

Microquimerismo fetal en enfermedades reumáticas

Gabriela Huerta Sil y Gabriel Medrano Ramírez

Servicio de Reumatología. Hospital General de México. México DF. México.

El microquimerismo fetal es la presencia de células fetales en tejidos maternos y viceversa, es decir, la coexistencia de 2 poblaciones celulares diferentes, originadas en individuos genéticamente distintos, presentes en un solo individuo. La causa más frecuente es el microquimerismo asociado al embarazo debido a un intercambio bidireccional de células feto-madre, lo cual sucede durante el embarazo y el parto.

Las células fetales se han demostrado en los tejidos de pacientes con enfermedades reumatológicas, endocrinas o infecciosas, así como en sujetos sanos.

La enfermedad en la que mejor se ha demostrado el papel del microquimerismo es la esclerosis sistémica. Se sugiere que, durante el embarazo, las células fetales o maternas alógenas atraviesan la placenta de forma bidireccional y persisten en la circulación y tejidos de ambos, posteriormente son activadas e inician una reacción injerto contra huésped, relacionada con el inicio de las manifestaciones clínicas. También se ha demostrado algún papel del microquimerismo en otras enfermedades del tejido conectivo.

Palabras clave: Microquimerismo. Complejo principal de histocompatibilidad. Esclerosis sistémica. Síndrome de Sjögren. Hibridación in situ.

Fetal microchimerism in rheumatic diseases

Fetal microchimerism is the presence of fetal cells in maternal tissues and vice versa, i.e., the coexistence of 2 different cellular populations from genetically different individuals within a single person. The most frequent cause of microchimerism is pregnancy, in which there is a bi-directional fetal-maternal interchange of cells during pregnancy and delivery.

Fetal cells have been demonstrated in the tissues of patients with rheumatic, endocrine or infectious diseases, as well as in those of healthy individuals.

Correspondencia: Dra. G. Huerta Sil.
Hospital General de México.
Dr. Balmís, 148 Col. Doctores Del.
06726 Cuauhtemoc. México DF. México.
Correo electrónico: gabysil2000@yahoo.com

Manuscrito recibido el 12-9-2005 y aceptado el 20-9-2005.

Microchimerism has been most extensively studied in systemic sclerosis. It seems that during pregnancy allogenic fetal or maternal cells cross the placenta bi-directionally and persist in the systemic circulation and tissues of both mother and child. Subsequently, they are activated, resulting in a graft-against-host reaction associated with the onset of clinical manifestations. Microchimerism has been also studied in other connective tissue diseases.

Key Words: Microchimerism. Major histocompatibility complex. Systemic sclerosis. Sjögren's syndrome. In situ hybridization.

Introducción

Una quimera, en el sentido mítico, se define como una bestia que tenía cuerpo de león, cabeza de cabra y cola de serpiente¹. La definición de microquimerismo, en sentido biológico, incluye la migración y presencia de células fetales en tejidos maternos con probables funciones fisiológicas o inmunológicas hasta el momento inciertas. En otras palabras, el microquimerismo se refiere a la coexistencia de 2 poblaciones celulares diferentes, originadas en individuos genéticamente distintos, presentes en un solo individuo y que podrían estar asociadas al desarrollo de ciertas entidades patológicas². La causa más frecuente de este evento, considerada como fisiológica, es el microquimerismo asociado al embarazo debido a un intercambio bidireccional de células feto-madre, es decir, microquimerismo fetal y microquimerismo materno; por lo tanto, la separación que aparentemente hay entre madre y feto no es una barrera mecánica absoluta³⁻⁵. May, en 1995, demostró que el paso de células maternas hacia la circulación fetal es un evento más común de lo que se había pensado, y que células fetales que migran a la madre se pueden localizar en sangre y piel años después. El paso de estas células no es exclusivo del parto, también se ha observado el ADN fetal en fases tempranas y tardías del embarazo. El momento en que este material genético, junto con células del trofoblasto y eritrocitos nucleados en sangre periférica materna, puede ser encontrado varía en los distintos estudios, y abarca desde 6 hasta 16 semanas de gestación. En 1994, Thomas estudió muestras sanguíneas seriadas de pacientes que habían sido sometidas a

fertilización *in vitro*, y demostró que el ADN fetal aparece a edades tan tempranas como 4 o 5 semanas, por lo que a la semana 36 del embarazo todas las mujeres tienen células fetales detectables en sangre^{1,3}.

Otras posibles fuentes de microquimerismo, llamado secundario, son la transferencia de células de un gemelo a otro, posterior a un aborto e, inclusive, el paso de células microquiméricas formadas en un embarazo previo. Una de las preguntas más importantes ha sido el tiempo que pueden permanecer estas células microquiméricas en la circulación o tejidos del huésped. La persistencia de células fetales se ha manifestado en tejidos de pacientes con enfermedades reumatológicas, endocrinas o infecciosas, así como en mujeres con paridad. Estudios recientes sugieren que estas células pueden permanecer décadas a lo largo de la vida materna. Bianchi, por medio de técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), encontró en 6 de 8 mujeres el ADN masculino en células progenitoras linfoides y mieloides CD34+ capaces de diferenciarse en células inmunitarias competentes, con una duración de hasta 27 años⁶. Tanaka et al² demostraron la presencia de secuencias de ADN del cromosoma Y hasta de 30 años en células hepáticas en el 50% de pacientes con cirrosis biliar primaria (CBP) y en el 29% en pacientes control.

Este fenómeno se determinó inicialmente en experimentos con modelos murinos que mostraron que hay migración de células fetales en 1 de cada 5 ratones con un radio de 1 a 5 células quiméricas por cada 10⁵ células maternas. Los primeros reportes en humanos realizados por Lo et al⁷, por medio de estudios de PCR, documentaron la presencia de cantidades significativas de ADN fetal circulante en el plasma materno y en cordón umbilical. Las células microquiméricas se detectaron en cantidades tan pequeñas que en 10 ml del plasma materno formaron el 3,4% del total del ADN entre las semanas 11 y 17 de gestación. Durante este estudio se analizaron muestras secuenciales de las mismas pacientes, y se encontraron incrementos de hasta 12 veces durante la evolución del embarazo que llegaban a formar hasta el 6,2% del total del ADN de la madre. Otros estudios han demostrado hasta 500.000 células fetales nucleadas en la circulación materna durante el primer trimestre de embarazo, lo que condujo al concepto de que las mujeres durante este período de gestación pueden ser consideradas quimeras⁶.

Técnicas de identificación de células microquiméricas

Las técnicas actuales que se utilizan para la detección de células microquiméricas se basan en la diferencia de sexos donde se detecta material genético de origen masculino, estas técnicas proliferaron por la facilidad y rapidez para identificar este tipo de células; sin embargo, una limitación es que se pierde cualquier tipo de información

que provenga de células microquiméricas femeninas, que potencialmente tienen las mismas consecuencias en entidades de maternas. Hasta la fecha, 2 tipos de técnicas se han utilizado para detectar el cromosoma Y de células microquiméricas: PCR e hibridización *in situ* (FISH [*fluorescence in situ hybridization*]).

Las técnicas de PCR son más sensibles y permiten la detección de una célula masculina por cada 100.000 femeninas en muestras sanguíneas o en tejidos. Hasta el momento, la mayoría de los estudios utilizan técnicas de PCR no cuantitativas y reportan resultados en términos de frecuencia de microquimerismo. Una desventaja mayor a su alta sensibilidad es la posibilidad de que haya contaminación con ADN masculino y, por lo tanto, un alto índice de resultados falsos positivos^{4,8}.

En contraste, la técnica de PCR cinética cuantitativa es específica y sensible para permitir la detección de 1 a 3 células masculinas en 1 millón de células femeninas, ya que está menos predispuesta a contaminación en comparación con los métodos de PCR anidada⁹.

Las células masculinas también se pueden detectar por fluorescencia por medio de FISH marcando a los cromosomas X e Y, una fluorescencia verde marca cromosomas Y y una roja a cromosomas X^{4,8}. La FISH permite la visualización directa de los núcleos de cromosomas X e Y, que identifica células masculinas con mayor especificidad y permite la localización y evaluación morfológica de las células microquiméricas^{3,4,8}.

Con la finalidad de encontrar una técnica que se pueda utilizar para detectar microquimerismo o ADN, tanto masculino como femenino, Artlett montó una técnica de detección del gen *HLA-Cw* en células microquiméricas masculinas y femeninas de pacientes con esclerosis sistémica (ES), y modificó la técnica original de PCR en 63 pacientes, 64 controles y 24 controles de pacientes con enfermedades distintas a ES (17 con artritis reumatoide [AR], 1 con síndrome de mialgia-eosinofilia, 4 con fenómeno de Raynaud primario y 2 con polimiositis). El microquimerismo se detectó en 41/63 (65%) pacientes con ES en contraste con 18/64 (28%) controles normales ($\chi^2 = 15,98$; $p = 0,00006$) y 8/24 (33%) de los controles con otra enfermedad del tejido conectivo ($\chi^2 = 5,89$; $p = 0,015$). Se encontraron 16 de los 17 antígenos de *Cw*; el *Cw2* se encontró débilmente asociado con ES, pero no con los pacientes con otras enfermedades ($p = 0,03$), *Cw9* con asociación a AR ($\chi^2 = 8,66$; $p = 0,003$) y una alta incidencia de *Cw12* para ES, lo cual sugiere que este antígeno puede ser permisivo para el microquimerismo. Este novedoso método permitió identificar células microquiméricas femeninas y masculinas de forma efectiva^{10,11}.

Implicación en autoinmunidad

Desde 1972, Mullinax describió a un paciente de 13 años con diagnóstico de lupus eritematoso generalizado

(LEG) y nefritis que había recibido transfusión sanguínea en el nacimiento. Se decidió buscar al donador, y se encontró que el paciente tenía en sangre periférica anticuerpos específicos contra antígenos del HLA-I del donador. El mismo autor, en 1988, estudió el caso de una paciente de 25 años que desarrolló ES durante el séptimo mes del embarazo, 3 años después se analizó el ADN por medio de técnica de PCR, y se demostró la presencia de cromosoma Y del hijo en sangre periférica de la madre¹².

Hace 20 años se escribió que la enfermedad injerto contra huésped crónica (EICHc) estaba en relación con genes de HLA del donador y del huésped, y que esta entidad compartía semejanzas con algunas enfermedades autoinmunitarias, como el LEG, la CBP, la AR, el síndrome de Sjögren (SS) y la ES, incluyendo la predilección por el sexo femenino y el incremento en la incidencia después del parto, lo que dio pauta a un estudio más completo para definir el papel del microquimerismo en enfermedades autoinmunitarias^{1,6,8}.

Esta persistencia de células fetales se cree que es secundaria a anomalías inmunológicas preexistentes o debido a la compatibilidad con HLA clase II. Hay la hipótesis de que se incrementa el riesgo de presentar ES cuando una mujer ha almacenado moléculas específicas de HLA clase II que son similares a ella pero no completamente idénticas, provenientes del padre^{6,8}. Las células fetales microquiméricas son semialogénicas al sistema inmunitario materno y es posible que las mujeres que tienen un HLA compatible con el feto tengan mayor persistencia de células microquiméricas que los que no son compatibles.

Para estudiar la relación de la compatibilidad del HLA y el microquimerismo con ES, Nelson estudió un grupo de pacientes con ES y otro de controles sanos, y encontró que el grupo de pacientes tenía una media de equivalentes de ADN/16 ml de 11,1 en comparación con 0,38 de los controles ($p = 0,0007$). Las mujeres con ES tuvieron 9 veces más el antecedente de partos previos. La compatibilidad con HLA-II de hijos y madre fue más común en pacientes con ES (62%) que en los controles (16%) (*odds ratio* [OR]: 8,78; intervalo de confianza [IC], 2,05-40,13; $p = 0,001$), con predominio mayor del HLA-DRB1₁ (el 62 frente al 16% del grupo de pacientes). El riesgo se incrementaba 19 veces si el hijo tenía compatibilidad DRB1 por homocigiosidad^{5,13,14}.

Las hipótesis propuestas por Nelson et al¹⁴ para atribuir el papel de células microquiméricas al desarrollo de la enfermedad, postulaban que las células podrían haber sido secuestradas en los tejidos afectados y que una pequeña proporción de estas células ajenas al huésped pudieran iniciar un proceso en el cual el daño fuera causado por las propias células; alternativamente, una pequeña población de células ajenas puede regular de forma negativa a las células inmunorreguladoras del

huésped, y con ello iniciarse el daño por células del huésped inmunorreactivas.

Lambert, interesado en estudiar el microquimerismo multigeneracional y/o el HLA compatible a lo largo de 3 generaciones como contribuyente del desarrollo de ES, realizó diversas observaciones, en una de ellas en 184 pacientes de 46 familias (33 sanas y 13 con ES) encontró un riesgo incrementado de ES en mujeres para las que la madre del paciente era compatible con DQA1 y/o DRB1 con respecto a los hijos del paciente (OR: 14,9; $p = 0,009$, y OR: 5,9; $p = 0,014$, respectivamente). Estos resultados indicaron que una mujer puede llegar a ser un huésped a largo plazo de células de su madre y de sus hijos y que este microquimerismo multigeneracional es un factor importante en la patogénesis de la ES¹⁵⁻¹⁸; sin embargo, en un estudio subsecuente, Artlett et al¹⁹ no encontraron esta asociación.

La habilidad de las células fetales inmunocompetentes para iniciar y sostener un proceso agresivo es posiblemente dependiente de varios factores. Durante el embarazo hay un cambio inmunológico debido a que las células fetales acarrean genes paternos expresados en la superficie de las células, como HLA de los tipos I y II así como antígenos de histocompatibilidad menores que son reconocidos como moléculas extrañas por el sistema materno. Estas células fetales con genes paternos migran frecuentemente hacia el sistema materno, e inducen una potencial reacción injerto contra huésped. Esta posibilidad gana fuerza cuando se encuentra ADN masculino en células CD34+ y CD38+, que son células progenitoras hematopoyéticas capaces de funcionar como células presentadoras de antígeno. Al parecer este microquimerismo induce cierta tolerancia hacia el feto durante el embarazo que se considera un estado de inmunosupresión; sin embargo, un microquimerismo aberrante así como mecanismos aún no definidos, con cambios celulares cualitativos más que cuantitativos, llevan a una ruptura de esta tolerancia y al desarrollo de enfermedad autoinmunitaria subsecuente¹. Bajo un estímulo externo, como infecciones o la exposición a agentes físicos y químicos, las células quiméricas fetales ayudadas por moléculas coestimuladoras o citocinas, que se cree que generalmente es Th2 más que Th1 (que puede exacerbar el proceso de fibrosis en el embarazo)²⁰, pueden llegar a activarse y montar una respuesta agresiva o activar alternativamente los linfocitos maternos, iniciando un proceso en el cual el daño subsecuente es causado por células del huésped⁶. La migración y localización de células fetales son una clave importante como factores determinantes en el papel de la respuesta a las células quiméricas por la madre^{9,20}. Debido a que estas células forman el 1% de la sangre total, otros mecanismos pudieran estar implicados, por ejemplo, la respuesta inmunitaria puede estar amplificada por la presentación de un antígeno indirecto, un mecanismo implicado en el rechazo crónico^{4,21}.

Tanaka et al propusieron una hipótesis para explicar la inducción de la tolerancia materna contra el feto durante el embarazo. En estadios tempranos del embarazo, las células fetales migran hacia la madre por medio del sistema porta donde las células fetales presentan los antígenos a las células T maternas, la tolerancia específica contra el feto se induce debido a la ausencia del bloqueo coestimulador de moléculas, esto permite una tolerancia global de las células T maternas hacia las células fetales, y la alorreactividad contra el feto en el útero es inhibida¹. La no respuesta materna se puede inducir por células “veto” fetales, que son células presentadoras de antígeno que inactivan a las células T con las que interactúan⁵.

Relación con la patogenia de enfermedades autoinmunitarias

Cirrosis biliar primaria

La CBP comparte algunas características con la ES, como es el ser más frecuente en mujeres, de aparición en la edad media, sin presentación infantil y con características clínicas semejantes a la enfermedad injerto contra huésped (EICH); por lo tanto, también se ha estudiado la presencia de microquimerismo como un factor asociado a la etiopatogenia. Tanaka estudió 37 especímenes hepáticos de mujeres con CBP y 39 de controles sanos, todos con al menos 1 hijo y el diagnóstico establecido después del parto; el cromosoma Y se encontró en 26/37 muestras de pacientes con CBP (70%) y 28/39 pacientes sanos (72%), sin significación estadística entre ambos grupos. Los estudios para cuantificar la relación Y/X tampoco arrojaron diferencias entre ambos grupos, por lo tanto, los autores concluyeron que el microquimerismo no se puede atribuir de forma aislada al desarrollo de CBP. Después de este primer estudio, otros más han fallado para determinar la asociación entre ambas entidades, con excepción de los realizados por Fanning y Murakami, quienes observaron

más frecuentemente microquimerismo en células hepáticas de pacientes con CBP que en controles (tabla 1). Por lo anterior, por lo menos en la CBP, no puede concluirse contundentemente una asociación patogénica entre ambas entidades^{3,4,21} (tabla 1).

Esclerosis sistémica

Como ya se ha mencionado, el rechazo contra huésped crónico, en el que se ha involucrado el HLA del donador y del huésped, tiene semejanzas con enfermedades autoinmunitarias, como ES; asimismo, el microquimerismo y los genes *HLA* se han involucrado en la patogenia de este tipo de enfermedades²¹. Recientemente, la identificación de microquimerismo en tejidos específicos debido a causas naturales o yatrogénicas (transplante o transfusión) llevó a la posibilidad de que este fenómeno sea la base para desarrollar autoinmunitad o, alternativamente, contribuir a la reparación tisular, principalmente en la ES⁴.

La hipótesis que propone que las células microquiméricas fetales están involucradas en la patogenia de la ES fue sugerida inicialmente por Pereira, al comunicar al Dr. Black que “la ES podría ser postulada como un tipo de EICH crónica (EICHc) resultado de la transferencia, a través de la placenta, de células fetales y maternas”¹¹.

Una hipótesis de que el microquimerismo contribuye a la patogénesis de la ES se ha propuesto en varios estudios ya mencionados previamente, como los realizados por Nelson y Artlett^{2,4,8,13,20-24}. El microquimerismo es una hipótesis nueva en las causas de esta entidad, que sugiere que durante el embarazo, células fetales o maternas alogénicas atraviesan la placenta de forma bidireccional y persisten en la circulación y tejidos de ambos, como resultado de la compatibilidad del HLA-II (DRB1) entre la madre y el feto. Estas células ajenas llegan a ser activadas en una segunda fase y montar una reacción injerto contra huésped, que provoca el inicio de las manifestaciones clínicas de la ES^{1,17}.

TABLA 1. Resultados de estudios en microquimerismo de cirrosis biliar primaria (CBP)

	Hígado		Sangre periférica		
	CBP	Controles	CBP	Controles	Método
Tanaka et al	26/37 (70%)	28/39 (72%)	NT	NT	PCR
Rubia-Brandt et al	0/10 (0%)	NT	NT	NT	FISH
Corpechot et al	5/15 (33%)	8/25 (32%)	8/18 (44%)	4/18 (22%)	PCR nativa
McDonnel et al	10/16 (62%)	8/17 (47%)	3/14 (21%)	NT	PCR nativa
Murakami et al	NT	NT	10/20 (50%)	2/16 (12,5%)	PCR

FISH: hibridación *in situ*; PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

Otro estudio, que incluyó 61 mujeres, encontró cuantitativamente mayor número de pacientes con microquimerismo fetal en pacientes con ES con una media de 11,3 células, seguido de la CBP con una media de 1,3 células y en sanos una media de 0,7 células. La comparación de pacientes con ES y sujetos sanos fue significativa, con $p < 0,001$, pero entre pacientes con CBP y sanos no hubo diferencia significativa. El ADN detectado por PCR se encontró en mayor proporción en células CD3+, CD8+, CD4+, CD19+, CD56/16+ de pulmones, intestino, corazón, riñón, hígado y bazo de pacientes con ES²³. Artlett²⁴ demostró los mismos hallazgos en sangre periférica y piel de pacientes con ES por medio de una prueba no cuantitativa, y encontró un aumento en la frecuencia de microquimerismo fetal. Estos estudios sugirieron que la persistencia de microquimerismo podía estar involucrada en el inicio de la enfermedad por medio de una reacción alérgica de las células fetales que actúan como células presentadoras de antígeno dirigido contra la madre y mantiene la presentación de un péptido autoantigénico por moléculas HLA quiméricas^{1,24}. El mismo autor propuso que las células fetales CD3+ causan una reacción antimaterna semejante a la observada en EICH^{20,25,26}.

Lambert, por su lado, estudió a 29 controles sanos y 37 pacientes con ES, mediante técnica de PCR cuantitativa en células mononucleares de sangre periférica, plasma y linfocitos. La mayoría de las mujeres que habían tenido un embarazo previo no tuvieron ADN masculino detectable en el plasma; sin embargo, cuando se utilizaron técnicas de detección de ADN en células mononucleares la frecuencia de detección del ADN fue mayor en pacientes con ES (51%) comparado con los 31% de los controles, pero sin significación estadística ($p = 0,07$). Cuando se realizó la misma técnica en linfocitos T, se encontró que este material genético se presenta mayormente en linfocitos T que en células mononucleares ($p = 0,01$) de los controles pero no en los pacientes con ES, probablemente por el uso del tratamiento inmunosupresor. Este estudio permitió establecer que no hay ADN libre sino presente en células del sistema inmunitario, inclusive se pueden presentar con la misma frecuencia en sujetos sanos²⁷.

Miyashita et al realizaron la detección de secuencias del cromosoma Y de sangre periférica en pacientes asiático-japoneses, 20 con ES, 21 con LEG, 18 con SS y 41 voluntarios sanos, y se detectó ADN en el 50% de pacientes con ES en comparación con el 20% de los sanos ($p = 0,017$), el 33% de los pacientes con SS y 0 de pacientes LEG, por lo que establecieron que el microquimerismo es un fenómeno fuertemente asociado con la patogenia de ES sin relación con otras enfermedades autoinmunitarias²⁸.

Johnson et al identificaron y cuantificaron por medio de técnica de FISH el microquimerismo fetal en tejidos maternos específicos de pacientes con ES (glándulas su-

prarrenales, corazón, intestino, riñón, pulmón, hígado, páncreas, paratiroides, piel y bazo) obtenidos de autopsias. Las células masculinas se observaron en tejidos de al menos un sitio de cada mujer con ES; de éstos, el más frecuente fue en bazo, y en orden decreciente en nódulos linfáticos, pulmón, glándulas suprarrenales y piel. No observaron microquimerismo en mujeres sin el diagnóstico de ES. Estos resultados sugirieron que las células fetales migran de la circulación periférica a múltiples órganos en mujeres con ES, y que podrían desempeñar un papel muy importante en la patogenia de la enfermedad al ser secuestradas preferentemente en el bazo, donde puede inducirse que se desarrolla una tolerancia hacia antígenos fetales, principalmente en órganos linfoides centrales²⁸; esto último coincide con los hallazgos en roedores con esclerosis secundaria a la exposición al cloruro de vinilo realizada por Christener, donde se detectó un incremento de hasta 20 veces más de células microquiméricas en sangre periférica^{4,8,29}.

Evans et al también encontraron una diferencia significativa en la presencia de microquimerismo en mujeres con ES en comparación con mujeres sanas (el 60 frente al 33%; $p = 0,04$); en un tercio de los pacientes en células CD3+, CD19+ y CD14+ y CD56/16+ en la mitad de ellos¹⁶.

Launay estudió la historia del embarazo previa al inicio de ES de 100 mujeres, y logró establecer que la ES variedad limitada ocurre más rápidamente después del parto que en la difusa y que la multiparidad se asocia más con el desarrollo de una variedad limitada y de afectación pulmonar, es decir, los pacientes con fibrosis pulmonar tuvieron más hijos que los pacientes sin ésta ($2,5 \pm 1,9$ frente a $2,0 \pm 1,6$; $p < 0,05$)^{17,30}. Por su parte, Artlett estudió a 78 pacientes con ES con embarazos previos al diagnóstico y 33 pacientes que nunca habían estado embarazadas. La duración de la enfermedad en pacientes nulíparas fue mayor que en pacientes con paridad (13,3 frente a 8,7 años) sin diferencias significativas entre ambos grupos. La edad de la instalación de la enfermedad en pacientes nulíparas fue menor comparada con las pacientes con 1 o 2 embarazos previos (32 frente a 45,7 años; $p < 0,0001$), con pacientes con 3 o 4 embarazos (32 frente a 46,7 años; $p < 0,0001$) y con pacientes con 5 a 7 embarazos (32 frente a 51,7 años; $p < 0,0005$). Incluso se encontró una mayor afección pulmonar en pacientes nulíparas. Por lo anterior, se considera que hay diferencias en cuanto a la edad de inicio, curso clínico y gravedad del daño pulmonar en pacientes que desarrollaron ES antes de estar embarazadas en comparación con las que lo desarrollaron después del embarazo³¹. Por su parte, Pisa et al realizaron un estudio en población italiana para establecer la relación que hay entre el embarazo y el desarrollo de ES. Estudiaron 46 pacientes con diagnóstico de ES, así como 153 controles, y demostraron un riesgo reducido en mujeres con paridad cuando se

comparó con mujeres nulíparas (OR: 0,3; IC del 95%, 0,1-0,8) y una asociación inversa entre el riesgo de ES y el número de hijos³².

Ichikawa et al realizaron un estudio por medio de PCR semicuantitativa en 20 pacientes con ES y 20 sujetos sanos; 8/20 pacientes con ES (40%) y 6/20 controles (30%) tuvieron ADN masculino detectable, sin embargo, la diferencia no fue significativa ($p = 0,507$). La diferencia con otros estudios es que en éste se detectó ADN masculino del total de células sanguíneas, a diferencia de estudios como el de Nelson en que se estudiaron específicamente células mononucleares. Estos resultados evidenciaron que, a pesar de que la presencia de microquimerismo no es específica de ES, se podría establecer que la cantidad de microquimerismo puede estar asociada con el desarrollo de ES³³.

Debido a que el antecedente de transfusiones sanguíneas previas también se ha involucrado con la presencia de microquimerismo, Roberts-Thompson et al³⁴ realizaron un estudio con 44 pacientes con ES que habían recibido transfusiones 1 a 47 años previos al inicio de los síntomas, en comparación con 221 pacientes con ES sin transfusión previa, sin encontrar una relación entre el tiempo de ésta y el desarrollo de la ES ($p = 0,22$), por lo que concluyeron que el antecedente de transfusión sanguínea no se relaciona con las características clínicas o serológicas de pacientes con ES.

A pesar de haber mencionado la evidencia hasta el momento disponible, también hay estudios que ponen en tela de juicio la asociación entre el microquimerismo y el desarrollo de ES³⁵. Burastero et al³⁶ estudiaron una cohorte de 43 mujeres con ES, por PCR cuantitativa y PCR nativa. Los resultados arrojaron que el microquimerismo celular (en linfocitos T) estaba sólo en el 6,9% de los pacientes con ES mientras que no se encontró en pacientes sanos, sugiriendo que sólo en casos anecdóticos la persistencia de células fetales transformadas en linfocitos T son sensibles a los estímulos fisiológicos, como los involucrados en el daño endotelial, y podrían llegar a estar involucrados en la agresión a tejidos maternos. En otro estudio, se concluyó que no hay evidencia de que el microquimerismo esté asociado con la presencia de ES en la población española; sin embargo, puede haber indicios de que el microquimerismo está involucrado en la patogenia, sobre todo de pacientes con variedad difusa³⁷.

Murata et al³⁸ encontraron células microquiméricas en el 61,5% de las mujeres con ES, frente al 50% en mujeres sanas, sin diferencia entre ambos grupos. Concluyeron que el microquimerismo por sí solo no es un mecanismo patogénico de ES en mujeres japonesas, debido a que la presencia de ADN en sangre periférica no es un fenómeno específico de pacientes con ES.

Sin embargo, a pesar de los estudios presentados al final, parece ser que la ES es la única entidad hasta el momento estudiada en la que hay resultados de mayor

contundencia que avalen la relación entre microquimerismo y el desarrollo de ésta.

Síndrome de Sjögren

Es sabido que durante el desarrollo de EICHc se observan a menudo síntomas semejantes al SS, evidenciado a través de muestras de biopsia de glándula salival menor que demuestran un infiltrado de linfocitos semejante al observado en pacientes con SS³⁹. El primer caso publicado describió a una mujer de 60 años, que 3 semanas después de haber recibido una transfusión sanguínea desarrolló síndrome sicca y vitiligo. La biopsia de glándula salival demostró un infiltrado mononuclear moderado con predominio leve de CD8+ y esclerosis, y que por técnica de PCR se encontró un valor alto de ADN del cromosoma Y en células mononucleares periféricas, pero ausente de los tejidos dañados⁴⁰.

Endo et al⁴¹, en población japonesa, estudiaron células sanguíneas periféricas de 23 pacientes con ES, 6 con SS y 20 controles sanos, por medio de PCR, y las glándulas salivales de 20 mujeres con SS y 8 controles, por medio de técnica de FISH. No hubo diferencia significativa entre el microquimerismo observado en sangre periférica en los 3 grupos de pacientes; sin embargo, al comparar el tejido de glándula salival menor se encontró un 55% de pacientes con SS frente a un 13% de los controles ($p < 0,05$).

Kuroki et al⁴² también demostraron, en 56 pacientes con diagnóstico de SS (20 tenían otras enfermedades autoinmunitarias asociadas como AR, LEG, ESP, EMTC y PM), que el 36% de las muestras de glándula salival fueron positivas para la detección de secuencias de cromosoma Y, sin diferencias entre pacientes con SS primario y secundario. La frecuencia de detección del cromosoma Y fue significativamente más alta en muestras de glándula salival menor de pacientes con SS (10/28) que en los sujetos sin SS (0/10) ($p = 0,028$). Se encontraron secuencias de cromosoma Y en muestras de lavado bronquioalveolar en pacientes que tenían sintomatología en un 22% de los pacientes con SS, sin encontrarlo en pacientes con afectación pulmonar por otras causas. Éste fue el primer estudio donde se trató de detectar células microquiméricas en tejidos específicos, no sólo en células periféricas, lo cual significaría que en este grupo de pacientes las células permanecen en el tejido afectado por largo tiempo, en mayor cantidad que en células sanguíneas periféricas.

Aractingi et al en sus estudios ponen en duda el papel del microquimerismo en la patogenia del SS, estableciendo varias limitaciones de sus trabajos, como un tiempo prolongado entre el parto previo y el estudio, la elección de los pacientes y los controles, población de pacientes con SS primario y/o secundario, así como las técnicas utilizadas que no están aún estandarizadas⁴³⁻⁴⁵.

Toda et al⁴⁶ encontraron también una frecuencia baja de células fetales circulantes < 1 en $1,67 \times 10^5$, incapaces de estar asociadas a la patogenia de la enfermedad.

Lupus eritematoso generalizado

Johnson et al⁴⁷, en 2001, publicaron el estudio de la autopsia de una mujer de 33 años con diagnóstico de LEG, que falleció por complicaciones de éste y que había tenido 2 hijos previamente al diagnóstico. Las secuencias de células masculinas se encontraron en todos los tipos de tejido histológicamente anormales que habían sido analizados, como el riñón, el intestino grueso y delgado, el pulmón y la piel, con excepción del bazo y el tiroides, sin evidencia de ello en tejidos histológicamente normales.

Mosca et al⁴⁸ publicaron resultados preliminares en este aspecto, donde incluyeron 22 pacientes con LEG y 24 controles sanos. El microquimerismo estuvo presente en el 50% de los controles sanos y en el 50% de pacientes con LEG, sin diferencias cuantitativas en ambas poblaciones, 2,4 células/100.000. Sin embargo, en el grupo de pacientes con LEG, los que tenían nefropatía tuvieron mayor número de equivalentes de células que los pacientes sin involucro renal (4,2 equivalentes de células frente a 0,89, respectivamente; $p < 0,05$).

Filho et al⁴⁹ extrajeron ADN de células mononucleares periféricas de 18 controles sanos y 28 con diagnóstico de LEG. Contrario a lo que se había presentado previamente, los estudios realizados en estas pacientes por medio de PCR no demostraron diferencia estadística entre los grupos con LEG y sin LEG. Sin embargo, sí demostró un aumento progresivo del número de células de acuerdo con el tiempo transcurrido desde el último parto, de tal forma que en el grupo de LEG con un período < 10 años, se encontraron $32,7 \pm 64,8$ células, a diferencia de los períodos de más de 30 años, en que el número de células era de $1.445,3 \pm 2.042,9$, lo que orientaría a saber que toma tiempo a las células fetales establecerse y reproducirse.

Gannage et al⁹, por otra parte, no reportaron resultados tan alentadores como los previos al estudiar a pacientes con LEG, ES, miopatías inflamatorias y otras enfermedades del tejido conectivo, al no encontrar diferencias significativas en la presencia de microquimerismo, el número, la influencia de la paridad y el período transcurrido entre los partos y el inicio de los síntomas.

Miopatías inflamatorias

Recientemente se ha puesto particular interés en el microquimerismo como mecanismo patogénico en miopatías inflamatorias, ya que algunas características clínicas de las miopatías inflamatorias semejan a la EICHc.

Reed et al⁵⁰ realizaron el primer estudio que estableció una posible relación entre miopatías inflamatorias y microquimerismo, al estudiar a 3 familias de pacientes con dermatomiositis juvenil (DMJ), donde se identificaron alelos no transmitidos en 3/3 (100%) de sujetos con DMJ frente a 2/7 (28%) de hermanos no afectados. Identificaron en 3/3 madres el alelo HLA-DQ heredado del padre. Estos resultados consideraron que había semejanza con EICHc, que las células maternas pueden atravesar la placenta durante el embarazo y permanecer irreconocibles debido a la compatibilidad del HLA para posteriormente activarse y desarrollar la enfermedad. En un trabajo posterior, Reed et al hipotetizaron que una reacción semejante a la encontrada en la EICHc, por la presencia de microquimerismo por alelos HLA-DQA1, también se observaba en niños con miositis. Estudiaron a las familias de 15 niños con diagnóstico de DMJ, por medio de técnica de PCR en células mononucleares de sangre periférica, así como muestras de músculo por medio de FISH. Identificaron el alelo HLA-DQA1 en 13/15 niños con DMJ y en 35 hermanos no gemelos ($p < 0,0001$). Por medio de FISH se identificaron en células mononucleares periféricas en 11/15 niños con DMJ comparado con 17 de los hermanos ($p = 0,02$) y 2/10 de los controles ($p = 0,01$). Estas células por la misma técnica estuvieron presentes en células musculares en 12/15 niños comparado con 2/10 controles ($p = 0,005$)^{50,51}.

Artlett et al^{52,55} estudiaron 28 pacientes con miopatías inflamatorias, 26 con DMJ, 1 con polimiositis juvenil, 1 con síndrome de sobreposición DMJ/ESP y 23 controles sanos. Utilizando la técnica de PCR, los alelos *Cw* se encontraron en el 73% de pacientes con miopatías inflamatorias en comparación con el 10% de controles sanos ($p < 0,001$, $\chi^2 = 15,7$). Estos hallazgos sustentan la posibilidad de que el microquimerismo está involucrado en la inmunopatogenia de la enfermedad.

Finalmente, el único estudio de metaanálisis es el realizado por Khosrotrhrani et al. Se encontraron 85 artículos de microquimerismo fetal, y de éstos 11 fueron elegibles para el estudio. Se encontró que la historia de pérdidas fetales estuvo significativamente asociada con la presencia de microquimerismo (OR: 2,4; IC del 95%, 1,2-6,0; $p = 0,02$), después de ajustar al número de gestaciones esta asociación continuó presente (OR: 3,7; IC del 95%, 1,2-11,7; $p = 0,003$). Se encontró mayor microquimerismo en los pacientes con enfermedades autoinmunitarias en comparación con pacientes sin enfermedades autoinmunitarias ($r = 2,7$; IC del 95%, 1,2-5,7; $p = 0,011$). A pesar de estos resultados, las limitaciones de este estudio se debieron a que no se conoció la causa ni la edad gestacional a la que ocurrieron las pérdidas fetales. Se concluye que las pérdidas fetales permiten la entrada importante de células fetales a la circulación materna y, por lo tanto, se induce un injerto a largo plazo; estas células tienen mayor posibilidad de

expandirse y diferenciarse con las consecuencias que se han mencionado previamente¹⁵.

Bibliografía

- Nelson JL. Microchimerism and autoimmune disease. *N Engl J Med*. 1998;338:1224-5.
- Tanaka A, Kindor K, Ansari A, Gershwin EM. Fetal microchimerisms in the mother: immunologic implications. *Liver Transplantation*. 2000;6:138-43.
- Khosrotehrani K, Bianchi DW. Fetal cell microchimerism: helpful or harmful to the parous woman? *Curr Opin Obstetrics Gynecology*. 2003;15:195-9.
- Adams KM, Nelson JL. Microchimerism: an investigative frontier in autoimmunity and transplantation. *JAMA*. 2004;291:1127-31.
- Nelson JL. Longterm persistence of fetal and maternal cells: implications for systemic sclerosis and other autoimmune diseases. *J Rheumatol*. 2000;27:2922-6.
- Bianchi D. Fetal cells in the mother: from genetic diagnosis to diseases associated with fetal cell microchimerism. *Eur J Obstetrics Gynecol*. 2000;92:103-8.
- Lo YM, Lo SF, Watson N, Noakes L, Sargent IL, Thilaganathan B, et al. Two-way cell traffic between mother and fetus: biologic and clinical implications. *Blood*. 1996;88:4390-5.
- Nelson JL. Microchimerism and human autoimmune diseases. *Lupus*. 2002;11:651-4.
- Gannagé M, Amoura Z, Lantz O, Piette J-C, Caillaud-Zucman S. Feto-maternal microchimerism in connective tissue diseases. *Eur J Immunol*. 2002;32:3405-13.
- Artlett CM, Cox LA, Jiménez SA. Detection of Cellular microchimerism of male and female origin in systemic sclerosis patients by PCR analysis of HLA-CW alleles. *Arthritis Rheum*. 2000;43:1062-7.
- Artlett CM, Cox LA, Jiménez SA. Detection of cellular microchimerism of male or female origin in systemic sclerosis patient by polymerase chain reaction analysis of HLA-Cw antigens. *Arthritis Rheum*. 2000;43:1062-7.
- Mullinax F. Chimerism in scleroderma. *Lancet*. 1998;351:1886.
- Nelson L. Non-host cells in the pathogenesis of autoimmune disease: a new paradigm? *Ann Rheum Dis*. 1999;58:518-20.
- Nelson JL, Furst DE, Maloney S, Gooley T, Evans P, Smith A, et al. Microchimerism and HLA-compatible relationships pf pregnancy in scleroderma. *Lancet*. 1998;351:559-62.
- Khosrotehrani K, Johnson KL, Lau J, Dupuy A, Hyun Cha D, Bianchi DW. The influence of fetal loss on the presence of fetal cell microchimerism. *Arthritis Rheum*. 2003;48:3237-41.
- 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;93:2033-7.
- Jiménez SA, Derk CT. Following the molecular pathways toward an understanding of the pathogenesis of systemic sclerosis. *Ann Intern Med*. 2004;140:37-50.
- Lambert N, Maloney S, Hasizumi T, Furst D, Ober C, Nelson L. Transgenerational microchimerism, HLA compatibility and risk of systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 1999;42 Suppl:S224.
- Artlett C, O'Hanlon T, López A, Wook Song Y, Miller F, Rider L. HLA-DQA1 is not an apparent risk factor for microchimerism in patients with various autoimmune diseases and in healthy individuals. *Arthritis Rheum*. 2003;48:2567-72.
- Scaletti C, Vultaggio A, Bonifacio S, Emmi L, Torricelli F, Maggi E, et al. Th2-oriented profile of male offspring cells present in women with systemic sclerosis and reactive with maternal major histocompatibility complex antigens. *Arthritis Rheum*. 2002;46:445-50.
- Nelson JL. Pregnancy and microchimerism in autoimmune disease: protector or insurgent? *Arthritis Rheum*. 2002;46:291-7.
- Lambert N, Erickson T, Yan Z, Pang J, Guthrie K, Furst D, et al. Quantification of maternal microchimerism by HLA-specific real-time polymerase chain reaction. *Arthritis Rheum*. 2004;50:906-14.
- Nelson JL, Lambert N, Medsger T, Tsao B, Hahn B, McDonell M, et al. Persistent fetal and maternal microchimerism: a new etiology for autoimmune disease? *Arthritis Rheum*. 1999;42 Suppl:S277.
- Artlett C, Smith B, Jiménez S. Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemic sclerosis. *N Engl J Med*. 1998;338:1186-91.
- Kim L, Korn J. Update in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum (Arthritis Care and Research)*. 2003;49:605-13.
- Tan F. Systemic sclerosis: the susceptible host (genetics and environment). *Rheum Dis Clin North Am*. 2003;29:211-37.
- Lambert N, Lo D, Erickson T, Tylee T, Guthrie K, Furst D, et al. Male microchimerism in healthy women and women with scleroderma: cells or circulating DNA? A quantitative answer. *Blood*. 2002;100:2845-51.
- Miyashita Y, Ono M, Ono M, Ueki H, Kurasawa K. Y chromosome microchimerism in rheumatic autoimmune disease. *Ann Rheum Dis*. 2000;59:655-6.
- Johnson K, Nelson L, Furst D, McSweeney P, Roberts D, Zhen D, et al. Fetal cell microchimerism in tissue from multiple sites in women with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2001;44:1848-54.
- Launay D, Hebbar M, Hatron P, Michon-Pasturel U, Queyrel V, Hachulla E, et al. Relationship between parity and clinical and biological features in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2001;28:509-13.
- Artlett C, Rasheed M, Russo-Stieglitz K, Sawaya H, Jiménez S. Influence of prior pregnancies on disease course and cause of death in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2002;61:346-50.
- Pisa F, Bovenzi M, Romeo L, Tonello A, Biasi D, Bambara L, et al. Reproductive factors and the risk of scleroderma. *Arthritis Rheum*. 2002;40:451-6.
- Ichikawa N, Kotake S, Hakoda M, Kamatani N. Microchimerism in Japanese patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2001;44:1226-8.
- Roberts-Thompson P, Walker J, Hakendorf P, Smith M, Ahern M. Microchimerism in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2002;46:2538-48.
- Welsh K. Scleroderma: chimerism, the blind man, and the scientist. *Lancet*. 1998;351:540-1.
- Burastero S, Galbiati S, Vassallo A, Sabbadini G, Bellone M, Marchionni L, et al. Cellular microchimerism as a lifelong physiologic status in parous women. *Arthritis Rheum*. 2003;48:1109-16.
- Callaghan A, Mijares-Boeckh-Behrens T, Balada Prades T, Solans-Laque R, Simeón-Aznar C, Fonollosa-Pla V, et al. Lack of evidence of foetal microchimerism in female Spanish patients with systemic sclerosis. *Lupus*. 2003;12:15-20.
- Murata H, Nakauchi H, Sumida T. Microchimerism in Japanese women patients with systemic sclerosis. *Lancet*. 1999;354:220.
- Carlucci F, Priori R, Valesini G. Microchimerism in Sjögren syndrome. *Rheumatology*. 2003;42:486-7.
- Martin L, Watier H, Vaillant L, Aractingi S. Sjögren's syndrome and vitiligo in a woman with posttransfusion microchimerism. *Am J Med*. 2001;111:419-21.
- Endo Y, Negishi I, Ishikawa O. Possible contribution of microchimerism to the pathogenesis of Sjögren's syndrome. *Rheumatology*. 2002;41:490-5.
- Kuroki M, Okayama A, Nakamura S, Sasaki T, Murai K, Shiba R, et al. Detection of maternal-fetal microchimerism in the inflammatory lesions of patients with Sjögren syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2002;61:1041-6.
- Aractingi S, Sibilia J, Meignin V, Maunay D, Hachulla E, Le Danff C, et al. Presence of microchimerism in labial salivary glands in systemic sclerosis but not in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*. 2002;46:1039-43.
- Carlucci F, Priori R, Alessandri C, Vlesini G, Stoppacciaro A. Y chromosome microchimerism in Sjögren syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2001;60:1078-9.
- Giacomelli R, Matucci-Cerinic M, Bombardieri S. Microchimerism in Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2002;61:1039-40.
- Toda I, Kuwana M, Tsubota K, Kawakami Y. Lack of evidence for an increased microchimerism in the circulation of patients with Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2001;60:248-53.
- Johnson K, McAkinton T, Mulcahy E, Bianchi D. Microchimerism in a female patient with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2001;44:2107-11.
- Mosca M, Curcio M, Lapi S, Velenti G, D'Angelo G, Rizzo G, et al. Correlations of Y chromosome microchimerism with disease activity in patients with SLE: analysis of preliminary data. *Ann Rheum Dis*. 2003;62:651-4.
- Filho A, Pavarino-Bertelli E, Alvarenga I, Fernandes R, Toledo E, Tajara M, et al. Systemic lupus erythematosus and microchimerism in autoimmunity. *Transplantation Proceedings*. 2002;34:2951-2.
- Reed AM, Shock LP, Picornell YJ. Microchimerism in children with juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum*. 1998;41 Suppl:S264.
- Reed AM, Picornell Y, Hardwood A, Kredich D. Chimerism in children with juvenile dermatomyositis. *Lancet*. 2000;356:2156-7.
- Artlett C, Ramos R, Jiménez S, Patterson K, Miller F, Rider L. Chimeric cells of maternal origin in juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Lancet*. 2001;357:887.
- Artlett C, Miller F, Rider L. Persistent maternally derived peripheral microchimerism is associated with the juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Rheumatology*. 2001;40:1279-84.
- Christner P, Artlett C, Conway R, Jiménez S. Increased circulating microchimeric cells in mice following injections of vinyl chloride. *Arthritis Rheum*. 1999;42 Suppl:S224.
- Christner P, Artlett C, Conway R, Jiménez S. Increased circulating microchimeric cells in mice following injections of vinyl chloride. *Arthritis Rheum*. 2000;43:2598-605.