásticas não gigantes se diferenciam em células que acumulam glicogênio e em células secretoras de hormônios e moléculas reguladoras (ADAMSON et al., 2002; CROSS, 2005).

Assim durante toda a gestação, seja na fase de implantação embrionária seja na fase de formação e atividade placentária, uma relação íntima entre os tecidos materno e fetal se desenvolve associada à expressão de diferentes moléculas sinalizadoras/reguladoras e seus respectivos receptores formando uma rede de comunicação imprescindível para o crescimento, diferenciação e manutenção da tríade útero-embrio-placenta.

1.2 O diálogo materno-fetal

A sobrevivência de um feto semialogênico no organismo materno tem despertado a atenção da Ciência por muitos anos. Os mecanismos bioquímicos e moleculares que permitem este aparente paradoxo imunológico ainda não estão completamente elucidados. No entanto, atualmente um papel chave tem sido atribuído à secreção de uma ampla variedade de moléculas solúveis de ação autócrina / parácrina, incluindo fatores de crescimento, citocinas e hormônios. Estas substâncias produzidas na interface materno-fetal principalmente por células trofoblásticas, células decíduais e outras células presentes na decídua como células T, principalmente do tipo uNK (*natural killer uterinas*), células dendríticas e macrófagos, atuam como sinais de comunicação (**Figura 1**). Esta troca recíproca de moléculas é a base de uma relação interativa entre embrião e mãe e certamente contribui para os mecanismos de tolerância fetal ou seja, esta condição favorece a sobrevivência e crescimento do trofoblasto ao invés de rejeitá-lo.

Este diálogo materno-fetal é precoce na gestação, iniciando-se pela secreção trofoblástica de gonadotrofina coriônica em humanos e pelo hormônio lactogênio placentário em murinos, induzindo um ambiente favorável à implantação e desenvolvimento embrionário no organismo materno. Outras moléculas se seguem com o progresso da gestação, produzidas tanto pelo organismo fetal quanto pelo materno. Em humanos e roedores, a invasão trofoblástica persiste além da ancoragem do embrião no útero, tendo como consequência o contato físico e funcional de células trofoblásticas e uma grande variedade de células maternas, representadas por células glandulares, decíduais, estromais, endoteliais e outras tantas imunologicamente competentes (**Figura 1**). Interação entre estes componentes da interface materno-fetal mediada por moléculas de regulação tem sido amplamente descrita na literatura científica atual (CHAMPION et al., 2012; COHEN; BISCHOF, 2007; FARIA et al., 2010; LASH et al., 2005; LASH; ROBSON; BULMER; 2010; LIN et al., 1993; VASSILIADIS et al., 1998; ZHOU et al., 2008). Neste contexto, o diálogo materno fetal depende da ativa contribuição de ambos os organismos, seja para emitir uma mensagem ou para compreendê-la.

Dentre as moléculas sinalizadoras da gestação particular ênfase tem sido dada a citocinas. Estudos têm mostrado que durante a fase de implantação embrionária há um aumento de citocinas inflamatórias e dentre elas por exemplo o

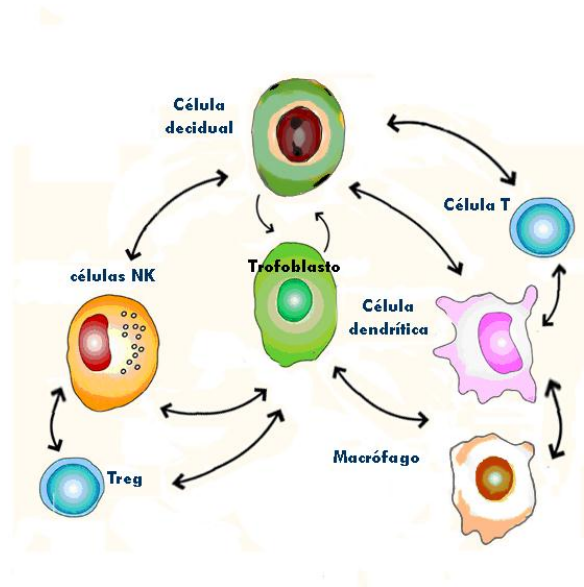
LIF (fator inibidor de leucemia), que produzido pelo endométrio age sobre o embrião e é essencial para a implantação e aparentemente também para a manutenção da gestação, uma vez que mulheres com abortos recorrentes apresentam sua expressão diminuída (GREMLICH et al., 2012; PICCINNI; MAGGI; ROMAGNANI, 2000). Outro exemplo é o SDF-1 (fator derivado de células estromais-1), que secretadas pelas células trofoblásticas agem sobre as células decíduais (ZHOU et al., 2008).

Muitas outras citocinas já foram relatadas como imprescindíveis para o sucesso da gestação e já foram identificadas na interface materno-fetal em condições normais, interleucina-6 (IL-6) (CHAMPION et al., 2012), CCL16 (citocina motivo C-C tipo 16) (MÄKIKALLIO et al., 2012), interleucina-1 (IL-1), IL2, IL3, IL4, IL5, IL8, IL12p70 e IL13 (LASH; ROBSON; BULMER, 2010; LIN et al., 1993; VASSILIADIS et al., 1998). Outras foram também descritas mas seu papel não totalmente elucidado como por exemplo o fator de inibição de migração de macrófagos (MIF) (ARCURI et al., 2006; FARIA et al., 2010) e receptores de citocinas como CXCR4 (receptor de citocina motivo C-X-C tipo 4) (YANG et al., 2006). É importante ressaltar que uma alteração na expressão destas citocinas entretanto, pode afetar o sucesso gestacional (DAHL; HVIID, 2012; GREMLICH et al., 2012; LASH; ROBSON; BULMER, 2010; MATTHIESEN; KALKUNTE; SHARMA, 2012; ORESHKOVA; DIMITROV; MOURDJEVA, 2012; PERRICONE C; DE CAROLIS; PERRICONE R, 2012; RAGHUPATHY, 1997; RODE et al., 2012; XIE et al., 2010). A sinalização materno fetal também pode ocorrer através de outras moléculas como por exemplo fatores de crescimento como a angiopoietina (Ang) 1, fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), angiogenina (Ang) 2, fator de crescimento fibroblástico (FGF) e o fator de crescimento de queratinócitos (KGF), na medida em que estes ligantes e seus receptores específicos agem como fatores de comunicação entre os organismos materno e fetal.

Mecanismos epigenéticos de regulação gênica também ocorrem na placenta e podem participar da regulação do diálogo materno fetal. A expressão de determinados genes respondendo tanto a sinais fetais, quanto a sinais maternos pode ser ativada para que o desenvolvimento do embrião tenha sucesso. Neste contexto, foi já descrito mecanismo de regulação de genes que controlam a quantidade de nutrientes que atravessam a barreira placentária manipulando, desta forma, a fisiologia materna, por vezes contra sua própria homeostase (SANDOVICI

et al., 2012) ou ainda, genes que codificam citocinas que podem limitar o tráfego de células T efetoras e influenciar o mecanismo de tolerância materno-fetal (NANCY et al., 2012).

Figura 1 – Diálogo materno-fetal



Células da interface materno-fetal. Após a implantação embrionária células trofoblásticas entram em contato físico e funcional com diferentes tipos celulares maternos presentes na decídua. Moléculas produzidas por cada uma destas células ao interagirem entre si estabelecem vias de sinalização e um intenso e imprescindível diálogo que leva ao sucesso da gestação.

1.2.1 Fator de Inibição de Migração de Macrófagos (MIF)

A citocina pró-inflamatória MIF (Fator de Inibição de Migração de Macrófagos) é um polipeptídeo de 114 resíduos com peso molecular de 12,5 kDa e foi descrita pela primeira vez em 1966 por Bloom e Bennett. Sua expressão constitutiva gênica e proteica foi já mostrada em diferentes órgãos, entre os quais cérebro, hipófise (BERNHAGEN et al., 1993), rins (LAN, 2008), pulmões (DONNELLY et al., 1997), placenta (IETTA et al., 2007), fígado, baço, adrenal e pele (CALANDRA; ROGER, 2003); sendo produzida por diversos tipos celulares como linfócitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, monócitos (BAUGH; BUCALA, 2002), fibroblastos (HONDA et al., 2008), trofoblasto (FARIA et al., 2010; PAULESU et al., 2005, 2010) e células endoteliais (NISHIHIRA; KOYAMA; MIZUE, 1998), além de estar presente nas membranas fetais (ZICARI et al., 2006), soro materno (IETTA et al., 2002; TODROS

et al., 2005), fluído amniótico (IETTA et al., 2002), endométrio e decídua (ARCURI et al., 2001). Sua secreção é estimulada por estresse e inflamação, resultando em uma liberação rápida do produto protéico armazenado no citoplasma (CALANDRA et al., 1994; CALANDRA; ROGER, 2003).

O MIF difere de outras citocinas por apresentar inúmeras propriedades: i. é um regulador crítico de funções celulares como proliferação e sobrevivência (MITCHELL et al., 2002) e supressor da ativação de apoptose (HUDSON et al., 1999), ii. induz ativação de outras citocinas inflamatórias tais como o fator de necrose tumoral alfa ($TNF\alpha$), interferon gama ($IFN-\gamma$) (CALANDRA et al., 1994) e óxido nítrico (BOZZA et al., 1999), iii. regula *Toll like receptor 4* (TLR4) (ROGER et al., 2001) e, iv. é antagonista fisiológico de glicocorticóides (FLASTER et al., 2007). MIF é um mediador crítico em diversas doenças tais como o choque séptico, artrite reumatóide, doenças inflamatórias de pulmão e câncer (CALANDRA et al., 1995; LUE et al., 2002, 2006, 2007; VIGANO et al., 2007), e parasitoses (CARVALHO et al., 2010; DE OLIVEIRA GOMES et al., 2011; FERRO et al., 2008; FRANCO et al., 2011). Além da alta homologia entre os MIFs de mamíferos (~90%), a presença deste fator também ocorre em aves, peixes, parasitas, plantas e cianobactérias, o que indica que esta molécula deve desempenhar funções biológicas importantes (GUILIANO et al., 2002; JAWORSKI et al., 2001; PASTRANA et al., 1998; SATO et al., 2003; WISTOW et al., 1993).

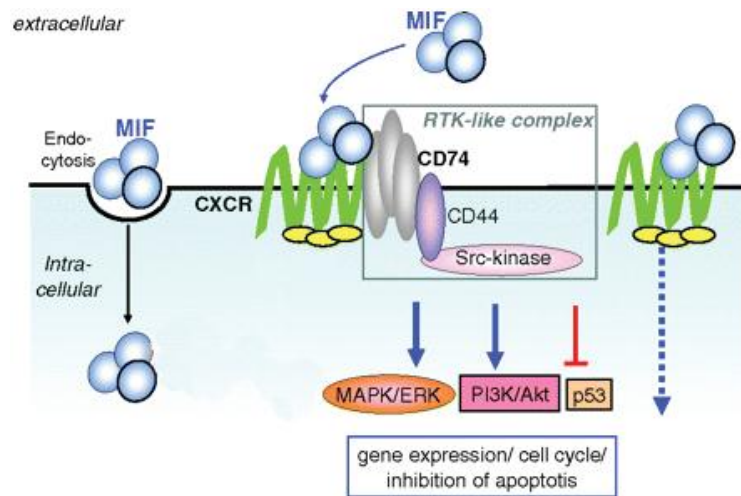
Particularmente em macrófagos e células tumorais, o MIF regula funções-chave como crescimento, migração, supressão de apoptose, sobrevivência e inativação de inibidores do ciclo celular (GORE et al., 2008; HUDSON et al., 1999; LUE et al., 2007; MITCHELL et al., 2002; SONG; OUYANG; BAO, 2005). Nos tecidos em geral está principalmente envolvido com a inibição de apoptose e indução de síntese protéica sendo considerada uma proteína fundamental para a ativação de vias de sinalização celular que levam ao crescimento tecidual (GORE et al., 2008; HUDSON et al., 1999; MITCHELL et al., 2002). Evidências sugerem que MIF está também envolvido na fase inicial da tumorigênese e promove angiogênese, enquanto que seu papel em estágios tardios é desconhecido (GORE et al., 2008; LUE et al., 2002; MITCHELL et al., 2004).

1.3 Receptores para MIF

A atividade biológica de MIF está predominantemente associada a sua ligação ao complexo receptor/coreceptor: CD74 e CD44, o que pode resultar na ativação de diferentes vias de sinalização. O receptor CD74 foi descrito inicialmente como um receptor de superfície celular para MIF (LENG et al., 2003). Alguns anos depois, CD44 foi descrito como parte integrante de um complexo receptor associado a CD74 (MEYER-SIEGLER; LEIFHEIT; VERA, 2004; SHI et al., 2006), sendo o domínio intracitoplasmático de CD74 imprescindível para a transdução do sinal de MIF (SHI et al., 2006). MIF é capaz de se ligar ao receptor de superfície celular CD74, mas não ativa vias de sinalização se CD44 não estiver presente ou ativo (GORE et al., 2008; SHI et al., 2006). A ligação de MIF ao CD74 leva à adição de sulfato de condroitina a sua estrutura (CD74-CS), que age como uma proteína acessória na associação CD74 e CD44 (BESWICK; REYES, 2009; NAUJOKAS et al., 1993), o que resulta na ativação de vias de sinalização dependente de Src-kinase, PI3K-AKT/PKB (fosfatidilinositol-3-quinase/proteína kinase B) (GORE et al., 2008; SHI et al., 2006). Ainda, estudos realizados por Shi et al. (2006) indicam que a inibição de apoptose dependente de p53 conferida por MIF é dependente de CD74 e CD44 (GORE et al., 2008; LUE et al., 2007; STARLESTS et al., 2006).

MIF pode ainda se ligar funcionalmente a receptores de quimiocina CXCR2 e CXCR4 onde participa do controle para o recrutamento inflamatório de leucócitos (BERNHAGEN et al., 2007). Além dos receptores CD44-CD74, CXCR2 e CXCR4, para iniciar ativação de vias de sinalização para MIF, há também sua captação por endocitose (**Figura 2**) (BERNDT et al., 2008). Quando endocitado junto a CD74 é capaz de ativar a via de sinalização ERK (*extracellular signal-regulated kinases*) (XIE et al., 2011). Estas quinases são membros da família das quinases ativadoras de mitógenos [*mitogen activated protein kinase*, MAPK] capazes de induzir processos fisiológicos como proliferação e diferenciação.

Figura 2 – Vias possíveis de sinalização de MIF



MIF pode agir ligando-se a complexo-receptores CD74/CD44, CXCR ou por endocitose, ativando as vias de sinalização MAPK/ERK ou PI3K/AKT.

Fonte: Adaptado de Zernecke, 2008

1.4 MIF na gestação

MIF tem sido estudado por diferentes grupos de estudos em diferentes espécies, sua expressão gênica e proteica ao longo da gestação na interface materno-fetal tem sido mostrada em murinos (FARIA et al., 2010; SUZUKI et al., 1996a; SUZUKI; KANAGAWA; NISHIHIRA, 1996b) e em humanos (ARCURI et al., 1999, 2001, 2007; IETTA et al., 2007; VIGANO et al., 2007), assim como seu complexo receptor CD74/CD44 em murinos (MARTUCCI, 2010) e CD 74 em humanos (XIE et al., 2010). Estes achados sugerem um papel regulatório no processo de implantação embrionária, desenvolvimento placentário e manutenção gestacional (IETTA et al., 2007; PAULESU et al., 2005). Em humanos, Arcuri et al. (2007) sugeriram que a presença de MIF na decídua a termo pode estar relacionada à regulação da migração de macrófagos na interface materno-fetal e a uma ação sobre as células *natural killer* uterinas (uNK), contribuindo para o privilégio imunológico da interface materno-fetal.

Sua expressão foi descrita em órgãos do sistema reprodutivo feminino em humanos ao longo do ciclo menstrual e estral e em diferentes fases da gestação (ARCURI et al., 2001; PAULESU et al., 2005; SUZUKI et al., 1996a; SUZUKI; KANAGAWA; NISHIHIRA, 1996b). Foram encontradas diferenças quanto à expressão de MIF ao longo do ciclo menstrual que poderiam direta ou indiretamente afetar a proliferação celular, angiogênese e remodelação tissular (KATS et al.,

2005). A expressão de MIF na gestação a termo sugere que MIF contribui para eventos inflamatórios que conduzem ao parto (IETTA et al., 2002). MIF é altamente expresso nas fases de implantação e peri-implantação em humanos podendo desempenhar um papel crítico neste evento e no desenvolvimento embrionário inicial (ARCURI et al., 1999). Particularmente no epitélio glandular e estroma endometrial sua expressão sugere que MIF é parte integrante da rede de citocinas da gestação (ARCURI et al., 2001).

Ainda em humanos, Cardaropoli et al. (2012) indicaram que MIF está envolvido na patogênese da pré-eclâmpsia e mostraram que diferentes tecidos placentários (membranas fetais patológicas, células endoteliais, citotrofoblasto, sinciciotrofoblasto, camada epitelial, mesênquima e decídua) contribuem para a produção de MIF em gestações com esta patologia com ou sem restrição de crescimento fetal. Este estudo corroborou o trabalho de Todros et al. (2005), que mostrou aumento dos níveis séricos maternos de MIF nas gestações complicadas por pré-eclâmpsia, enfatizando o caráter inflamatório desta enfermidade. A expressão de MIF também aumenta na placenta em condições de hipóxia *in vitro*, o que pode estar relacionado ao controle do crescimento do trofoblasto (IETTA et al., 2007).

Em murinos, Suzuki et al. (1996a) identificaram MIF no fluído amniótico em concentração diferente da produzida pelo organismo materno, sugerindo uma função autócrina no desenvolvimento embrionário.

Resultados prévios obtidos por nosso grupo mostraram que a citocina pró-inflamatória MIF também é expressa ao longo da gestação em camundongos principalmente na face fetal da placenta e seu complexo receptor, CD74/CD44, principalmente na decídua (FARIA et al., 2010; MARTUCCI, 2010). A expressão gênica e proteica de MIF e seus receptores é alta na interface materno-fetal no dia 7,5 de gestação, atingindo valores máximos no dia 10,5 de gestação (dg). Neste mesmo período, análises imunohistoquímicas localizaram os receptores de MIF em leucócitos e células deciduais, tornando estas células potenciais alvos da ação desta citocina.

1.5 AKT/PKB

O gene de AKT foi descoberto inicialmente em um retrovírus com potencial oncogênico em camundongos, porém as isoformas só foram identificadas em 1991 (BELLACOSA et al., 1991; COFFER; WOODGETT, 1991)

AKT, também chamada de PKB, é uma proteína quinase serina/treonina de 60 kDa importante por modular a função de diversos substratos envolvidos em processos biológicos tais como: síntese de proteínas, crescimento, proliferação, angiogênese, metabolismo de glicose e sobrevivência (MANNING; CANTLEY, 2007). O gene apresenta variantes de transcritos por *splicing* alternativo, denominados AKT1, AKT2 e AKT3, sendo a AKT1 a isoforma mais encontrada e envolvida em processos vitais como a sobrevivência. AKT2 é uma molécula de sinalização na via da insulina, e AKT3, a menos conhecida, é encontrada predominantemente no cérebro. A arquitetura de AKT é bem conservada entre as espécies e apresenta três domínios funcionais: N-terminal PH (*pleckstrin* homology), central quinase e um domínio regulatório carboxi-terminal hidrofóbico (*HM-hydrophobic motif*) (FAYARD, 2005; KUMAR; MADISON, 2005; YANG et al., 2002).

Já se sabe que camundongos *knockout* para AKT/PKB apresentam desenvolvimento anormal de pelos, ossos e músculos, menor desenvolvimento cerebral, maior índice de morte pós-natal, restrição de crescimento e defeitos congênitos, além de alterações na formação placentária (FAYARD et al., 2005; YANG et al., 2004).

1.5.1 Sinalização da via montante (*upstream*) da AKT/PKB

A ativação de AKT inicia-se pela autofosforilação de receptores tirosina quinase, por ligação de fatores de crescimento (AUGER et al., 1989) ou citocinas, por estimulação de proteína G acoplada ou por ativação de sinalização via integrinas. Todos levam à ativação de fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) que fosforila fosfatidilinositol P2 (PIP2) convertendo-o em fosfatidilinositol P3 (PIP3) (fosfolípideos de membrana plasmática), que leva à translocação de AKT para a membrana, manobra necessária para sua interação com PIP3 (BRAZIL et al., 2001; FAYARD et al., 2005). AKT pode ser fosforilada pela quinase piruvato desidrogenase (PDK) 1 na treonina 308 ou por PDK2 na serina 473 (ALESSI et al., 1997; MANNING;

CANTLEY, 2007; VIVANCO; SAWYERS, 2002) e para que sua ativação ocorra é necessária a fosforilação desses dois sítios (SONG; OUYANG; BAO, 2005).

A ativação de PI3K pode ser bloqueada por intermédio das substâncias *wortmannin* (ARCARO; WYMAN, 1993; POWIS et al., 1994; STARLETS et al., 2006) e *LY294002* (STARLETS et al., 2006; VLAHOS et al., 1994) de forma que a via AKT/PKB é indiretamente inibida pela desfosforilação de PIP3 que é convertido em PIP2 por PTEN (*tumor suppressor phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten*) (STAMBOLIC et al., 1998) ou SHIP (*SH2-domain-containing inositol polyphosphatase 5-phosphatase*) (ENGELMAN; LUO; CANTLEY, 2006; FAYARD et al., 2005).

1.5.2 Sinalização da via jusante (downstream) da AKT/PKB

AKT/PKB é a principal via que medeia a sobrevivência celular. Pode atuar de modo direto ou indireto por meio das seguintes vias: i) inativando BAD, uma proteína pró apoptótica da família Bcl-2; ii) ativando NF- κ B através da regulação da quinase I κ B (I-kappa-B kinase/IKK), o que resulta na transcrição de genes pró-sobrevivência; iii) fosforilando a proteína p21 e inibindo seus efeitos antiproliferativos; iv) fosforilando Mdm₂ que no núcleo, leva à redução nos níveis de p53 e sua transcrição ou ainda, v) fosforilando mTOR (alvo da rapamicina em mamíferos), também relacionado ao crescimento celular (LUE et al., 2007; SCHWARTZ et al., 2009; STARLETS et al., 2006; VIVANCO; SAWYERS, 2002).

Um importante substrato “*dowstream*” (jusante) direto de AKT é MDM₂, cuja fosforilação inibe p53, o fator supressor de tumor que ativa a apoptose ou impede o ciclo celular (VIVANCO; SAWYERS, 2002).

1.6 MIF promove a sobrevivência celular ativando PI3K/AKT

Em 2007, Lue e colaboradores demonstraram a inibição de apoptose e aumento da sobrevivência celular em fibroblastos mediada por MIF com consequente ativação de PI3K/AKT. Quando as células foram tratadas com o inibidor da PI3K, LY294002, mesmo na presença de MIF, entraram precocemente em processo apoptótico, reforçando a importância da via AKT no papel desempenhado por MIF na sobrevivência celular.

Por outro lado, a sobrevivência das células decíduais também foi analisada pelo nosso grupo de pesquisa, com relação à presença do trofoblasto. Foi realizada uma cocultura de células decíduais e células trofoblásticas do cone ectoplacentário sob a ação de um agente indutor de apoptose. Observou-se que na cocultura as células decíduais apresentaram um menor índice apoptótico na presença do indutor do que o observado nas culturas controle. O aumento na sobrevivência das células decíduais parece, desta forma, ter sido mediado pelo trofoblasto (BORBELY et al., 2012). Este achado em conjunto com outros dados obtidos em nosso laboratório, mostrando a expressão de MIF na interface materno fetal principalmente pelas células trofoblásticas (FARIA et al., 2010) e a presença de receptores de MIF nas células decíduais (MARTUCCI, 2010), nos levou a elaborar a hipótese de que a presença de MIF nesta interface está relacionada a mecanismos envolvidos na homeostase desta unidade funcional, ativando a via de sinalização mediada por Akt de modo a promover sobrevivência celular e, contribuindo desta forma com o sucesso gestacional.

6 CONCLUSÕES

Nossos resultados nos permitiram concluir que *in vitro*, as células decíduais:

- a) expressam o complexo receptor CD44/CD74;
- b) apresentam índices baixos de apoptose na presença de MIF;
- c) apresentam aumento das proteínas AKT e MDM₂ fosforiladas na presença de MIF sugerindo ativação desta via de sinalização por esta citocina e papel nos processos de controle da sobrevivência da célula decidual.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS*

- ABRAHAMSOHN, P. A. Ultrastructural study of the mouse antimesometrial decidua. **Anat. Embryol.**, v. 166, n. 2, p. 263-274, 1983.
- ABRAHAMSOHN, P. A.; ZORN, T. M. Implantation and decidualization in rodents. **J. Exp. Zool.**, v. 266, n. 6, p. 603-628, 1993.
- ADAMSON, S. L.; LU, Y.; WHITELEY, K. J.; HOLMYARD, D.; HEMBERGER, M.; PFARRER, C.; CROSS, J. C. Interactions between trophoblast cells and the maternal and fetal circulation in the mouse placenta. **Dev. Biol.**, v. 250, n. 2, p. 358-373, 2002.
- ALBERTO-RINCON, M. C.; ZORN, T. M.; ABRAHAMSOHN, P. A. Diameter increase of collagen fibrils of the mouse endometrium during decidualization. **Am. J. Anat.**, v. 186, n. 4, p. 417-429, 1989.
- ALESSI, D. R.; JAMES, S. R.; DOWNES, C. P.; HOLMES, A. B.; GAFFNEY, P. R.; REESE, C. B.; COHEN, P. Characterization of a 3-phosphoinositide-dependent protein kinase which phosphorylates and activates protein kinase B α . **Curr. Biol.**, v. 7, n. 4, p. 261-269, 1997.
- ALMEIDA, A.; CORREIA-DA-SILVA, G.; CEPEDA, M.; BELL, S. C.; TEIXEIRA, N. A. Synergistic induction of apoptosis in primary rat decidual cells by INF- γ and TNF. **Mol. Reprod. Dev.**, v. 74, n. 3, p. 371-377, 2007.
- AMARANTE-PAFFARO, A.; QUEIROZ, G. S.; CORRÊA, S. T.; SPIRA, B.; BEVILACQUA, E. Phagocytosis as a potential mechanism for microbial defense of mouse placental trophoblast cells. **Reproduction**, v. 128, n. 2, p. 207-218, 2004.
- 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, n. 4, p. 321-329, 2003.
- AMOROSO, E. C. Endocrinology of pregnancy. **Br. Med. Bull.**, v. 11, n. 2, p. 117-125, 1955.
- ANDJELKOVIĆ, M.; JAKUBOWICZ, T.; CRON, P.; MING, X. F.; HAN, J. W.; HEMMINGS, B. A. Activation and phosphorylation of a pleckstrin homology domain containing protein kinase (RAC-PK/PKB) promoted by serum and protein phosphatase inhibitors. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 93, n. 12, p. 5699-5704, 1996.
- 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, n. 3, p. 311-314, 2000.

*De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

APLIN, J. D. Embryo implantation: the molecular mechanism remains elusive. **Reprod. Biomed. Online**, v. 13, n. 6, p. 833-839, 2006.

ARCARO, A.; WYMANN, M. P. Wortmannin is a potent phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor: the role of phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate in neutrophil responses. **Biochem. J.**, v. 296, n. 2, p. 297-301, 1993.

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 trophoblasts. **Biol. Reprod.**, v. 60, n. 6, 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, n. 4, p. 1200-1205, 2001.

ARCURI, F.; CINTORINO, M.; CARDUCCI, A.; PAPA, S.; RIPARBELLI, M. G.; MANGIONI, S.; DI BLASIO, A. M.; TOSI, P.; VIGANÒ, P. Human decidual natural killer cells as a source and target of macrophage migration inhibitory factor. **Reproduction**, v. 131, n. 1, p. 175-182, 2006.

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. 433-439, 2007.

ARYA, R.; MALLIK, M.; LAKHOTIA, S. C. Heat shock genes - integrating cell survival and death. **J. Biosci.**, v. 32, n. 3, p. 595-610, 2007.

AUGER, K. R.; CARPENTER, C. L.; CANTLEY, L. C.; VARTICOVSKI, L. Phosphatidylinositol 3-kinase and its novel product, phosphatidylinositol 3-phosphate, are present in *Saccharomyces cerevisiae*. **J. Biol. Chem.**, v. 264, n. 34, p. 20181-20184, 1989.

BABIARZ, B. S.; ROMAGNANO, L. C.; KURILLA, G. M. Interaction of mouse ectoplacental cone trophoblast and uterine decidua in vitro. **In Vitro Cell Dev. Biol.**, v. 28A, n. 7-8, p. 500-508, 1992.

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

BAUGH, J. A.; BUCALA, R. Macrophage migration inhibitory factor. **Crit. Care Med.**, v. 30, n. 1, p. S27-35, 2002. Suppl.

BELLACOSA, A.; TESTA, J. R.; STAAL, S. P.; TSICHLIS, P. N. A retroviral oncogene, akt, encoding a serine-threonine kinase containing an SH2-like region. **Science**, v. 254, n. 5029, p. 274-277, 1991.

BERNDT, K.; KIM, M.; MEINHARDT, A.; KLUG, J. Macrophage migration inhibitory factor does not modulate co-activation of androgen receptor by Jab1/CSN5. **Mol. Cell Biochem.**, v. 307, n. 1-2, p. 265-271, 2008.

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.; SCHOBER, 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, n. 5, 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.

BEVILACQUA, E. M.; ABRAHAMSOHN, P. A. Trophoblast invasion during implantation of the mouse embryo. **Arch. Biol. Med. Exp.**, v. 22, n. 2, p. 107-118, 1989.

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. 231-234, 1992.

BLOOM, B. R.; BENNETT, B. Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity. **Science**, v. 153, n. 731, p. 80-82, 1966.

BORBELY, A. U.; FONTENELE-NETO, J. D.; VIDSIUNAS, A. K.; GOMES, S. Z.; HOSHIDA, M. S.; DE OLIVEIRA, S. F.; BEVILACQUA, E. Ectoplacental Cone Induces Resistance to Apoptosis in High Doses of Interferon (IFN)- γ -Treated Decidual Cells. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 67, n. 1, p. 73-83, 2012.

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.

BRAZIL, D. P.; HEMMING, B. A. Ten years of protein kinase B signalling: a hard Akt to follow. **Trends Biochem. Sci.**, v. 26, n. 11, p. 657-664, 2001.

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.; 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.; ROGER, T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 3, n. 10, p. 791-800, 2003.

CAN, A.; TEKELIOGLU, M.; BALTACI, A. Expression of desmin and vimentin intermediate filaments in human decidua cells during first trimester pregnancy. **Placenta**, v. 16, n. 3, p. 261-275, 1995.

CARDAROPOLI, S.; PAULESU, L.; ROMAGNOLI, R.; IETTA, F.; MARZIONI, D.; CASTELLUCCI, M.; ROLFO, A.; VASARIO, E.; PICCOLI, E.; TODROS, T. Macrophage migration inhibitory factor in fetoplacental tissues from preeclamptic pregnancies with or without fetal growth restriction. **Clin. Dev. Immunol.**, 2012. Epub 2011 Oct 4.

CARVALHO, J. V.; ALVES, C. M.; CARDOSO, M. R.; MOTA, C. M.; BARBOSA, B. F.; FERRO, E. A.; SILVA, N. M.; MINEO, T. W.; MINEO, J. R.; SILVA, D. A. Differential susceptibility of human trophoblastic (BeWo) and uterine cervical (HeLa) cells to *Neospora caninum* infection. **Int J Parasitol.**, v. 40, n. 14, p. 1629-1637, 2010.

CHAMPION, H.; INNES, B. A.; ROBSON, S. C.; LASH, G. E.; BULMER, J. N. Effects of interleukin-6 on extravillous trophoblast invasion in early human pregnancy. **Mol. Hum. Reprod.**, v. 18, n. 8, p. 391-400, 2012.

CHAOUAT, G.; DUBANCHET, S.; LEDÉE, N. Cytokines: Important for implantation? **J. Assist. Reprod. Genet.**, v. 24, n. 11, p. 491-505, 2007.

COFFER, P. J.; WOODGETT, J. R. Molecular cloning and characterisation of a novel putative protein-serine kinase related to the cAMP-dependent and protein kinase C families. **Eur. J. Biochem.**, v. 201, n. 2, p. 475-481, 1991.

COHEN, M.; BISCHOF, P. Factors regulating trophoblast invasion. **Gynecol Obstet Invest.**, v. 64, n. 3, p. 126-130, 2007.

CORREIA-DA-SILVA, G.; BELL, S. C.; PRINGLE, J. H.; TEIXEIRA, N. A. Patterns of expression of Bax, Bcl-2 and Bcl-x(L) in the implantation site in rat during pregnancy. **Placenta**, v. 26, n. 10, p. 796-806, 2005.

CROSS, J. C. How to make a placenta: mechanisms of trophoblast cell differentiation in mice - a review. **Placenta**, v. 26, p. S 3-9, 2005. Suppl A.

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. Cell Endocrinol.**, n. 187, n. 1-2, p. 207-212, 2002.

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.; VAN DEN HEUVEL, M.; PAFFARO, V. A. JR.; YAMADA, A. T. Uterine natural killer cells: insights into their cellular and molecular biology from mouse modelling. **Reproduction**, v. 126, n. 2, p. 149-160, 2003.

DAHL, M.; HVIID, T. V. Human leucocyte antigen class Ib molecules in pregnancy success and early pregnancy loss. **Hum. Reprod. Update**, v. 18, n. 1, p. 92-109, 2012.

DE OLIVEIRA GOMES, A.; DE OLIVEIRA SILVA, D. A.; SILVA, N. M.; DE FREITAS BARBOSA, B.; FRANCO, P. S.; ANGELONI, M. B.; FERMINO, M. L.; ROQUE-BARREIRA, M. C.; BECHI, N.; PAULESU, L. R.; DOS SANTOS, M. C.; MINEO, J. R.; FERRO, E. A. Effect of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in human placental explants infected with *Toxoplasma gondii* depends on gestational age. **Am. J. Pathol.**, v. 178, n. 6, p. 2792-2801, 2011.

DEKEL, N.; GNAINSKY, Y.; GRANOT, I.; MOR, G. Inflammation and implantation. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 63, n. 1, p. 17-21, 2010.

DIMITRIADIS, E.; WHITE, C. A.; JONES, R. L.; SALAMONSEN, L. A. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. **Hum. Reprod.**, v. 11, n. 6, p. 613-630, 2005.

DONNELLY, S. C.; HASLETT, C.; REID, P. T.; GRANT, I. S.; WALLACE, W. A.; METZ, C. N.; BRUCE, L. J.; BUCALA, R. Regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in acute respiratory distress syndrome. **Nat. Med.**, v. 3, p. 320-323, 1997.

ENDERS, A. C.; SCHLAFKE, S. Comparative aspects of blastocyst-endometrial interactions at implantation. **Ciba Found Symp.**, v. 64, p. 3-32, 1978.

ENGELMAN, J. A.; LUO, J.; CANTLEY, L. C. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. **Nat. Rev. Genet.**, v. 7, n. 8, p. 606-619, 2006.

ENTRICAN, G. Immune regulation during pregnancy and host-pathogen interactions in infectious abortion. **J. Comp. Pathol.**, v. 126, n. 2-3, p. 79-94, 2002.

FAN, Y.; DUTTA, J.; GUPTA, N.; FAN, G.; GÉLINAS, C. Regulation of programmed cell death by NF-kappaB and its role in tumorigenesis and therapy. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 615, p. 223-250, 2008.

FARIA, M. R.; HOSHIDA, M. S.; FERRO, E. A.; IETTA, F.; PAULESU, L.; BEVILACQUA, E. Spatiotemporal patterns of macrophage migration inhibitory factor (Mif) expression in the mouse placenta. **Reprod. Biol. Endocrinol.**, v. 4, p. 1-9, 2010

FAYARD, E.; TINTIGNAC, L. A.; BAUDRY, A.; HEMMING, B. A. Protein kinase B/Akt at a glance. **J. Cell Sci.**, v. 118, n. 24, p. 5675-5678, 2005.

FERRO, E. A.; BEVILACQUA, E. Trophoblastic invasion of the uterine epithelium in *Calomys callosus* (Rodentia, Cricetidae). **J. Morphol.**, v. 221, n. 2, p. 139-152, 1994.

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, n. 1, p. 50-58, 2008.

FINN, C. A. The biology of decidual cells. **Adv. Reprod. Physiol.**, v. 5, p. 1-26, 1971.

FLASTER, H.; BERNHAGEN, J.; CALANDRA, T.; BUCALA, R. The macrophage migration inhibitory factor-glucocorticoid dyad: regulation of inflammation and immunity. **Mol. Endocrinol.**, v. 21, n. 6, p. 1267-1280, 2007.

FRANCO, P. S.; GOMES, A. O.; BARBOSA, B. F.; ANGELONI, M. B.; SILVA, N. M.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; MARTINS-FILHO, O. A.; SILVA, D. A.; MINEO, J. R.; FERRO, E. A. Azithromycin and spiramycin induce anti-inflammatory response in human trophoblastic (BeWo) cells infected by *Toxoplasma gondii* but are able to control infection. **Placenta**, v. 32, n. 11, p. 838-844, 2011.

GLASSER, S. R.; LAMPELO, S.; MUNIR, M. I.; JULIAN, J. Expression of desmin, laminin and fibronectin during in situ differentiation (decidualization) of rat uterine stromal cells. **Differentiation**, v. 35, n. 2, p. 132-142, 1987.

GLASSER, S. R.; JULIAN, J. Intermediate filament protein as a marker of uterine stromal cell decidualization. **Biol. Reprod.**, v. 35, n. 2, p. 463-474, 1986.

GORE, Y.; STARLETS, D.; MAHARSHAK, N.; BECKER-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, n. 5, p. 2784-2792, 2008.

GU, Y.; JAYATILAK, P. G.; PARMER, T. G.; GAULDIE, J.; FEY, G. H.; GIBORI, G. Alpha 2-macroglobulin expression in the mesometrial decidua and its regulation by decidual luteotropin and prolactin. **Endocrinology**, v. 131, n. 3, p. 1321-1328, 1992.

GUILBERT, L.; ROBERTSON, S. A.; WEGMANN, T. G. The trophoblast as an integral component of a macrophage-cytokine network. **Immunol. Cell Biol.**, v. 71, n. 1, p. 49-57, 1993.

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 Biology**, v. 3, p. 1-14, 2002.

GUIMOND, M.; WANG, B.; CROY, B. A. Immune competence involving the natural killer cell lineage promotes placental growth. **Placenta**, v. 20, n. 5-6, p. 441-450, 1999.

GREMLICH, S.; CHANSON, A.; URNER, F.; SENN, A.; REYMONDIN, D.; DAMNON, F.; ROTH-KLEINER, M.; WITKIN, S. S.; GERMOND, M.; GERBER S. LIF and sIL-2R plasma concentrations in IVF patients on the day of embryo transfer: predictive markers of IVF outcome. **J. Reprod. Immunol.** v. 94, n. 2, p. 175-182, 2012.

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. Sc.**, v. 49, p. 63-72, 2008.

HUDSON, J. D.; SHOAIBI, M. A.; MAESTRO, R.; CARNERO, A.; HANNON, G. J.; BEACH, D. H. A proinflammatory cytokine inhibits p53 tumor suppressor activity. **J. Exp. Med.**, v. 190, n. 10, p. 1375-1382, 1999.

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, n. 1, p. E272-280, 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, n.4, p. 323-331, 2001.

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.

KEARNS, M.; LALA, P. K. Life history of decidual cells: a review. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 3, n. 2, p. 78-82, 1983.

KLEINFELD, R. G.; MORROW, H.; DEFEO, V. J. Intercellular junctions between decidual cells in the growing deciduoma of the pseudopregnant rat uterus. **Biol. Reprod.**, v.15, n. 5, p. 593-603, 1976.

KUMAR, C. C.; MADISON, V. AKT crystal structure and AKT-specific inhibitors. **Oncogene**, v. 24, n. 50, p. 7493-7501, 2005.

LAN, H. Y. Role of macrophage migration inhibition factor in kidney disease. **Nephron Exp. Nephrol.**, v. 109, n. 3, p 79-83, 2008.

LASH, G. E.; OTUN, H. A.; INNES, B. A.; BULMER, J. N.; SEARLE, R. F.; ROBSON, S. C. Inhibition of trophoblast cell invasion by TGFB1, 2, and 3 is associated with a decrease in active proteases. **Biol. Reprod.**, v. 73, n. 2, p. 374-381, 2005.

LASH, G. E.; SCHIESSL, B.; KIRKLEY, M.; INNES, B. A.; COOPER, A.; SEARLE, R. F.; ROBSON, S. C.; BULMER, J. N. Expression of angiogenic growth factors by uterine natural killer cells during early pregnancy. **J. Leukoc. Biol.**, v. 80, n. 3, p. 572-580, 2006.

LASH, G. E.; ROBSON, S. C.; BULMER, J. N. Review: Functional role of uterine natural killer (uNK) cells in human early pregnancy decidua. **Placenta**, v. 31 p. S87-92, 2010.

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.

LIN, H.; MOSMANN, T. R.; GUILBERT, L.; TUNTIPOPIPAT, S.; WEGMANN, T. G. Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. **J. Immunol.**, v. 151, n. 9, p. 4562-4573, 1993.

LUE, H.; KLEEMANN, R.; CALANDRA, T.; ROGER, T.; BERNHAGEN, J. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): mechanisms of action and role in disease. **Microbes Infect.**, v. 4, p. 449-460, 2002.

LUE, H.; KAPURNIOTU, A.; FINGERLE-ROWSON, G.; ROGER, T.; LENG, L.; THIELE, M.; CALANDRA, T.; BUCALA, R.; BERNHAGEN, J. Rapid and transient activation of the ERK MAPK signalling pathway by macrophage migration inhibitory factor (MIF) and dependence on JAB1/CSN5 and Src kinase activity. **Cell Signal**, v. 18, p. 688-703, 2006.

LUE, H.; THIELE, M.; FRANZ, J.; DAHL, E.; SPECKGENS, S.; LENG, L.; FINGERLE-ROWSON, G.; BUCALA, R.; LÜSCHER, 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, n. 35, p. 5046-5059, 2007.

MÄKIKALLIO, K.; KAUKOLA, T.; TUIMALA, J. F.; KINGSMORE, S.; HALLMAN, M.; OJANIEMI, M. Umbilical artery chemokine CCL16 is associated with preterm preeclampsia and fetal growth restriction. **Cytokine**, 2012. In press.

MANNING, B. D.; CANTLEY, L. C. AKT/PKB signaling: navigating downstream. **Cell**, v. 129, n. 7, p. 1261-1274, 2007.

MARTUCCI, M. F. **Expressão do complexo receptor CD74-CD44 para o fator de inibição da migração de macrófagos (MIF) na interface materno placentária em camundongos**. 2010. 75 p. Tese de Mestrado em Biologia Celular e Tecidual. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MATTHIESEN, L.; KALKUNTE, S.; SHARMA, S. Multiple pregnancy failures: an immunological paradigm. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 67, n. 4, p. 334-340, 2012.

MAYO, L. D.; DONNER, D. B. A phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway promotes translocation of Mdm2 from the cytoplasm to the nucleus. **PNAS**, v. 98, n. 25, p. 11598-11603, 2001.

MEYER-SIEGLER, K.; HUDSON, P. B. Enhanced expression of macrophage migration inhibitory factor in prostatic adenocarcinoma metastases. **Urology**, v. 48, n. 3 p. 448-452, 1996.

MEYER-SIEGLER, K. L.; LEIFHEIT, E. C.; VERA, P. L. Inhibition of macrophage migration inhibitory factor decreases proliferation and cytokine expression in bladder cancer cells. **BMC Cancer**, v.12, p. 4:34, 2004.

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 in the innate immune response. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 99, n. 1, p. 345-350, 2002.

MITCHELL, R. A. Mechanisms and effectors of MIF-dependent promotion of tumourigenesis. **Cell Signal**, v. 16, n. 1, p. 13-19, 2004.

MOSSMAN, H. W. Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures. **Contr. Embryol. Carneg. Inst.**, v. 26, p. 133-246, 1937.

NANCY, P.; TAGLIANI, E.; TAY, C. S.; ASP, P.; LEVY, D. E.; ERLEBACHER, A. Chemokine gene silencing in decidual stromal cells limits T cell access to the maternal-fetal interface. **Science**, v. 336, n. 6086, p. 1317-1321, 2012.

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.

NISHIHARA, J.; KOYAMA, Y.; MIZUE, Y. Identification of Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) in human vascular endothelial cells and its induction by lipopolysaccharide. **Cytokine**, v. 10, n. 3, p. 199-205, 1998.

OLIVEIRA, S. F.; GRECA, C. P.; ABRAHAMSOHN, P. A.; REIS, M. G.; ZORN, T. M. Organization of desmin-containing intermediate filaments during differentiation of mouse decidual cells. **Histochem. Cell Biol.**, v. 113, n. 4, p. 319-327, 2000.

OLIVEIRA, S. F.; ABRAHAMSOHN, P. A.; NAGATA, T.; ZORN, T. M. Incorporation of 3H-amino acids by endometrial stromal cells during decidualization in the mouse. A radioautographical study. **Cell Mol. Biol.**, v. 41, n 1, p. 107-116, 1995.

ORESHKOVA, T.; DIMITROV, R.; MOURDJEVA, M. A cross-talk of decidual stromal cells, trophoblast, and immune cells: a prerequisite for the success of pregnancy. **Am. J. Reprod. Immunol.**, 2012. In press.

PAULESU, L.; CATENI, C.; ROMAGNOLI, R.; IETTA, F.; DANTZER, V. Variation in macrophage-migration-inhibitory-factor immunoreactivity during porcine gestation. **Biol. Reprod.**, v. 72, n. 4, p. 949-953, 2005.

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-migration-inhibitory-factor immunoreactivity during porcine gestation. **Biol. Reprod.**, v. 72, n. 4, p. 949-953, 2005.

PAULESU, L.; BHATTACHARJEE, J.; BECHI, N.; ROMAGNOLI, R.; JANTRA, S.; IETTA, F. Pro-inflammatory cytokines in animal and human gestation. **Curr. Pharm. Des.**, v. 16, n. 32, p. 3601-3615, 2010.

PAVIA, C. S. Expression of cell-mediated antimicrobial immunity by mouse trophoblast monolayers. **J. Infect. Dis.**, v. 147, n. 6, p. 1006-1010, 1983.

PERRICONE, C.; DE CAROLIS, C.; PERRICONE, R. Pregnancy and autoimmunity: a common problem. **Best. Pract. Res. Clin. Rheumatol.**, v. 26, n. 1, p. 47-60, 2012.

PICCINNI, M. P.; MAGGI, E.; ROMAGNANI, S. Role of hormone-controlled T-cell cytokines in the maintenance of pregnancy. **Biochem. Soc. Trans.**, v. 28, n. 2, p. 212-215, 2000.

POLLAK, N.; STERNS, T.; ECHTENACHER, B.; MÄNNEL, D. N. Improved resistance to bacterial superinfection in mice by treatment with macrophage migration inhibitory factor. **Infect. Immun.**, v. 73, p. 6488-6489, 2005.

PLAISIER, M. Decidualisation and angiogenesis. **Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.**, v. 25, n. 3, p. 259-271, 2011.

POWIS, G.; BONJOUKLIAN, R.; BERGGREN, M. M.; GALLEGOS, A.; ABRAHAM, R.; ASHENDEL, C.; ZALKOW, L.; MATTER, W. F.; DODGE, J.; GRINDEY, G. Wortmannin, a potent and selective inhibitor of phosphatidylinositol-3-kinase. **Cancer Res.**, v. 54, n. 9, p. 2419-2423, 1994.

PRINS, J. R.; FAAS, M. M.; MELGERT, B. N.; HUITEMA, S.; TIMMER, A.; HYLKEMA, M. N.; ERWICH, J. J. Altered expression of immune-associated genes in first-trimester human decidua of Pregnancies later complicated with hypertension or foetal growth restriction. **Placenta**, v. 33, n. 5, p. 453-455, 2012.

RAGHUPATHY, R. Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. **Immunol. Today.**, v. 18, n. 10, p. 478-482, 1997.

RESTALL, B. J.; BINDON, B. M. The timing and variation of pre-implantation events in the mouse. **J. Reprod. Fertil**, v. 24, n. 3, p. 423-426, 1971.

ROBERTSON, S. A. GM-CSF regulation of embryo development and pregnancy. **Cytokine Growth Factor Rev.**, v. 18, n. 3-4, p. 287-298, 2007.

RODE, L.; KLEIN, K.; LARSEN, H.; HOLMSKOV, A.; ANDREASEN, K. R.; ULDBJERG, N.; RAMB, J.; BODKER, B.; SKIBSTED, L.; SPERLING, L.; HINTERBERGER, S.; KREBS, L.; ZINGENBERG, H.; WEISS, E. C.; STROBL, I.; LAURSEN, L.; CHRISTENSEN, J. T.; SKOGSTRAND, K.; HOUGAARD, D. M.; KRAMPL-BETTELHEIM, E.; ROSTHOJ, S.; VOGEL, I.; TABOR, A. Cytokines and the risk of preterm delivery in twin pregnancies. **Obstet. Gynecol.**, v. 120, n. 1, p. 60-68, 2012.

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.

RONG, Y.; DISTELHORST, C. W. Bcl-2 protein family members: versatile regulators of calcium signaling in cell survival and apoptosis. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 70, p. 73-91, 2008.

RUTANEN, E. M. Cytokines in reproduction. **Ann. Med.**, v. 25, n. 4, p. 343-347, 1993.

SANDOVICI, I.; HOELLE, K.; ANGIOLINI, E.; CONSTÂNCIA, M. Placental adaptations to the maternal-fetal environment: implications for fetal growth and developmental programming. **Reprod. Biomed. Online**, v. 25, n. 1, p. 68-89, 2012.

SATO, A.; UINUK-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.; KORBIEL, J.; KROHN, R.; OHL, K.; BUCALA, R.; WEBER, C.; BERNHAGEN, J. A functional heteromeric MIF receptor formed by CD74 and CXCR4. **FEBS Lett.**, v. 583, n. 17, 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, n. 4, p. 595-606, 2006.

SONG, G.; OUYANG, G.; BAO, S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. **J. Cell. Mol. Med.**, v. 9, n. 1, p. 59-71, 2005.

STAMBOLIC, V.; SUZUKI, A.; DE LA POMPA, J. L.; BROTHERS, G. M.; MIRTSOS, C.; SASAKI, T.; RULAND, J.; PENNINGER, J. M.; SIDEROVSKI, D. P.; MAK, T. W. Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN. **Cell**, v. 95, n. 1, p. 29-39, 1998.

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, n. 12, p. 4807-4816, 2006.

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, n. 2, p. 409-416, 1996a.

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, n. 3, p. 141-147, 1996b.

TACHI, S.; TACHI, C.; LINDNER, H. R. Ultrastructural features of blastocyst attachment and trophoblastic invasion in the rat. **J. Reprod. Fertil.**, v. 21, n. 1, p. 37-56, 1970.

TANG, B.; GULLER, S.; GURPIDE, E. Mechanisms involved in the decidualization of human endometrial stromal cells. **Acta Eur. Fertil.**, v. 24, n. 5, p. 221-223, 1993.

THOMAS, T. Distribution of alpha 2-macroglobulin and alpha 1-acid glycoprotein mRNA shows regional specialization in rat decidua. **Placenta**, v. 14, n. 4, p. 417-428, 1993.

TODROS, T.; BONTEMPO, S.; PICCOLI, E.; IETTA, F.; ROMAGNOLI, R.; BIOLCATI, M.; CASTELLUCCI, M.; PAULESU, L. Increased levels of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in preeclampsia. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, v. 123, n. 2, p. 162-166, 2005.

VASSILIADIS, S.; RANELLA, A.; PAPADIMITRIOU, L.; MAKRYGIANNAKIS, A.; ATHANASSAKIS, I. Serum levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in non-pregnant women, during pregnancy, labour and abortion. **Mediators Inflamm.**, v. 7, n. 2, p. 69-72, 1998.

VIGANÒ, P.; CINTORINO, M.; SCHATZ, F.; LOCKWOOD, C. J.; ARCURI, F. The role of macrophage migration inhibitory factor in maintaining the immune privilege at the fetal-maternal interface. **Semin. Immunopathol.**, v. 29, n. 2, p. 135-150, 2007.

VIVANCO, I.; SAWYERS, C. L. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. **Nat. Rev. Cancer.**, v. 2, n. 7, p. 489-501, 2002.

VLAHOS, C. J.; MATTER, W. F.; HUI, K. Y.; BROWN, R. F. A specific inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase, 2-(4-morpholinyl)-8-phenyl-4H-1-benzopyran-4-one (LY294002). **J. Biol. Chem.**, v. 269, n. 7, p. 5241-5248, 1994.

WELSH, A. O.; ENDERS, A. C. Trophoblast-decidual cell interactions and establishment of maternal blood circulation in the parietal yolk sac placenta of the rat. **Anat. Rec.**, v. 217, n. 2, p. 203-219, 1987.

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.

XIE, X. F.; ZHAN, Y.; YE, Y. H.; LI, C.; ZHANG, Y. Expression of macrophage migration inhibitory factor and CD74 in preeclamptic placenta and its correlation with preeclampsia. **Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi**. v. 45, n. 4, p. 278-282, 2010.

XIE, L.; QIAO, X.; WU, Y.; TANG, J. Arrestin1 Mediates the Endocytosis and Functions of Macrophage Migration Inhibitory Factor. **PLoS One**., v. 25, 6, n 1, p. e16428, 2011.

YANG, J.; CRON, P.; GOOD, V. M.; THOMPSON, V.; HEMMINGS, B. A.; BARFORD, D. Crystal structure of an activated Akt/protein kinase B ternary complex with GSK3-peptide and AMP-PNP. **Nat. Struct. Biol.**, v. 9, n. 12, p. 940-944, 2002.

YANG, L.; DAN, H. C.; SUN, M.; LIU, Q.; SUN, X. M.; FELDMAN, R. I.; HAMILTON, A. D.; POLOKOFF, M.; NICOSIA, S. V.; HERLYN, M.; SEBTI, S. M.; CHENG, J. Q. Akt/protein kinase B signaling inhibitor-2, a selective small molecule inhibitor of Akt signaling with antitumor activity in cancer cells overexpressing Akt. **Cancer Res.**, v. 64, n. 13, p. 4394-4399, 2004.

YANG, Y.; ZOU, L.; LI, M.; ZHAO, Y. CXCL12/CXCR4 expression in trophoblasts takes part in materno-fetal immune tolerance and vascular remodeling. **J. Huazhong Univ. Sci. Technolog Med. Sci.**, v. 26, n. 4, p. 466-468, 2006.

YOON, S. O.; KIM, M. M.; PARK, S. J.; KIM, D.; CHUNG, J.; CHUNG, A. S. Selenite suppresses hydrogen peroxide-induced cell apoptosis through inhibition of ASK1/JNK and activation of PI3-K/Akt pathways. **FASEB J.**, v. 16, n. 1, p. 111-113, 2002.

ZERNECKE, A.; BERNHAGEN, J.; WEBER, C. Macrophage migration inhibitory factor in cardiovascular disease. **Circulation**, v. 117, n. 12, p. 1594-1602, 2008.

ZHOU, W. H.; DU, M. R.; DONG, L.; YU, J.; LI, D. J. Chemokine CXCL12 promotes the cross-talk between trophoblasts and decidual stromal cells in human first-trimester pregnancy. **Hum. Reprod.** v. 23, n. 12, p. 2669-2679, 2008.

ZICARI, A.; TICCONI, C.; IETTA, F.; BELMONTE, A.; BECHI, N.; REALACCI, M.; DI VITO, M.; ARCURI, F.; RUSSO, M.; PICCIONE, E.; PAULESU, L. Macrophage migration inhibitory factor-nitric oxide interaction in human fetal membranes at term pregnancy. **J. Soc. Gynecol. Investig.**, v. 13, n. 4, p. 263-270, 2006.

ZORN, T. M.; DE OLIVEIRA, S. F.; ABRAHAMSOHN, P. A. Organization of intermediate filaments and their association with collagen-containing phagosomes in mouse decidual cells. **J. Struct. Biol.**, v. 103, n. 1, p. 23-33, 1990.

ZORN, T. M.; BIJOVSKY, A. T.; BEVILACQUA, E. M.; ABRAHAMSOHN, P. A. Phagocytosis of collagen by mouse decidual cells. **Anat. Rec.**, v. 225, n. 2, p. 96-100, 1989.

ZORN, T. M.; BEVILACQUA, E. M.; ABRAHAMSOHN, P. A. Collagen remodeling during decidualization in the mouse. **Cell Tissue Res.**, v. 244, n. 2, p. 443-448, 1986.