

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 12/04/2026.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Giovana Fernanda Cosi Bento

Infecção bacteriana das membranas corioamnióticas *in vitro*: interação microbiana, resposta inflamatória/oxidativa e senescência celular.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Ciências – Área Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Guimarães da Silva
Coorientadora: Profa. Dra. Jossimara Poletti

**Botucatu
2024**

Giovana Fernanda Cosi Bento

Infecção bacteriana das membranas corioamnióticas in vitro: interação microbiana, resposta inflamatória/oxidativa e senescência celular.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Ciências – Área Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Guimarães da Silva
Coorientadora: Profa. Dra. Jossimara Poletini

Botucatu 2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Bento, Giovana Fernanda Cosi.

Infecção bacteriana das membranas corioamnióticas *in vitro* :
interação microbiana, resposta inflamatória/oxidativa e
senescência celular / Giovana Fernanda Cosi Bento. - Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de
Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Márcia Guimarães da Silva

Coorientador: Jossimara Polettini

Capes: 40103005

1. Estresse oxidativo. 2. Bacterioses. 3. Inflamação. 4. Sistemas
Microfisiológicos. 5. Trabalho de parto prematuro.

Palavras-chave: Estresse oxidativo; Infecção ascendente;
Inflamação; *Organ-on-chip*; Parto pré-termo.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE GIOVANA FERNANDA COSI BENTO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 12 dias do mês de abril do ano de 2024, às 14:00 horas, no(a) Anfiteatro Kunie Iabuki Rabello Coelho - Depto. de Patologia - FM/Botucatu - Unesp, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de GIOVANA FERNANDA COSI BENTO, intitulada **Infecção bacteriana das membranas corioamnióticas in vitro: interação microbiana, resposta inflamatória/oxidativa e senescência celular.** A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. MARCIA GUIMARÃES DA SILVA (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Depto. de Patologia / FM/Botucatu - Unesp, Prof. Dr. RODOLFO DE CARVALHO PACAGNELLA (Participação Virtual) do(a) Depto. de Tocoginecologia / FCM/Campinas - Unicamp, Profa. Dra. GISLANE LELIS VILELA DE OLIVEIRA (Participação Presencial) do(a) Depto. de Ciências Químicas e Biológicas / IB/Botucatu - Unesp. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: Aprovada. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Profa. Dra. MARCIA GUIMARÃES DA SILVA

Título da Tese: Infecção bacteriana das membranas corioamnióticas *in vitro*: interação microbiana, resposta inflamatória/oxidativa e senescência celular.

Impacto científico esperado: Validação de um novo modelo de estudo que mimetiza o microambiente uterino *in vivo*, o *feto-maternal interface organ-on-chip* para estudos de infecção bacteriana ascendente do trato genital inferior feminino, permitindo a análise da resposta inflamatória/oxidativa, de vias de sinalização celular e senescência.

Impacto social: Atualmente, o parto pré-termo é considerado um problema de saúde pública mundial. Os resultados e achados desses estudos permitem que estratégias na clínica obstétrica associadas ao parto pré-termo sejam atualizadas, considerando que a infecção bacteriana ascendente está associada à aproximadamente 40% dos partos pré-termo. A contribuição dessa tese se insere nos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU na qualidade “Saúde e Bem-estar”.

Impacto econômico: A redução da prevalência de parto pré-termo reduz os custos no sistema de saúde envolvidos nas morbidades maternas e neonatais resultantes desse desfecho gestacional adverso.

Dedicatória

Dedico esse trabalho aos meus pais, Claudia e Enzo, que são meu porto seguro, minha inspiração e exemplo.

E aos meus avós, Neusa, Altino (*in memoriam*), Maria (*in memoriam*) e Elzo (*in memoriam*) que sempre me incentivaram, comemoraram minhas vitórias e se orgulharam da minha caminhada.

“A beleza do caminho está na caminhada.”
(Pe. Lucas Emanuel Almeida)

Agradecimientos

A **Deus** e à **Nossa Senhora**,

Por abençoarem minha caminhada e me confortarem quando mais precisei.

Aos meus pais, **Enzo e Claudia**,

Pelo apoio incondicional ao longo de todos esses anos, e pela compreensão nos meus momentos de ausência. A conclusão dessa etapa não teria sentido se vocês não estivessem aqui celebrando esse momento comigo. Vocês acreditaram em mim quando nem eu acreditei. Essa conquista é nossa.

Aos meus avós,

Maria, Elzo e Altino, que hoje não estão presentes fisicamente, mas que continuam cuidando de mim. Minha avó materna e madrinha, **Neusa**, de fé inigualável, por sempre rezar por mim e me fazer acreditar nas coisas boas da vida.

À minha família,

Em especial meus tios e minha prima, **Marcelo, Adriana e Juliana**, por sempre estarem na torcida e comemorarem as conquistas junto comigo.

À minha orientadora, **Márcia Guimarães da Silva**,

Pelo aprendizado ao longo da minha carreira acadêmica. Pelos ensinamentos e por ajudar a acreditar em mim mesma. Saiba que aprendi muito e sou grata pela orientação, apoio e incentivo que me ajudaram a ser a pesquisadora que sou hoje.

À minha coorientadora, **Jossimara Polettini**,

Pelo suporte ao longo desses anos mesmo à distância.

Ao meu namorado, **Thales Hilário Húngaro**,

Pela parceria, compreensão e apoio ao longo desses anos. Que entendeu minhas ausências e me ajudou a deixar a caminhada mais confiante. Eu sou extremamente grata e feliz por ter você ao meu lado.

Desde criança fui agraciada com muitas pessoas especiais e queridas, que eu tenho a honra de chamar de amigos. Agora deixo aqui meu agradecimento especial a alguns deles:

Julia Liv Stepanies, minha irmã de alma, você viveu comigo tudo isso mesmo estando do outro lado do mundo. Obrigada por sempre me ouvir (sempre mesmo!) e estar presente. Há 22 anos você caminha ao meu lado e comemora comigo as vitórias. Sua participação nessa conquista é imensa.

Júlia Andrade de Pessoa Morales,

Que se faz presente independente da distância. Obrigada por ser ouvido e ombro amigo, pelos conselhos e por me mostrar que no fim tudo vai dar certo.

Mariana de Castro Silva,

Temos juntas uma caminhada de muitos anos, e sou grata por todos os conselhos, momentos e aprendizados. Foi uma grande felicidade caminhar com você ao longo desses anos. Minha gratidão pelas histórias que compartilhamos.

Jeniffer Sena Baptista Ferreira,

Por sempre me incentivar e acreditar em mim. Mesmo nos momentos mais difíceis você nunca me deixou desanimar. A torcida que você sempre teve por mim é mais do que recíproca. Que bom que nossos caminhos se encontraram e que alegria é estar perto de alguém com o coração tão especial.

Aos amigos que a profissão me deu e que hoje levo para a vida,

Rafael Belleti, você fez essa caminhada tão mais leve e feliz, que bom que foi ter vivido essa fase com você. Obrigada pela parceria e companhia sempre, e por sempre topar minhas loucuras **Geovanna Cursino**, por quem eu tenho um carinho imenso e que pra mim será a eterna Baby, obrigada por tanta confiança, você foi um presente no meu caminho. **Guilherme Nastaro**, o filho científico e o fã que o laboratório me deu, e que hoje eu chamo de amigo da vida, você é luz e ter você na minha vida é um presente. **Marina Molina**, em tão pouco tempo se tornou muito especial, obrigada por ter feito a caminhada do último ano mais leve e pela companhia de um coração leve e feliz.

Aos amigos que Botucatu me deu,

Stefanny Camargos, presente que a Rep. TPM deixou ficar na minha vida, minha parceira, obrigada pela caminhada juntas ao longo desses anos. **Larissa Bastos**, a Biomed 48 me deu uma amiga que segue comigo na vida e se faz presente nos momentos especiais. A todas as moradoras da **República TPM**, em especial **Nathaliê Canhameiro**, por ter uma calma contagiante e por sempre me mostrar o lado bom das coisas, **Iuly Berndt** pelas conversas que me faziam voltar a ter os pés no chão, e pelas palavras de conforto sempre, **Bruna Arantes** pelo apoio e parceria em um dos momentos mais desafiadores desse doutorado, o doutorado sanduíche. Minhas amigas que o Ciências Sem Fronteiras me apresentou há 10 anos atrás, **Helen, Mariana, Lectícia e Juliana**, que seguem comigo até hoje e que eu levo no meu coração com a alegria de nossos caminhos terem se encontrado.

Aos amigos de São Paulo,

Agradeço por mesmo depois de tantos anos morando longe, continuarem ao meu lado. **Fernanda e Laís**, por entenderem minha ausência, seguirem na torcida por mim e por me mostrar que a amizade vai além de distância. **Larissa**, que apesar das loucuras da vida adulta, a gente segue torcendo pela felicidade e sucesso uma da outra.

A todos do Laboratório de Imunopatologia da Relação Materno-Fetal,

Bruna, Laura, Rosana, agradeço por tudo o que me ensinaram, pela paciência e por nunca medirem esforços para estarem presentes. Sou grata a todos esses anos

de ensinamentos e memórias. **Vitória, Débora, Ana Carolina, Laura, Rafael, Luiza, Maria Eduarda, Verônica**, os *babies* que eu espero ter contribuído na formação e que sou muito feliz por estarem presentes no meu dia-a-dia durante essa trajetória.

To **Dr. Ramkumar Menon**,

For the guidance, support, and opportunities that you gave me during my year at UTMB – Galveston. It was an unforgettable experience that's changed me professionally and personally.

To the Menon Lab members, **Lauren, Rheanna, Tuya, Ryan, Ourlad, Ananth**, I've learned so much from you all. Thank you for the patience, the assistance, and for giving me the opportunity to learn new things. Not only in a professional matter, you all also made me feel part of the lab since day one.

To the family that Galveston gave me,

Lisa, Talar, and Phyllis. You made my year in Galveston so special. I am deeply grateful to have met you. The moments that we shared and the memories we created will be always in my heart. You all welcomed me with open arms, as a friend, as a daughter, and as part of your family. Lisa, you and your blessed family made me feel like part of it, and for that, I will be forever grateful. I miss you all so much.

To my dear friend **Manuel Vidal**,

I don't have words to thank you for everything that you've done for me. Meeting you was a gift in such a challenging time for me. Galveston gave me brother, and I'll always remember the memories we created together. Palagi akong mag-uugat para sa iyo at sa iyong kaligayahan.

Ao time de profissionais que estiveram ao meu lado nessa caminhada,

Raquel Bertani, Michelle Pedreca, Rafaela Bonalume, por terem me ajudado a manter a saúde física e mental ao longo desses anos. Sou grata pela dedicação, atenção e suporte que vocês me ofereceram ao longos desses anos.

A todos que eu não citei especificamente aqui, mas que em algum momento e de algum forma torceram, me incentivaram, me ajudaram e apoiaram para que concluísse essa etapa.

Aos funcionários da **Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPLEX)**, em especial Georgette, Paulinha, Vicky, Regina, Leandro, Denise, Lu, Guiomar, Esmite, Rogério, André, Sr. Dimas, Dona Lourde e Daiane. Cada um se dedicando integralmente ao seu trabalho e ajudando de modo direto ou indireto para que esse momento finalmente chegasse.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Patologia, em especial à **Vânia**, pela paciência e por toda assistência sem nunca medir esforços.

Á da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas concedidas nesse período.

À cidade de Botucatu,

Que em 2012 acolheu uma jovem de 17 anos, cheia de sonhos, sem saber tudo o que ainda viveria. As paisagens lindas, um pôr do sol inigualável, um clima único (único mesmo!), um nascer do sol de tirar o fôlego, os ventos da Cuesta e seus cantinhos especiais fizeram dessa cidade meu lar desde então. Entre idas e vindas, Botucatu sempre teve uma parte importante no meu coração. Encerro esse ciclo com uma gratidão imensa a essa cidade que foi cenário de grandes capítulos da minha vida.

E, por último, um agradecimento especial a mim mesma. Foram 4 anos de muito trabalho, dedicação, desafios, aprendizados e conquistas. Desde 2015 estive nesse laboratório que me fez amar a pesquisa. Uma caminhada regada a momentos difíceis, mas também de muitos momentos bons, felizes, e de muito aprendizado. Em 2020, quando iniciei o doutorado, comecei a plantar sementes que hoje estou colhendo com o coração cheio de gratidão por não ter desistido de ser a mulher pesquisadora que eu sempre sonhei ser. Hoje, tenho comigo um livro cheio de histórias, vários capítulos e muitas, muitas memórias felizes. A Giovana de 2012 que chegou em Botucatu estaria orgulhosa desse momento.

Sumário

Resumo	17
Abstract	20
Capítulo I.....	23
Revisão de Literatura	24
1. A resposta imunológica na gestação.....	25
2. Parto pré-termo	28
3. Estrutura morfofuncional das membranas fetais.....	31
4. Infecção ascendente do trato genital inferior feminino para a cavidade amniótica.....	33
5. Mecanismos envolvidos na infecção ascendente e o parto pré-termo	36
5.1. Inflamação.....	36
5.2. Estresse oxidativo e senescência.....	38
6. Modelos de estudos.....	39
6.1. Modelos <i>in vitro</i> e animais.....	39
6.2. Cultura 3D e <i>organ-on-chip</i>	41
Referências.....	43
Capítulo II	54
Capítulo de Livro 1	55
1. Introduction.....	58
2. Materials	59
3. Methods.....	60
4. Notes	67
5. References.....	69
Tables	70
Figures.....	70
Capítulo III.....	76
Artigo Científico 1	77
Abstract.....	79
Introduction.....	80
Methods.....	83
Results.....	91
Discussion.....	95
Conclusion	99
Abbreviations List.....	101

References.....	102
Tables.....	108
Figures.....	109
Supporting Information.....	116
Capítulo IV.....	118
Artigo Científico 2.....	119
Abstract.....	121
Introduction.....	122
Methods.....	124
Results.....	129
Discussion.....	130
Conclusion.....	134
Figures.....	135
List of abbreviations:.....	137
References.....	138
Conclusão final.....	142

Resumo

INTRODUÇÃO: A ascensão bacteriana do trato genital inferior feminino para a cavidade amniótica está associada a cerca de 40% do total de partos pré-termo (PPT) espontâneos. O gênero *Ureaplasma* spp. é um dos mais frequentemente isolados do líquido amniótico, seguido de outras espécies como *Streptococcus aureus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus anaerobius* que também estão associadas a esse desfecho gestacional adverso. A resposta inflamatória tem participação fundamental no desencadeamento do parto pré-termo, aliado ao estresse oxidativo e a senescência e, juntos, esses processos corroboram para a deflagração do parto pré-termo espontâneo. O desenvolvimento de novos modelos *in vitro* apropriados que mimetizam a propagação da infecção *in vivo* é essencial para compreensão da patogênese dos desfechos gestacionais, com ênfase no entendimento de diferentes interações bacterianas. O objetivo desse estudo foi avaliar a regulação da resposta inflamatória e oxidativa em modelos *in vitro* de células que compõe as membranas corioamnióticas com estimulação bacteriana associada ao parto pré-termo, e correlacionar com a senescência e sinalização celular.

METODOLOGIA: Células decíduais, coriônicas trofoblásticas, amnióticas mesenquimais e amnióticas epiteliais imortalizadas foram cultivadas em modelo *in vitro* 2D e modelo de *organ-on-chip*. O *feto-maternal interface organ-on-chip* (FMI-OOC) é um dispositivo microfisiológico que mimetiza a interface materno-fetal composto por 4 câmaras interconectadas por microcanais. A propagação ascendente de *U. parvum* foi confirmada para validação do modelo (Bento et al., 2023). Em seguida, determinamos o impacto da infecção na citotoxicidade, sinalização celular, transição celular e inflamação. O estresse oxidativo foi avaliado em modelo de cultura 2D de células amnióticas mesenquimais e epiteliais com mimetização de infecção polibacteriana.

RESULTADOS: No modelo FMI-OOC, *U. parvum* atravessou o córion e atingiu o epitélio do âmnio após 72 horas, mas não induziu a ativação de quinases de sinalização celular (p38MAPK e JNK) ou a transição celular (epitelial-mesenquimal), independentemente da presença de células imunes. A resposta inflamatória causada por *U. parvum*, determinada pelos níveis de Interleucina (IL)-6, IL-8, IL-10, TNF α e GM-CSF, foi limitada à interface coriodecidual e não promoveu inflamação na camada amniótica. No modelo de cultura 2D, a peroxidação lipídica e proteica causada pela infecção polibacteriana por espécies anaeróbias facultativas e estritas se limitou às células amnióticas epiteliais após 24 horas, enquanto que a infecção reduziu significativamente

os níveis da capacidade antioxidante total somente nas células amnióticas mesenquimais.

CONCLUSÕES: O modelo FMI-OCC foi validado para infecções ascendentes com células bacterianas vivas. Os nossos dados corroboram a sugestão que *U. parvum* é pouco imunogênico e não produz alterações inflamatórias maciças na interface feto-materna. Especulamos que a presença de *U. parvum* pode ainda comprometer a interface feto-materna, tornando-a suscetível a outras infecções patogênicas. Além disso, a infecção polibacteriana da camada amniótica está associada ao estresse oxidativo por meio da peroxidação lipídica e proteica, e da redução da capacidade antioxidante.

Palavras-chaves: parto pré-termo; infecção ascendente; inflamação; estresse oxidativo; senescência; *organ-on-chip*.

Abstract

INTRODUCTION: Ascending bacterial infection from the female lower genital tract to the amniotic cavity is associated with 40% of all spontaneous preterm births (PTB). The genus *Ureaplasma* spp. is one of the most frequently isolated from amniotic fluid, followed by other species such as *Streptococcus aureus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus anaerobius* which are also associated with this adverse gestational outcome. The inflammatory response plays a crucial role in triggering preterm birth, along with oxidative stress and senescence, and together these processes corroborate to the onset of spontaneous preterm birth. The development of new *in vitro* models that mimic the spread of infection *in vivo* is essential for understanding the pathogenesis of gestational outcomes, with an emphasis on understanding different bacterial interactions. The aim of this study was to evaluate the regulation of the inflammatory and oxidative response in *in vitro* models of cells which mimetize the fetal membranes stimulated with bacterial species associated with preterm birth, and to correlate this with senescence and cell signaling.

METHODOLOGY: Immortalized decidual, chorionic trophoblastic, amnion mesenchymal, and amnion epithelial cells were cultured in 2D *in vitro* model and *organ-on-chip* model. The fetomaternal interface organ-on-chip (FMI-OOC) is a microphysiological device that mimics the maternal-fetal interface composed of 4 chambers interconnected by microchannels. The ascending propagation of *U. parvum* was confirmed to validate the model (Bento et al., 2023). Next, we determined the impact of infection on cytotoxicity, cell signaling, cell transition, and inflammation. Oxidative stress was assessed in a 2D culture model of amniotic mesenchymal and epithelial cells mimicking polybacterial infection.

RESULTS: In the FMI-OOC model, *U. parvum* transversed the chorion and reached the amnion epithelial cells after 72 hours, but did not induce the activation of cell signaling kinases (p38MAPK and JNK) or cell transition (epithelial-mesenchymal), regardless of the presence of immune cells. The inflammatory response caused by *U. parvum*, determined by the levels of Interleukin (IL)-6, IL-8, IL-10, TNF α and GM-CSF, was limited to the choriodecidual interface and did not promote inflammation in the amniotic layer. In the 2D culture model, lipid and protein peroxidation caused by polybacterial infection by strict and facultative anaerobic species was limited to epithelial amniotic cells after 24 hours, while infection significantly reduced levels of total antioxidant capacity only in mesenchymal amniotic cells.

CONCLUSIONS: The FMI-OCC model was validated for ascending infections with live bacterial cells. Our data corroborate the suggestion that *U. parvum* is poorly immunogenic and does not produce massive inflammatory changes at the feto-maternal interface. We speculate that the presence of *U. parvum* may compromise the feto-maternal interface, making it susceptible to other pathogenic infections. In addition, polybacterial infection of the amniotic layer is associated with oxidative stress through lipid and protein peroxidation and reduced antioxidant capacity.

Keywords: preterm birth; ascending infection; inflammation; oxidative stress; senescence; *organ-on-chip*.

Capítulo I

Revisão de Literatura

1. A resposta imunológica na gestação

Os mecanismos imunológicos envolvidos na gestação contribuem para o estabelecimento de uma interface materno-fetal que participa do desfecho gestacional favorável ou adverso (1-3). Para que uma gestação alcance o termo, são necessários mecanismos imunológicos específicos em cada trimestre, com presença fundamental de células imunes para a facilitação e proteção da gestação (4). Um movimento orquestrado entre a invasão das células trofoblásticas e imunológicas é essencial para que a gestação tanto se desenvolva quanto se mantenha (5). Nesse sentido, a interface materno-fetal, que desempenha funções importantes ao longo de todo o desenvolvimento gestacional, é constituída por diferentes células imunes, como as células T, células T reguladoras, além de macrófagos, células dendríticas, células *natural killers* (NK), entre outras (6). A gravidez e o crescimento fetal representam um desafio não trivial para o sistema imune materno. Desde os estágios iniciais da implantação e formação da placenta até a evolução do parto vaginal bem-sucedido, os mediadores imunes maternos devem se apresentar finamente modulados para se evitar desfechos gestacionais adversos e até mesmo a perda gestacional. Em resumo, a forma como muitos mediadores imunes se expressa no cenário da gestação terá impacto na saúde materna e fetal. As células T reguladoras (Treg - CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺) desempenham um papel importante desde o momento da implantação até a manutenção da gestação (7). Esse tipo celular tem participação fundamental na tolerância imunogênica e também na homeostase dos tecidos (8,9). Além disso, a população de células Treg efetoras da decídua está aumentada no 3º trimestre de

gestação em comparação com o 1º trimestre (8).

De forma geral, o primeiro trimestre da gestação é caracterizado predominantemente pelo perfil Th (*Helper*)1 de expressão de citocinas, para estimular reparos do evento da implantação. Vários genes da resposta imune foram considerados como reguladores do período de implantação, incluindo o fator declínio de aceleração (DAF - *decay accelerating factor*), indoleamina 2,3 dioxigenase (IDO), Interleucina (IL-)15, receptor antagonista de IL-15, fator regulador de interferon-1 (IRF-1), linfotóxina, transcriptase 2 associado a NK (NKAT2) e NKG5. Esses genes estão envolvidos em um conjunto importante de funções, incluindo a promoção da proliferação das células NK uterinas, quimiotaxia, inibição da atividade citolítica das células NK, inibição do crescimento celular (células T e patógenos) e inibição da via clássica do sistema complemento (7). Nesse momento da gestação, é importante que o mecanismo de tolerância materno-fetal aconteça de forma adequada. No primeiro trimestre de gestação, 70% a 80% dos linfócitos presentes na mucosa uterina são linfócitos granulares grandes, que representam menos de 1% da população dos linfócitos do sangue periférico. Embora esses linfócitos sejam fenotipicamente e morfológicamente classificados como células NK, são menos citotóxicos que as células NK do sangue periférico (8). As células NK uterinas constituem 70% dos linfócitos da decídua humana, em contraste com as células NK do sangue periférico, que são menos de 15% dos linfócitos circulantes (9). Além disso, esses linfócitos uterinos proliferam, ativam-se na mucosa e são fonte de citocinas como o fator inibidor de leucemia (*leukemia inhibitory factor* - LIF) e fator estimulador

de colônia de macrófagos (*macrophage-colony stimulating factor* - M-CSF), fator de necrose tumoral (TNF), interferon-g (INF-g) e IL-10, as quais têm importante papel na implantação e desenvolvimento da placenta (7).

Já no segundo trimestre da gestação espera-se o perfil Th2, que tem como característica a expressão de citocinas, como IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, para facilitar a manutenção da gestação após o período de implantação. Esse perfil também está associado à produção de anticorpos pelas células B (10). A regulação e diferenciação das células Th2 acontece através das células dendríticas (CDs). Estudos mostram que as CDs desempenham papel importante nesse contexto, visto que a expressão de moléculas coestimuladoras OX40L e o ligante Notch (*Notch ligand Jagged 1*) promovem o *priming* de células Th2 (11). A expressão dos marcadores CD200 e B7-H1 em CDs atinge seu pico no segundo trimestre de gestação, desempenhando papel importante de imunorregulação nesse período (12). É no segundo trimestre de gestação que os neutrófilos estão em maior proporção quando comparado aos outros trimestres e ao período pós-parto. Já as células T CD4⁺ e as células T CD8⁺ têm a menor proporção nesse trimestre gestacional (13). Genes codificadores de proteínas têm expressão associada ao segundo trimestre de gestação. A família dos carreadores de solutos orgânicos (*solute carrier Family* – SLC), composta por diferentes tipos de transportadores e presente na membrana celular, tem sua expressão aumentada associada ao segundo trimestre de gestação. Além disso, genes como *CD55*, associado ao sistema complemento, *IFNGR1*, associado à via do interferon, *NLRP6*, associado à ativação do inflamassoma, também tiveram associação com esse trimestre (13).

Juntos, esses achados corroboram com a função de manutenção da gestação marcado pelo perfil Th2 de expressão de citocinas.

Finalmente o terceiro trimestre volta a ter o perfil Th1 para contribuir na deflagração do trabalho de parto, definido na literatura como uma síndrome inflamatória (14). A quantidade de neutrófilos nesse período se assemelha aos níveis do primeiro trimestre de gestação (13). Já os genes associados a esse período têm principalmente a função de resposta às infecções bacterianas e participação no processo de resposta imune efetora. Além disso, genes que codificam proteínas ribossômicas, genes do sistema complemento *CIQA/B/C* e gene *CD24*, expresso em granulócitos maduros e que modulam os sinais de crescimento e diferenciação dessas células, também estão associados ao último trimestre de gestação(13). Nesse contexto, os danos ao DNA de leucócitos são maiores no último trimestre de gestação, reforçando a associação da síndrome inflamatória, juntamente com o estresse oxidativo para o desfecho gestacional (15). A análise de *clusters*/família de miRNA de gestações no terceiro trimestre mostra que *clusters* associados a resposta imune inata e adaptativa, diferenciação celular e supressão de tumores estiveram *upregulated* quando comparado ao primeiro trimestre gestacional (16). O evento do terceiro trimestre considerado como uma síndrome inflamatória é reafirmado pela diminuição dos níveis de IL-10 que pode levar à ativação de células miometriais, culminando no início da contratilidade uterina (17).

2. Parto pré-termo

Quando um ou mais dos inúmeros processos que fazem parte da manutenção da gestação envolvendo diferentes sistemas (endócrino, imunológico e nervoso) é afetado, a consequência pode ser o parto pré-termo, definido por aquele que acontece antes das 37 semanas completas (259 dias) de gestação (18). O parto pré-termo é mundialmente considerado a principal causa de morbidade e mortalidade neonatais (19). No contexto mundial, 15 milhões de bebês nascem prematuros todo ano, correspondendo entre 5-18% do total de gestações, a depender a localidade (19, 20). Em 2014, 10,6% do total de gestações no mundo foram pré-termo, variando regionalmente com 13,4% na África e 8,7% na Europa (21). Já na América Latina, a prevalência foi de 9,8% do total de gestações. No Brasil, a taxa de partos pré-termo foi de 11,2%, correspondendo a 2,3% da proporção mundial de casos (21). Esses dados corroboram com a preocupação existente hoje na clínica obstétrica para que as taxas desse desfecho gestacional adverso diminuam, já que ao longo dos anos as taxas não têm sofrido alterações, podendo até aumentar a incidência em algumas regiões (19). Para que isso aconteça, é necessário estudar com precisão e meticulosidade a etiologia e os mecanismos envolvidos nesse cenário. Os partos pré-termo podem ser espontâneos ou por indicação médica devido às condições maternas ou fetais, sendo que os espontâneos contabilizam 75% do total de partos pré-termo, e incluem a rotura prematura de membranas pré-termo (RPM-PT) (22, 23).

É sabido que a etiologia do parto pré-termo é multifatorial, e alguns dos fatores sabidamente associados são o histórico anterior de parto pré-termo, fatores genéticos, condições maternas como diabetes, hipertensão, asma; hábitos

comportamentais como o uso de álcool, drogas e tabagismo; obesidade e desnutrição; etnia, e outro fatores como mostrado na Tabela 1(24-26) (Tabela 1). Somado à esses fatores, destaca-se a infecção bacteriana ascendente do trato genital inferior para a cavidade amniótica como responsável por 40% do total de casos de parto pré-termo (27).

Tabela 1. Fatores de risco associados ao Parto Pré-termo.

ETIOLOGIA PARTO PRÉ-TERMO	
FATORES DEMOGRÁFICOS E HÁBITOS	CONDIÇÕES MATERNAS
Idade materna ^(24 25 26)	Hipertensão ^(24 26)
Etnia ^(24 25 26 27)	Diabetes ^(24 26)
Nível de escolaridade ^(24 25)	Asma ^(24 26)
Tabagismo ^(24 25 26)	Infecção intra-amniótica ^(24 25 26)
Uso de álcool e drogas ^(24 26)	Histórico de parto pré-termo ^(24 25 27)
Exposição à poluentes ^(24 26)	Infecção do trato urinário ^(24 25 26 27)
Saúde mental ^(24 25 27)	Genética ^(24 26 27)
Status socioeconômico ^(24 25 26)	Infecções sexualmente transmissíveis ^(24 25 27)
	Índice de massa corporal (IMC) ^(25 26)
	Disbiose vaginal ^(24 25)
	Histórico de aborto ^(24 25)

Ref: (24) Menon et al., 2008; (25) Cobo et al., 2020; (26) Mead et al., 2023; (27) Goldenberg et al., 2008.

O modelo de infecção ascendente do trato genital inferior para a cavidade amniótica mais aceito atualmente é o descrito por Kim et al. (2010), que consiste na ascensão bacteriana advinda da microbiota vaginal, instalação em uma região focal cervical, seguido pela proliferação no líquido amniótico para subsequente infecção amniótica (Figura 1). Sendo o parto considerado um processo

inflamatório, sabe-se que estímulos patogênicos podem estimular a resposta imune decidual de forma não fisiológica e não modulada, com recrutamento e ativação leucocitárias local, resultando em resposta inflamatória nas membranas corioamnióticas, denominada de corioamnionite histológica (28, 29).

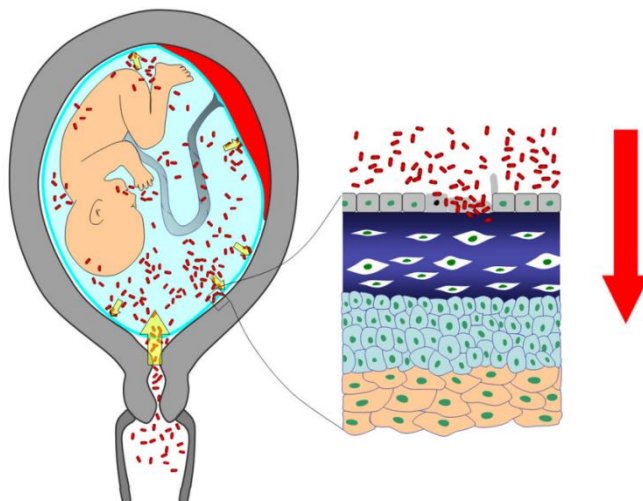


Figura 1. Modelo de infecção bacteriana ascendente do trato genital inferior para a cavidade amniótica (Kim et al. (2010).

3. Estrutura morfofuncional das membranas fetais

As membranas fetais, ou membranas corioamnióticas, são barreiras física e imunológica que envolvem o feto na cavidade amniótica (30). As membranas são constituídas de diferentes camadas celulares e por componentes da matriz extracelular (MEC), e também desempenham as funções de manter as condições ideais do líquido amniótico e de ser barreira imunológica, sendo essa última função confirmada pela presença de receptores *Toll-like* (TLR) no epitélio amniótico (31). Com relação à estrutura histológica das membranas fetais, o cório é a camada mais externa, constituído pelas camadas celular e reticular e pela membrana basal (32). Já a camada mais interna, o âmnio, é constituído por

monocamada de células epiteliais cuboides ou colunares juntamente com tecido rico em colágeno, intercalada por células mesenquimais (33). É o cório que está em contato com a decídua, camada formada a partir do endométrio e que é parte da mucosa uterina.

Nesse sentido, o termo interface materno-fetal compreende as membranas fetais e a decídua, tendo assim a representação dos lados materno e fetal (Figura 2) (34). Cada tipo celular que compõe a interface desempenha funções específicas e características individuais que, em conjunto, reforçam a importância dessa estrutura ao longo da gestação. A interface materno-fetal tem sido muito estudada no contexto dos desfechos gestacionais adversos (35-39). Cada tipo celular que compõe a interface está envolvido na produção de diferentes mediadores, que estão envolvidos em diferentes mecanismos e sinalizações celulares. As células epiteliais, por exemplo, podem expressar antígeno leucocitário humano G (HLA-G), envolvido na apresentação de antígenos e reforçando a função imunomoduladora dessa camada (40). Já as células amnióticas mesenquimais secretam diferentes tipos de colágeno que então farão parte da matriz extracelular, que também é composta por fibronectina e proteoglicanos (41). Além disso, as células coriônicas trofoblásticas são responsáveis por secretar hormônios, como progesterona e gonadotrofina coriônica humana (*human chorionic gonadotropin - HCG*)(42). As células da decídua, considerada o tecido uterino materno, estão intimamente relacionada com a resposta imune devido a presença de células imunes, como macrófagos (43). Além dos fatores de crescimento secretados por esse compartimento, como o fator de crescimento endotelial vascular (*Vascular*

endothelial growth factor -VEGF) e o fator de crescimento placentário (*Placental growth factor* - PLGF), citocinas e quimiocinas também são secretadas por essas

Figura 2. Estrutura histológica das membranas fetais.

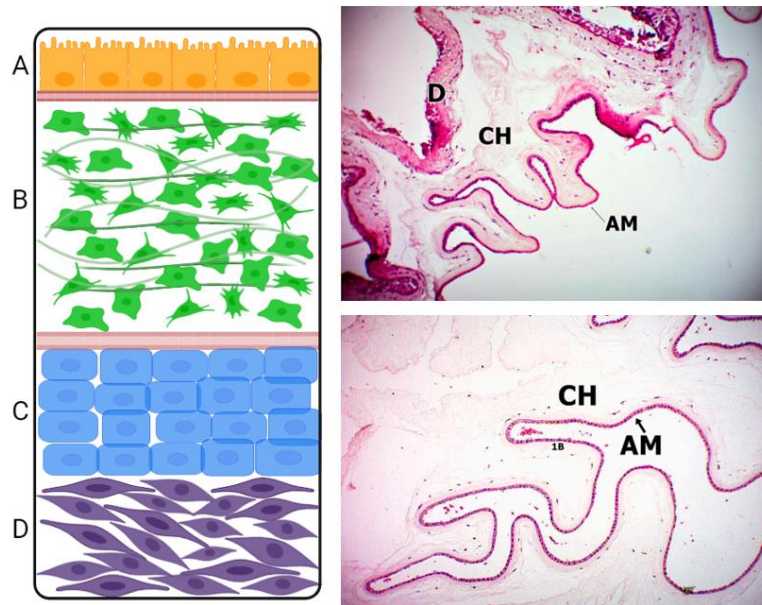


Figura 2. Estrutura histológica das membranas fetais. À esquerda, esquema produzido no software BioRender, apresentando os estratos histológicos que compõem as membranas fetais. A: Células Amnióticas Epiteliais (laranja), B: Células Amnióticas Mesenquimais (verde), C: Células Coriônicas Trofoblásticas (azul), D: Células deciduais (roxo). À direita, cortes histológicos das membranas feitas retirado do estudo de Singoei et al. (2021). AM: Camada Amniótica, CH: Camada Coriônica, D: Camada Decidual.

células. Sendo que esses dois últimos também são secretados pelos outros tipos celulares da interface materno- fetal (44).

4. Infecção ascendente do trato genital inferior feminino para a cavidade amniótica

São diversas as espécies bacterianas que podem ascender o trato genital

inferior feminino e causar infecção intra-amniótica, sendo esses microrganismos comumente identificados na microbiota vaginal, como por exemplo *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Bacteroides fragilis*, *Prevotella bivia*, *Sneathia sanguinegens*, *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma* spp. (29, 45-48). Na maioria dos casos, a infecção ascendente é polimicrobiana, sendo os micoplasmas genitais, *M. hominis*, *U. urealyticum* e *U. parvum* as espécies mais comumente identificadas no líquido amniótico de casos de parto pré-termo (45, 47). Considerando a característica polimicrobiana da infecção ascendente, é fundamental que a complexidade dos aspectos microbiológicos e os mecanismos de patogênese sejam estudados, visto que interações entre espécies podem culminar em desfechos clínicos distintos (49).

Diversos trabalhos na literatura têm associado os micoplasmas genitais com o parto pré-termo e morbidades neonatais, tanto na infecção do líquido amniótico (45, 50), como também na colonização vaginal (51, 52) e cervical (53). Porém, em revisão sistemática publicada pelo nosso grupo de pesquisa foi observado que apesar da associação da presença de *Ureaplasma* spp. com trabalho de parto pré-termo e com o parto pré-termo, não foram observadas associações desse gênero com marcadores inflamatórios, considerados a chave principal para o desencadeamento do trabalho de parto. Existe atualmente uma heterogeneidade na literatura com relação ao momento do diagnóstico, tipo de amostra usada para detecção e método de diagnóstico. Além disso, carga bacteriana e localização da infecção também são fatores que corroboram para que o papel dos micoplasmas genitais, no contexto do parto pré-termo, ainda seja inconclusivo (54).

A ambiguidade na associação de *Ureaplasma* spp. com resultados adversos na gestação foi observada não só nesse estudo, como também em outra revisão sistemática assinada por Jonduo et al. (55), que descreveram a falta de controle de fatores confundidores na maioria dos estudos incluídos na metanálise. Além disso, a maioria dos estudos incluídos apresentou análises univariadas dos dados e heterogeneidades similares às encontradas na revisão de Noda-Nicolau et al. (54). Outro estudo mostrou que amostras de líquido amniótico de pacientes que tiveram o desfecho de parto pré-termo foram negativas para detecção de *Ureaplasma* spp. pela técnica de PCR, porém associadas com outros fatores de risco, como hipertensão materna, baixo peso ao nascer do recém-nascido (56). Em suma, é fundamental que estudos sejam delineados para diminuir o *gap* existente no conhecimento do potencial dos micoplasmas genitais no contexto dos desfechos gestacionais adversos.

É importante também ressaltar o impacto causado pela infecção de outras espécies encontradas na microbiota vaginal no contexto do parto pré-termo. Nesse sentido, a infecção por *S. agalactiae* foi associada significativamente com o parto pré-termo (57-59) e com outros desfechos adversos, como a sepse neonatal precoce (59, 60) enquanto que a espécie *Staphylococcus aureus* foi associada à corioamnionite histológica e ao parto pré-termo (61, 62). *Fusobacterium nucleatum*, considerado um patógeno oral, foi identificado em amostras de casos de parto pré-termo (63), e a translocação da cavidade oral para o microambiente uterino já foi documentada (64). Essa espécie também já foi associada a casos de sepse neonatal (65) e ao óbito fetal (66). O gênero *Bacteroides* spp., sabidamente

associado a vaginose bacteriana, também já foi associado ao trabalho de parto pré-termo (45, 67, 68). Por fim, outra espécie identificada em amostras de líquido amniótico de casos de parto pré-termo é *Peptostreptococcus anaerobius* (45, 68).

Nesse sentido, apesar da infecção bacteriana ascendente ser a principal causa do parto pré-termo, as diferentes interações bacterianas e espécies envolvidas nesse processo culminam na complexidade tanto dos mecanismos patogênicos quanto nas interações com o hospedeiro. Ainda existem questões a serem elucidadas sobre o tema e por isso se fazem necessários modelos de estudos robustos para tanto.

5. Mecanismos envolvidos na infecção ascendente e o parto pré-termo

5.1. Inflamação

A deflagração do trabalho de parto pré-termo e a infecção bacteriana ascendente envolvem diferentes mecanismos e processos. A invasão microbiana da cavidade amniótica gera resposta inflamatória local que é caracterizada primeiramente pela presença de infiltrado leucocitário, tanto da resposta imune inata, quanto da adaptativa (69-72). Ainda nesse sentido, existe um aumento dos níveis de citocinas, quimiocinas e prostaglandinas (73-75). São os neutrófilos e macrófagos/monócitos os principais componentes do sistema imune envolvidos nos casos de infecção intra-amniótica, sendo esses últimos responsáveis pela produção e liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 α e β , IL-6, IL-8 e TNF- α (69, 70, 76, 77), entre outras. Entre a longa lista de citocinas, algumas se destacam no cenário do parto pré-termo, como a IL-6 e a IL-22 no contexto da

inflamação intra-amniótica que ocorre após infecção da cavidade (71, 77). Já a *High-Mobility Group Box 1* (HMGB1), proteína que funciona como padrão molecular associado a danos (DAMP) induziu resposta pró-inflamatória nas membranas fetais através do aumento dos níveis de IL-6, TNF- α e vias de sinalização associadas a inflamação fatores de transcrição como $\text{oNF}\kappa\text{B}$ (78). Não somente as citocinas estão envolvidas na deflagração do parto pré-termo, como também são consideradas por diversos grupos de pesquisa como biomarcadores desse desfecho gestacional adverso (79-81). Entre as diversas citocinas envolvidas nesse contexto, a IL-6 se destaca entre os especialistas da área devido a presença de diferentes receptores que podem se ligar a ela, culminando em perfil pró- ou anti-inflamatório (82). Porém, os resultados encontrados dessas citocinas ainda são controversos. Conde-Agudelo et al. (83) ao analisar 30 biomarcadores, incluindo a IL-6, concluiu que nenhum deles tinha o potencial para ser considerado biomarcador para o parto pré-termo.

Os TLRs, que são fisiologicamente expressos em células endoteliais e imunes da interface materno-fetal, podem ser ativados por DAMPS e padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), e é essa ativação que pode desencadear uma cascata de sinalização intracelular, que culmina na ativação de inflamassoma e subsequente liberação de quimiocinas e citocinas(77). Essa liberação resulta em um novo recrutamento de novas células imunes e ativação de vias de sinalização celular. Todos esses eventos corroboram para que ocorra contratilidade uterina, esvaecimento do colo uterino e rotura das membranas, processos que desencadeiam o trabalho de parto (76, 77, 84).

5.2. Estresse oxidativo e senescência

O estresse oxidativo é definido pelo desequilíbrio do estado redox, ou seja, o desequilíbrio entre o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e a capacidade antioxidante. Esse processo ocorre em células e tecidos, sendo que a presença de EROs faz parte de processos fisiológicos, como por exemplo a sinalização celular (85). Porém, esse processo também pode levar ao encurtamento do telômero por meio da resposta a danos do DNA (86). No contexto da gestação, o estresse oxidativo acontece após 37 semanas de gestação devido ao aumento da atividade metabólica do feto que leva ao envelhecimento da placenta. Já no cenário do trabalho de parto pré-termo, a ocorrência do estresse oxidativo leva ao encurtamento do telômero precoce que culmina no parto pré-termo (87).

Existe uma relação entre o estresse oxidativo e a senescência, definida pela parada do ciclo celular de forma irreversível, que pode ser causada por diferentes mecanismos, sendo o encurtamento de telômeros um deles (88). A senescência precoce da decídua pode levar ao óbito fetal e ao parto pré-termo (87), e assim como o estresse oxidativo, a senescência é um processo fisiológico envolvido no contexto da gestação. Porém, quando ocorre antes do momento ideal, está associada aos desfechos adversos (89). Estudo com cortes histológicos das membranas corioamnióticas mostrou que marcadores de senescência celular, como o p53 e p21 estavam aumentados em casos de parto pré-termo e RPM-PT (90). Além disso, as células senescentes apresentam mudanças em seu fenótipo, e como elas seguem metabolicamente ativas, a secreção de fatores de crescimento e

citocinas continua ocorrendo. Juntos, a secreção desses fatores é denominada de fenótipo secretório associado à senescência, ou SASP (91, 92), com aumento da expressão de IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α em células senescentes quando comparado com células normais (93, 94).

A proteína-quinase ativada por mitógeno (p38 MAPK) é uma das responsáveis pelo dano oxidativo causado pelo estresse oxidativo (95), sendo também ativada por citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 (96). Estudos demonstraram o papel da p38 MAPK em vários estágios de eventos reprodutivos, porém, os sinais que causam sua indução e ativação, assim como sua expressão ainda não estão completamente elucidados (27). Sabe-se que tanto a p38 MAPK quanto a Jun N-terminal kinase (JNK) estão envolvidas no trabalho de parto a termo e no pré-termo em mecanismos cruciais, como a regulação de genes de citocinas inflamatórias e apoptose (97, 98).

6. Modelos de estudos

6.1. Modelos *in vitro* e animais

Os trabalhos com modelos *in vitro* e modelos animais, como o de roedores por exemplo, são os mais utilizados mundialmente para o estudo dos desfechos gestacionais adversos. Conhecimentos importantes que possibilitaram o avanço no entendimento da fisiopatologia das complicações gestacionais, em especial, sobre a infecção bacteriana ascendente. Modelos *in vitro* podem incluir tanto a cultura de tecidos da interface materno-fetal, quanto a cultura de células que compõem esse microambiente. Estudo utilizando modelo de cultura de tecidos das

membranas fetais mostrou que o contexto polimicrobiano é fundamental para determinar a potência das interações de diferentes espécies na intensidade da resposta inflamatória na interface materno-fetal (38). Também foi possível investigar através de estudos de cultura celular *in vitro* os efeitos do parto pré-termo em doenças pulmonares no feto (99), o potencial terapêutico de moléculas com ação imunomoduladora (100) e o impacto de exossomos na deflagração da resposta inflamatória desse desfecho (101). Em conjunto, existe uma quantidade considerável de estudos na literatura que fazem o uso de modelos experimentais *in vitro*.

Os modelos animais incluem o uso de roedores, primatas, entre outros. Utilizando diferentes modelos e *designs* experimentais de roedores, com o objetivo de avaliar a resposta inflamatória e o desfecho do parto pré-termo, estudos demonstraram associação significativa com a infecção/inflamação intra-amniótica (102-106). O trabalho de parto pré-termo foi associado a níveis de IL-1 β e TNF- α (103, 107, 108) em modelos de roedores. Modelos experimentais utilizando primatas também foram criados não somente para estudar o parto pré-termo, como também outros desfechos gestacionais adversos (109-111). Estudo de Kelleher et al. (112) investigou o efeito da infecção intra-amniótica por *U. parvum* na função hemodinâmica e cardíaca, e observou o aumento do comprometimento da artéria pulmonar fetal na presença da infecção.

Porém, apesar desses modelos serem amplamente usados, todos contam com limitações. Os modelos de roedores não mimetizam a estrutura histológica da cavidade humana. Já os modelos de cultura 2D *in vitro* não conseguem mimetizar

interações entre as células, especialmente quando se trabalha com tipos de células diferentes e de interfaces diferentes. Já os modelos de primatas são restritos a instituições de pesquisa específicas, têm um custo elevado para execução, além da aprovação no conselho de ética ser extremamente rigorosa.

6.2. Cultura 3D e *organ-on-chip*

Para superar essas limitações, o desenvolvimento de modelos que mimetizem o ambiente *in utero* são fundamentais para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na interface materno-fetal que levam a desfechos gestacionais adversos, uma vez que revelam que os tecidos gestacionais, especialmente o epitélio amniótico e as células coriônicas e deciduais, respondem ao estímulo bacteriano com aumento de mediadores da resposta imune inata (113, 114).

Avanços recentes em modelos de cultura 3D e modelos microfisiológicos, como os dispositivos *organ-on-chip* (OOC), ajudam a mimetizar diferentes órgãos intrauterinos, possibilitando o cultivo de diferentes tipos celulares interconectados por microcanais, mimetizando um sistema de órgãos como visto no útero (115, 116). Existem modelos de OOC para diferentes órgãos do corpo humano (117) e na literatura já estão estabelecidos modelos de OOC de pulmão (118, 119), coração (120, 121), rim (122, 123), fígado (124, 125), entre outros.

O *feto-maternal interface organ-on-chip* (FMiOOC) foi desenvolvido para recriar ambos os lados, materno (decídua) e fetal (âmnio e cório) da interface materno-fetal (126). Esse OOC é composto por 4 câmaras, interligadas por 24

microcanais, sendo que cada câmara é composta por um tipo de célula da interface materno fetal (Figura 3). Fazem parte do FMi-OOC as células deciduais,

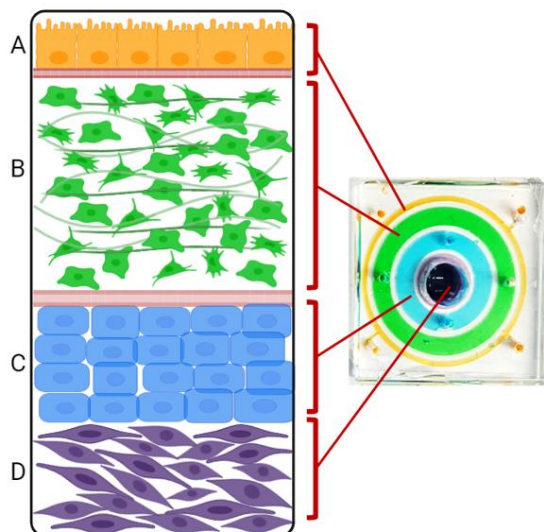


Figura 3. Esquema da estrutura do *feto-maternal interface organ-on-chip* (FMi-OOC). O dispositivo é composto por quatro câmaras circulares conectadas por microcanais. As câmaras correspondem ao seguinte: câmara decidual (roxo- D), câmara de trofoblasto do córion (azul - C), câmara mesenquimal do âmnio (verde - B) e câmara epitelial do âmnio (laranja - A). O desenho esquemático foi criado usando o software BioRender.

coriônicas trofoblásticas, amnióticas mesenquimais e amnióticas epiteliais.

Esse modelo foi usado anteriormente para testar alterações patogênicas causadas por constituintes da parede bacteriana (lipopolissacarídeos [LPS]) (126), produtos químicos ambientais na interface materno-fetal (127) e a farmacocinética de medicamentos (128). Esses dispositivos foram previamente validados por meio de estudos em modelos animais e resultados de estudos anteriores mostram a boa funcionalidade desse OOC, que consegue mimetizar a interface materno-fetal que existe *in vivo*, além de possibilitar o estudo de desfechos gestacionais adversos. Em suma, esse modelo é considerado uma alternativa aos métodos já existentes para estudar a infecção ascendente das

espécies bacterianas do trato genital inferior feminino para a cavidade amniótica.

Diante do exposto, estudos sobre diferentes espécies bacterianas associadas ao parto pré-termo assim como os mecanismos de inflamação e estresse oxidativo envolvidos nesse processo, são fundamentais para que estratégias de prevenção e redução da prevalência desse desfecho gestacional adverso sejam desenvolvidas. Além disso, o desenvolvimento de estudos utilizando modelos que permitam que esse cenário seja mimetizado *in vitro*, possibilita o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos. O modelo FMI-OOC possibilita estudos robustos acerca da infecção bacteriana ascendente, assim como a análise da resposta inflamatória e vias de sinalização celular associadas ao parto pré-termo.

Referências

1. Nasri F, Zare M, Hesampour F, Ahmadi M, Ali-Hassanzadeh M, Mostafaei S, et al. Are genetic variations in IL-1 β and IL-6 cytokines associated with the risk of pre-eclampsia? Evidence from a systematic review and meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2022;35(25):6600-9.
2. Bagkou Dimakou D, Lissauer D, Tamblyn J, Coomarasamy A, Richter A. Understanding human immunity in idiopathic recurrent pregnancy loss. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2022;270:17-29.
3. Stefańska K, Zieliński M, Jankowiak M, Zamkowska D, Sakowska J, Adamski P, et al. Cytokine Imprint in Preeclampsia. *Front Immunol.* 2021;12:667841.
4. Mor G, Cardenas I, Abrahams V, Guller S. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. *Ann N Y Acad Sci.* 2011;1221:80-7.
5. Guzeloglu-Kayisli O, Basar M, Arici A. Basic aspects of implantation. *Reprod Biomed Online.* 2007;15(6):728-39.

6. Yang F, Zheng Q, Jin L. Dynamic Function and Composition Changes of Immune Cells During Normal and Pathological Pregnancy at the Maternal-Fetal Interface. *Front Immunol.* 2019;10:2317.
7. Saito S. Reconsideration of the Role of Regulatory T Cells during Pregnancy: Differential Characteristics of Regulatory T Cells between the Maternal-Fetal Interface and Peripheral Sites and between Early and Late Pregnancy. *Med Princ Pract.* 2022;31(5):403-14.
8. Tsuda S, Zhang X, Hamana H, Shima T, Ushijima A, Tsuda K, et al. Clonally Expanded Decidual Effector Regulatory T Cells Increase in Late Gestation of Normal Pregnancy, but Not in Preeclampsia, in Humans. *Front Immunol.* 2018;9:1934.
9. Tsuda S, Nakashima A, Shima T, Saito S. New Paradigm in the Role of Regulatory T Cells During Pregnancy. *Front Immunol.* 2019;10:573.
10. Lobo SC, Huang ST, Germeyer A, Dosiou C, Vo KC, Tulac S, et al. The immune environment in human endometrium during the window of implantation. *Am J Reprod Immunol.* 2004;52(4):244-51.
11. Kitaya K, Yasuda J, Yagi I, Tada Y, Fushiki S, Honjo H. IL-15 expression at human endometrium and decidua. *Biol Reprod.* 2000;63(3):683-7.
12. Koopman LA, Kopcow HD, Rybalov B, Boyson JE, Orange JS, Schatz F, et al. Human decidual natural killer cells are a unique NK cell subset with immunomodulatory potential. *J Exp Med.* 2003;198(8):1201-12.
13. Raghupathy R, Makhseed M, Azizieh F, Al-Azemi MMK, Hassan NA, Bandar A. Th1 and Th2 Cytokine Profiles in Successful Pregnancy and Unexplained Recurrent Abortions. *Reproductive Immunology.* Dordrecht: Springer Netherlands; 1999. p. 149-58.
14. Walker JA, McKenzie ANJ. T. *Nat Rev Immunol.* 2018;18(2):121-33.
15. Wei R, Lai N, Zhao L, Zhang Z, Zhu X, Guo Q, et al. Dendritic cells in pregnancy and pregnancy-associated diseases. *Biomed Pharmacother.* 2021;133:110921.
16. Wright ML, Goin DE, Smed MK, Jewell NP, Nelson JL, Olsen J, et al. Pregnancy-associated systemic gene expression compared to a pre-pregnancy baseline, among healthy women with term pregnancies. *Front Immunol.* 2023;14:1161084.
17. Thaxton JE, Nevers TA, Sharma S. TLR-mediated preterm birth in response to pathogenic agents. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2010;2010.
18. Jiang X, Bar HY, Yan J, West AA, Perry CA, Malysheva OV, et al. Pregnancy induces transcriptional activation of the peripheral innate immune system and increases oxidative DNA damage among healthy third trimester pregnant women. *PLoS One.* 2012;7(11):e46736.

19. Gu Y, Sun J, Groome LJ, Wang Y. Differential miRNA expression profiles between the first and third trimester human placentas. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013;304(8):E836-43.
20. Reyes-Lagos JJ, Peña-Castillo M, Echeverría JC, Pérez-Sánchez G, Álvarez-Herrera S, Becerril-Villanueva E, et al. Women Serum Concentrations of the IL-10 Family of Cytokines and IFN- γ Decrease from the Third Trimester of Pregnancy to Active Labor. *Neuroimmunomodulation.* 2017;24(3):162-70.
21. Saúde SUS- Ministério da Saúde. Definições adotadas pela Assembléia Mundial da Saúde 2019 [Available from: <http://www2.datasus.gov.br/cid10/V2008/WebHelp/definicoes.htm>].
22. World Health Organization - WHO. Born too soon: decade of action on preterm birth. 2023. Available from: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo/>.
23. Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm labor: one syndrome, many causes. *Science.* 2014;345(6198):760-5.
24. Chawanpaiboon S, Vogel JP, Moller AB, Lumbiganon P, Petzold M, Hogan D, et al. Global, regional, and national estimates of levels of preterm birth in 2014: a systematic review and modelling analysis. *Lancet Glob Health.* 2019;7(1):e37-e46.
25. Martin JA, Hamilton BE, Osterman MJK, Driscoll AK. Births: Final Data for 2018. *Natl Vital Stat Rep.* 2019;68(13):1-47.
26. Griggs KM, Hrelac DA, Williams N, McEwen-Campbell M, Cypher R. Preterm Labor and Birth: A Clinical Review. *MCN Am J Matern Child Nurs.* 2020;45(6):328-37.
27. Menon R. Spontaneous preterm birth, a clinical dilemma: etiologic, pathophysiologic and genetic heterogeneities and racial disparity. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008;87(6):590-600.
28. Cobo T, Kacerovsky M, Jacobsson B. Risk factors for spontaneous preterm delivery. *Int J Gynaecol Obstet.* 2020;150(1):17-23.
29. Mead EC, Wang CA, Phung J, Fu JY, Williams SM, Merialdi M, et al. The Role of Genetics in Preterm Birth. *Reprod Sci.* 2023;30(12):3410-27.
30. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet.* 2008;371(9606):75-84.
31. Andrews WW, Goldenberg RL, Faye-Petersen O, Cliver S, Goepfert AR, Hauth JC. The Alabama Preterm Birth study: polymorphonuclear and mononuclear cell placental infiltrations, other markers of inflammation, and outcomes in 23- to 32-week preterm newborn infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(3):803-8.
32. Cappelletti M, Presicce P, Kallapur SG. Immunobiology of Acute Chorioamnionitis. *Front Immunol.* 2020;11:649.

33. Czik MJ, McCarthy FP, Murphy KE. Chorioamnionitis: from pathogenesis to treatment. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(9):1304-11.
34. Kim YM, Romero R, Chaiworapongsa T, Kim GJ, Kim MR, Kuivaniemi H, et al. Toll-like receptor-2 and -4 in the chorioamniotic membranes in spontaneous labor at term and in preterm parturition that are associated with chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191(4):1346-55.
35. French JI, McGregor JA. The pathobiology of premature rupture of membranes. *Semin Perinatol.* 1996;20(5):344-68.
36. Kendal-Wright CE. Stretching, mechanotransduction, and proinflammatory cytokines in the fetal membranes. *Reprod Sci.* 2007;14(8 Suppl):35-41.
37. Singoei M, Obimbo MM, Odula PO, Gitaka J, Ongidi IH. Changes in the structure of chorioamniotic membrane in patients with malaria in pregnancy. *Placenta.* 2021;114:42-9.
38. Bhati T, Ray A, Arora R, Siraj F, Parvez S, Rastogi S. Immune regulation by activation markers at fetomaternal interface in infection-associated spontaneous preterm birth. *Cytokine.* 2023;170:156336.
39. Jeschke U, Hutter S, Heublein S, Vrekoussis T, Andergassen U, Unverdorben L, et al. Expression and function of galectins in the endometrium and at the human fetomaternal interface. *Placenta.* 2013;34(10):863-72.
40. Jin J, Richardson L, Sheller-Miller S, Zhong N, Menon R. Oxidative stress induces p38MAPK-dependent senescence in the fetomaternal interface cells. *Placenta.* 2018;67:15-23.
41. Noda-Nicolau NM, Poletti J, Peltier MR, da Silva MG, Menon R. Combinations and loads of bacteria affect the cytokine production by fetal membranes: An in vitro study. *Am J Reprod Immunol.* 2016;76(6):504-11.
42. Martin LF, Moço NP, de Lima MD, Poletti J, Miot HA, Corrêa CR, et al. Histologic chorioamnionitis does not modulate the oxidative stress and antioxidant status in pregnancies complicated by spontaneous preterm delivery. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2017;17(1):376.
43. Morandi F, Marimpietri D, Görgens A, Gallo A, Srinivasan RC, El-Andaloussi S, et al. Human Amnion Epithelial Cells Impair T Cell Proliferation: The Role of HLA-G and HLA-E Molecules. *Cells.* 2020;9(9).
44. Niknejad H, Peirovi H, Jorjani M, Ahmadiani A, Ghanavi J, Seifalian AM. Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. *Eur Cell Mater.* 2008;15:88-99.
45. Gridelet V, Perrier d'Hauterive S, Polese B, Foidart JM, Nisolle M, Geenen V. Human Chorionic Gonadotrophin: New Pleiotropic Functions for an "Old" Hormone During Pregnancy. *Front Immunol.* 2020;11:343.

46. Zhao H, Kalish F, Schulz S, Yang Y, Wong RJ, Stevenson DK. Unique roles of infiltrating myeloid cells in the murine uterus during early to midpregnancy. *J Immunol*. 2015;194(8):3713-22.
47. Mori M, Bogdan A, Balassa T, Csabai T, Szekeres-Bartho J. The decidua-the maternal bed embracing the embryo-maintains the pregnancy. *Semin Immunopathol*. 2016;38(6):635-49.
48. DiGiulio DB. Diversity of microbes in amniotic fluid. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2012;17(1):2-11.
49. Combs CA, Gravett M, Garite TJ, Hickok DE, Lapidus J, Porreco R, et al. Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;210(2):125.e1-.e15.
50. Urushiyama D, Suda W, Ohnishi E, Araki R, Kiyoshima C, Kurakazu M, et al. Microbiome profile of the amniotic fluid as a predictive biomarker of perinatal outcome. *Sci Rep*. 2017;7(1):12171.
51. Brokaw A, Furuta A, Dacanay M, Rajagopal L, Adams Waldorf KM. Bacterial and Host Determinants of Group B Streptococcal Vaginal Colonization and Ascending Infection in Pregnancy. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:720789.
52. Yeh CC, Chen CY, Wang PH. Infection and preterm birth. *J Chin Med Assoc*. 2017;80(9):530-1.
53. Staude B, Gschwendtner S, Frodermann T, Oehmke F, Kohl T, Kublik S, et al. Microbial signatures in amniotic fluid at preterm birth and association with bronchopulmonary dysplasia. *Respir Res*. 2023;24(1):248.
54. Abele-Horn M, Scholz M, Wolff C, Kolben M. High-density vaginal *Ureaplasma urealyticum* colonization as a risk factor for chorioamnionitis and preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2000;79(11):973-8.
55. Harada K, Tanaka H, Komori S, Tsuji Y, Nagata K, Tsutsui H, et al. Vaginal infection with *Ureaplasma urealyticum* accounts for preterm delivery via induction of inflammatory responses. *Microbiol Immunol*. 2008;52(6):297-304.
56. Aaltone R, Jalava J, Laurikainen E, Kärkkäinen U, Alanen A. Cervical *ureaplasma urealyticum* colonization: comparison of PCR and culture for its detection and association with preterm birth. *Scand J Infect Dis*. 2002;34(1):35-40.
57. Noda-Nicolau NM, Tantengco OAG, Polettini J, Silva MC, Bento GFC, Cursino GC, et al. Genital Mycoplasmas and Biomarkers of Inflammation and Their Association With Spontaneous Preterm Birth and Preterm Prelabor Rupture of Membranes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Microbiol*. 2022;13:859732.

58. Jonduo ME, Vallely LM, Wand H, Sweeney EL, Egli-Gany D, Kaldor J, et al. Adverse pregnancy and birth outcomes associated with. *BMJ Open*. 2022;12(8):e062990.
59. Rodríguez N, Fernandez C, Zamora Y, Berdasquera D, Rivera JA. Detection of *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* in amniotic fluid: association with pregnancy outcomes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011;24(1):47-50.
60. Valkenburg-van den Berg AW, Sprij AJ, Dekker FW, Dörr PJ, Kanhai HH. Association between colonization with Group B Streptococcus and preterm delivery: a systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2009;88(9):958-67.
61. Bianchi-Jassir F, Seale AC, Kohli-Lynch M, Lawn JE, Baker CJ, Bartlett L, et al. Preterm Birth Associated With Group B Streptococcus Maternal Colonization Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. *Clin Infect Dis*. 2017;65(suppl_2):S133-S42.
62. Gonçalves BP, Procter SR, Paul P, Chandna J, Lewin A, Seedat F, et al. Group B streptococcus infection during pregnancy and infancy: estimates of regional and global burden. *Lancet Glob Health*. 2022;10(6):e807-e19.
63. Park HR, Harris SM, Boldenow E, McEachin RC, Sartor M, Chames M, et al. Group B streptococcus activates transcriptomic pathways related to premature birth in human extraplacental membranes in vitro. *Biol Reprod*. 2018;98(3):396-407.
64. Doster RS, Kirk LA, Tetz LM, Rogers LM, Aronoff DM, Gaddy JA. *Staphylococcus aureus* Infection of Human Gestational Membranes Induces Bacterial Biofilm Formation and Host Production of Cytokines. *J Infect Dis*. 2017;215(4):653-7.
65. Ambalpady PA, Samantroy S, Mishra A, Panda J, Pattnaik D, Jena P. Microbiome Diversity in Vaginal Fluid and Sensitivity Patterns in Preterm Premature Rupture of Membrane Cases. *Cureus*. 2022;14(1):e20999.
66. Cahill RJ, Tan S, Dougan G, O'Gaora P, Pickard D, Kennea N, et al. Universal DNA primers amplify bacterial DNA from human fetal membranes and link *Fusobacterium nucleatum* with prolonged preterm membrane rupture. *Mol Hum Reprod*. 2005;11(10):761-6.
67. Gauthier S, Tétu A, Himaya E, Morand M, Chandad F, Rallu F, et al. The origin of *Fusobacterium nucleatum* involved in intra-amniotic infection and preterm birth. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011;24(11):1329-32.
68. Wang X, Buhimschi CS, Temoin S, Bhandari V, Han YW, Buhimschi IA. Comparative microbial analysis of paired amniotic fluid and cord blood from pregnancies complicated by preterm birth and early-onset neonatal sepsis. *PLoS One*. 2013;8(2):e56131.

69. Han YW, Fardini Y, Chen C, Iacampo KG, Peraino VA, Shamonki JM, et al. Term stillbirth caused by oral *Fusobacterium nucleatum*. *Obstet Gynecol.* 2010;115(2 Pt 2):442-5.
70. Krohn MA, Hillier SL, Lee ML, Rabe LK, Eschenbach DA. Vaginal *Bacteroides* species are associated with an increased rate of preterm delivery among women in preterm labor. *J Infect Dis.* 1991;164(1):88-93.
71. Han YW, Shen T, Chung P, Buhimschi IA, Buhimschi CS. Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. *J Clin Microbiol.* 2009;47(1):38-47.
72. Martinez-Varea A, Romero R, Xu Y, Miller D, Ahmed AI, Chaemsaitong P, et al. Clinical chorioamnionitis at term VII: the amniotic fluid cellular immune response. *J Perinat Med.* 2017;45(5):523-38.
73. Galaz J, Romero R, Xu Y, Miller D, Levenson D, Para R, et al. Cellular immune responses in amniotic fluid of women with a sonographic short cervix. *J Perinat Med.* 2020;48(7):665-76.
74. Gomez-Lopez N, Romero R, Varrey A, Leng Y, Miller D, Done B, et al. RNA Sequencing Reveals Diverse Functions of Amniotic Fluid Neutrophils and Monocytes/Macrophages in Intra-Amniotic Infection. *J Innate Immun.* 2021;13(2):63-82.
75. Gomez-Lopez N, Galaz J, Miller D, Farias-Jofre M, Liu Z, Arenas-Hernandez M, et al. The immunobiology of preterm labor and birth: intra-amniotic inflammation or breakdown of maternal-fetal homeostasis. *Reproduction.* 2022;164(2):R11-R45.
76. Bhatti G, Romero R, Rice GE, Fitzgerald W, Pacora P, Gomez-Lopez N, et al. Compartmentalized profiling of amniotic fluid cytokines in women with preterm labor. *PLoS One.* 2020;15(1):e0227881.
77. McCartney SA, Kapur R, Liggitt HD, Baldessari A, Coleman M, Orvis A, et al. Amniotic fluid interleukin 6 and interleukin 8 are superior predictors of fetal lung injury compared with maternal or fetal plasma cytokines or placental histopathology in a nonhuman primate model. *Am J Obstet Gynecol.* 2021;225(1):89.e1-.e16.
78. Peiris HN, Romero R, Vaswani K, Reed S, Gomez-Lopez N, Tarca AL, et al. Preterm labor is characterized by a high abundance of amniotic fluid prostaglandins in patients with intra-amniotic infection or sterile intra-amniotic inflammation. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2021;34(24):4009-24.
79. Lindström TM, Bennett PR. The role of nuclear factor kappa B in human labour. *Reproduction.* 2005;130(5):569-81.
80. Green ES, Arck PC. Pathogenesis of preterm birth: bidirectional inflammation in mother and fetus. *Semin Immunopathol.* 2020;42(4):413-29.

81. Plazyo O, Romero R, Unkel R, Balancio A, Mial TN, Xu Y, et al. HMGB1 Induces an Inflammatory Response in the Chorioamniotic Membranes That Is Partially Mediated by the Inflammasome. *Biol Reprod.* 2016;95(6):130.
82. Chang Y, Li W, Shen Y, Li S, Chen X. Association between interleukin-6 and preterm birth: a meta-analysis. *Ann Med.* 2023;55(2):2284-384.
83. Lucaroni F, Morciano L, Rizzo G, D' Antonio F, Buonomo E, Palombi L, et al. Biomarkers for predicting spontaneous preterm birth: an umbrella systematic review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018;31(6):726-34.
84. Polettini J, Cobo T, Kacerovsky M, Vinturache AE, Laudanski P, Peelen MJ, et al. Biomarkers of spontaneous preterm birth: a systematic review of studies using multiplex analysis. *J Perinat Med.* 2017;45(1):71-84.
85. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1813(5):878-88.
86. Conde-Agudelo A, Papageorghiou AT, Kennedy SH, Villar J. Novel biomarkers for the prediction of the spontaneous preterm birth phenotype: a systematic review and meta-analysis. *BJOG.* 2011;118(9):1042-54.
87. Frascoli M, Coniglio L, Witt R, Jeanty C, Fleck-Derderian S, Myers DE, et al. Alloreactive fetal T cells promote uterine contractility in preterm labor via IFN- γ and TNF- α . *Sci Transl Med.* 2018;10(438).
88. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:8416763.
89. Phillippe M. Telomeres, oxidative stress, and timing for spontaneous term and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol.* 2022;227(2):148-62.
90. Saroyo YB, Wibowo N, Irwinda R, Prijanti AR, Yuniastuti E, Bardosono S, et al. Oxidative Stress Induced Damage and Early Senescence in Preterm Placenta. *J Pregnancy.* 2021;2021:9923761.
91. Kudlova N, De Sanctis JB, Hajdich M. Cellular Senescence: Molecular Targets, Biomarkers, and Senolytic Drugs. *Int J Mol Sci.* 2022;23(8).
92. Bernadotte A, Mikhelson VM, Spivak IM. Markers of cellular senescence. Telomere shortening as a marker of cellular senescence. *Aging (Albany NY).* 2016;8(1):3-11.
93. Menon R. Initiation of human parturition: signaling from senescent fetal tissues via extracellular vesicle mediated paracrine mechanism. *Obstet Gynecol Sci.* 2019;62(4):199-211.
94. Sultana Z, Maiti K, Dedman L, Smith R. Is there a role for placental senescence in the genesis of obstetric complications and fetal growth restriction? *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218(2S):S762-S73.

95. Coppé JP, Patil CK, Rodier F, Sun Y, Muñoz DP, Goldstein J, et al. Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol.* 2008;6(12):2853-68.
96. Minamino T, Yoshida T, Tateno K, Miyauchi H, Zou Y, Toko H, et al. Ras induces vascular smooth muscle cell senescence and inflammation in human atherosclerosis. *Circulation.* 2003;108(18):2264-9.
97. Coppé JP, Desprez PY, Krtolica A, Campisi J. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol.* 2010;5:99-118.
98. Dixon CL, Richardson L, Sheller-Miller S, Saade G, Menon R. A distinct mechanism of senescence activation in amnion epithelial cells by infection, inflammation, and oxidative stress. *Am J Reprod Immunol.* 2018;79(3).
99. Romero R, Espinoza J, Gonçalves LF, Kusanovic JP, Friel LA, Nien JK. Inflammation in preterm and term labour and delivery. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2006;11(5):317-26.
100. Shoji T, Yoshida S, Mitsunari M, Miyake N, Tsukihara S, Iwabe T, et al. Involvement of p38 MAP kinase in lipopolysaccharide-induced production of pro- and anti-inflammatory cytokines and prostaglandin E(2) in human choriondecidua. *J Reprod Immunol.* 2007;75(2):82-90.
101. Dhanasekaran DN, Reddy EP. JNK signaling in apoptosis. *Oncogene.* 2008;27(48):6245-51.
102. Lim R, Chan ST, Tan JL, Mockler JC, Murphy SV, Wallace EM. Preterm human amnion epithelial cells have limited reparative potential. *Placenta.* 2013;34(6):486-92.
103. Rasheed ZB, Lee YS, Kim SH, Teoh T, MacIntyre DA, Bennett PR, et al. 15-Deoxy-Delta-12,14-prostaglandin J2 modulates pro-labour and pro-inflammatory responses in human myocytes, vaginal and amnion epithelial cells. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:983924.
104. Shahin HI, Radnaa E, Tantengco OAG, Kechichian T, Kammala AK, Sheller-Miller S, et al. Microvesicles and exosomes released by amnion epithelial cells under oxidative stress cause inflammatory changes in uterine cells†. *Biol Reprod.* 2021;105(2):464-80.
105. McCarthy R, Martin-Fairey C, Sojka DK, Herzog ED, Jungheim ES, Stout MJ, et al. Mouse models of preterm birth: suggested assessment and reporting guidelines. *Biol Reprod.* 2018;99(5):922-37.
106. Joseph A, Lewis EL, Ferguson B, Guan Y, Anton L, Elovitz MA. Intrauterine colonization with *Gardnerella vaginalis* and *Mobiluncus mulieris* induces maternal inflammation but not preterm birth in a mouse model. *Am J Reprod Immunol.* 2023;90(2):e13749.

107. Racicot K, Kwon JY, Aldo P, Abrahams V, El-Guindy A, Romero R, et al. Type I Interferon Regulates the Placental Inflammatory Response to Bacteria and is Targeted by Virus: Mechanism of Polymicrobial Infection-Induced Preterm Birth. *Am J Reprod Immunol*. 2016;75(4):451-60.
108. Rinaldi SF, Makieva S, Frew L, Wade J, Thomson AJ, Moran CM, et al. Ultrasound-guided intrauterine injection of lipopolysaccharide as a novel model of preterm birth in the mouse. *Am J Pathol*. 2015;185(5):1201-6.
109. Cappelletti M, Presicce P, Lawson MJ, Chaturvedi V, Stankiewicz TE, Vanoni S, et al. Type I interferons regulate susceptibility to inflammation-induced preterm birth. *JCI Insight*. 2017;2(5):e91288.
110. Sadowsky DW, Adams KM, Gravett MG, Witkin SS, Novy MJ. Preterm labor is induced by intraamniotic infusions of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha but not by interleukin-6 or interleukin-8 in a nonhuman primate model. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;195(6):1578-89.
111. Romero R, Mazor M, Tartakovsky B. Systemic administration of interleukin-1 induces preterm parturition in mice. *Am J Obstet Gynecol*. 1991;165(4 Pt 1):969-71.
112. Adams Waldorf KM, Rubens CE, Gravett MG. Use of nonhuman primate models to investigate mechanisms of infection-associated preterm birth. *BJOG*. 2011;118(2):136-44.
113. Li M, Brokaw A, Furuta AM, Coler B, Obregon-Perko V, Chahroudi A, et al. Non-human Primate Models to Investigate Mechanisms of Infection-Associated Fetal and Pediatric Injury, Teratogenesis and Stillbirth. *Front Genet*. 2021;12:680342.
114. Kelleher MA, Liu Z, Wang X, Kroenke CD, Houser LA, Dozier BL, et al. Beyond the uterine environment: a nonhuman primate model to investigate maternal-fetal and neonatal outcomes following chronic intrauterine infection. *Pediatr Res*. 2017;82(2):244-52.
115. Kelleher MA, Lee JY, Roberts VHJ, Novak CM, Baschat AA, Morgan TK, et al. Maternal azithromycin therapy for *Ureaplasma parvum* intraamniotic infection improves fetal hemodynamics in a nonhuman primate model. *Am J Obstet Gynecol*. 2020;223(4):578.e1-e11.
116. Zaga-Clavellina V, Garcia-Lopez G, Flores-Herrera H, Espejel-Nuñez A, Flores-Pliego A, Soriano-Becerril D, et al. In vitro secretion profiles of interleukin (IL)-1beta, IL-6, IL-8, IL-10, and TNF alpha after selective infection with *Escherichia coli* in human fetal membranes. *Reprod Biol Endocrinol*. 2007;5:46.
117. Lo CC, Hsu JJ, Hsieh CC, Hsieh TT, Hung TH. Risk factors for spontaneous preterm delivery before 34 weeks of gestation among Taiwanese women. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2007;46(4):389-94.
118. Caballero D, Reis RL, Kundu SC. Boosting the Clinical Translation of Organ-on-a-Chip Technology. *Bioengineering (Basel)*. 2022;9(10).

119. Balijepalli A, Sivaramakrishan V. Organs-on-chips: research and commercial perspectives. *Drug Discov Today*. 2017;22(2):397-403.
120. Koyilot MC, Natarajan P, Hunt CR, Sivarajkumar S, Roy R, Joglekar S, et al. Breakthroughs and Applications of Organ-on-a-Chip Technology. *Cells*. 2022;11(11).
121. Huh D, Matthews BD, Mammoto A, Montoya-Zavala M, Hsin HY, Ingber DE. Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science*. 2010;328(5986):1662-8.
122. Park JY, Ryu H, Lee B, Ha DH, Ahn M, Kim S, et al. Development of a functional airway-on-a-chip by 3D cell printing. *Biofabrication*. 2018;11(1):015002.
123. Zhao Y, Rafatian N, Feric NT, Cox BJ, Aschar-Sobbi R, Wang EY, et al. A Platform for Generation of Chamber-Specific Cardiac Tissues and Disease Modeling. *Cell*. 2019;176(4):913-27.e18.
124. Feric NT, Pallotta I, Singh R, Bogdanowicz DR, Gustilo MM, Chaudhary KW, et al. Engineered Cardiac Tissues Generated in the Biowire II: A Platform for Human-Based Drug Discovery. *Toxicol Sci*. 2019;172(1):89-97.
125. Jang KJ, Suh KY. A multi-layer microfluidic device for efficient culture and analysis of renal tubular cells. *Lab Chip*. 2010;10(1):36-42.
126. Kim S, Lesherperez SC, Kim BC, Yamanishi C, Labuz JM, Leung B, et al. Pharmacokinetic profile that reduces nephrotoxicity of gentamicin in a perfused kidney-on-a-chip. *Biofabrication*. 2016;8(1):015021.
127. Lee H, Chae S, Kim JY, Han W, Kim J, Choi Y, et al. Cell-printed 3D liver-on-a-chip possessing a liver microenvironment and biliary system. *Biofabrication*. 2019;11(2):025001.
128. Kane BJ, Zinner MJ, Yarmush ML, Toner M. Liver-specific functional studies in a microfluidic array of primary mammalian hepatocytes. *Anal Chem*. 2006;78(13):4291-8.
129. Richardson LS, Kim S, Han A, Menon R. Modeling ascending infection with a fetomaternal interface organ-on-chip. *Lab Chip*. 2020;20(23):4486-501.
130. Kim S, Richardson L, Radnaa E, Chen Z, Rusyn I, Menon R, et al. Molecular mechanisms of environmental toxin cadmium at the fetomaternal interface investigated using an organ-on-chip (FMI-OOC) model. *J Hazard Mater*. 2022;422:126759.
131. Richardson LS, Emezienna N, Burd I, Taylor BD, Peltier MR, Han A, et al. Adapting an organ-on-chip device to study the effect of fetal sex and maternal race/ethnicity on preterm birth related intraamniotic inflammation leading to fetal neuroinflammation. *Am J Reprod Immunol*. 2022:e13638.

Conclusão final

1 O parto pré-termo espontâneo está relacionado com a infecção
2 bacteriana ascendente do trato genital inferior que culmina na infecção da
3 interface materno-fetal. Essa infecção, na maioria das vezes de caráter
4 polibacteriano e associada a micoplasmas genitais, tem estreita relação
5 com a resposta inflamatória. Nesse trabalho foi possível validar o modelo
6 de *organ-on-chip* que mimetiza a interface materno-fetal para estudos da
7 infecção ascendente do trato genital feminino. Esse avanço possibilita que
8 novos estudos aconteçam acerca dessa interface que tem papel crucial ao
9 longo da gestação. Resultados usando esse modelo mostram que a espécie
10 *U. parvum* não é imunogênica o suficiente para deflagrar resposta
11 inflamatória e causar alterações em vias de sinalização quando sozinho na
12 interface materno-fetal.

13 O estudo com infecção polibacteriana de espécies anaeróbias
14 facultativas e estritas na camada amnióticas das membranas fetais mostrou
15 que a infecção esteve associada à peroxidação lipídica e proteica em
16 células amnióticas epiteliais, enquanto que a capacidade antioxidante total
17 foi diminuída nas células amnióticas mesenquimais frente à infecção.
18 Esses achados ressaltam a importância que cada célula que compõe as
19 membranas fetais tem no contexto da gestação, e que estudos acerca de
20 cada tipo celular são fundamentais para o melhor entendimento dos
21 processos nessa interface.

22 Em conjunto, os achados apresentados nesse trabalho reforçam a
23 hipótese de que a infecção bacteriana ascendente tem participação na

24 resposta inflamatória, senescência e estresse oxidativo. Juntos, esses
25 processos estão associados a deflagração do parto pré-termo. Porém, essa
26 associação vai depender da espécie em questão, da carga bacteriana e do
27 tipo de combinação polibacteriana, visto que cada espécie pode deflagrar
28 respostas distintas. O estudo do efeito e da associação de cada espécie
29 bacteriana nesses processos corrobora para que estratégias sejam
30 desenvolvidas na clínica obstétrica para que esse desfecho gestacional
31 adverso tenha sua prevalência reduzida.