



Microquimerismo Fetal e Saúde da Mulher

Ana Rita Martins Afonso

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(mestrado integrado)

Orientador: Prof. Doutor José Alberto Fonseca Moutinho

abril de 2020

Dedicatória

Aos meus pais,
pelo apoio incondicional.

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, o Prof. Doutor José Alberto Fonseca Moutinho, pela sua disponibilidade, prontidão, crítica e apoio na elaboração desta dissertação.

À Faculdade de Ciências da Saúde e à Universidade da Beira Interior pelos seis anos de formação que me permitiram concretizar.

Agradeço aos meus pais, pela presença essencial, por todo o esforço e investimento, na minha formação e enquanto pessoa, sem eles não teria chegado ao fim de todas as etapas.

Agradeço à minha família, em especial à Ana e à Filipa, pela preocupação e apoio constantes, por nunca duvidarem de mim e pelo carinho.

Ao João, por compreender as ausências, pela paciência e dedicação.

Aos meus amigos, pela amizade que construímos e pela motivação constante, é um orgulho aquilo que nos une.

À Covilhã, que ao longo destes seis anos foi a minha segunda casa e me permitiu criar memórias incríveis.

Prefácio

“Valeu a pena? Tudo vale a pena

Se a alma não é pequena.”

Fernando Pessoa

Resumo

Introdução: O microquimerismo é caracterizado pela presença de células de um indivíduo num outro geneticamente diferente. Na mulher, a gravidez é a principal causa de microquimerismo natural pelo fluxo bidirecional existente entre mãe e feto. O papel biológico deste fenómeno é intrigante e desafiador, particularmente no impacto que tem na saúde da mulher, uma vez que poderá estar associado à reparação tecidual, assim como na génese e proteção para determinadas patologias.

Objetivos: Pretendeu-se efetuar uma revisão da evidência científica atual no que diz respeito às implicações que o microquimerismo fetal pode ter na saúde da mulher, nomeadamente quanto à reparação tecidual, às doenças auto-imunes e cancro.

Metodologia: Foi realizada pesquisa bibliográfica e revisão de literatura científica recorrendo principalmente às plataformas PubMed, Cochrane e UpToDate.

Resultados: O microquimerismo fetal melhora a reparação tecidual, pelo que a mulher beneficia com a transferência desse material genético. No entanto, no que toca às doenças auto-imunes e ao cancro, os seus efeitos não foram convergentes. Relativamente às doenças auto-imunes, durante a gravidez, verificou-se que o microquimerismo fetal parece melhorar a sintomatologia e promove o seu agravamento no período pós-parto, assim como a sua exacerbação. Também o microquimerismo fetal tem sido associado ao aparecimento de novas patologias auto-imunes. No que diz respeito ao cancro da mama, o efeito protetor é evidente, contrariamente ao cancro do colo do útero.

Conclusão: a evidência científica atual sugere que o microquimerismo fetal afeta a saúde da mulher, no entanto, ainda estão por esclarecer muitas das suas implicações, pelo que é necessária mais investigação na área.

Palavras-chave

Microquimerismo fetal;doenças auto-imunes;cancro;tolerância imunológica;gravidez.

Abstract

Introduction: Microchimerism is characterized by the presence of cells from one individual in another genetically different one. In women, pregnancy is the main cause of natural microchimerism due to the bidirectional flow between mother and fetus. The biological role of this phenomenon is intriguing and challenging, especially with impact on women's health, as it may be associated with tissue repair and in the pathogenesis of certain pathologies.

Goals: This monograph, it is intended to review current scientific evidence about the impact of fetal microchimerism on women's health, including tissue repair, autoimmune diseases and cancer.

Methodology: For this dissertation, a bibliographic research and literature review was carried out, mainly using PubMed, Cochrane and UpToDate platforms.

Results: Fetal microchimerism improves tissue repair, so women benefit from the transfer of this genetic material. However, the effects at autoimmune diseases and cancer are not consensual. In fact, regarding autoimmune diseases, during pregnancy it was found that fetal microchimerism seems to improve symptoms, and promote their worsening in the postpartum period, as well as their exacerbation. Fetal microchimerism has also been associated with the emergence of new pathologies. The protective effect on breast cancer is evident, unlike cervical cancer.

Conclusion: Scientific evidence suggests that fetal microchimerism affects women's health, however, many of its implications remain to be clarified, so more research is needed in this area.

Keywords

Fetal microchimerism; autoimmune diseases; cancer; immunological tolerance; pregnancy.

Índice

1. Introdução.....	1
2. Objetivos	3
3. Metodologia.....	5
4. Resultados.....	7
4.1 Microquimerismo.....	7
4.1.1 Microquimerismo Fetal.....	8
4.1.2 Microquimerismo Materno	9
4.2 Métodos de Identificação / Detecção	10
4.3 Microquimerismo Fetal e Tolerância Imunológica Materna durante a Gravidez.....	12
4.4 Microquimerismo Fetal e Capacidade de Reparação Tecidual	15
4.5 Influência do Microquimerismo Fetal na Saúde da Mulher.....	17
4.5.1 Prognóstico Obstétrico	17
4.5.2 Doenças Auto-ímmunes	17
4.5.3 Doenças Oncológicas.....	19
4.5.3.1 Cancro da Mama	20
4.5.3.2 Cancro do Colo do Útero	23
5. Conclusões.....	25
6. Perspetivas Futuras.....	27
7. Referências Bibliográficas.....	29

Lista de Acrónimos e Siglas

ADN Ácido Desoxirribonucleico

ANB Ácidos Nucleicos Bloqueados

AR Artrite Reumatóide

CFM Células Fetais Microquiméricas

DAIT Doenças Auto-imunes da Tiróide

DG Doença de Graves

ES Esclerose Sistémica

FISH *Fluorescent in situ hybridization*

PCR Reação em Cadeia da Polimerase

qPCR Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa em tempo real

TH Tiroidite de Hashimoto

1. Introdução

O microquimerismo é um fenômeno que ocorre em várias espécies, incluindo a humana, e que se define como a presença de mais do que uma população de células geneticamente distintas originárias de diferentes zigotos, no mesmo indivíduo. Para além da gravidez, pode ocorrer também por transfusão sanguínea ou transplante de órgãos, sendo a primeira a mais prevalente (1).

Durante a gravidez, ocorre uma transferência assimétrica com mais células fetais a serem transferidas para a mãe do que vice-versa. Essa transferência das células fetais microquiméricas (CFM) começa por volta da 4^a ou 5^a semanas de gestação e, com o decorrer da mesma, este número aumenta. Foram identificadas tanto no sangue como nos tecidos maternos, décadas após a gravidez (2, 3).

Após o parto, o sistema imunitário materno elimina ativamente algumas, mas não todas as células fetais através da indução da apoptose (2). No entanto, apesar do sistema imunitário materno reconhecer antígenos de células fetais paternas e produzir linfócitos T citotóxicos específicos, estes são suprimidos de reagirem contra as CFM (1).

Durante muito tempo pensou-se que o feto e o sistema vascular materno eram independentes, pelo que não teriam qualquer interligação. No entanto, verificou-se que existe um fluxo bidirecional de células maternas, fetais e placentárias através da passagem transplacentária (1).

Qualquer gestação é acompanhada por mudanças fisiológicas profundas, em todos os sistemas corporais da mulher (4). A adaptação que é feita pela mesma ao feto requer alterações imunológicas que não são integralmente conhecidas, assim como a complexidade da relação intraplacentária. As interações mãe-filho são muitas vezes vistas como uma relação de cooperação, dado que ambas as partes têm interesse na sobrevivência e bem-estar um do outro, mas existe um conflito (2). Isto ocorre porque a partilha de genes entre mãe e filho é parcial, sendo os restantes genes da responsabilidade do pai. Sabe-se que as CFM podem modificar o reconhecimento imunológico ou a tolerância (3).

O microquimerismo humano foi identificado pela primeira vez por *Bianchi* (4), através da presença de células masculinas no sangue de mulheres, anos após a gestação. Durante a gravidez, as CFM aumentam aquando da placentação anormal, pré-eclâmpsia ou anomalias fetais. Outras situações como o aborto espontâneo ou voluntário estão associados ao aumento da transferência de CFM para a mãe (4).

O microquimerismo fetal foi relatado inicialmente por *Georg Schmorl* (5), que identificou células de trofoblasto placentário em mães que padeciam de eclâmpsia. Desde então, há relatos de células fetais que persistem na circulação materna décadas após gravidez, bem como em determinados órgãos maternos como a medula óssea, o rim, o fígado e o coração.

Assim, há várias décadas que a existência desse material genético “extra” no sangue periférico da mulher grávida é reportada. A persistência das CFM após o parto também tem sido relatada, por exemplo, de CFM masculinas em mulheres, 27 anos após o parto, e detetados subconjuntos imunologicamente ativos de células fetais no sangue periférico materno, como, células T (30-58%), células B (45-75%), células NK (44-62%) e células apresentadoras de antígenos (26-58%) (6).

Durante a gravidez, o sangue materno assim como os seus tecidos contêm transitoriamente CFM, incluindo trofoblastos, eritroblastos, plaquetas, linfócitos B e T, monócitos, células NK e alguns tipos de células estaminais. Anos após a gravidez, foram reportadas células estaminais CD34+ hematopoiéticas fetais, progenitores linfóides CD34 + e CD38 +, células precursoras de linfócitos B CD19+ e IgM, células mononucleares CD3+ e CD14+, células CD45+, desmina e células estaminais mesenquimatosas, o que confirma a longevidade destas células (3).

As células estaminais mesenquimatosas são capazes de se diferenciar em osteogênicas, condrogênicas e em linhagens miogênicas e adipogênicas. Foram detetadas em quantidade reduzida na circulação fetal, no primeiro trimestre, no fígado e na medula óssea e isoladas do sangue materno após o término da gravidez. Além disso, as CFM expressam marcadores de diferenciação endotelial (VEGFR2, CD31) que foram descobertos nos locais de inflamação, reforçando a ideia da sua participação na neoangiogênese materna durante a gravidez.

Os efeitos do microquimerismo fetal na saúde da mulher ainda não estão totalmente esclarecidos, no entanto, há evidência de que as CFM podem ser deletérias, contribuindo para uma resposta inflamatória responsável por danos nos tecidos maternos assim como protetoras, com células fetais a ajudar na reparação tecidual materna. Podem simplesmente tem um papel passivo, sem efeito patogénico ou protetor na saúde materna (2, 3).

Assim, interessámo-nos em avaliar a evidência científica atual sobre as implicações do microquimerismo fetal na saúde da mulher ao longo da sua vida, no sentido de se encontrar estratégias clínicas que possam promover a sua saúde e o seu bem-estar.

2. Objetivos

Para esta dissertação, foram definidos os seguintes objetivos:

- Aprofundar os conhecimentos sobre o microquimerismo;
- Descrever os métodos de identificação e deteção do microquimerismo fetal;
- Analisar o papel do microquimerismo fetal na tolerância imunológica materna durante a gravidez;
- Avaliar a importância do microquimerismo fetal na capacidade de reparação tecidual materna;
- Perceber a influência do microquimerismo fetal na saúde da mulher quanto ao prognóstico obstétrico, doenças auto-imunes e cancro da mama e do colo do útero.

3. Metodologia

Efetou-se uma revisão descritiva da literatura científica e artigos de revisão, no período de agosto de 2019 a janeiro de 2020, tendo sido selecionados artigos das plataformas PubMed, Cochrane e UpToDate.

As palavras-chave aplicadas no decorrer da pesquisa foram “microquimerismo”, “microquimerismo materno-fetal”, “cancro”, “doenças auto-imunes” e “gravidez e tolerância imunológica”.

Analisou-se minuciosamente as referências bibliográficas dos artigos selecionados, quando considerados relevantes, dando prioridade aos artigos mais recentes, relevantes e concordantes, desde o ano 1992 até ao 2019. No decorrer da finalização desta dissertação, foi realizada uma nova pesquisa de atualização.

Só foram considerados estudos publicados em revistas indexadas e escritos em inglês.

4. Resultados

4.1 Microquimerismo

O microquimerismo é um fenômeno que implica que no mesmo indivíduo, existam duas ou mais populações de células geneticamente distintas originárias de diferentes indivíduos, constituindo menos de 1% do total de células (7, 8).

Ocorre durante a gravidez e no aborto, através de transfusões sanguíneas, transplante de órgãos e ainda como consequência de relações sexuais (1). Os tipos de microquimerismo subdividem-se em natural, incluindo o fetal e materno, e artificial. O microquimerismo fetal consiste na passagem de material genético do feto para a mãe, sendo o mais comum e complexo, e no materno, a transferência ocorre da mãe para o feto (1). Relativamente ao tipo artificial, associa-se a transfusões sanguíneas e transplante de órgãos ou medula óssea (9). No entanto, o feto para além de adquirir o material genético da mãe também pode adquirir células fetais de uma gravidez anterior, como o caso descrito de uma menina que possuía hepatócitos masculinos, sem nunca ter realizado uma transfusão (1).

As CFM podem diferenciar-se em células hematopoiéticas da linhagem mielóide ou linfóide, bem como noutros tipos celulares, consoante o órgão onde se manifeste o fenómeno e a diferenciação que as originou (10). Assim, na circulação foram observados em trofoblastos, linfócitos T ou B, monócitos, células NK e Células CD34+. Nos tecidos, foi observada a sua presença em neurónios e células da glia, células foliculares, hepatócitos, epitélio tubular renal, cardiomiócitos, células endoteliais e no epitélio intestinal (11, 12).

As propriedades que definem as células estaminais, também se equiparam às CFM, como por exemplo, a sua capacidade de auto-renovação quase ilimitada (dando origem a células indiferenciadas como elas próprias), a expressão de um conjunto específico de marcadores, a persistência dessa indiferenciação ao longo do tempo e a capacidade de plasticidade, ao dar origem a células filhas que se vão diferenciar e originar as células dos tecidos onde se fixam (multi ou pluripotência) (11).

Estas células, poderão ter um efeito benéfico, neutro ou adverso dependendo do recetor e de outras condicionantes, como a sua origem, o tipo de células adquiridas, o tempo decorrido desde a sua aquisição e a idade do recetor (3).

4.1.1 Microquimerismo Fetal

A maioria dos casos de microquimerismo fetal ocorre durante a gravidez. As mulheres são portadoras de maior número de CFM do que os homens, isto porque, as fontes de microquimerismo fetal masculino apenas ocorrem pela transferência materno-fetal no útero, transfusões sanguíneas ou transplante de órgãos. O microquimerismo fetal também poderá ser consequência de relações sexuais desprotegidas, aborto, amamentação e transferência de material genético de uma gravidez anterior para uma gravidez seguinte (4).

Durante a gravidez, as CFM podem ser observadas após quatro a seis semanas de gestação, sendo que, no segundo trimestre, o número dessas células no sangue periférico materno é, aproximadamente, 1-6 células / mL (12). Após trinta e seis semanas da gestação, 100% das mulheres grávidas têm CFM em circulação. A seguir ao parto, essa percentagem diminui rapidamente, sendo que a maioria é eliminada e apenas 30-50% das mulheres permanecem com células fetais detetadas no pós-parto (12, 13). Posteriormente, as CFM aglomeram-se localmente e permanecem parcialmente inativas, não sendo alvo de ataques imunológicos por parte do organismo materno, independentemente do tipo celular (12). A sua persistência foi identificada até ao limite de 59 anos pós-parto (4).

As CFM masculinas foram também identificadas em mulheres sem histórico de filhos do sexo masculino ou aborto prévio diagnosticado. A explicação proposta é que deveriam advir de um aborto não reconhecido por uma interrupção involuntária da gravidez, perda de um gêmeo não reconhecido, transferência de células de um irmão mais velho através da circulação materna ou através do parceiro sexual (7).

As CFM foram associadas à imunomodulação, pela ação reparadora nos tecidos e foram detetadas em tecidos maternos seletivamente danificados. Estas células diferenciaram-se de acordo com o local de onde são originárias (ectoderme, mesoderme ou endoderme) (1, 12).

Assim, aquando da gravidez há transferência placentária de células estaminais mesenquimatosas e hematopoiéticas, posteriormente induzidas a diferenciar nos diversos tipos de células, células da linhagem mielóide ou linfóide, gordura, osso e músculo (4, 7, 8, 12).

4.1.2 Microquimerismo Materno

O microquimerismo materno foi descrito pela primeira vez em 1963, aquando da identificação de leucócitos e plaquetas maternas no sangue do cordão umbilical, pelas técnicas de biologia molecular Reação de Cadeia de Polimerase (PCR) e *Fluorescent in situ hybridization* (FISH). Tal como ocorre no microquimerismo fetal, as células de microquimerismo materno também apresentam diferentes fenótipos, podendo ser originárias da ectoderme, endoderme e mesoderme. Para além disso, foram também identificadas células maternas microquiméricas na pele, fígado e tiróide dos descendentes (3, 9).

Vários exemplos de microquimerismo materno foram detetados, a citar, casos de queratinócitos maternos em crianças com patologia inflamatória da pele, sugerindo origem ectodérmica. Para além disso, células endodérmicas maternas, tais como células beta das ilhotas pancreáticas produtoras de insulina, foram identificadas em tecidos pancreáticos de jovens com diabetes tipo I. Foram também detetados cardiomiócitos com elevada expressão de α actina do sarcómero, em tecidos de fetos e crianças do sexo feminino e masculino, com lúpus eritematoso neonatal, sugerindo a sua participação na reparação tecidual (12). A trissomia 21 é reportada como sendo a patologia com maior número de células maternas microquiméricas (3).

4.2 Métodos de Identificação / Detecção

Para a identificação do microquimerismo, utiliza-se a FISH e a PCR. A FISH identifica cromossomas X e Y e a PCR ADN masculino, através da amplificação de uma sequência específica do cromossoma Y (14, 15). A FISH deteta CFM nos tecidos alvo, no contexto da sua morfologia e da sua localização. A FISH para XY é baseada nos cromossomas sexuais em que as CFM masculinas são identificadas num fundo genético feminino (8).

O grupo *Deforce* (8) aplicou a FISH-XY para contabilizar o número de CFM Y+ em mulheres com doenças auto-imunes. Identificaram 8–29 células fetais / 10⁶ células maternas em mulheres com doenças auto-imunes, 0–2 células fetais / 10⁶ células maternas em gestantes saudáveis, previamente à gravidez e no pós-parto.

A realização da técnica FISH com sondas específicas para o cromossoma Y (DYS14, SRY) direcionados pelos *primers* identifica células masculinas nos tecidos (ou no sangue) de mulheres com uma gestação masculina prévia. Conseguem identificar uma célula XY entre 1 000 000 células XX (1, 8).

A metodologia baseada na PCR, permite duas técnicas, a clássica e a reação da cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qPCR). A sensibilidade da PCR melhora progressivamente quando após a primeira análise, se segue uma segunda análise PCR às sequências de *primers* da sequência previamente amplificada (54). A qPCR, mais específica e mais rápida, tem sido utilizada para detetar e quantificar CFM específicas em mulheres com polimorfismos do HLA, já que identifica e quantifica as células fetais das gestações anteriores, concretamente de descendência masculina (1).

A técnica por PCR tem vindo a ser aprimorada, nomeadamente com modificação da sonda e *primers* usados na amplificação dos fragmentos das sequências selecionadas dos tecidos alvo que contêm CFM. Isso é particularmente útil já que podem ser multiplicadas e amplificadas, permitindo uma melhoria na sensibilidade e especificidade da técnica. Outro exemplo é a inclusão de um ou mais ácidos nucleicos bloqueados (ANB) modificados nas sequências iniciadoras que permitem a ligação de alta afinidade da sonda à sequência complementar. A pré-amplificação de ácido nucleico e análise de uma célula única, permitem multiplicar a quantidade de material de partida antes da análise qPCR, permitindo a amplificação do genoma inteiro. Como uma célula contém várias cópias de mRNA transcritos, produzidos a partir de qualquer sequência genética codificada no ADN, os ARN lisados representam uma fonte naturalmente enriquecida para a deteção de microquimerismo (8).

A PCR digital representa a última geração na tecnologia PCR, em que cada amostra é diluída em diferentes segmentos (por separação em câmaras de reação) e o número de segmentos nas quais ocorre a reação são contabilizados. Possui maior precisão e reprodutibilidade (8).

Deve considerar-se que as CFM masculinas presentes numa mulher podem derivar de espermatozoides do parceiro, de um irmão mais velho ou de um gêmeo que não nasceu, indicando que a demonstração definitiva dessas células apenas pode ser alcançada pela análise da herança paterna através dos polimorfismos de ADN (13).

4.3 Microquimerismo Fetal e Tolerância Imunológica Materna durante a Gravidez

As CFM são detetáveis na circulação materna após quatro a seis semanas de gestação. Desde muito cedo é estabelecida a tolerância imunológica transitória e seletiva para os antígenos paternos (14), sendo um pré-requisito para que a troca materno-fetal ocorra e seja bem-sucedida, permitindo a sobrevivência celular (3). Estas modificações ocorrem através de mecanismos placentários locais e de mecanismos imunes sistêmicos, influenciados por alterações hormonais (16).

É certo que com a evolução da gravidez, o embrião fica isolado num ambiente semi-permeável que permite uma interação muito própria e próxima com a mãe. A interface materno-fetal é crucial na evolução favorável da gestação (3). O feto, como semi-enxerto, contém antígenos de origem paterna e materna. Assim, é interessante verificar como é que o feto e o sistema placentário evitam a agressão imunológica por parte da mãe, sem rejeição do feto (16, 17).

Foram propostos vários mecanismos para explicar a tolerância imunológica que ocorre entre o feto e a mãe, durante a gestação: primeiro, pela separação anatômica decorrente entre o feto e a mãe; segundo, pela imaturidade antigénica do feto e, por último, a inexistência de resposta imunológica por parte da mãe. Provavelmente, estão os três processos envolvidos e são essenciais para o normal desenvolvimento da gravidez (18).

Na circulação materna são libertadas grandes quantidades de sinciotrofoblasto apoptótico. Células dendríticas imaturas maternas processam e apresentam antígenos HLA-DR fetais que contêm detritos apoptóticos sob condições não inflamatórias. Essa forma de ativação das células T pelas células dendríticas imaturas maternas origina células T reguladoras que são antígenos fetais específicos. Foram propostos dois mecanismos que explicam o porquê dessas células não desencadearem uma reação de enxerto contra hospedeiro: primeiro, as células T do microquimerismo fetal podem amadurecer no timo, onde as células T específicas maternas podem ser eliminadas. Segundo, durante a gravidez, são libertados antígenos maternos para o feto que podem induzir diferenciação de células fetais em células T reguladoras específicas (CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺) e estas podem posteriormente migrar para a circulação materna e terem ação no seu sistema imunitário (1).

Para uma gravidez bem-sucedida, tanto para o feto como para a mãe, o sistema imunológico materno não deve reagir exageradamente ao feto, que transporta antígenos paternos. Assim, o efeito da imunomodulação afeta a diferenciação das células T auxiliares (Th)

maternas. Afetam a placenta, promovendo a supressão das respostas associadas à imunidade Th1 (imunidade celular) e um aumento relativo da imunidade Th2 (resposta imune alérgica e humoral). Estudos revelaram que uma falha na supressão da atividade das células Th1 está correlacionada com aborto (19). Conseqüentemente, a supressão imunológica placentária necessária para manter a gravidez ajuda à persistência das CFM. Por conseguinte, e uma vez que as células fetais migram para a circulação materna, fixando-se nos seus tecidos e órgãos, podem permanecer por vários meses até anos, após o parto, sem que sejam identificadas como estranhas pelo sistema imunológico materno (20, 21).

A compatibilidade HLA entre a mãe e o feto é maior nos casos em que foram detetadas CFM comparativamente aquelas onde não se verificou o mesmo. Aliás, o genótipo HLA de classe II do feto (DQA1*0501) associa-se fortemente à persistência do microquimerismo fetal (1). A expressão de moléculas de HLA-G, HLA-E e HLA-C nas células do trofoblasto, o controlo da atividade citolítica NK através de recetores inibitórios, a expressão de proteínas reguladoras do complemento, a regulação do recrutamento de leucócitos, a proliferação celular na interface materno-fetal e a supressão de linfócitos Th1 na decídua parecem ser constituintes essenciais que possibilitam a tolerância imunológica entre o feto e a mãe no decorrer da gestação (1, 16).

As moléculas HLA-G são antigénios HLA classe I não clássicos expressos por trofoblastos vilosos e estão envolvidos na reprogramação da resposta do sistema imunológico materno local, dado que inibem a ativação das células T e NK. Essa modulação imunológica associada à supressão das células NK e ativação das células T CD8 + por moléculas HLA-G expressa por trofoblastos fetais (22), a lise de linfócitos maternos ativados pelo recetor FAS, que é expresso pelos trofoblastos fetais, ao recetor indutor de apoptose relacionado ao TNF, PD-L1, indolamina 2,3 dioxigenase, à expressão do complemento CRRY - proteína reguladora nas estruturas placentárias e às células T reguladoras CD4 + CD25 + maternas, impedem a reatividade das células T maternas. Assim, durante a gravidez, as doenças auto-imunes têm uma melhoria do quadro clínico, resultante dessa função reguladora das células T (34), nomeadamente as Doenças Auto-imunes da Tiróide (DAIT) que sofrem atenuação durante a gravidez e exacerbação após o parto (3).

Foram propostos 3 mecanismos para as interações celulares que advêm desta tolerância (23): o primeiro, o comprometimento da resposta imune das células T por regulação negativa da sinalização intracelular através da cadeia CD3-z da molécula acessória CD3 e a enzima JAK3 nos exossomas da placenta; o segundo, através da regulação negativa do recetor NKG2D nas células NK, células T CD8 e células T $\gamma\delta$ pelos exossomas placentários com conseqüente comprometimento da citotoxicidade materna e proteção do aloenxerto fetal contra o ataque imunológico citotóxico materno. Por último, uma forma funcional

ativa das moléculas indutoras da apoptose FasL, TRAIL e PD-L1 presentes nos exossomas placentários que são capazes de induzir apoptose nas células imunes ativas. Essas funções permitem que os exossomas placentários sejam importantes no estabelecimento da tolerância materna ao feto (24).

Estudos sugerem um perfil genético de alto secretor HLA-G, que permite um controle mais objetivo da resposta do sistema imunológico materno, favorecendo a passagem de células fetais para a mãe durante a gravidez, e conseqüentemente uma maior prevalência do microquimerismo fetal. Este perfil tem sido observado na Doença de Graves (DG), Tireoidite de Hashimoto (TH) e em mulheres saudáveis (25).

A interação entre as células da mãe e do feto pode resultar em células imunes maternas que se tornam sensibilizadas aos antígenos paternos herdados pelo feto. Assim, ocorre formação de aloanticorpos HLA para antígenos fetais paternos numa proporção significativa de mulheres grávidas (26). Esses anticorpos geralmente são direcionados contra HLA-A, -B e -DR, que não são expressos nas células trofoblásticas, e são responsáveis pela rejeição do feto (8).

A função tiroideia sofre também alterações durante a gravidez, estando envolvidos vários mecanismos, entre os quais a produção de gonadotrofina coriônica humana pela placenta. Devido à alteração das concentrações das hormonas tiroideias, estão definidos inclusive intervalos de referência para cada trimestre gestacional (16).

No período pós-parto, as alterações imunológicas não são imediatamente revertidas, mas gradualmente retornam ao seu estado basal nos 12 meses seguintes (3, 16).

4.4 Microquimerismo Fetal e Capacidade de Reparação Tecidual

O microquimerismo fetal tem como efeito benéfico a reparação tecidual. O transplante de medula óssea contendo CFM, permitiu concluir que dá ao recetor melhor vigilância, reconhecimento e citotoxicidade contra células tumorais, comparativamente às células imunes maternas. Concomitantemente, os telômeros das CFM são mais longos, expressam pluripotência através de marcadores como o Nanog e o Oct4, e, associado ao potencial osteogénico, têm ainda a capacidade de se diferenciar em linhagens convencionais (11).

Foram também observadas menos recidivas quanto à incompatibilidade de antígenos entre o recetor de leucemia e as células estaminais hematopoiéticas do dador. Através do transplante de medula óssea entre membros da mesma família, foram propostos três mecanismos para o efeito *graft-versus-tumor* das CFM: primeiro, as CFM T reconhecem os antígenos do cancro e atacam essas células diretamente; segundo, uma vez que as células apresentadoras de antígenos maternos são ineficazes em apresentar auto-antígenos maternos, as células apresentadoras de antígenos fetais podem apresentá-los e ativar o sistema imunológico materno em resposta a essas células cancerígenas. Por último, as células NK, desinibidas por antígenos incompatíveis com as células cancerígenas, adquirem uma atividade citolítica (11).

Outra evidência de um potencial papel regenerativo pós-parto para as CFM foi sugerida através do relato de uma mulher grávida diagnosticada com hepatite C. Após o seu tratamento, as biópsias hepáticas evidenciaram a presença de células masculinas totalmente diferenciadas em hepatócitos. Pela análise PCR dos marcadores genéticos, revelaram que a fonte do ADN masculino provavelmente seria de um feto masculino de uma interrupção da gravidez prévia. Esses dados sugerem que as CFM sobreviveram mais de 19 anos nesse tecido e que mantiveram as suas propriedades celulares, já que perante as lesões no fígado, foram capazes de se diferenciar e participar na regeneração do órgão (4, 12).

Foram reportadas CFM com cromossomas Y na tiróide de mulheres com patologia da tiróide, previamente grávidas. Os folículos tiroideus tinham na sua constituição CFM derivadas não só do local que lhe deu origem, como também de células e tecidos diferenciados de acordo com o órgão alvo em questão. Infere-se que as CFM têm origem em linhagens diferentes, permitindo perceber a sua capacidade multipotente. Estas células expressam vários marcadores, como CD4 (células T) e CD11c (células dendríticas), que foram associadas à reparação tecidual materna e que se encontravam na sua circulação (7, 12).

Através da imunofenotipagem, observou-se que as células fetais podem migrar da medula óssea através da circulação para atingir tecidos danificados e diferenciar-se em células que são capazes de reparar esses tecidos, dado o seu potencial equiparável a células estaminais (27). O regresso seletivo das células fetais para o local da lesão do órgão e não para os tecidos saudáveis sugere que as CFM detetam sinais específicos, permitindo-lhes atingir os tecidos doentes (25). No mesmo estudo, as células CFM masculinas foram identificadas dentro de vasos sanguíneos e foram encontrados posteriormente interpostas entre as células foliculares maternas na tiróide. Foram também observadas CFM no cancro da tiróide, no bócio nodular e em tiróides normais de mulheres saudáveis, evidenciando o seu papel protetor / reparador, assegurando desta forma a sua plasticidade (1, 25).

Estudos também revelaram que o colagénio tipo I expresso pelas CFM foi recrutado aquando de lesões renais, demonstrando uma morfologia semelhante ao parênquima renal, sugerindo uma participação no reparo desse órgão (12).

Recetores VEGF2 presentes nas CFM foram seletivamente encontrados em ouvidos com inflamação aguda derivada de uma dermatite de contacto, que revelaram também leucócitos e células CD31+. Apenas estas últimas foram responsáveis pela neoangiogénese associada à vasculatura materna. Da mesma forma, o fator de von Willebrand (vWF) expresso nessas CFM foi identificado em feridas crónicas da pele, sendo capazes de produzir novos vasos sanguíneos, através de anastomoses com os capilares maternos, sugerindo que, para além da sua capacidade de migração para os tecidos alvo, apresentam a capacidade de neoangiogénese, requisitos necessários para uma reparação eficaz das feridas (12).

4.5 Influência do Microquimerismo Fetal na Saúde da Mulher

4.5.1 Prognóstico Obstétrico

É crucial perceber se o microquimerismo tem impacto nos resultados obstétricos, do ponto de vista imunológico e evolutivo (28). Níveis aumentados de microquimerismo fetal foram associados a complicações no decorrer da gravidez, como pré-eclâmpsia, aborto espontâneo e parto prematuro (5, 29).

Quanto às mulheres grávidas com pré-eclâmpsia, a concentração de CFM no sangue materno foi cinco vezes superior comparativamente ao grupo de controlo de mulheres grávidas sem pré-eclâmpsia. Essas alterações quantitativas foram detetadas antes das manifestações clínicas de pré-eclâmpsia e após o término da gestação. Isto reforça a elevada transferência de material genético entre a mãe e o feto. Os antecedentes obstétricos parecem ter um grande impacto no desfecho obstétrico e neo-natal (14).

Enquanto a maioria das alterações induzidas pela gravidez no sistema materno são revertidas após o parto, algumas podem persistir, originando doenças cardiovasculares, metabólicas e auto-imunes e aumento do risco de mortalidade (30). A literatura refere que estas alterações nas células poderão ter outro papel, mais benéfico, dependendo do fenótipo celular, do microambiente envolvente e da compatibilidade com o complexo de histocompatibilidade (11).

4.5.2 Doenças Auto-imunes

As doenças auto-imunes são a terceira categoria das doenças crónicas mais prevalente na humanidade, afetando 5-8% da população mundial. Têm uma incidência elevada, ainda inexplicável, e o potencial de afetar virtualmente todos os tecidos do corpo. Atualmente, estão identificadas mais de 80 doenças auto-imunes. As mais prevalentes são as DAIT e a artrite reumatóide (AR), que em conjunto representam 65% do total da incidência de todas as doenças auto-imunes (28).

As doenças auto-imunes têm maior incidência nas mulheres, comparativamente aos homens, numa proporção de 10:1 (4, 29). É na idade fértil que ocorre o pico da sua incidência e é comum associarem-se as patologias auto-imunes à gravidez e ao período pós-parto (3, 4, 25).

A associação entre CFM e doenças auto-imunes baseadas na resposta do enxerto contra o hospedeiro foi sugerida pela primeira vez em 1996. Evidenciaram-se CFM em lesões de

esclerose sistêmica (ES), AR, lúpus eritematoso sistêmico, dermatomiosite, tireoidite auto-imune e síndrome de Sjogren (2, 4).

Nos tecidos maternos, as CFM T CD4 imaturas, têm capacidade de auto-renovação, proliferação, diferenciação e ativação. A ativação dessas células resulta na produção de citocinas inflamatórias parácrinas e autócrinas, assim como quimiocinas, que estão envolvidas nas doenças auto-ímmunes (31).

As DAIT evidenciam um predomínio feminino, com um aumento da incidência nos anos seguintes ao pós-parto (29). Os antígenos auto-ímmunes envolvidos na DAIT são os antígenos primários da tireóide, como o receptor de tirotropina (TSHR), a tiroglobulina (Tg) e a tiroperoxidase (TPO) (20).

As DAIT mais prevalentes são a DG e a TH. A literatura associa o microquimerismo fetal à sua patogênese, uma vez que foram identificadas CFM na tireóide materna, que poderiam ter sido ativadas no pós-parto pela perda da imunossupressão materna (1, 10). Verificou-se que estavam em maior quantidade em doentes com DAIT em comparação com os controles de mulheres saudáveis ou com patologia benigna da tireóide (2, 3, 10, 32).

Os alelos marcadores de suscetibilidade imunogenética HLA DQA1*0501-DQB1*0201 e DQB1*0301, mais frequentemente observados em doentes com autoimunidade tireoideia, são também mais comumente detectados em mulheres com gravidez prévia (29).

Quando a imunossupressão parcial é ultrapassada e desativada a tolerância imunológica protetora da gravidez, a reação auto-ímmune pode ser desencadeada pelas discrepâncias de compatibilidade do HLA. Pode iniciar uma reação *graft vs. host* ou *host vs. graft*. A ativação das células CFM T e B imaturas, monócitos, macrófagos e células NK, assim como a produção de citocinas e quimiocinas inflamatórias são os veículos iniciadores dessas reações, juntamente com *triggers* reconhecidos como estranhos. Desempenham, assim, um papel primordial na patogênese das DAIT. Foi postulado que as células apresentadoras de antígenos fetais pudessem apresentar antígenos maternos às células ímmunes maternas, resultando numa reação imunológica da mãe contra as suas próprias células. Alternativamente, foi proposto que as células fetais eram reconhecidas como parcialmente aloímmunes, já que têm genes paternos e maternos na sua constituição. Assim, ativavam uma reação auto-ímmune das células maternas às células fetais aloímmunes, também pela perda do mimetismo entre os antígenos fetais e maternos (29, 32, 33).

Em mulheres com TH foram identificadas principalmente CFM T CD8 citotóxicas, que causam a morte celular. Em mulheres com DG, as células predominantemente encontradas eram células B, que poderiam ter ativado as células fetais T CD4, também reconhecidas no sangue destas doentes. Presume-se que estas células T reativas ativem a tirotrófina e

originem a secreção de anticorpos estimuladores dos recetores da tirotrófina, originando hipertiroidismo (20, 29, 32).

As funções das células T e das células B como estão silenciadas e parcialmente inativas, no período pós-parto aquando da recuperação da imunossupressão, podem contribuir para o desenvolvimento de tiroidite. Níveis aumentados de auto-anticorpos da tiróide, razão invertida de células T CD4/ CD8, e uma mudança nos perfis de citocinas, são fatores que favorecem a resposta imune das células Th1, no pós-parto. Até 60% das mulheres em idade fértil desenvolviam DG até um ano após o parto. Além disso, a tiroidite pós-parto foi constatada em aproximadamente 8–10% de todas as mulheres, aumentando para 0,40% em mulheres com auto-anticorpos TPO (20).

Nas mulheres com DG, AR e ES diagnosticadas previamente à gravidez, sabe-se que há uma diminuição da sua gravidade no decorrer da gestação, mais concretamente no terceiro trimestre, quando os níveis de progesterona e estrogénio estão no seu máximo (14, 20). Isto porque sabe-se que a gravidez melhora a resposta Th2, que pode suprimir AR e a DG dado que as células associadas são principalmente Th1 (4, 35). Existe um “silenciamento da doença”, em que se verificou que 43 a 75% das mulheres com AR tinham uma melhoria do quadro clínico e da sintomatologia associada. Posteriormente, após o parto, foi demonstrada uma exacerbação da sintomatologia nestas doenças (2, 4).

4.5.3 Doenças Oncológicas

O estudo do microquimerismo fetal associado às doenças oncológicas depende de muitos fatores, dado que a biologia dos cancros varia ao longo do tempo. Consoante o estadiamento e subtipo, a perceção da invasão tecidos adjacentes e o tratamento administrado são também fundamentais para que esse estudo seja completo. Importa também realçar que a quimioterapia, sendo citotóxica, tem efeitos nas populações celulares, mesmo num certo intervalo de tempo após o tratamento (36).

Numa coorte de mulheres com diferentes tipos de neoplasias malignas, hematológicas e sólidas (mama, pulmão, cólon e ovário), detetaram CFM numa frequência inferior à registada nas mulheres saudáveis. Estes resultados são consistentes com a ideia do seu papel protetor (13).

No que diz respeito à metastização, é possível que as CFM estejam presentes apenas transitoriamente na circulação materna e migrem para os locais metastáticos. Atualmente, a relação entre tumores metastáticos e células fetais, assim como o seu impacto na circulação materna, permanece incerto (36).

4.5.3.1 Cancro da Mama

O cancro da mama é mais prevalente na mulher na pós-menopausa, mas constitui a neoplasia maligna mais comum na idade fértil, correspondendo a 40% de todos os cancros em mulheres com idade inferior a 40 anos (37).

Atualmente, a tendência é adiar a maternidade para idades mais avançadas e com isso muitas mulheres são diagnosticadas com cancro da mama antes de engravidarem, sendo o mais comum a intenção de engravidar após a doença (37).

A diversidade genética e molecular da apresentação do cancro da mama aliada à expressão dos recetores hormonais correspondentes e ao subtipo biológico do tumor, são fatores a ter em atenção. Para além disso, o tamanho do tumor, a invasão ganglionar, a expressão dos recetores hormonais de estrogénio e progesterona, assim como o grau histológico e a sobreexpressão do recetor 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) devem ser alvo de estudo. Só assim é possível averiguar o prognóstico e a terapêutica que melhor se adequa a situação (37).

Importa referir também que a gravidez induz a diferenciação da glândula mamária e, por isso, torna-se menos vulnerável à carcinogénese, promovendo uma melhor reparação do ADN das células mamárias. A literatura refere, também, que a gravidez ativa genes que controlam a diferenciação e morte celular programada, induzindo fenómenos de *imprinting* no epitélio mamário, como uma ‘marca’ genómica específica e permanente, potencialmente protetora a longo termo (37).

Foram propostas 3 teorias, com necessidade de mais estudos, para explicar o que ocorre durante a gravidez de mulheres previamente diagnosticadas com cancro de mama. A teoria imunológica baseia-se no facto das células fetais partilharem antígenos da neoplasia da mama, sendo possível a ocorrência de uma aloimunização protetora durante a gravidez. Outra teoria seria a do antígeno fetal, através da qual os antígenos fetais conferiam imunidade aos antígenos tumorais. As mulheres múltiplas parecem apresentar imunização aos antígenos encontrados nas células cancerígenas dos tumores da mama. A passagem de células fetais para a circulação materna, promove a resposta imunitária materna contra estas células e poderia atuar numa célula tumoral silenciosa. De acordo com esta hipótese, a gravidez após o cancro da mama desencadearia uma memória imunitária contra os antígenos fetais, mantendo eventuais metástases subclínicas controladas através da resposta imunitária humoral e específica. Os referidos antígenos levariam à ativação do sistema imunitário materno, eliminando potenciais células metastáticas quiescentes, de

forma a promover uma diminuição do risco de recorrência e aumento da taxa de sobrevivência global. Por último, a teoria endócrina postula que os elevados níveis de estrogénios, progesterona e gonadotrofina coriônica humana característicos da gravidez promoveriam a apoptose de células mamárias tumorais com positividade para recetores de estrogénio e progesterona. O microquimerismo fetal atuaria como um indutor para as mulheres previamente expostas a antigénios associados a esta neoplasia (38, 37).

O efeito protetor do microquimerismo fetal na supressão da oncogénese em mulheres com gravidez prévia é melhor documentado no cancro da mama. Num estudo piloto de 82 mulheres, foram detetados baixos níveis de CFM nas mulheres que tinham tido cancro de mama após a gravidez, comparativamente às mulheres saudáveis (6). Outro estudo, de caso-controlo de follow-up de 99 mulheres, confirmou o anterior, no sentido de que a frequência das CFM era menor nas mulheres com cancro de mama, em relação às mulheres saudáveis. Sugeriu-se que as CFM alogénicas providenciavam imunovigilância anti-tumoral em mulheres com gravidez prévia (39).

Os estudos efetuados acerca do cancro da mama e o microquimerismo fetal são coerentes no que concerne às amostras de sangue periférico e aos tecidos cancerígenos. Assim, demonstrou-se um número elevado de CFM nos grupos de controlo de mulheres saudáveis, contrariamente às que lhe foi diagnosticado cancro da mama, consistente com a presença de CFM alogénicas, e, por isso, uma vantagem protetora no que concerne ao cancro da mama. Para além disso, mulheres sem CFM identificadas e nulíparas, tinham uma incidência maior de cancro da mama (4, 36) e padeciam de carcinomas mais severos (13, 41, 42).

Um outro estudo de caso de mulheres com gravidez prévia, parte diagnosticadas com cancro de mama e as restantes saudáveis, demonstrou que a presença de CFM masculinas nos tecidos mamários das mulheres com cancro de mama era significativamente menor do que as mulheres saudáveis do grupo de controlo. Concluiu-se também que o risco de desenvolver cancro de mama foi reduzido a um terço (1, 43, 44).

Realizou-se um estudo para testar se a presença de microquimerismo masculino estaria associada a um risco reduzido de desenvolver cancro de mama. Para isso, realizaram um estudo coorte prospetivo em mulheres com idades compreendidas entre os 50 e os 64 anos, que previamente estavam numa base de dados, onde tinham sido recolhidas análises sanguíneas e feitos questionários acerca do seu estilo de vida e antecedentes. Aquando do estudo, parte da amostra estava a ser seguida por diagnóstico de cancro de mama. Concluiu-se que as CFM masculinas estavam presentes em 70% das 272 mulheres sem cancro e em 40% das 89 mulheres que desenvolveram cancro posteriormente. Ficou provada a forte

associação entre a presença de CFM masculinas e um risco reduzido de desenvolverem cancro de mama. No entanto, não encontraram uma associação óbvia entre o número de filhos nascidos e microquimerismo (45).

O estudo de caso-controlo de Gadi (36) comparou o tecido mamário de mulheres com e sem cancro de mama, com um histórico prévio de gestação do sexo masculino. Os casos incluíram mulheres submetidas a mastectomia ou cirurgia conservadora da mama diagnosticadas com carcinoma ductal invasivo ou carcinoma lobular invasivo sem quimioterapia prévia ou outro tratamento hormonal. O estudo concluiu que o tecido de mama saudável continha mais CFM do que tecido mamário das mulheres com cancro.

As CFM foram avaliadas no sangue periférico e no tecido mamário, através da técnica PCR por amplificação do gene SRY. Verificou-se um aumento de CFM em mulheres saudáveis comparativamente às mulheres que foram diagnosticadas com cancro de mama. Conclui-se assim que o microquimerismo fetal tem um papel protetor contra o cancro de mama. Para além disso, concluíram que quanto maior o número de gestações, menor era o risco de incidência de cancro de mama (46-48).

Compararam o tecido mamário minimamente envolvido (<10% de envolvimento) de mulheres com neoplasia invasiva da mama e tecido mamário normal de mamoplastias. Apesar da história reprodutiva não ter sido apurada, os autores concluíram que os tecidos mamários das mulheres sem diagnóstico de cancro frequentemente contêm mais CFM do que os tecidos adjacentes a neoplasia invasiva (63% vs. 26%) (46, 48, 49).

A literatura suporta a ideia protetora de desenvolver carcinoma da mama in situ quando há registo de gravidez prévia. Quando as CFM estão presentes na circulação materna, é facto de que estas protegem contra o cancro de mama, assim como quando presentes nos tecidos mamários. Aliás, quando as mulheres apresentam baixos níveis de microquimerismo fetal, o risco futuro de desenvolverem cancro da mama aumenta significativamente. De acordo com este estudo, foi reportado que as mulheres com carcinoma da mama in situ têm um défice maior de CFM comparativamente às mulheres com carcinoma invasivo. A ausência da deteção de microquimerismo fetal, no entanto, não é uma causa direta na patogénese do carcinoma da mama (50).

4.5.2.2 Cancro do Colo do Útero

As primeiras evidências de microquimerismo fetal na patologia oncológica foram obtidas pelo estudo do cancro do colo do útero. A multiparidade está associada a um aumento da mortalidade por cancro do colo do útero (30).

A presença de CFM masculinas nos tecidos cancerígenos, mas não presentes nos tecidos das mulheres saudáveis, colocou a hipótese de serem responsáveis pela patogénese ou que estivessem envolvidas na sua progressão. Adicionalmente, estudos a partir da FISH evidenciaram uma proporção de células fetais que expressavam antígenos marcados com CD45 (comum nos leucócitos) ou ainda marcadores epiteliais de citoqueratina. Assim, colocou-se a hipótese de que os precursores das células fetais em circulação teriam a capacidade de migrar para a camada escamosa das células cervicais, e por isso, estariam envolvidas na carcinogénese e no reparo de tecidos lesados. Mesmo assim, não se excluiu a hipótese do seu papel na carcinogénese, seja pela indução de alterações no sistema imunitário da mulher, seja pela maior suscetibilidade a infeções pelo vírus do papiloma humano, criando um ambiente propício ao crescimento tumoral (10, 13).

Um estudo que associava o microquimerismo fetal e o carcinoma do colo do útero, foi realizado, usando a técnica FISH, com sondas específicas para o cromossoma Y. Oito mulheres com cancro do colo do útero e quatro controlos saudáveis foram estudados. Todas as biópsias com amostras maiores que 1,5 cm² continham CFM, sugerindo o seu papel na patogénese do carcinoma. No entanto, o vírus papiloma humano, não foi detetado nas amostras, e como é o fator primordial da génese deste carcinoma, algumas dúvidas permanecem por esclarecer (36).

Foram colocadas 3 hipóteses distintas para comprovar a presença de CFM no cancro do colo do útero: transferência de células fetais durante a gestação, a persistência dos espermatozoides ou leucócitos do esperma após relação sexual e ainda a transferência horizontal de ADN após fagocitose das células masculinas. Assim, num estudo em que participaram mulheres sujeitas a histerectomia radical após diagnóstico de carcinoma do colo do útero, com histórico obstétrico de pelo menos um filho do sexo masculino e mais nenhum registo de fontes extra de microquimerismo, foram realizados testes de citogenética molecular. Deste, concluiu-se que o microquimerismo pode estar associado à patogénese ou progressão do carcinoma do colo do útero, já que foi detetado DNA masculino nas mulheres que padeciam dessa patologia, mas no grupo controlo isso não se verificou. A persistência de CFM no colo do útero pode ter um papel na carcinogénese, induzindo alterações no sistema imunitário das mulheres ou permitirem o término da supressão imunológica existente previamente. Ficou também provado que as CFM

poderiam desencadear um ambiente mais propício à infecção pelo vírus papiloma humano (51).

5. Conclusões

Efetivou-se o interesse desafiador e promissor acerca do microquimerismo fetal na saúde da mulher. O potencial de reparação tecidual associado ao microambiente onde as CFM se diferenciam foi descrito em várias situações clínicas.

Relativamente às doenças auto-imunes, retém-se que o microquimerismo fetal tem interferência na sua patogênese, particularmente nas da tiróide, especialmente no pós-parto. A AR, a ES, a TH e a DG são exemplos. Mesmo que no decorrer da gravidez, a sintomatologia apresente melhorias, no período pós-parto, a tolerância imunológica que se perde e posterior reação imunológica, estarão no cerne da sua patogênese e agravamento das doenças previamente diagnosticadas.

No que toca as doenças oncológicas, verificou-se o seu papel protetor no que toca ao cancro da mama, em concreto em mulheres múltiparas. Contrariamente, está associado à carcinogênese do cancro do colo do útero.

É, assim, conveniente que mais estudos sejam realizados e perceber quais as limitações, providenciando maior confiança acerca dos dados até agora obtidos e esclarecer alguns dados contraditórios. A estratificação do estudo deve ser mais pormenorizada, melhorando a especificidade e a sensibilidade. As técnicas de deteção utilizadas devem ser mais sensíveis e aperfeiçoadas. Ademais, seria importante aumentar a amostra da população em estudo permitindo que seja mais abrangente e diversificada.

Para além disso, também seria prudente identificar qual o melhor intervalo de tempo para realizar os estudos, reconhecer quando ocorre o pico de transferência de células fetais, para além de análise prévia à gravidez, no seu decorrer e no pós-parto e perceber a progressão ou não das neoplasias que foram associadas, assim como o seu potencial terapêutico.

Uma das limitações encontradas também é a falta de dados sobre o fenótipo das células fetais, sabendo-se apenas que derivam de células estaminais e que se podem diferenciar em diversos tecidos. Neste sentido, avaliar também as falhas nas técnicas utilizadas, mais concretamente durante a PCR.

Ao longo desta monografia, abordaram-se efeitos nocivos, regenerativos e até silenciosos para a mulher. Mais estudos devem ser colocados em prática, para avaliar o potencial da gênese das patologias abordadas e de outras, para perceber a sua aplicabilidade terapêutica. Promover estudos acerca da imunomodulação nos transplantes, selecionando com maior certeza e segurança os possíveis dadores para transplante, com o menor risco de rejeição.

Do que foi descrito, a prioridade deve ser direcionada para a investigação do cancro da mama, sendo que é um dos cancros que apresenta maior incidência atualmente e que mostrou maior evidência quanto às CFM.

Dada a importância do microquimerismo fetal, é necessária uma abordagem multidisciplinar no que concerne à relação feto-materna, à oncobiologia e à imunologia, por forma a otimizar os conhecimentos desta área e perceber o melhor plano de ação futuro.

6. Perspetivas Futuras

Há evidência suficiente que a saúde da espécie humana é muito influenciada pela expressão genética que lhe é alheia. Tal como no caso da microbiota, é previsível que o microquimerismo fetal tenha um papel na génese de mais doenças do que as que têm sido descritas.

O material genético quimérico que a mulher herda das suas gestações não é todo igual, quer na sua quantidade, quer na qualidade. Assim, identificar e classificar os diferentes tipos de microquimerismo fetal, através de marcadores fidedignos, parece ser uma primeira prioridade.

O estudo em cada afeção patológica da percentagem e das características de células quiméricas poderá ajudar a definir estratégias de prevenção para aperfeiçoar os esquemas terapêuticos e a definir o seu prognóstico.

O desenvolvimento de técnicas de diagnóstico do microquimerismo fáceis de executar e a preço acessível será uma valiosa contribuição para a sua utilização clínica.

7. Referências Bibliográficas

1. Boyon C, Collinet P, Boulanger L, Rubod C, Lucot JP, Vinatier D. Fetal microchimerism: benevolence or malevolence for the mother? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;158(2):148-52.
2. Boddy AM, Fortunato A, Wilson Sayres M, Aktipis A. Fetal microchimerism and maternal health: a review and evolutionary analysis of cooperation and conflict beyond the womb. *Bioessays.* 2015;37(10):1106-18.
3. Klonisch T, Drouin R. Fetal-maternal exchange of multipotent stem/progenitor cells: microchimerism in diagnosis and disease. *Trends Mol Med.* 2009;15(11):510-8.
4. Groer MW, Manion M, Szekeres C, El-Badri NS. Fetal microchimerism and women's health: a new paradigm. *Biol Res Nurs.* 2011;13(4):346-50.
5. Jeanty C, Derderian SC, Mackenzie TC. Maternal-fetal cellular trafficking: clinical implications and consequences. *Curr Opin Pediatr.* 2014;26(3):377-82.
6. Gadi VK. Fetal microchimerism and cancer. *Cancer Lett.* 2009;276(1):8-13.
7. Lissauer D, Piper KP, Moss PA, Kilby MD. Persistence of fetal cells in the mother: friend or foe? *Bjog.* 2007;114(11):1321-5.
8. Eikmans M, van Halteren AG, van Besien K, van Rood JJ, Drabbels JJ, Claas FH. Naturally acquired microchimerism: implications for transplantation outcome and novel methodologies for detection. *Chimerism.* 2014;5(2):24-39.
9. Shrivastava S, Naik R, Suryawanshi H, Gupta N. Microchimerism: A new concept. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2019;23(2):311.
10. Nelson JL. The otherness of self: microchimerism in health and disease. *Trends Immunol.* 2012;33(8):421-7.
11. Lee ES, Bou-Gharios G, Seppanen E, Khosrotehrani K, Fisk NM. Fetal stem cell microchimerism: natural-born healers or killers? *Mol Hum Reprod.* 2010;16(11):869-78.
12. Seppanen E, Fisk NM, Khosrotehrani K. Pregnancy-acquired fetal progenitor cells. *J Reprod Immunol.* 2013;97(1):27-35.
13. Fugazzola L, Cirello V, Beck-Peccoz P. Fetal cell microchimerism in human cancers. *Cancer Lett.* 2010;287(2):136-41.
14. Lapaire O, Hosli I, Zanetti-Daellenbach R, Huang D, Jaeggi C, Gatfield-Mergenthaler S, et al. Impact of fetal-maternal microchimerism on women's health--a review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2007;20(1):1-5.
15. Leduc M, Aractingi S, Khosrotehrani K. Fetal-cell microchimerism, lymphopoiesis, and autoimmunity. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2009;57(5):325-9.

16. Barreira JF, Neves C, Esteves C, Delgado L, Medina JL, Carvalho D. Immunological changes and thyroid function during pregnancy and postpartum period. 2015;29:56-60.
17. Sarafana S, Coelho R, Neves A, Costa Trindade J. Aspectos da imunologia da gravidez. Acta Med Port. 2007;20(4):-346.
18. Landek-Salgado MA, Gutenberg A, Lupi I, Kimura H, Mariotti S, Rose NR, et al. Pregnancy, postpartum autoimmune thyroiditis, and autoimmune hypophysitis: intimate relationships. Autoimmun Rev. 2010;9(3):153-7.
19. Thellin O, Coumans B, Zorzi W, Igout A, Heinen E. Tolerance to the foeto-placental 'graft': ten ways to support a child for nine months. Curr Opin Immunol. 2000;12(6):731-7.
20. Ando T, Davies TF. Self-recognition and the role of fetal microchimerism. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2004;18(2):197-211.
21. Stagnaro-Green A, Roman SH, Cobin RH, el-Harazy E, Wallenstein S, Davies TF. A prospective study of lymphocyte-initiated immunosuppression in normal pregnancy: evidence of a T-cell etiology for postpartum thyroid dysfunction. J Clin Endocrinol Metab. 1992;74(3):645-53.
22. Housseau F, Rouas-Freiss N, Benifla JL, Marcillac I, Roy M, Troalen F, et al. Reaction of peripheral-blood lymphocytes to the human chorionic gonadotropin beta sub-unit in patients with productive tumors. Int J Cancer. 1995;63(5):633-8.
23. Cismaru CA, Pop L, Berindan-Neagoe I. Incognito: Are Microchimeric Fetal Stem Cells that Cross Placental Barrier Real Emissaries of Peace? Stem Cell Rev Rep. 2018;14(5):632-41.
24. Mincheva-Nilsson L, Baranov V. Placenta-Derived Exosomes and Their Role in the Immune Protection of the Fetus. In: Zheng J. Recent Advances in Research on the Human Placenta [Internet]. InTech; 2012 [cited 2019 Dez 20]; p. 261-78. Available from: <https://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-research-on-the-human-placenta/placental-exosomes-in-human-pregnancy-and-their-role-in-immune-protection-of-the-fetus>
25. Cirello V, Rizzo R, Crippa M, Campi I, Bortolotti D, Bolzani S, et al. Fetal cell microchimerism: a protective role in autoimmune thyroid diseases. Eur J Endocrinol. 2015;173(1):111-8.
26. Honger G, Fornaro I, Granado C, Tiercy JM, Hosli I, Schaub S. Frequency and determinants of pregnancy-induced child-specific sensitization. Am J Transplant. 2013;13(3):746-53.

27. Cirello V, Recalcati MP, Muzza M, Rossi S, Perrino M, Vicentini L, et al. Fetal cell microchimerism in papillary thyroid cancer: a possible role in tumor damage and tissue repair. *Cancer Res.* 2008;68(20):8482-8.
28. Gammill HS, Stephenson MD, Aydelotte TM, Nelson JL. Microchimerism in women with recurrent miscarriage. *Chimerism.* 2014;5(3-4):103-5.
29. Nijagal A, MacKenzie TC. Clinical implications of maternal-fetal cellular trafficking. *Semin Pediatr Surg.* 2013;22(1):62-5.
30. Clifton VL, Stark MJ, Osei-Kumah A, Hodyl NA. Review: The fetoplacental unit, pregnancy pathology and impact on long term maternal health. *Placenta.* 2012;33 Suppl:S37-41.
31. Miech RP. The role of fetal microchimerism in autoimmune disease. *Int J Clin Exp Med.* 2010;3(2):164-8.
32. Lepez T, Vandewoestyne M, Deforce D. Fetal microchimeric cells in autoimmune thyroid diseases: harmful, beneficial or innocent for the thyroid gland? *Chimerism.* 2013;4(4):111-8.
33. Galofré JC. Microchimerism in graves' disease. *J Thyroid Res.* 2012;2012:724382.
34. Gilmore GL, Haq B, Shaddock RK, Jasthy SL, Lister J. Fetal-maternal microchimerism in normal parous females and parous female cancer patients. *Exp Hematol.* 2008;36(9):1073-7.
35. Kivity S, Ehrenfeld M. Can we explain the higher prevalence of autoimmune disease in women? *Expert Rev Clin Immunol.* 2010;6(5):691-4.
36. Kallenbach LR, Johnson KL, Bianchi DW. Fetal cell microchimerism and cancer: a nexus of reproduction, immunology, and tumor biology. *Cancer Res.* 2011;71(1):8-12.
37. Guedes H, Figueiredo Dias M. Gravidez após o Cancro da Mama: Estado da Arte. *Acta Med Port.* 2017;30(11):818-23.
38. Janerich DT. The fetal antigen hypothesis: cancers and beyond. *Med Hypotheses.* 2001;56(1):101-3.
39. Lawrenz B, Banys M, Henes M, Neunhoeffler E, Grischke EM, Fehm T. Pregnancy after breast cancer: case report and review of the literature. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;283(4):837-43.
40. Almeida J, Sousa R, Pereira-da-Silva D. Gravidez após cancro de mama: sonho ou realidade?. *AOGP.* 2013.
41. Gadi VK, Nelson JL. Fetal microchimerism in women with breast cancer. *Cancer Res.* 2007;67(19):9035-8.
42. Gadi VK, Malone KE, Guthrie KA, Porter PL, Nelson JL. Case-control study of fetal microchimerism and breast cancer. *PLoS One.* 2008;3(3):e1706.
43. Sawicki JA. Fetal microchimerism and cancer. *Cancer Res.* 2008;68(23):9567-9.

44. Kamper-Jorgensen M. Microchimerism and survival after breast and colon cancer diagnosis. *Chimerism*. 2012;3(3):72-3.
45. Kamper-Jorgensen M, Biggar RJ, Tjonneland A, Hjalgrim H, Kroman N, Rostgaard K, et al. Opposite effects of microchimerism on breast and colon cancer. *Eur J Cancer*. 2012;48(14):2227-35.
46. Nemescu D, Ursu RG, Nemescu ER, Negura L. Heterogeneous Distribution of Fetal Microchimerism in Local Breast Cancer Environment. *PLoS One*. 2016;11(1):e0147675.
47. Dhimolea E, Denes V, Lakk M, Al-Bazzaz S, Aziz-Zaman S, Pilichowska M, et al. High male chimerism in the female breast shows quantitative links with cancer. *Int J Cancer*. 2013;133(4):835-42.
48. Gadi VK. Fetal microchimerism in breast from women with and without breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;121(1):241-4.
49. Chan WF, Gurnot C, Montine TJ, Sonnen JA, Guthrie KA, Nelson JL. Male microchimerism in the human female brain. *PLoS One*. 2012;7(9):e45592.
50. Eun JK, Guthrie KA, Zirpoli G, Gadi VK. In situ breast cancer and microchimerism. *Sci Rep*. 2013;3:2192.
51. Cha D, Khosrotehrani K, Kim Y, Stroh H, Bianchi DW, Johnson KL. Cervical cancer and microchimerism. *Obstet Gynecol*. 2003;102(4):774-81.
52. O'Donoghue K. Fetal microchimerism and maternal health during and after pregnancy. *Obstet Med*. 2008;1(2):56-64.