

Impactul persistenței celulelor fetale în organismul matern

The impact of fetal cells persistence in maternal organism

D. Nemescu, MD, PhD, M. Onofriescu, MD, PhD

Obstetrics and Gynecology Department,
University of Medicine and Pharmacy „Gr.T.Popa”, Iasi

Correspondence author:
Assoc Prof Dragoș Nemescu
E-mail: dnamescu@yahoo.com

Abstract

Fetal cells usually migrate in the maternal circulation during pregnancy and persist for decades after delivery of the fetus. The mother becomes microchimeric. This transfer starts early during first trimester and is increased by placental abnormalities or a reproductive history like miscarriage or elective termination of pregnancy. During pregnancy, the mother acquires fetal cells with stem-cell-like properties, named pregnancy-associated progenitor cells. These cells disappear quickly from maternal circulation and persist in maternal stem

cell niche like bone marrow. Then, in the case of tissue injury, they are recruited to the site of injury, differentiate, adopt the maternal local tissue phenotype and participate in maternal tissue repair processes. Microchimerism has a protective effect on some hepatic or thyroid diseases and in breast neoplasm. Understanding of this phenomenon could have a major impact on fetal stem cells applications in regenerative treatments, transplant and gene therapy.

Keywords: fetal cells, pregnancy, microchimerism, prenatal diagnosis, stem cells, pregnancy-associated progenitor cells

Rezumat

Celulele fetale migrează în mod fiziologic în circulația maternă în cursul sarcinii și persistă în organismul matern zeci de ani după naștere. Apare astfel microchimerismul fetomaternal. Transferul acestor celule debutează precoce în trimestrul întâi și este crescut de procedurile de avort și de anomaliile placentare. În cursul sarcinii, mama achiziționează celule fetale cu proprietăți stem denumite celule precursor asociate sarcinii. Acestea dispar rapid din circulația maternă și persistă ulterior în anumite nișe, ca de exemplu măduva osoasă. Ulterior, aceste celule fetale sunt recrutate de unele leziuni tisulare materne, unde adoptă fenotipul local prin diferențiere și participă la procesele de reparație tisulară locală. Microchimerismul are un efect „protector” în unele afecțiuni hepatice, tiroidiene și în cancerul mamar. Înțelegerea acestui fenomen poate avea un impact major în utilizarea celulelor stem în tratamente regenerative, transplant sau terapie genică.

Cuvinte-cheie: celule fetale, sarcină, microchimerism, diagnostic prenatal, celule stem, celule progenitoare asociate sarcinii

Prezența celulelor fetale în circulația maternă este cunoscută de mulți ani, sincytiotrofoblastul fiind observat în vasele pulmonare de aproximativ 50 de ani^(1,2). Totuși, studiile din ultimii 10 ani au detaliat acest concept, demonstrând că celulele fetale circulă în sângele majorității gravidelor și că pot persista după naștere mulți ani, chiar decădea, în țesuturi⁽³⁾.

Organismul matern devine astfel o chimeră (gr. chimaira, lt. chimaera), în care se regăsesc două sau mai multe populații de celule genetic diferite, ce provin din zigoti diferiți (celulele diferite ce provin din același zigot formează un mozaicism).

Microchimerismul fetal se referă la persistența unui număr foarte redus de celule străine (alogene, fetale) în cir-

culația și țesuturile femeilor ce sunt sau au fost gravide, fără nici o reacție aparentă grefă contra gazdă sau de reacție a grefei⁽⁴⁾. Spre deosebire de microchimerismul iatrogen, după transplant de celule hematopoietice, de organ sau transfuzii de sânge, cel fetal este fiziologic, traficul celular realizându-se în sarcină, între mamă și făt. Studii cantitative au arătat că există un transfer celular bidirecțional, cel materno-fetal fiind mult mai redus decât cel fetomatern⁽⁵⁾.

În prezent, a devenit evident că microchimerismul fetal este un fenomen larg răspândit, iar celulele fetale sunt transferate în circulația maternă în tot cursul sarcinii și persistă după naștere. Punerea în evidență a acestui fenomen la om a condus la formularea de noi ipoteze și la deschiderea unor noi direcții de cercetare asupra mecanismelor de apariție și a factorilor ce influențează microchimerismul. Rolul biologic al microchimerismului nu este complet înțeles, iar efectele acestuia asupra organismului matern sunt controversate. Elucidarea acestor aspecte va duce la progresul diagnosticului prenatal neinvaziv, al tratamentelor cu celule stem și al transplanturilor.

Traficul celular fetal în sarcină

Se estimează un număr de 1-6 celule fetale pe mililitru de sânge venos matern, în trimestrul doi de sarcină⁽⁶⁾. Materialul genetic fetal poate fi detectat în circulația maternă în tot cursul sarcinii, cu o frecvență variabilă în funcție de vârsta gestațională, începând de la 6 săptămâni gestaționale^(7,8). Ulterior, poate fi evidențiat la toate gravidele la 36 de săptămâni, pentru a scădea rapid după naștere, sugerând un fenomen dinamic⁽⁷⁾. Astfel, celulele fetale dispar din circulația maternă în 30 de zile după avortul spontan și indus⁽⁹⁾ sau după nașterea normală⁽⁷⁾, persistând până la 3 luni în cazul hemoragiei fetomatern⁽¹⁰⁾.

Totuși, 30-50% dintre femeile sănătoase prezintă celule fetale detectabile în circulație, la zeci de ani de la naștere, evidențiate prin tehnici PCR⁽¹¹⁻¹³⁾.

Se constată o corelație surprinzătoare între frecvența detecției în primul trimestru a celulelor fetale în circulația

maternă, la sarcini cu făt de sex masculin (52%) și incidența microchimerismului permanent la femeile ce au născut băieți⁽⁹⁾.

Surprinzătoare este detecția celulelor cu cromozom Y în circulația femeilor ce nu au născut niciodată un băiat. Astfel, în acest grup, Yan și col.⁽¹⁴⁾ au regăsit ADN-ul specific cromozomului Y la 8% din femeile ce au născut numai copii de sex feminin, la 22% dintre femeile ce au avut un avort spontan, la 57% dintre cele ce au avut un avort indus și la 10% dintre cele ce nu au fost niciodată gravide.

Dacă aceste rezultate se confirmă, apar noi întrebări: prin ce mecanism și în ce moment celulele fetale reapar în circulația maternă și realizează un microchimerism permanent? Până în prezent nu avem răspunsuri la aceasta.

Factori ce influențează transferul celulelor fetale în cursul sarcinii

Numărul celulelor fetale din circulația maternă crește de aproximativ 100 de ori după procedurile de terminare a sarcinii, indicând o importantă transfuzie fetomaternă⁽⁶⁾. Aceasta este susținută de creșterea de 2,4 ori a riscului de microchimerism la femeile cu antecedente de avort (spontan sau indus). În plus, cantitatea de ADN fetal circulant este mai mare după avortul chirurgical, comparativ cu alte metode de terminare a sarcinii, în primul trimestru⁽¹⁵⁾. Aceasta este explicată prin distrugerea vilozităților trofoblastice sau creșterea volumului transfuziei fetomaternă în cursul avortului chirurgical.

Numărul sarcinilor nu influențează semnificativ riscul de persistență a celulelor fetale⁽¹⁶⁾. Acest fenomen se datorează probabil fie creșterii transferului fetomatern în cursul procedurilor de avort, fie transferului unor celule fetale în stadii inițiale de dezvoltare, cu o capacitate de fixare crescută.

La animale, transferul celulelor fetale în circulația maternă este influențat de histocompatibilitatea fetomaternă. La om nu a fost observată o asemenea legătură⁽¹²⁾, deși anumite alele materne (HLA-DQ A1) sunt mai des asociate cu acest fenomen^(17,18), dar rezultatele sunt controversate⁽¹⁹⁾. Mai mult, celule fetale alogene, provenite de la sarcini obținute prin donare de ovocit, au fost observate

în circulația maternă până la 9 ani de la naștere⁽²⁰⁾.

Numărul celulelor fetale din circulația maternă este influențat de anomalii fetale și placentare. Astfel, Bianchi și col. au observat o creștere de șase ori a numărului celulelor fetale la cazurile cu trisomie 21. Totuși, o creștere similară nu se observă la sarcinile cu trisomie 18 sau sindrom Klinefelter, ceea ce sugerează mai mult un mecanism placentar decât o legătură directă cu cariotipul⁽²¹⁾. Această ipoteză este susținută și de creșterea de 5 ori a numărului celulelor fetale observată la sarcinile cu preeclampsie⁽²²⁾, probabil prin disfuncție vasculară și afectarea barierei placentare⁽²³⁾. Aceste modificări cantitative ale materialului genetic fetal din circulația maternă au fost detectate înainte de apariția manifestărilor clinice ale preeclampsiei⁽²⁴⁾.

Originea microchimerismului

Deși în circulația maternă au fost identificate numeroase tipuri de celule fetale, cel responsabil de apariția microchimerismului este controversat încă. În prezent, candidate sunt celulele precursora hematopoietice fetale (CD34+) și celulele mezenchimale fetale.

Celulele precursora hematopoietice fetale (CD34+) pot fi evidențiate în circulația maternă la toate sarcinile⁽²⁵⁾. Din acestea, au fost identificate celule stem fetale primitive, cu potențial ridicat de diferențiere (CD34+ aderente)⁽²⁶⁾. Celulele fetale CD34+ au capacitatea de a se multiplica în cultură în cursul sarcinii, dar și la zeci de ani de la naștere⁽²⁵⁾. Astfel, celule fetale CD34+ cu markeri de diferențiere precoce spre limfocite T și B (CD38+) au fost identificate la 75% dintre femeile ce au născut băieți⁽³⁾.

Aceste celule fetale precursora circulează în sângele matern, la zeci de ani după naștere⁽³⁾. Pentru a persista o asemenea perioadă de timp, populația de celule fetale microchimerice trebuie să conțină celule stem capabile de proliferare. Altfel, este dificil de imaginat cum celulele fetale complet diferențiate, ce au o viață scurtă și nu au capacitate de autoregenerare, pot apărea în mod regulat în sângele matern și țesuturi la zeci de ani de la naștere. Prin urmare, se presupune că celulele fetale au proprietăți similare cu cele ale celulelor stem.

Această ipoteză este susținută de

evidențierea în placentă a unui număr de celule stem de 2-4 ori mai mare decât în țesuturile hematopoietice clasice (ficat, vezicula vitelină)⁽²⁷⁾. Mai mult, aceste celule stem placentare au un potențial de proliferare mai mare decât celulele fetale progenitoare hepatice, care au un stadiu de diferențiere mai avansat⁽²⁸⁾.

O altă posibilă origine a celulelor progenitoare asociate sarcinii o constituie celulele stem mezenchimale, descrise inițial în măduva osoasă adultă. Celule fetale de acest tip au fost identificate în cursul primului trimestru de sarcină la făt⁽²⁹⁾, au fost izolate din circulația pacientelor după procedurile de avort⁽³⁰⁾ și au fost observate prin hibridizare fluorescentă in situ (FISH) în măduva osoasă la 13-54 de ani de la naștere⁽³¹⁾.

Detecția celulelor fetale în circulația maternă

Numărul extrem de redus al celulelor fetale din circulația maternă face din identificarea și caracterizarea acestora o adevărată provocare. Cel mai frecvent, identificarea celulelor fetale microchimerice utilizează un marker „surogat”: evidențierea ADN-ului masculin în organismul matern.

Pentru aceasta, poate fi utilizată marcarea cromozomilor Y prin tehnica FISH. Tehnica face dificilă cuantificarea rezultatelor, iar în secțiunile histologice, celulele chimerice sunt adesea rare și suprapunerea lor poate crea artefacte⁽³²⁾.

Tehnicile de PCR sau PCR în timp real amplifică secvențe specifice ale cromozomului Y, permițând suplimentar și cuantificarea rezultatelor. Totuși datorită sensibilității acestor metode, contaminarea este o problemă potențială (rezultate fals pozitive), în special când ADN-ul este extras din probe pe parafină.

Alte metode utilizează pentru separarea celulelor fetale diferiți epitopi de pe suprafața acestora, asociind markeri fluorescenți (FACS)⁽²¹⁾ sau particule magnetice (MACS)⁽³³⁾. Aceste tehnici sunt eficiente, dar necesită expresia unor antigene specifice la suprafața celulelor fetale și sunt puternic dependente de specificitatea anticorpilor. Etapa finală de identificare constă de asemenea în hibridizare in situ sau PCR.

Deoarece microchimerismul este un eveniment cu frecvență foarte joasă, diferențele de realizare a experimentului, sensibilitatea sau specificitatea tehnicilor, ca și variabilitatea interlaborator sunt importante și pot duce la rezultate și concluzii diferite⁽³⁴⁾.

Distribuția microchimerismului

Microchimerismul este un fenomen larg răspândit, fiind observat și în țesuturile normale ale femeilor fără afecțiuni autoimune⁽³⁵⁾. Astfel, celule fetale în diferite stadii de diferențiere se regăsesc în aproape toate țesuturile materne, în condiții normale sau patologice: tegument⁽³⁵⁾, sân⁽³⁶⁾, plămân^(35,37,38), cord⁽³⁹⁾, suprarenală⁽³⁷⁾, tiroidă⁽³⁵⁾, ficat, splină^(37,40), intestin, vezicula biliară⁽⁴⁰⁾, apendice⁽⁴¹⁾, rinichi⁽³²⁾, ganglioni^(35,40), măduva osoasă⁽³¹⁾, col.⁽⁴⁰⁾

Celulele fetale determină afecțiuni autoimune?

Persistența celulelor fetale în organismul matern a condus la ipoteza că acestea ar putea induce un răspuns imun de tip grefă-gazdă și deci la posibilitatea asocierii acestui fenomen cu dezvoltarea afecțiunilor autoimune. Aceasta este susținută de frecvența crescută a afecțiunilor imune la femei și creșterea incidenței acestora după sarcină.

Studiile inițiale au constatat o creștere a numărului celulelor fetale în circulația și la nivelul leziunilor cutanate la pacientele cu scleroză sistemică^(13,42), în condiții de creștere a compatibilității HLA⁽¹⁸⁾.

În contrast cu aceste rezultate, nu a fost identificată o asociere între microchimerismul fetomaternal și alte afecțiuni autoimune: sindromul Sjogren⁽⁴³⁾, ciroza biliară primară⁽⁴⁴⁾, lichenul plan⁽⁴⁵⁾ și lupusul eritematos sistemic (LES)⁽⁴⁶⁾. Surprinzător, celulele fetale apar în țesuturile materne în cazurile severe de LES, iar această prezență este proporțională cu severitatea afecțiunii⁽⁴⁷⁾.

Astfel, se presupune că celulele fetale nu declanșează afecțiunile autoimune, ci sunt recrutate de țesuturile materne afectate, dacă leziunea tisulară atinge un anumit prag⁽⁴⁸⁾.

Fătul „vindecă” mama

Numeroase rezultate indică un rol benefic al celulelor fetale în organismul matern, acestea fiind observate în organele materne afectate clinic, diferențându-se local și căutând să combată afecțiunea.

La o pacientă cu hepatită virală C, care oprește tratamentul și prezintă o evoluție pozitivă surprinzătoare cu regresia afecțiunii, biopsia hepatică asociată cu FISH evidențiază mii de celule de sex masculin. Pacienta nu a avut niciodată transfuzie sangvină și nu provine dintr-o sarcină gemelară. Studiul polimorfismului ADN a indicat ca sursă probabilă a celulelor masculine o sarcină terminată cu 17-19 ani anterior. În acest caz, celulele masculine din ficat au fost identice morfologic cu țesutul hepatic înconjurător, ceea ce sugerează că sunt hepatocite⁽⁴⁹⁾.

În general, celule fetale microchimerice pot fi observate la pacientele cu tiroidită Hashimoto sau alte afecțiuni tiroidiene non-imune. Un rezultat neașteptat a fost identificarea a numeroase celule masculine la o pacientă sănătoasă cu un adenom benign tiroidian. Probe ADN pentru cromozomii X și Y au evidențiat că foliculii maturi ai tiroidei pacientei erau parțial masculini, parțial feminini. Pacienta nu a avut alte surse potențiale de celule microchimerice (transfuzii, transplant de organ) și nu provine dintr-o sarcină gemelară⁽⁵⁰⁾.

Celule fetale de sex masculin au fost identificate și la nivelul plămânului, în structuri patologice, fiind distribuite grupat și de câteva ori mai frecvente decât în țesuturile sănătoase⁽³⁸⁾.

La nivelul apendicelui inflammat, în sarcină, s-au identificat de asemenea celule fetale. Numărul acestora fost mai mare în zonele cu modificări inflamatorii mai intense. Celule observate au fost diferențiate în celule musculare și limfocite⁽⁴¹⁾.

Bayes și col.⁽⁵¹⁾ au evidențiat și microchimerismul cardiac, după o sarcină cu făt masculin, celulele fetale fiind diferențiate în celule cardiace.

În cazul neoplasmului mamar, microchimerismul fetal a fost mai frecvent la pacientele sănătoase, față de cele cu neoplazie. Astfel că prezența celulelor fetale este asociată un risc mai redus pentru neoplazie mamară⁽³⁶⁾.

Celulele fetale identificate în țesuturile materne au fost majoritatea cazurilor di-

ferențiate. Astfel, în țesuturile epiteliale ca: tiroidă, col, vezicula biliară, intestin, 14-60% din celulele fetale exprimă markeri specifici de diferențiere (ex. citokeratina). În plus, în special la tiroidă, s-a constatat că acești markeri sunt mai frecvenți în zonele anormale ale glandei. În ficat, 4% din celulele fetale microchimerice au un fenotip hepatocitar⁽⁴⁰⁾.

Totuși, în țesuturile materne, majoritatea celulelor au origine hematopoietică, exprimând CD45, ca și 90% din celulele fetale detectate în țesuturile hematopoietice materne (splină, ganglioni)⁽⁴⁸⁾.

Aceste rezultate indică în mod evident faptul că celulele fetale persistente nu induc un răspuns imun matern și reprezintă o sursă de celule pluripotente, ce au capacitatea de a participa prin diferențiere în procesele de reparație tisulară maternă.

Concluzii

Prezența celulelor fetale în circulația maternă este un fenomen larg răspândit ce implică teoretic fiecare gravidă. Persistența pe termen lung a celulelor fetale în țesuturile materne, cu evidențierea capacității lor multipotente, susține puternic existența unei populații celulare speciale, achiziționate în mod fiziologic în cursul sarcinii.

Studiile au arătat că printre celulele fetale transferate la mamă în cursul sarcinii, unele au proprietăți similare cu cele ale celulelor stem, denumite în prezent celule precursoră asociate sarcinii (pregnancy-associated progenitor cells)⁽⁴⁸⁾. Majoritatea acestora au o origine hematopoietică⁽⁴⁸⁾ și provin probabil din placenta⁽²⁷⁾, dovedită a fi un mare rezervor de celule stem.

Microchimerismul a fost evidențiat și în cazul unor celule complet străine de organismul matern, respectiv al sarcinilor obținute prin implantarea unor ovocite donate⁽²⁰⁾. Astfel, descifrarea

mecanismului prin care se realizează în acest caz toleranța imună va avea un impact major în utilizarea celulelor stem alogene în tratamente regenerative sau transplant.

Achiziția celulelor fetale se realizează precoce în sarcină⁽⁷⁾ și este amplificată de procedurile de terminare a sarcinii⁽¹⁵⁾ sau de anumite afecțiuni (preeclampsie, trisomii). Devine, astfel, important studiul acestui fenomen fiziologic la femeile din regiunile în care chiuretajul la cerere este o metodă principală de contracepție. Microchimerismul fetο-matern rezultat prin aceste manevre repetate poate avea un impact semnificativ asupra sănătății femeii.

Celulele fetale dispar rapid din circulația maternă⁽⁹⁾ și persistă ulterior în anumite nișe, ca de exemplu măduva osoasă⁽³¹⁾.

Celulele precursoră asociate sarcinii, posibil de origine hematopoietică, sunt recrutate de unele leziuni tisulare materne și adoptă fenotipul local prin diferențiere. În prezent, nu se cunoaște intervalul de timp după care celulele fetale reapar în circulație și nici mecanismul prin care sunt stimulate și recrutate de țesuturile materne. În aceste țesuturi, celulele fetale se diferențiază și participă la repararea acestora, exercitând un efect „protector” în unele afecțiuni hepatice, tiroidiene și în diferite forme de cancer cum ar fi cel mamar. Nu se cunoaște dacă celule precursoră asociate sarcinii răspund la toate tipurile de leziuni materne sau numai la cele ce recrutează celule stem. Descifrarea mecanismului de stimulare și de recrutare a acestor celule în circulația și țesuturile materne va deschide noi perspective pentru dezvoltarea pe scară largă a tratamentelor cu celule stem.

Microchimerismul fetο-matern este un nou domeniu de cercetare, cu multiple aplicații clinice și terapeutice. Din acestea se remarcă cercetarea toleranței

imune, dezvoltarea tehnologiilor de analiză precoce a sângelui fetal și a tratamentelor cu celule stem.

Una din primele aplicații ale prezenței celulelor fetale în circulația maternă a fost diagnosticul prenatal neinvaziv prin analiza acestora. Rezultatele sunt limitate de tehnologia curentă, de numărul extrem de redus al celulelor fetale disponibile și de persistența unor tipuri de celule mulți ani după naștere. Dezvoltarea unor noi tehnologii de selecție și îmbogățire⁽⁵²⁾ a unor celule fetale prezente temporar în circulația maternă reprezintă o perspectivă foarte apropiată.

Studiul microchimerismului devine extrem de important în condițiile dezvoltării pe scară largă a tratamentelor cu celule stem. O înțelegere mai bună a toleranței imune materno-fetale este crucială pentru extinderea disponibilității acestui tratament⁽⁵³⁾.

Spre deosebire de cele adulte, celulele stem fetale, atât de origine hematopoietică, cât și mezenchimală, au o capacitate de implantare și potențial de diferențiere mai mare și o imunogenicitate mai redusă⁽⁵⁴⁾. Utilizarea acestor celule în terapia celulară fetală oferă avantaje teoretice ca: evitarea reacțiilor imune, fixarea mai bună în țesuturi și administrarea unui tratament înainte de apariția manifestărilor patologice ale afecțiunii. Prezența celulelor fetale are un efect de amplificare a eficienței tratamentului cu celule stem a unor forme solide de cancer⁽⁵⁵⁾. De asemenea, utilizarea pentru transplantul in utero a unor celule stem fetal alogene reprezintă un pas înainte spre transplantul celular și terapia genică. ■

Mulțumiri

Această lucrare are la bază activitatea de cercetare desfășurată în cadrul grantului PNCDI-II, programul IDEI, nr. 1.196/2007.

Bibliografie

1. Kamoi S, Ohaki Y, Mori O, Satomi M, Takahashi H, Kawamura T, et al. Placental villotrophoblastic pulmonary emboli after elective abortion: immunohistochemical diagnosis and comparison with ten control cases. *Int J Gynecol Pathol* 2003 Jul;22(3):303-9.
2. Douglas GW, Thomas L, Carr M, Cullen NM, Morris R. Trophoblast in the circulating blood during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1959 Nov;78:960-73.
3. Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ, Sylvester S, DeMaria MA. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996 Jan 23;93(2):705-8.
4. Liegeois A, Escourrou J, Ouvre E, Charreire J. Microchimerism: a stable state of low-ratio proliferation of allogeneic bone marrow. *Transplant Proc* 1977 Mar;9(1):273-6.
5. Aractingi S, Uzan S, Dausset J, Carosella ED. Microchimerism in human diseases. *Immunol Today* 2000 Mar;21(3):116-8.
6. Bianchi DW, Farina A, Weber W, Delli-Bovi LC, Deriso M, Williams JM, et al. Significant fetal-maternal hemorrhage after termination of pregnancy: implications for development of fetal cell microchimerism. *Am J Obstet Gynecol* 2001 Mar;184(4):703-6.

Bibliografie

7. Ariga H, Ohto H, Busch MP, Imamura S, Watson R, Reed W, et al. Kinetics of fetal cellular and cell-free DNA in the maternal circulation during and after pregnancy: implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Transfusion* 2001 Dec;41(12):1524-30.
8. Thomas MR, Williamson R, Craft I, Yazdani N, Rodeck CH. Y chromosome sequence DNA amplified from peripheral blood of women in early pregnancy. *Lancet* 1994 Feb 12;343(8894):413-4.
9. Sato T, Fujimori K, Sato A, Ohto H. Microchimerism after induced or spontaneous abortion. *Obstet Gynecol* 2008 Sep;112(3):593-7.
10. Hamada H, Arinami T, Hamaguchi H, Kubo T. Fetal nucleated cells in maternal peripheral blood after delivery in cases of fetomaternal hemorrhage. *Obstet Gynecol* 1995 Mar;85(3):449-51.
11. Artlett CM, Cox LA, Ramos RC, Dennis TN, Fortunato RA, Hummers LK, et al. Increased microchimeric CD4+ T lymphocytes in peripheral blood from women with systemic sclerosis. *Clin Immunol* 2002 Jun;103(3 Pt 1):303-8.
12. Evans PC, Lambert N, Maloney S, Furst DE, Moore JM, Nelson JL. Long-term fetal microchimerism in peripheral blood mononuclear cell subsets in healthy women and women with scleroderma. *Blood* 1999 Mar 15;93(6):2033-7.
13. Lambert NC, Lo YM, Erickson TD, Tylee TS, Guthrie KA, Furst DE, et al. Male microchimerism in healthy women and women with scleroderma: cells or circulating DNA? A quantitative answer. *Blood* 2002 Oct 15;100(8):2845-51.
14. Babochkina T, Mergenthaler S, Dinges TM, Holzgreve W, Hahn S. Direct detection of fetal cells in maternal blood: a reappraisal using a combination of two different Y chromosome-specific FISH probes and a single X chromosome-specific probe. *Arch Gynecol Obstet* 2005 Dec;273(3):166-9.
15. Wataganara T, Chen AY, LeShane ES, Sullivan LM, Borgatta L, Bianchi DW, et al. Cell-free fetal DNA levels in maternal plasma after elective first-trimester termination of pregnancy. *Fertil Steril* 2004 Mar;81(3):638-44.
16. Khosrotehrani K, Johnson KL, Lau J, Dupuy A, Cha DH, Bianchi DW. The influence of fetal loss on the presence of fetal cell microchimerism: a systematic review. *Arthritis Rheum* 2003 Nov;48(11):3237-41.
17. Lambert NC, Evans PC, Hashizumi TL, Maloney S, Gooley T, Furst DE, et al. Cutting edge: persistent fetal microchimerism in T lymphocytes is associated with HLA-DQA1*0501: implications in autoimmunity. *J Immunol* 2000 Jun 1;164(11):5545-8.
18. Nelson JL, Furst DE, Maloney S, Gooley T, Evans PC, Smith A, et al. Microchimerism and HLA-compatible relationships of pregnancy in scleroderma. *Lancet* 1998 Feb 21;351(9102):559-62.
19. Artlett CM, O'Hanlon TP, Lopez AM, Song YW, Miller FW, Rider LG. HLA-DQA1 is not an apparent risk factor for microchimerism in patients with various autoimmune diseases and in healthy individuals. *Arthritis Rheum* 2003 Sep;48(9):2567-72.
20. Williams Z, Zepf D, Longtine J, Anchan R, Broadman B, Missmer SA, et al. Foreign fetal cells persist in the maternal circulation. *Fertil Steril* 2008 Mar 31.
21. Bianchi DW, Williams JM, Sullivan LM, Hanson FW, Klinger KW, Shuber AP. PCR quantitation of fetal cells in maternal blood in normal and aneuploid pregnancies. *Am J Hum Genet* 1997 Oct;61(4):822-9.
22. Lo YM, Lau TK, Chan LY, Leung TN, Chang AM. Quantitative analysis of the bidirectional fetomaternal transfer of nucleated cells and plasma DNA. *Clin Chem* 2000 Sep;46(9):1301-9.
23. Holzgreve W, Ghezzi F, Di Naro E, Ganshirt D, Maymon E, Hahn S. Disturbed fetomaternal cell traffic in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1998 May;91(5 Pt 1):669-72.
24. Leung TN, Zhang J, Lau TK, Chan LY, Lo YM. Increased maternal plasma fetal DNA concentrations in women who eventually develop preeclampsia. *Clin Chem* 2001 Jan;47(1):137-9.
25. Guetta E, Gordon D, Simchen MJ, Goldman B, Barkai G. Hematopoietic progenitor cells as targets for non-invasive prenatal diagnosis: detection of fetal CD34+ cells and assessment of post-delivery persistence in the maternal circulation. *Blood Cells Mol Dis* 2003 Jan-Feb;30(1):13-21.
26. Mikhail MA, M'Hamdi H, Welsh J, Levicar N, Marley SB, Nicholls JP, et al. High frequency of fetal cells within a primitive stem cell population in maternal blood. *Hum Reprod* 2008 Apr;23(4):928-33.
27. Alvarez-Silva M, Belo-Diabougouaya P, Salaun J, Dieterlen-Lievre F. Mouse placenta is a major hematopoietic organ. *Development* 2003 Nov;130(22):5437-44.
28. O'Donoghue K, Fisk NM. Fetal stem cells. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004 Dec;18(6):853-75.
29. Campagnoli C, Roberts IA, Kumar S, Bennett PR, Bellantuono I, Fisk NM. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood* 2001 Oct 15;98(8):2396-402.
30. O'Donoghue K, Choolani M, Chan J, de la Fuente J, Kumar S, Campagnoli C, et al. Identification of fetal mesenchymal stem cells in maternal blood: implications for non-invasive prenatal diagnosis. *Mol Hum Reprod* 2003 Aug;9(8):497-502.
31. O'Donoghue K, Chan J, de la Fuente J, Kennea N, Sandison A, Anderson JR, et al. Microchimerism in female bone marrow and bone decades after fetal mesenchymal stem-cell trafficking in pregnancy. *Lancet* 2004 Jul 10-16;364(9429):179-82.
32. Kremer Hovinga IC, Koopmans M, Baelde HJ, van der Wal AM, Sijpkens YW, de Heer E, et al. Chimerism occurs twice as often in lupus nephritis as in normal kidneys. *Arthritis Rheum* 2006 Sep;54(9):2944-50.
33. Ganshirt-Ahlert D, Burschlyk M, Garritsen HS, Helmer L, Miny P, Horst J, et al. Magnetic cell sorting and the transferrin receptor as potential means of prenatal diagnosis from maternal blood. *Am J Obstet Gynecol* 1992 May;166(5):1350-5.
34. Johnson KL, Dukes KA, Vidaver J, LeShane ES, Ramirez I, Weber WD, et al. Interlaboratory comparison of fetal male DNA detection from common maternal plasma samples by real-time PCR. *Clin Chem* 2004 Mar;50(3):516-21.
35. Koopmans M, Kremer Hovinga IC, Baelde HJ, Harvey MS, de Heer E, Bruijn JA, et al. Chimerism occurs in thyroid, lung, skin and lymph nodes of women with sons. *J Reprod Immunol* 2008 Jun;78(1):68-75.
36. 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.
37. Johnson KL, Nelson JL, Furst DE, McSweeney PA, Roberts DJ, Zhen DK, et al. Fetal cell microchimerism in tissue from multiple sites in women with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2001 Aug;44(8):1848-54.
38. O'Donoghue K, Sultan HA, Al-Allaf FA, Anderson JR, Wyatt-Ashmead J, Fisk NM. Microchimeric fetal cells cluster at sites of tissue injury in lung decades after pregnancy. *Reprod Biomed Online* 2008 Mar;16(3):382-90.
39. Bayes-Genis A, Bellosillo B, de la Calle O, Salido M, Roura S, Ristol FS, et al. Identification of male cardiomyocytes of extracardiac origin in the hearts of women with male progeny: male fetal cell microchimerism of the heart. *J Heart Lung Transplant* 2005 Dec;24(12):2179-83.
40. Khosrotehrani K, Johnson KL, Cha DH, Salomon RN, Bianchi DW. Transfer of fetal cells with multilineage potential to maternal tissue. *JAMA* 2004 Jul 7;292(1):75-80.
41. Santos MA, O'Donoghue K, Wyatt-Ashmead J, Fisk NM. Fetal cells in the maternal appendix: a marker of inflammation or fetal tissue repair? *Hum Reprod* 2008 Oct;23(10):2319-25.
42. Artlett CM, Smith JB, Jimenez SA. Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemic sclerosis. *N Engl J Med* 1998 Apr 23;338(17):1186-91.
43. Toda I, Kuwana M, Tsubota K, Kawakami Y. Lack of evidence for an increased microchimerism in the circulation of patients with Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2001 Mar;60(3):248-53.
44. Rubbia-Brandt L, Philippeaux MM, Chavez S, Mentha G, Borisch B, Hadengue A. FISH for Y chromosome in women with primary biliary cirrhosis: lack of evidence for leukocyte microchimerism. *Hepatology* 1999 Sep;30(3):821-2.
45. Lombardi T, Philippeaux MM, Hadengue A, Samson J, Borisch B, Rubbia-Brandt L. Absence of leukocyte microchimerism in oral lichen planus (OLP): an in situ hybridisation study. *J Oral Pathol Med* 2001 Aug;30(7):398-401.
46. Khosrotehrani K, Mery L, Aractingi S, Bianchi DW, Johnson KL. Absence of fetal cell microchimerism in cutaneous lesions of lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005 Jan;64(1):159-60.
47. Mosca M, Curcio M, Lapi S, Valentini G, D'Angelo S, Rizzo G, et al. Correlations of Y chromosome microchimerism with disease activity in patients with SLE: analysis of preliminary data. *Ann Rheum Dis* 2003 Jul;62(7):651-4.
48. Khosrotehrani K, Bianchi DW. Multi-lineage potential of fetal cells in maternal tissue: a legacy in reverse. *J Cell Sci* 2005 Apr 15;118(Pt 8):1559-63.
49. Johnson KL, Samura O, Nelson JL, McDonnell MdWM, Bianchi DW. Significant fetal cell microchimerism in a nontransfused woman with hepatitis C: Evidence of long-term survival and expansion. *Hepatology* 2002 Nov;36(5):1295-7.
50. Srivatsa B, Bonney EA. Fetal cell trafficking and dermal fibrosis: comment on the article by Christner et al. *Arthritis Rheum* 2001 Dec;44(12):2944-5.
51. Bayes-Genis A, Roura S, Prat-Vidal C, Farre J, Soler-Botija C, de Luna AB, et al. Chimerism and microchimerism of the human heart: evidence for cardiac regeneration. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007 Feb;4 Suppl 1:S40-5.
52. Huang R, Barber TA, Schmidt MA, Tompkins RG, Toner M, Bianchi DW, et al. A microfluidics approach for the isolation of nucleated red blood cells (NRBCs) from the peripheral blood of pregnant women. *Prenat Diagn* 2008 Oct;28(10):892-9.
53. Ichinohe T, Teshima T, Matsuoka K, Maruya E, Saji H. Fetal-maternal microchimerism: impact on hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Immunol* 2005 Oct;17(5):546-52.
54. Chan J, O'Donoghue K, de la Fuente J, Roberts IA, Kumar S, Morgan JE, et al. Human fetal mesenchymal stem cells as vehicles for gene delivery. *Stem Cells* 2005;23(1):93-102.
55. Yu J, Ren X, Cao S, Li H, Hao X. Beneficial effects of fetal-maternal microchimerism on the activated haplo-identical peripheral blood stem cell treatment for cancer. *Cytotherapy* 2008;10(4):331-9.