

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

SIRLENE CÉLIA PEREIRA ROSA

**AUMENTO DE INTERFEROM GAMA NO ABORTO RECORRENTE: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA**

Alfenas/MG
2020

SIRLENE CÉLIA PEREIRA ROSA

**AUMENTO DE INTERFEROM GAMA NO ABORTO RECORRENTE: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Fisiopatologia.

Orientador: Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Daniele Sirineu Pereira

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central - Sede

Rosa, Sirlene Célia Pereira

R788t Aumento de interferon gama no aborto recorrente:uma revisão sistemática
/ Sirlene Célia Pereira Rosa. -- Alfenas/MG, 2020.
78 f.: il. --

Orientador: Valdemar Antonio Paffaro Junior.

Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas a Saúde) - Universidade
Federal de Alfenas, 2020.

Bibliografia.

1. Aborto. 2. Interferon Gama. 3. Revisão Sistemática. I. Paffaro Junior,
Valdemar Antonio. II. Título.

CDD-571

SIRLENE CÉLIA PEREIRA ROSA

**AUMENTO DE INTERFEROM GAMA NO ABORTO RECORRENTE: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA**

A Banca examinadora abaixo assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências Aplicadas à Saúde pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Fisiopatologia.

Aprovada em: 17 de fevereiro de 2020

Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior _____
Instituição: Universidade Federal de Alfenas-MG
UNIFAL-MG

Profa. Dra. Luciana Azevedo _____
Instituição: Universidade Federal de Alfenas-MG
UNIFAL-MG

Prof(a). Dr(a). Suzana Guimarães Moraes _____
Instituição: Pontifícia Universidade Católica de São Paulo
PUC-SP

 Documento assinado eletronicamente por **Valdemar Antônio Paffaro Júnior, Professor do Magistério Superior**, em 17/02/2020, às 17:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

 Documento assinado eletronicamente por **Luciana Azevedo, Professor do Magistério Superior**, em 17/02/2020, às 17:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

 Documento assinado eletronicamente por **Suzana Guimarães Moraes, Usuário Externo**, em 17/02/2020, às 17:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0263869** e o código CRC **59AB34F2**.

Dedico este trabalho e toda a minha vida e sonhos a Deus sem o qual nada seria possível ou aconteceria. “O Senhor te guiará continuamente, fartará a tua alma até em lugares áridos e fortificará os teus ossos; serás como um jardim regado e como um manancial cujas águas jamais faltam” (BÍBLIA, Isaías 58, 11).

AGRADECIMENTO

O caminho, geralmente, é feito de retas e de curvas, de encruzilhadas e de interseções, enfim de muitas variantes. Assim, considero minha jornada até chegar ao mestrado. Desde o ensino fundamental até hoje, me realizo estudando e aprendendo e, quando posso ensinar ou explicar algo que domino, então me completo.

Nesta etapa, não poderia deixar de agradecer a Deus por cada passo, por cada estrada, por cada realização, por cada sonho, por cada decepção que me fez mais forte, por cada momento bom ou ruim. Pois, sem Ele, nada seria possível e nada se realizaria. Ele permitiu cada segundo desta jornada, Ele auxiliou cada segundo dos acontecimentos, tudo foi possível por Ele e para Ele.

Não poderia deixar de agradecer ao professor Valdemar Antônio Paffaro Junior, que tão carinhosamente me acolheu como orientanda, mesmo sabendo de minhas limitações de distância e de tempo; à sua esposa, professora Andrea Paffaro, que também muito auxiliou e ensinou durante o período em que convivemos.

Não poderia deixar de lembrar a professora Danielle Sirineu Pereira, mestra que me fez apaixonar pelas aulas, pela sua sabedoria e paciência.

Agradecer ainda à minha tão querida prima Wanessa Cristina Araújo que chegou em meu trabalho e disse "este mestrado você pode fazer!" e me ajudou em todas as etapas desde a inscrição e contatos na universidade até na formatação final de minha defesa; além de companheira de estrada.

Não poderia deixar de agradecer à secretária Adriana que, inúmeras vezes, com a paciência de uma mãe, me ajudou e orientou com um carinho e disposição inigualáveis.

Agradecer aos meus familiares que, mesmo com preocupações sobre minhas viagens até Alfenas, torceram e incentivaram meus estudos.

Agradecer a meu esposo que, mesmo "não achando necessário fazer mestrado", me acompanhou várias vezes e esperou pacientemente minhas aulas ou reuniões.

Enfim, sou grata a cada pessoa que direta ou indiretamente me ajudou a realizar um sonho e mesmo que passou por breves momentos em minha vida como alunos, bibliotecários, professores, técnicos, atendentes, porteiros. Tenho a dizer-lhes: obrigada e que Deus continue a abençoá-los em tudo que fizerem ou colocarem suas mãos.

Tudo é possível ao que crê.

(BÍBLIA, Marcos 11,23)

RESUMO

A implantação embrionária é um fenômeno bastante complexo que envolve mudanças hormonais na mãe, na resposta imune e nos eventos de maturação embrionária. Se tais eventos não forem sincronizados, pode haver perdas gestacionais. O embrião se comporta no organismo materno como um enxerto semialogênico, estando, portanto, vulnerável às teorias de rejeição e de tolerância imunológica. Células trofoblásticas e células endometriais sintetizam um ou mais interferons, entre os quais, o interferon gama (citocina pró- inflamatória). A literatura sugere que a causa de abortamento recorrente é uma rejeição aloimune do feto. O presente estudo teve como objetivo revisar sistematicamente a literatura para investigar a associação entre os níveis de interferon gam e a ocorrência de abortamento. Como metodologia, realizou-se uma revisão sistemática da associação entre o interferon gama e o abortamento recorrente. Para a análise da qualidade dos estudos, baseou-se na escala de Newcastle-Ottawa. Os níveis de evidência dos estudos foram estabelecidos pela Classificação dos graus de recomendação proposto pela Oxford Centre for Evidence-Based Medicine. Para a análise estatística, utilizou-se a metanálise. Realizou-se a busca em 15 bases de dados, encontrando-se um total de 7.464 estudos que, após seguir os critérios de inclusão e exclusão, restaram 48 estudos para uma análise detalhada, dos quais, 10 artigos, casos controle, foram elegíveis para esta revisão, sendo 4 estudos incluídos para a metanálise. Identificou-se que as participantes estavam em idade fértil, tendo sido utilizado como método de avaliação do interferon gama citometria fluxo e Ensaio de Imunoabsorção Enzimática de sangue periférico, material decidual e endometrial. Sobre a qualidade dos estudos, todos apresentaram uma boa qualidade, com grau de evidência moderada. Os estudos incluídos na metanálise apresentaram elevada heterogeneidade. Entretanto, o efeito individual observado em todos os estudos incluídos na metanálise, bem como a estimativa de efeito geral, indicaram que as células deciduais de gestantes com histórico de abortamento recorrente produzem níveis de interferon gama significativamente mais elevados, se comparadas com a produção dessa citocina em gestantes sem histórico de abortamento. Embora os estudos apontem o aumento do interferon gama em casos de abortamento recorrente, há a necessidade de mais pesquisas com estudos robustos para reforçar esses resultados.

Palavras-chave: Aborto. Interferon Gama. Revisão Sistemática.

ABSTRACT

Embryo implantation is a high complex phenomenon involving hormonal changes in the mother, affecting immune response and the events of embryonic maturation. If such events are not synchronized there may be gestational losses. The embryo behaves in the maternal organism as a semi-allogenic graft, and is thus vulnerable to rejection and immune tolerance mechanisms. Trophoblast cells and endometrial cells synthesize one or more interferon, including IFN- γ (proinflammatory cytokine). The literature suggests that the cause of recurrent miscarriage is alloimmune rejection of the fetus. The present study aimed to systematically review the literature to investigate the association between IFN- γ levels and the occurrence of abortion. As a methodology a systematic review was carried out on the association between interferon gamma and recurrent abortion. To analyze the quality of the studies, it was based on the Newcastle-Ottawa scale; the levels of evidence from the studies were established by the classification of degrees of recommendation proposed by the Oxford Center for Evidence-Based Medicine; and for statistical analysis, meta-analysis was used. A search was carried out in 15 databases, finding a total of 7.464 studies were searched, after following the inclusion and exclusion criteria, 48 studies were left for a detailed analysis, of which 10 articles, case controls, were eligible for this review, 4 studies included for meta-analysis. In these articles, it was identified that all participants were of fertile age and also it was used as evaluation method the flow cytometry and Enzymatic Immunoabsorption Assay for interferon gamma found in the peripheral blood, decidua and endometrium. Regarding the quality of studies, all presented good quality, with moderate degree of evidence. The studies included in the meta-analysis showed high heterogeneity. However, the individual effect observed in all studies included in the meta-analysis, as well as the general effect estimate, indicated that the deciduous cells of pregnant women with a history of recurrent abortion produce significantly higher levels of IFN γ compared to the production of this cytokine in pregnant women without history of abortion. Although studies suggest an increase in IFN γ in cases of recurrent abortion further research are necessary with robust data to reinforce our results.

Keywords: Abortion habitual. Interferon Gamma. Systematic Reviews

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma da seleção de artigos que foram incluídos na revisão sistemática.....	41
Figura 2 - Forest plot obtido a partir de metanáliseanálise, comparando os níveis teciduais de interferon gama (IFN γ , pg/mL) em gestantes com histórico de abortamento recorrente (miscariage) e aquelas sem histórico de abortamento (controle).....	55

LISTA DE TABELA

Tabela 1 -	Etapas das revisões sistemáticas, segundo Cochrane. Alfenas, 2019.	24
Tabela 2 -	Bases de dados utilizadas segundo suas características. Alfenas, 2019.....	27
Tabela 3 -	Filtros de Pesquisas utilizados nas bases de dados. Alfenas, 2019....	29
Tabela 4 -	Estudos identificados segundo as bases de dados. Alfenas, 2019.....	42
Tabela 5 -	Estudos duplicados. Alfenas, 2019.	43
Tabela 6 -	Estudos analisados e excluídos. Alfenas, 2019.....	43
Tabela 7 -	Caracterização dos estudos para elegibilidade. Alfenas,2019.....	44
Tabela 8 -	Estudos excluídos e incluídos. Alfenas, 2019.....	48
Tabela 9 -	Justificativa da exclusão após análise detalhada. Alfenas, 2019.....	48
Tabela 10-	Caracterização dos estudos quanto a idade, amostra, método de avaliação, material, tipo de medida, dosagem do interferon e resultados. Alfenas, 2019.....	50
Tabela 11-	Classificação do delineamento da pesquisa, nível de evidência e grau de recomendação. Alfenas, 2009.....	52
Tabela 12-	Escala de avaliação de qualidade do estudo: NEWCASTLE-Ottawa. Alfenas, 2019.....	54
Tabela 13-	Seleção de estudos para análise estatística.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLA

BVS	-Biblioteca Virtual em Saúde
uNK	-Células <i>Natural Killer</i> uterinas
CD	-Cluster of Differentiation
MHC	-Complexo de Histocompatibilidade Maior
ELISA	-Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
EUA	-Estados Unidos da América
TNFα	-Fator de Necrose Tumoral Alfa
FIV	-Fertilização <i>in vitro</i>
IDO	-Indoleamina
IFNα2	-Interferon Alfa 2
IFNγ	-Interferon Gama
IFN-τ	-Interferon tipo I Tau
IFN-ϵ	-Interferon tipo Épsilon
IFN-α	-Interferon tipo I Alfa
IFN-β	-Interferon tipo I Beta
IFN-δ	-Interferon tipo I Delta
IFN-κ	-Interferon tipo I Kappa
IFN-ω	-Interferon tipo Ômega
IFN-p	-Interferon tipo <i>RÔ</i>
IFNs	-Interferons
IL	-Interleucina
IL-28A	-Interleucina 28 A
IL-28B	-Interleucina 28 B
IL-29	-Interleucina 29
KAR	-Killer Activating Receptors
KIR	-Killer Inhibitory Receptors
NK	- <i>Natural Killer</i>
PECO	-Paciente; Exposição; Comparação e “ <i>Outcomes</i> ” (desfecho)
PICO	-Paciente; Intervenção; Comparação e “ <i>Outcomes</i> ” (desfecho)
SAAF	-Síndrome do Anticorpo antifosfolípide
Th1	-T helper tipo 1
Th2	-T helper tipo 2

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	13
2	INTRODUÇÃO	14
3	DESENVOLVIMENTO.....	16
3.1	GESTAÇÃO.....	16
3.2	ABORTAMENTO	17
3.3	ADAPTAÇÃO IMUNOLÓGICA À GESTAÇÃO.....	18
3.4	INTERFERON E GESTAÇÃO.....	21
4.	OBJETIVOS	23
4.1	OBJETIVO GERAL.....	23
4.2	OBJETIVO ESPECÍFICOS	23
5	MATERIAL E MÉTODOS	24
5.1	TIPO DE ESTUDO	24
5.2	PERGUNTA DA BUSCA BIBLIOGRÁFICA.....	24
5.2.1	Definição dos componentes da estrutura PICO deste estudo	25
5.3	REGISTRO DA REVISÃO SISTEMÁTICA	26
5.4	FONTES UTILIZADAS PARA A IDENTIFICAÇÃO DOS ESTUDOS	26
5.5	ESTRATÉGIA DE BUSCA E SELEÇÃO DOS ESTUDOS	28
5.6	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	33
5.7	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	33
5.8	SELEÇÃO DOS ESTUDOS	34
5.8.1	Remoção dos estudos duplicados.	35
5.8.2	Classificação dos sujeitos	35
5.8.3	Presença de abortamento recorrente.....	35
5.8.4	Interferon Gama.....	35
5.8.5	Tipo de método para dosagem do Interferon Gama	35
5.9	ANÁLISE DOS DADOS	38
6	RESULTADOS	41
6.1.	BASES DE DADOS E ESTUDOS OBTIDOS.....	42
6.2	CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS E EVIDÊNCIAS SOBRE O IFN γ NO ABORTAMENTO RECORRENTE.	49
6.2.1	Avaliação dos Níveis de Evidência	52
6.2.2	Avaliação da qualidade dos estudos	53
6.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	54
6.3.1	Metanálise.....	55
7	DISCUSSÃO	56
8	CONCLUSÃO.....	61
	xREFERÊNCIAS	62
	APÊNDICE A	71
	APÊNDICE B	72
	ANEXO A -	73
	ANEXO B -	74
	ANEXO C -	75
	ANEXO D -	76

1 APRESENTAÇÃO

Sabendo-se da complexidade em se realizar uma revisão sistemática na íntegra, a autora foi em busca de conhecimento para a realização deste estudo, por meio de cursos e de treinamentos especializados no método, conforme descrito a seguir:

- XX Curso Introdutório de Revisão Sistemática e Metanálise, HTANALYSE Consultoria e Treinamento, 23 e 24 de fevereiro de 2018 (16 horas);
- Workshop de Revisão Sistemática I – Introdução & Registro de Título, Cochrane Brazil, 26 de abril de 2018 (8 horas);
- Workshop de Revisão Sistemática II – Elaboração do Protocolo, Cochrane Brazil, 03 de maio de 2018 (8 horas);
- Workshop de Revisão Sistemática III – Analisando os Dados, Cochrane Brazil, 31 de maio de 2019 (8 horas).

2 INTRODUÇÃO

Este estudo desenvolveu-se após revisão narrativa, por meio da qual não se conseguiu identificar na literatura uma conclusão clara sobre a quantificação do interferon gama ($IFN\gamma$) na interface materno fetal e sua relação com o abortamento recorrente. A prática clínica mostra o sofrimento psíquico das pacientes após vivenciarem o abortamento, em alguns casos, após perdas prévias. Nesse contexto, destaca-se a necessidade de respostas para essa questão clínica tão importante tanto dentro da área de pesquisa como na vivência prática diária (ADIB-RAD *et al.*, 2019).

Sabe-se que, para ocorrer uma gravidez dentro da normalidade, o sistema imunológico materno precisa reconhecer os tecidos feto-placentários (MEDAWAR, 1995). Nesse contexto, é disparada uma complexa resposta que envolve a regulação desse sistema. Há uma rede intrincada de comunicação na qual estão envolvidas citocinas, moléculas e receptores de diferentes tipos celulares que compõem o sistema imune decidual e que fazem a manutenção desse microambiente e alorreconhecimento dos tecidos feto-placentários. Enfim, respostas imunes inadequadas podem estar envolvidas na falha desse processo de implantação, tal como no abortamento de repetição ou idiopático, entre outras categorias gestacionais.

Dentre as citocinas mais citadas na literatura, referentes à infertilidade e ao abortamento, está o $IFN\gamma$, uma citocina bastante estudada na gestação de murinos e de seres humanos.

Não obstante, é notório que, mesmo com todos os recursos tecnológicos disponíveis para desvendar os fenômenos relacionados à biologia da reprodução, essa relação ainda constitua um capítulo à parte, no que se refere à compreensão e à resolução dos casos obstétricos complexos. Nesse contexto, existem lacunas na literatura; e o envolvimento direto ou indireto dessa citocina com a infertilidade ou com o abortamento idiopático e não idiopático ainda é inconclusivo.

Mesmo com uma vasta literatura ao alcance, muito ainda se tem a esclarecer dentro desta entidade - abortamento recorrente idiopático - em que a comunidade científica está a buscar respostas. Dentro desse contexto de questionamentos, várias perguntas são elaboradas, dentre as quais: há associação entre o $IFN\gamma$ e o abortamento recorrente?

Um trabalho de revisão sistemática proposto para o mestrado trouxe respostas para questionamentos relacionados ao tema da relação entre $IFN\gamma$ e abortamento, que foram colocadas de forma organizada na literatura, o que contribuiu para a execução de trabalhos posteriores baseados na pesquisa experimental.

Assim, este trabalho abrangente foi produzido com o intuito de obter uma resposta para a comunidade científica sobre a relação entre o abortamento recorrente e o IFN γ . Tais informações podem direcionar novas investigações, bem como possíveis métodos de diagnóstico que infeririam em possíveis terapias específicas e, assim, complementariam a rotina reprodutiva com bases científicas resolutivas para a comunidade em geral.

3 DESENVOLVIMENTO

Nesta etapa do trabalho iremos destacar conceitos sobre a gestação, o abortamento, adaptação imunológica e papel do interferon na gestação

3.1 GESTAÇÃO

A gestação é o estado durante o qual os mamíferos fêmeas carregam seus filhotes em desenvolvimento (embrião ou feto) no útero (antes de nascer) começando da fertilização ao nascimento. Uma gestação anormal ou de alto risco é a gravidez em que a mãe e/ou o feto correm risco de morbidade ou de mortalidade maior que o normal. Entre as causas que inferem uma gestação como anormal, estão a falta de cuidado pré-natal inadequado, antecedentes obstétricos (aborto espontâneo), doença materna pré-existente, doença induzida pela gravidez (hipertensão gestacional entre outras) e gravidez múltipla, bem como idade materna precoce ou avançada (BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE, 2017).

A gestação constitui um fenômeno ímpar no organismo humano no que se refere ao comportamento do sistema imune. Data de 1953, o lançamento da hipótese de Peter Medawar de que o embrião se comporta no organismo materno como um enxerto semialogênico, estando, portanto, vulnerável às teorias de rejeição e de tolerância imunológica (ABRAMSON; STAGNARO-GREEN, 2001).

De fato, o produto gestacional contém metade do seu material genético de origem materna e a outra metade de origem paterna, sendo, portanto, estranho ao sistema imune da mãe, que deverá abrigá-lo durante todo o período conceptual. O excepcional é que, de alguma forma, esse embrião é reconhecido pelo sistema imune materno, sem que seja disparada uma resposta contra a sua permanência e seu desenvolvimento naquele ambiente, como ocorreria em qualquer outra circunstância de exposição ao material genético proveniente de outro indivíduo não idêntico (ex.: transplante de órgãos).

Outra peculiaridade é que o início do desenvolvimento do produto gestacional é fortemente caracterizado pela intensa proliferação celular (embrião e placentação), à semelhança do que ocorre com os tumores. Porém, na vigência da gestação, o sistema imune materno não dispara mecanismos visando ao bloqueio dessa proliferação, como seria esperado em situações patológicas (ex.: tumores). Tal fato garante um ambiente favorável para o desenvolvimento do concepto até um estado de maturação em que este tenha a capacidade de

vida extrauterina. Esse fenômeno é designado “tolerância imunológica” (WIRA; GARCIA; PATEL, 2015).

3.2 ABORTAMENTO

O termo abortamento deriva do latim *aboriri*- fracassar, ser malsucedido. A viabilidade fetal é definida pela duração da gravidez e pelo peso fetal ao nascer. A definição de abortamento é a interrupção da gravidez antes de vinte semanas de gestação ou quando o feto pesa menos que 500 gramas (CUNNINGHAM *et al.*, 2016).

Abortamento espontâneo de repetição, perda gestacional repetida ou abortamento habitual são termos utilizados para descrever perdas gestacionais espontâneas precoces e subsequentes. O abortamento de repetição ou recorrente é definido pela American Society for Reproductive Medicine (2008) como perdas gestacionais repetidas, em que duas ou mais gestações clínicas são fracassadas, estas confirmadas por uma ultrassonografia ou por exame histopatológico.

Aceita-se que apenas 0,5 – 1% dos casais férteis tenham abortamento de repetição de acordo com a definição clássica. Um aborto espontâneo eleva o risco de aborto em gravidez futura para 24%. Esse risco é aumentado para 26% com dois abortos espontâneos prévios e atinge 32% com três abortos espontâneos anteriores (CUNNINGHAM *et al.*, 2016).

Mais de 80% dos abortamentos espontâneos ocorrem nas primeiras 12 semanas de gestação. As estatísticas referidas à incidência de abortamento espontâneos variam de acordo com o rigor que se utiliza para estabelecer seu diagnóstico. Wilcox *et al.*, (1988) constataram que 31% das gestações são interrompidas depois da implantação.

Vários fatores estão implicados na fisiopatologia do aborto de repetição como (ABRAMSON; STAGNARO-GREEN, 2001; EGOZCUE *et al.*, 2000; MATOVINA *et al.*, 2004; RAI; REGAN, 1997):

- a) Causas fetais, tais como anomalias cromossômicas dos genitores, que representam aproximadamente 3,5 a 5% dos casos, outros defeitos incluem infecções fetais e anormalidades do desenvolvimento;
- b) Causas maternas nas quais estão incluídas as de ordem imunológicas, representando 30% dos casos, sendo a síndrome de anticorpo anti- fosfolípide (SAAF) a causa autoimune mais comum;
- c) Causas por disfunção endócrina, que são responsáveis por 48,7% dos casos de aborto de repetição; e, por fim,

- d) Outros fatores maternos, tais como alterações anatômicas e infecções subclínicas endometriais que representam um número mínimo de casos.

Mas, aproximadamente 50% dos abortos de repetição são inexplicáveis, sem etiologia definida. Vários autores sugerem que a causa é a rejeição aloimune do feto (MEDAWAR, 1953).

3.3 ADAPTAÇÃO IMUNOLÓGICA À GESTAÇÃO

Do ponto de vista imunológico, a gestação somente é possível porque uma intrincada rede imunorregulatória é disparada com o objetivo único de desenvolver um estado de tolerância materno-fetal e permitir a implantação e a manutenção do conceito até que haja condições de sobrevivência fora da cavidade uterina (MICHELON *et al.*, 2006).

O sistema imune materno é muito bem controlado para tolerar um embrião e um feto com antígenos paternos semialogênicos durante a gravidez.

Entre os fatores envolvidos nessa complexa rede imunorregulatória, destacam-se a influência hormonal sobre o sistema imune materno; o reconhecimento das moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (HLA-G) paterno (expressas pelo embrião); as citocinas liberadas no meio uterino; o controle da citotoxicidade direta das células natural killer uterinas (uNK) e atividade das células T regulatórias (MICHELON *et al.*, 2006).

3.3.1 Células Natural *Killer* (Nk)

As células NK são células do sistema imune inato e são reconhecidas por sua atividade citotóxica direta *in vitro* e por possuírem antígenos de superfície próprios que as caracterizam: CD16 e CD56. O receptor CD16 é considerado de baixa afinidade para IgG e está presente na maioria das células NK, sendo responsável pela função de citotoxicidade celular dependente de anticorpo. Conforme a intensidade da expressão do CD56, essas células podem ainda ser diferenciadas em duas populações: CD56dim e CD56bright. As células CD56dim são altamente citotóxicas, enquanto as células CD56bright são pouco citotóxicas, porém são também produtoras de citocinas imunorregulatórias com perfil pró-inflamatório, como IFN γ e Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF α) (RAI; SACKS; TREW, 2005).

As células NK estão presentes em vários tecidos, mas ficam concentradas no útero, onde são as principais células do sistema imunológico. Acredita-se que, durante a gestação, ocorra, no território decidual, à semelhança do que ocorre no timo, um processo de maturação

linfocitária, o qual é crucial para o bom desenvolvimento da gestação. Dessa forma, a base para a fisiopatologia do abortamento espontâneo de repetição estaria centrada na ativação de células NK através de citocinas, ou seja, transformando-as de células CD56+CD16- (produtoras de fatores supressores, pró- Th2 e que recebem o nome de células *natural killer* uterinas ou uNK) em células CD56+CD16+ (citotóxicas e pró-inflamatórias Th1) ou, de outra forma, a não transformação do fenótipo das células NK para um padrão não-citolítico. Além da deficiência de células uNK com fenótipo CD56+CD16-, as pacientes que apresentam abortamentos espontâneos de repetição também possuem um número aumentado de células NK ativadas (CD56+CD16+) na decídua e no sangue periférico (BUBANOVIC, 2003; HAMMER *et al.*, 1997; KING *et al.*, 2000).

As células uNK aumentam muito na gravidez precoce, sendo encontradas na proporção de 10% das células estromais na fase proliferativa; 20%, na fase secretora e atingem 30% na fase inicial da gestação. Portanto, em tese, essas células regulam a invasão trofoblástica por citotoxicidade direta e produção de citocinas (MATTAR; TRAINÁ; DAHER, 2015).

A regulação da função dessas células depende da ativação dos seus diferentes receptores. Elas possuem receptores de ativação (KAR – Killer Activating Receptors) e receptores de inibição (KIR – Killer Inhibitory Receptors) em seu potencial citotóxico. Na gestação normal, as células trofoblásticas produzem interleucina (IL), IL-4 e IL-7, que induz uma estimulação de linfócitos Th2 (IL-4 e IL-10) e um aumento do número de receptores inibidores nas NK deciduais, mantendo-as com fenótipo não-ativado, ou seja, CD56+ CD16-. Essas células são chamadas de células uNK (células Natural Killer uterinas), capazes de reconhecer o HLA-G fetal, e, ainda, são produtoras de fatores supressores de citotoxicidade (MOFFETT-KING, 2002; ROUAS-FREISS *et al.*, 1997).

Células NK ativadas, ou seja, CD56+CD16+, representam as citocinas Th1 (pró-inflamatórias e pró-trombóticas), produtoras de IL-2, TNF α e IFN γ , sendo estas ditas indutoras de abortamento, devido à sua capacidade de induzir na interface materno-fetal a diferenciação fenotípica das células NK (MOSSMAN; SAD, 1996; NAIMAN *et al.*, 2002; PLEVYAK *et al.*, 2002).

3.3.2 Interferon Gama

O IFN γ foi uma das primeiras citocinas identificadas, por Lindenmann e Isaacs, em 1957, como sendo uma substância capaz de proteger as células de infecções virais. Essa citocina pertence a uma família de interferons e desempenha papel importante em diversos processos

celulares, incluindo a ativação de respostas imunes inatas e adaptativas, o que inibe a proliferação celular e induz a apoptose. Também é crucial nas respostas imunes contra agentes patogênicos e na vigilância imunológica de tumores.

Particularmente, o IFN γ ou fator de ativação de macrófagos, é uma citocina potencialmente pró-inflamatória que está envolvida com mecanismos de defesa; estabelecimento de processos inflamatórios e autoimunidade; controle de programas fagocitários; mecanismos bactericidas e tumoricidas em monócitos/macrófagos; expressão de antígenos de histocompatibilidade (MHC) classe II; produção de mediadores derivados de macrófagos, tais como o TNF- α , IL-1, IL-12, e regulação negativa da síntese de mediadores anti-inflamatórios, tal como, a IL-10 (EL-HASHEMITE *et al.*, 2004; FARRAR; SCHREIBER, 1993).

Os interferons podem ser classificados em dois tipos: Tipo I e Tipo II e há outras citocinas que se assemelham ao IFN (citocinas tipo-I). Os IFNs do Tipo I consistem em sete classes: IFN- α , IFN- β , IFN- ϵ , IFN- κ , IFN- ω , IFN- δ e IFN- τ . Os IFNs do Tipo II consistem apenas em IFN γ , IFN- α , IFN- β , IFN- ϵ , IFN- κ , IFN- ω , IL-28A, IL-28B e IL-29 e são encontrados em seres humanos, enquanto que IFN- δ , IFN- τ e limitina não são. Além disso, quatro citocinas semelhantes ao IFN foram relatadas: limitina (encontrada apenas em camundongos), interleucina-28A (IL-28A), IL-28B e IL-29, encontrada em humanos e em outros mamíferos (PESTKA; KRAUSE; WALTER, 2004).

As citocina é produzida pelas células ativadas e, provavelmente, pelas células NK. Sua interação ocorre através de receptores de membranas específicos. Inicia uma série de modificações como síntese metabólicas e de polipeptídeos. O IFN γ produz pelo menos 12 proteínas distintas (IJZERMANS; MARQUET, 1989).

A unidade funcional de IFN- β tem estrutura equivalente à de um dímero, enquanto a de IFN γ foi caracterizada como um tetrâmero. Os IFN monoméricos são do Tipo I; o único IFN de Tipo II, IFN γ forma um homodímero intercalado. Cada dois domínios relacionados de IFN γ consistem em seis hélices α . As quatro primeiras (hélices A-D) são formadas de uma cadeia peptídica, e as duas (E e F) finais são formadas a partir da dupla cadeia relacionada. Apesar desse arranjo, a porção helicoidal do IFN γ é semelhante topologicamente ao IFN do tipo I. A principal diferença entre IFN γ e IFN de Tipo I é a curva de 60° na hélice C-terminal (hélice F) e a ausência de quaisquer ligações dissulfureto. Embora a sequência de aminoácidos do IFN γ tenha 143 aminoácidos de comprimento, o domínio globular consiste apenas nos primeiros 122 aminoácidos (PESTKA; KRAUSE; WALTER, 2004).

3.4 INTERFERON E GESTAÇÃO

Em muitas espécies, células trofoblásticas e células endometriais sintetizam um ou mais IFNs. Em camundongos, os IFNs do tipo 1 são expressos a partir do estágio de duas células e no trofoectoderma do blastocisto pré-implantacional. Nos porcos, o IFN γ é o principal IFN derivado das células trofoblásticas. A ausência de produção de IFN γ em células trofoblásticas de cavalos e de ruminantes indica que a síntese de IFN γ não é uma característica universal em espécies que possuem placentação epitelial. No início da gravidez humana, as células trofoblásticas expressam intensamente o IFN γ , mas quase não há expressão na gravidez a termo (MURPHY *et al.*, 2009).

A interface materno-fetal humana é considerada como tendo duas fronteiras. Uma interface está no útero. Essa é uma interface complexa entre o sangue do espaço interviloso e as artérias espiraladas que banham vilosidades trofoblásticas e trofoblastos intravasculares, respectivamente, e inclui interações entre células trofoblásticas extravilosas e células imunes e estromais decíduais. A segunda interface é a circulação materna, onde as células imunes encontram detritos circulantes provenientes da placenta envelhecida. O IFN γ foi examinado em ambas as fronteiras. A descidualização do útero humano começa logo após a ovulação, nas fases secretoras do ciclo menstrual até o final, antes do intervalo de receptividade uterina. Se ocorrer gravidez, as células NK especializadas (chamadas uterinas) se expandem rapidamente em número (MANASTER *et al.*, 2008; MURPHY *et al.*, 2009).

As citocinas no plasma ou soro de mulheres adultas saudáveis e não grávidas são predominantemente pró-inflamatórias (tipo 1). Gradualmente, durante a gravidez normal, em mulheres, inverte-se essa proporção, tornando-se (a citocina tipo 2 reguladora) a citocina dominante no terceiro trimestre. Níveis altos de citocina do tipo 1 em mulheres no terceiro trimestre são indicativos de risco para a gestação (GERMAIN *et al.*, 2007). Existem múltiplas fontes de citocinas plasmáticas em mulheres grávidas, incluindo trofoblastos, células endoteliais maternas e leucócitos circulantes. No terceiro trimestre, foi demonstrado que os leucócitos circulantes adquirem um fenótipo ativado, com ganhos na expressão de CD11B, CD14, CD64 e espécies de oxigênio reativo intracelular. Tal observação proporcionou o conceito de que a gravidez é um estado pró-inflamatório (SARGENT; BORZYCHOWSKI; REDMAN, 2006). Normalmente, no final da gravidez, a expressão de MHC de classe II em leucócitos é diminuída e os níveis de IFN γ são baixos. Estudos na imunodeteção de citocinas intracelulares em mulheres com gravidez normal indicaram que a produção de TNF- α é elevada durante toda a gravidez; a IL12 é elevada no primeiro e segundo trimestres e a IL18 é elevada

somente no primeiro trimestre. As modificações na produção de citocinas ocorrem em muitos tipos de células imunes, incluindo células T CD4 +, CD8 +, células dendríticas (DC) e células NK. Em um pequeno estudo durante a gestação, a mudança na produção de citocinas do tipo 2 em células circulantes ocorreu primeiro em células NK durante o primeiro trimestre (SARGENT; BORZYCHOWSKI; REDMAN, 2006).

O IFN γ , em níveis bastante aumentados, pode ativar células uNK que liberam fatores diversos e causando danos irreversíveis ao trofoblasto e, portanto, são associados com aborto (LIN *et al.*, 1993). Em estudos experimentais *in vitro*, demonstrou-se que células uNK de ratos e camundongos produzem IFN γ , capazes de inibir o crescimento do trofoblasto murino, e também podem inibir a invasão do trofoblasto humano extraviloso, na medida em que diminuem a expressão de metaloproteinases do tipo 2 (AIN; CANHAM; SOARES, 2003; LASH *et al.*, 2006; LIN *et al.*, 1993).

Ademais, estudos demonstram que o IFN γ , em níveis fisiológicos, pode exercer efeitos importantes durante a gestação. A remodelação das artérias espiraladas envolvidas na diminuição da resistência vascular, permitindo um fluxo sanguíneo estável na gestação, tem sua função atribuída ao IFN γ na interface materno fetal (ASHKAR *et al.*, 2000).

O IFN γ pode induzir diferenciação celular, atividade fagocítica e citolítica e a expressão gênica de outras moléculas de regulação imunológica, assim como a expressão de enzimas do metabolismo do triptofano (IDO), relacionadas a mecanismos de proteção nas células trofoblásticas (ALBIERI *et al.*, 2005; AMARANTE-PAFFARO *et al.*, 2004; ATHANASSAKIS *et al.*, 2000; KUDO; BOYD, 2000).

4 OBJETIVOS

Os objetivos desta revisão se apresentam em gerais e específicos.

4.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi revisar sistematicamente a literatura para investigar a associação entre os níveis de IFN γ e a ocorrência de abortamento em humanos.

4.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- a) Verificar potenciais associações entre os níveis de IFN γ e o abortamento recorrente;
- b) Comparar os níveis de IFN γ no endométrio no aborto recorrente idiopático e não idiopático.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Neste tópico, explanaremos os aspectos metodológicos deste estudo.

5.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de revisão sistemática da literatura, orientada pelas recomendações da Cochrane Collaboration (HIGGINS, GREEN, 2005) (<http://www.cochrane.dk/cochrane/handbook/hbook.htm>), cujas etapas deste *guideline* estão resumidas na Tabela 1:

Tabela 1- Etapas das revisões sistemáticas, segundo Cochrane. Alfenas, 2019.

Etapa	Cochrane Handbook	Centre for Reviews Dissemination
1 ^a	Formulação do problema	Preparação de uma proposta de revisão sistemática
2 ^a	Localização e seleção das publicações	Desenvolvimento de um protocolo
3 ^a	Avaliação da qualidade das publicações	Identificação das publicações
4 ^a	Coleta de dados	Seleção das publicações
5 ^a	Análise e apresentação dos resultados	Avaliação da qualidade das publicações
6 ^a	Interpretação dos resultados	Extração dos dados das publicações
7 ^a	Aperfeiçoamento e atualização	Síntese dos dados
8 ^a	_____	Publicação e recomendações
9 ^a	_____	Transposição das evidências para a prática

Fonte: Da autora

5.2 PERGUNTA DA BUSCA BIBLIOGRÁFICA

A questão de pesquisa é o primeiro passo no desenvolvimento de uma revisão sistemática (FLEMMING, 1998; NEEDLEMAN, 2002). A questão deve ser específica, de relevância científica e formulada de modo sistemático. Uma pergunta de pesquisa que atenda a esses quesitos funciona como um eixo norteador da revisão, na determinação dos critérios de inclusão/exclusão, no método de condução da revisão e na organização do raciocínio lógico (RICHARDSON *et al.*, 1995). Os componentes PICO (acrônimo para paciente, intervenção e/ou exposição, comparação e *outcome*) da questão de pesquisa podem ser diretamente transformados nos descritores/palavras-chave que serão utilizados para a busca de publicações.

Richardson *et al* (1995) afirmam a existência de quatro componentes fundamentais para a formulação de uma questão de pesquisa, sintetizados na sigla PICO: P= participante; I=intervenção e/ou exposição; C=controle e O=desfecho. No mínimo, dois desses componentes (participante e intervenção e/ou exposição – P e I do PICO) são obrigatórios para a sistematização da pergunta da pesquisa.

Bernardo; Nobre (2004) descrevem a estratégia PICO para a elaboração de perguntas de pesquisa e para as estratégias de busca. Ao P (paciente ou população), corresponde a descrição das características ou estágio da doença, da população em investigação ou, ainda, da definição da condição de interesse. Ao I (intervenção ou exposição), corresponde a descrição do que será realizado com a população/paciente/participantes; o C (comparação ou controle) relaciona-se à descrição dos critérios que serão utilizados para avaliar a efetividade da intervenção e o O (outcomes) refere-se ao desfecho clínico (a resposta encontrada).

Atendendo a tais preceitos, as perguntas da busca bibliográfica desta revisão sistemática foram:

- a) Há associação entre os níveis de IFN γ no endométrio e a ocorrência de abortamento?
- b) Há diferença nos níveis de IFN γ no endométrio entre abortamentos idiopáticos e não idiopáticos?
- c) Qual a força da evidência dos estudos científicos encontrados?

Essas perguntas possibilitaram responder aos objetivos de caracterizar a produção científica e de avaliar as evidências sobre o IFN γ e o abortamento recorrente. Dessa forma:

- **P** – Pacientes que sofreram abortamento recorrente idiopático;
- **I/E** – níveis de IFN γ ;
- **C** – mulheres grávidas que não sofreram abortamento;
- **O** – interferência dos níveis de IFN γ no abortamento.

5.2.1 Definição dos componentes da estrutura PICO deste estudo

A formulação da questão de pesquisa estruturada com o uso da estratégia PICO possibilita a fácil definição dos critérios de elegibilidade das publicações. Basta que se descreva detalhadamente cada componente do PICO para a criação dos critérios de elegibilidade. Optou-se por realizar descrições mais amplas dos componentes da pergunta de pesquisa, a fim de que os critérios de inclusão não se tornassem restritivos. Dessa forma, esperava-se obter uma revisão sistemática abrangente, com menor possibilidade de viés de seleção (HIGGINS,

GREEN, 2005). Descrições muito restritas geram critérios de inclusão igualmente restritos, com potenciais exclusões errôneas (viés).

Os critérios de elegibilidade desta revisão sistemática não restringiram tipos de publicações, uma vez que revisões narrativas prévias sinalizaram esse questionamento sobre o tema. Essa opção foi definida partindo da suposição de que, caso não existam evidências que possibilitem a realização de metanálise para o tema em questão, ainda assim, será possível classificar o nível de evidência das publicações obtidas, identificar pontualmente as lacunas de conhecimento e os próximos passos necessários em pesquisa para nortear o conflitante tema: IFN γ e abortamento recorrente. Não foi utilizado o componente I (intervenção) da estratégia PICO, uma vez que não existe intervenção de IFN γ no abortamento e, sim, os níveis de exposição do IFN γ durante a gestação. Assim, a melhor sigla para este estudo é PECO e não PICO, em que o E relaciona-se à exposição (MICALLEF *et al.*, 2014).

5.3 REGISTRO DA REVISÃO SISTEMÁTICA

A elaboração e a condução da revisão sistemática seguiu a metodologia do Grupo Cochrane: <http://www.cochranelibrary.com>, os critérios Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses; PRISMA *Statement*: <http://www.prisma-statement.org/>; PRISMA for systematic review protocols, PRISMA-P: <http://www.prisma-statement.org/Extensions/Protocols.aspx> e com registro do protocolo de revisão *a priori* no International Prospective Register of Systematic Reviews – PROSPERO, sob o número CRD42018111621, <https://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO> (GALVÃO; PANSANI; HARRAD, 2015).

5.4 FONTES UTILIZADAS PARA A IDENTIFICAÇÃO DOS ESTUDOS

O processo de identificação deve primar pela abrangência. Portanto, a obtenção de todas as publicações referentes à questão da pesquisa (publicados e indexados, publicados e não indexados, não publicados e em andamento), considerando-se periódicos, capítulos de livros e resumos em anais, entre outras, foram consideradas. Quanto mais otimizada a busca (diversas unidades de análise e estratégias bem planejadas), maior a abrangência da confiabilidade da revisão e menor o risco de viés de publicação. Todas as etapas desse processo foram minuciosamente descritas, para que fosse possível sua replicação por qualquer leitor.

As principais fontes para a localização das publicações foram as bases de dados eletrônicas; a busca manual de jornais relacionados à área em questão; busca da literatura cinza (pesquisas não-publicadas e teses); contato com profissionais/ instituições/ indústrias; análise dos resumos dos congressos, além de análise das referências bibliográficas das publicações de boa qualidade recuperadas. No presente estudo, a busca de publicações nas bases de dados eletrônicos (artigos, dissertações e teses) foi a estratégia utilizada.

Bases de dados eletrônicas podem ser classificadas como gerais e específicas. Bases gerais abordam grandes áreas do conhecimento (ex: ciências da saúde, ciências exatas etc), indexam grande número de publicações e são normalmente utilizadas em revisões sistemáticas. As específicas abordam áreas focadas do conhecimento (por exemplo, Medicina, Enfermagem, Psicologia, Educação), por indexarem áreas específicas apresentando menor quantidade de publicações indexadas e, assim, utilizadas nas revisões sistemáticas em função do tema proposto/questão de pesquisa. Adicionalmente, as bases de dados podem ser classificadas como primárias (indexam publicações originais e não analisadas e não criticadas) ou secundárias (indexam publicações analisadas e criticadas) (NOBRE; BERNARDO, 2004).

Para identificar os artigos relacionados ao tema da pesquisa publicados até junho de 2019, foi realizada uma busca abrangente nas bases de dados eletrônicas: PubMed; OVID; Cochrane; ClinicalTrials.gov; Grey Literature Report; OpenGrey; Oalster; CADTH Evidence Driven; OpenDoar; Ajol; Base; Health Sciences Online; WorldWideScience.org; LA Trobe University; Biblioteca Virtual da Saúde (BVS); Scopus, conforme mostrado na Tabela 2.

Após 4 meses da pesquisa primária (outubro de 2019), uma nova busca nas bases de dados foi realizada com o objetivo de constatar se houve publicações de novos estudos sobre o tema a fim de complementar esta revisão sem perder nenhuma informação importante para o resultado final. Além de refazer as buscas nas bases pré-estabelecidas, também se optou por acrescentar uma nova base para maior abrangência do estudo proposto: Scopus. Foram mantidos os descritores e estratégia de busca, conforme o protocolo da revisão.

Tabela 2- Bases de dados utilizadas segundo suas características. Alfenas, 2019

Bases de dados endereço eletrônico	País de origem	Área de Abrangência	Tipo de publicação	Período de Análise
PubMed http://www.ncbi.nlm.nih.gov	EUA	Ciências da saúde e ciências pré- clínicas*	Artigos	1950 a 2019
Cochrane https://www.cochranelibrary.com	Reino Unido	Pesquisa independente em dados sobre cuidados de saúde	Revisões sistemáticas; Medicina baseada em evidências	1993 a 2019

(continua)

Tabela 2- Bases de dados utilizadas segundo suas características. Alfenas, 2019
(conclusão)

Bases de dados endereço eletrônico	País de origem	Área de Abrangência	Tipo de publicação	Período de Análise
Ovid® http://www.ovid.com	EUA	Medicina	Artigos	1946 a 2019
ClinicalTrials.gov https://www.clinicaltrials.gov	EUA	Medicina	Banco de dados de informações de registros e resultados de estudos de pesquisas clínicas	2000 a 2019
Scopus https://www.scopus.com/	Holanda	Multidisciplinar	Jornais, revistas, periódicos e livros	2004 a 2019
Grey Literature Report http://www.greylit.org/	EUA	Medicina	Artigos	1999 a 2016
OpenGrey http://www.opengrey.eu	França	Multiciplinar	Relatórios de pesquisa dissertações, artigos, publicações oficiais	1997 a 2019
Oalster https://oaister.worldcat.org/	Michigan	Multiciplinar	Artigos, arquivos de mídia, teses, trabalhos de pesquisa	2002 a 2019
CADTH Evidence Driven https://www.cadth.ca/	Canadá	Tecnologia em Saúde	Relatórios anuais em Tecnologia de Saúde e medicamento	1989 a 2019
OpenDoar-Directory of Open Access Repositories https://opendoar.org/	Reino Unido	Multiciplinar	Artigos, livros, conferências, referências, softwares, teses, conteúdo não publicado ou especial.	2006 a 2019
AJOL- African Journals Online https://www.ajol.info	Africa do Sul	Multiciplinar	Periódicos acadêmicos revisados por pares.	1998 a 2019
BASE-Bielefeld Academic Search Engine https://www.base-search.net	Alemanha	Multiciplinar	Repositório institucional; biblioteca digital	2004 a 2019
Health Sciences Online www.hso.info	Canadá	Ciências da saúde	Artigos, palestras, manuais, mídia, cursos e referências	2008 a 2019
WorldWideScience.org https://worldwidescience.org/	EUA	Multiciplinar	Bancos de dados e portais científicos internacionais.	2008 a 2019
LaTrobe University https://www.latrobe.edu.au/	Austrália	Multiciplinar	Relatórios de pesquisa dissertações de doutorado, artigos, publicações oficiais	1967 a 2019
BVS- Biblioteca Virtual em Saúde https://bvsalud.org	Países da América Latina e Caribe	Ciências da Saúde em geral	Informação científica, informação técnica, dados de saúde	1998 a 2019

Fonte: Da Autora

5.5 ESTRATÉGIA DE BUSCA E SELEÇÃO DOS ESTUDOS

A estratégia de busca dos artigos originais iniciou-se no mês de junho de 2019 e em novembro foi refeita para que não se perdesse nenhuma publicação. Nessa busca, foram

incluídos termos que descrevessem ou que estivessem relacionados a abortamento e interferon gama, incluindo: “abortion”/ “aborto”; “abortion habitual”/ “aborto habitual”; “abortion spontaneous”/ “aborto involuntário ou espontâneo”; “interferon gamma”/ “interferon gama”; “ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)” / “ELISA (Ensaio Imunoabsorção Enzimática)”; “Flow Cytometry”/ “Citometria de Fluxo”. Para a busca dos artigos, foi inicialmente desenvolvido um filtro de pesquisa com descritores padronizados extraídos da plataforma MESH (Medical Subject Heading Terms), a qual é utilizada para a recuperação de registros na interface de pesquisa PUBMED. Para identificar estudos relevantes indexados e aqueles em processo de indexação, o filtro de pesquisa foi estruturado, combinando-se os descritores selecionados por meio de operadores booleanos AND e OR, bem como pelo algoritmo Title/Abstract. O mesmo filtro de busca foi adaptado para todas as bases de dados, o qual passa a ser descrito a seguir na tabela 3:

Tabela 3- Filtros de Pesquisas utilizados nas bases de dados. Alfenas, 2019.

						(continua)
Base	Descritores	Estudos	Horário	Data	Data da 2ª busca	
PUBMED	Abortion habitual And interferon gamma	9				
	Abotion habitual And interferon gamma And elisa	1				
	Abotion habitual And interferon gamma And flow cytometry	2	00:30/	26/06/19	07/11/19	
	Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN	27	00:43			
	Abortion spontaneous And interferon gamma	23				
	Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa	2				
	Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry	2				
COCHRANE	Abortion habitual And interferon gamma	2				
	Abotion habitual And interferon gamma And elisa	1				
	Abotion habitual And interferon gamma And flow cytometry	0	11:00/	27/06/19	07/11/19	
	Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN	267	11:25			
	Abortion spontaneous And interferon gamma	3				
	Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa	1				
	Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry	0				
OVID®	Abortion habitual And interferon gamma	66				
	Abotion habitual And interferon gamma And elisa	0				
	Abotion habitual And interferon gamma And flow cytometry	5	00: 55/	26/06/19	07/11/19	
	Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN	109	1:14			
	Abortion spontaneous And interferon gamma	43				
	Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa	0				
	Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry	4				

Tabela 3- Filtros de Pesquisas utilizados nas bases de dados. Alfenas, 2019.

(continuação)

Base	Descritores	Estudos	Horário	Data	Data da 2ª busca
SCOPUS	Abortion habitual And interferon gamma	383			
	Abotion habitual And interferon gamma And elisa	63			
	Abotion habitual And interferon gamma And flow cytometry	82			
	Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN	241	10:00/ 11:00	07/11/19	07/11/19
	Abortion spontaneous And interferon gamma	2563			
	Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry	351			
CLINICAL TRIALS	Abortion habitual And interferon gamma				
	Abotion habitual And interferon gamma And elisa				
	Abotion habitual And interferon gamma And flow cytometry				
	Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN	429	12:06/ 12:15	27/06/19	07/11/19
	Abortion spontaneous And interferon gamma				
	Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa				
Grey Literature Report	Abortion habitual And interferon gamma				
	Abotion habitual And interferon gamma And elisa				
	Abotion habitual And interferon gamma And flow cytometry				
	Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN	0	12:22/ 12:30	26/06/19	07/11/19
	Abortion spontaneous And interferon gamma				
	Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa				
OpenGrey	Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry				
	Abortion habitual And interferon gamma				
	Abotion habitual And interferon gamma And elisa				
	Abotion habitual And interferon gamma And flow cytometry				
	Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN	0	12:35/ 12:42	26/06/19	07/11/19
	Abortion spontaneous And interferon gamma				
Oalster	Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa				
	Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry				
	Abortion habitual And interferon gamma				
	Abotion habitual And interferon gamma And elisa				
	Abotion habitual And interferon gamma And flow cytometry				
	Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN	45	1:25/ 1:45	26/06/19	07/11/19
Abortion spontaneous And interferon gamma					
Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa					
Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry					

Tabela 3- Filtros de Pesquisas utilizados nas bases de dados. Alfenas, 2019.

(continuação)

Base	Descritores	Estudos	Horário	Data	Data da 2ªbusca
CADTH Evidence Driven	Abortion habitual And interferon gamma Abortion habitual And interferon gamma And elisa Abortion habitual And interferon gamma And flow cytometry Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN Abortion spontaneous And interferon gamma Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry	0	1:55/ 2:10	26/06/19	07/11/19
OpenDoar	Abortion habitual And interferon gamma Abortion habitual And interferon gamma And elisa Abortion habitual And interferon gamma And flow cytometry Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN Abortion spontaneous And interferon gamma Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry	0	2:16/ 2:30	26/06/19	07/11/19
AJOL	Abortion habitual And interferon gamma Abortion habitual And interferon gamma And elisa Abortion habitual And interferon gamma And flow cytometry Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN Abortion spontaneous And interferon gamma Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry	1	2:45/ 3:00	26/06/19	07/11/19
BASE	Abortion habitual And interferon gamma Abortion habitual And interferon gamma And elisa Abortion habitual And interferon gamma And flow cytometry Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN Abortion spontaneous And interferon gamma Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry)	73	23:30/ 23:50	26/06/19	07/11/19
WorldWide Science.org	Abortion habitual And interferon gamma Abortion habitual And interferon gamma And elisa Abortion habitual And interferon gamma And flow cytometry Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN Abortion spontaneous And interferon gamma Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry	1337	14:10/ 14:30	27/06/19	07/11/19

Tabela 3- Filtros de Pesquisas utilizados nas bases de dados. Alfenas, 2019.

(conclusão)

Base	Descritores	Estudos	Horário	Data	Data da 2ª busca
Health Sciences Online	Abortion habitual And interferon gamma	375	14:45/ 15:10	27/06/2019	07/11/19
	Abotion habitual And interferon gamma And elisa				
	Abotion habitual And interferon gamma And flow cytometry				
	Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN				
LaTrobe University	Abortion spontaneous And interferon gamma	40	15:30/ 16:00	27/06/19	07/11/19
	Abortion spontaneous And interferon gamma And elisa				
	Abortion spontaneous And interferon gamma And flow cytometry				
	Abortion habitual OR abortion spontaneous And IFN				
BVS- Biblioteca Virtual em Saúde	Abortion habitual And interferon gamma	439	17:00/ 17:25	27/06/19	07/11/19
	Abotion habitual And interferon gamma And elisa				
	Abotion habitual And interferon gamma And flow cytometry				
	Abortion spontaneous And interferon gamma				

Fonte: Da autora.

A triagem inicial dos registros recuperados dessas bases de dados foi realizada de forma independente por três pesquisadores (V.A.P.J.; S.C.P.R.; W.C.T.A.), baseando-se na leitura dos títulos e dos resumos dos artigos que apareceram na busca. Ainda houve a colaboração de um quarto pesquisador (D.S.P.) na orientação de toda a elaboração do presente trabalho. Os estudos duplicados foram removidos a partir da comparação de autores, títulos, periódicos e ano de publicação. Somente os estudos investigados que avaliaram IFN γ e o abortamento recorrente foram selecionados para fazer parte desta revisão sistemática.

Após a triagem inicial, passou-se à recuperação e à leitura dos textos completos potencialmente relevantes. Nessa fase, todos os artigos foram submetidos à análise de elegibilidade para identificar aqueles que preenchiam os requisitos para esta revisão

sistemática. A elegibilidade foi avaliada de forma independente pelos pesquisadores e as discordâncias foram resolvidas após discussão com o terceiro pesquisador e posterior consenso.

5.6 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos nesta revisão sistemática:

- a) Estudos científicos observacionais retrospectivos e prospectivos, tendo como variável de interesse a dosagem de IFN γ no sangue periférico ou endometrial no desfecho do abortamento recorrente, o qual foi definido como duas ou mais perdas gestacionais espontâneas e consecutivas documentadas, antes de 20 semanas de gestação;
- b) Estudos que detectaram o IFN γ no sangue periférico e endometrial, por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA) e citometria de fluxo;
- c) Estudos que utilizaram método de abortamento por curetagem uterina foram incluídos;
- d) Todos os estudos originais publicados desde a inauguração das bases de dados pesquisadas até a data de novembro de 2019, associando ou comparando o IFN γ com abortamento, foram incluídos nesta revisão independentemente do idioma de origem.

5.7 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos todos os estudos:

- a) Estudos secundários (ex: revisão de literatura, cartas ao editor, editoriais, comentários, síntese de congressos);
- b) *Grey literature* (estudos não submetidos à revisão por pares ou não publicados em periódicos científicos formalmente indexados);
- c) Artigos não encontrados na íntegra (aqueles que, mesmo após tentativas de contatos com os autores e/ou periódicos, não obtendo retorno ou não sendo disponibilizados na íntegra);
- d) Artigos que investigavam polimorfismos do IFN γ em relação ao abortamento recorrente;
- e) Artigos que relacionavam IFN γ com fertilização *in vitro* (FIV);

- f) Artigos em que o método de avaliação do IFN γ era discordante com o proposto na inclusão desta revisão;
- g) Estudos cujas avaliações para abortamento incluíam mulheres com anomalias estruturais e anatômicas da cavidade uterina, doenças autoimunes (ex: síndrome anti-fosfolípide e doenças reumáticas), doenças infecciosas, causas hormonais e/ou genéticas;
- h) Estudos com animais;
- i) Todas as publicações que avaliavam o IFN diferente do tipo Gama (γ);
- j) Publicações em que o abortamento foi induzido com ervas medicinais;
- k) Todos os artigos que não estavam relacionados clara e/ou diretamente ao tema, além daqueles duplicados em mais de uma base de dados;
- l) Estudos não controlados.

5.8 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Após a busca em cada uma das 16 bases de dados relacionadas, os resultados foram exportados para o programa Mendeley[®] e se criou um arquivo para cada base de dados. O arquivo no Mendeley[®] armazenou os seguintes dados sobre cada estudo: nome; autor; título; revista onde foi publicado; número; volume; páginas; seção; resumo e palavras-chave. A seguir, os 16 arquivos foram unificados em um único banco de dados, o que facilitou o processo de análise e de síntese.

A seleção inicial foi realizada a partir da análise de título e do resumo dos estudos objetivando caracterizar a produção científica na área. Foi conduzida por meio do gerenciador do programa Mendeley[®], utilizando-se os filtros, os campos e as ferramentas de busca disponíveis nesse programa. Pastas adicionais foram criadas no programa Mendeley[®], permitindo, assim, a classificação dos estudos no mesmo banco de dados. Estudos que geravam dúvidas quanto à pertinência em serem ou não incluídos foram incluídos, evitando-se, desse modo, exclusões errôneas. Estudos que não apresentavam resumo, mas que, pelo título e pelas palavras-chave demonstravam clareza de que não se relacionavam ao IFN γ e ao abortamento, foram excluídos. A leitura dos resumos e a extração dos dados foram realizadas pelo revisor A e a checagem das inclusões e das exclusões pelo segundo revisor. Divergências ocorridas nessa fase foram solucionadas com a inclusão do estudo à etapa seguinte, permitindo-se, assim, decisão posterior. Realizaram-se etapas de conferência dos critérios de inclusão e de exclusão conforme listadas a seguir.

5.8.1 Remoção dos estudos duplicados

Foram utilizados os critérios de manter o estudo proveniente da base de dados que trouxesse o maior número de informações adicionais, como palavras-chave, país de publicação, contato do autor etc. Ao final dessa seleção, obteve-se um conjunto de estudos únicos.

5.8.2 Classificação dos sujeitos

Segundo a World Health Organization,1998,(WHO), as pesquisas em saúde são classificadas como básica, clínica, epidemiológica e avaliativa. Entende-se como pesquisas básicas todas aquelas que utilizam modelo experimental (animais, células, tecidos e/ou órgãos).

Modelos experimentais com animais são classificados como *in vivo* e modelos com células, tecidos ou órgãos, como *in vitro*. Uma vez que a pesquisa básica serve como “fundamento” para pesquisas clínicas, estas são também conhecidas como “pesquisas pré-clínicas”. Entende-se como pesquisas clínicas todas aquelas que utilizam o modelo humano. Os sujeitos da pesquisa (humano ou animais/células/tecidos/órgãos) de todos os estudos foram determinados.

5.8.3 Presença de abortamento recorrente

Classificaram-se os sujeitos dos estudos clínicos quanto à presença de abortamento recorrente. Estudos clínicos, cujos enfoques abordavam abortamento espontâneo, mas não recorrente, foram excluídos. Mantiveram-se na seleção estudos clínicos de mulheres com abortamento recorrente de etiologia desconhecida.

5.8.4 Interferon Gama

Estudos clínicos foram classificados quanto ao tipo de interferon. O interferon analisado foi o do tipo Gama (γ). Os demais tipos de Interferon foram excluídos. Apenas estudos clínicos com mulheres com abortamento recorrente associados com IFN γ foram mantidos.

5.8.5 Tipo de método para dosagem do Interferon Gama

Os estudos clínicos em que o interferon foi avaliado por meio dos métodos de citometria de fluxo e Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) foram selecionados. Estudos que não abordavam o mesmo método foram excluídos.

Os estudos qualitativos foram excluídos e os quantitativos foram classificados quanto ao modelo de estudo, segundo o proposto por Fletcher; Fletcher (2006) e Brasil (2014), como:

a) Estudos descritivos:

- Relato de caso: modelo de estudo envolvendo um único paciente e descrição da intervenção à qual foi submetido e seu respectivo desfecho. Não envolve grupo controle e pode ser tanto prospectivo quanto retrospectivo. Também é chamado de estudo de caso;
- Série de casos: relatos de mais de um paciente com um desfecho de interesse, ilustrando uma determinada condição clínica. Não existe grupo controle.

b) Estudos observacionais:

- Estudo transversal (prevalência): estudo em que se avalia uma amostra da população, mensurando-se desfechos e exposições simultaneamente. Esse modelo de estudo possibilita estimar a prevalência da doença e das exposições/fatores de risco, por meio da frequência das exposições/fatores de risco e da doença;
- Estudo de coorte: estudo que seleciona dois grupos de pacientes, um dos quais recebeu a exposição/fator de risco de interesse (casos) e outro não (controles). Esse modelo acompanha os pacientes por um determinado período ou presença do desfecho, objetivando-se, ao final, mensurar o surgimento do desfecho de interesse. Mensura-se, ao final, a frequência dos desfechos e avalia incidência da doença;
- Estudo de caso-controle: estudo que envolve a identificação de dois grupos de pacientes similares, cuja diferença esperada entre estes seja somente a presença do desfecho de interesse (casos), procurando-se identificar retrospectivamente se estes pacientes foram submetidos à exposição/fator de risco de interesse. Esse modelo de estudo avalia a exposição;
- Pesquisa de resultados terapêuticos (Outcomes research): pesquisa para a avaliação da efetividade dos tratamentos médicos. Os pesquisadores analisam resultados de intervenções terapêuticas que não foram realizadas por eles, o que o diferencia dos ensaios clínicos. Os dados são geralmente coletados dos prontuários e/ou de banco

de dados administrativos. Geralmente, mensuram mortalidade, morbidade, qualidade de vida, sobrevida livre de doença, estado funcional, efeitos adversos tardios e outros.

c) Estudos experimentais:

- Ensaio clínico: estudo em que o pesquisador realiza uma intervenção ativa e observa a ocorrência do desfecho, além de permitir alocação dos grupos de exposição e de manipulação do fator de exposição. Modelo de estudo prospectivo que compara o efeito e o valor de uma intervenção com controles em seres humanos. Os ensaios clínicos foram classificados em randomizados (o investigador distribui os sujeitos de pesquisa de forma aleatória) ou não randomizados (ausência da aleatorização); controlados (presença de um grupo de pacientes que serve como base de comparação na avaliação dos efeitos da intervenção de interesse que é dada aos pacientes do grupo experimental; esses pacientes podem não receber tratamento ou receber o tratamento usual, padrão ou placebo) ou não-controlados (presença exclusiva do grupo experimental); cegados (desconhecimento do recebimento da intervenção em investigação ou intervenção padrão/placebo da pesquisa por parte do paciente, do pesquisador e/ou do analista dos dados; respectivamente, uni-cego, duplo-cego ou triplo-cego) ou abertos (não houve tentativa de cegamento); unicêntrico (pesquisa desenvolvida em apenas um centro de pesquisa) ou multicêntricos (presença de mais de um centro de pesquisa envolvido no desenvolvimento do estudo);
- Estudo cross-sectional: modelo de estudo em que o paciente recebe a intervenção experimental (ou a intervenção controle) e, após um período estabelecido (wash-out), muda de grupo e recebe a intervenção controle (ou a intervenção experimental). A ordem para a administração do tratamento pode ser pré-estabelecida ou randomizada. Não existe grupo de pacientes para controle externo.

d) Estudos secundários

- Revisão narrativa: análise da produção direcionada a todos os aspectos de um dado assunto, em vez de uma questão clínica exclusiva; tende a ser mais subjetiva. Pode incluir diversos modelos de estudo, bem como variados tipos de literatura, como carta ao editor e capítulos de livros. Não estabelece a qualidade das referências incluídas na revisão;

- Revisão sistemática: Revisão cujos vieses são eliminados por meio da explicitação da questão de pesquisa, da utilização de estratégia de busca ampla, de método claro para graduação da qualidade da evidência dos estudos individuais e de estratégia explícita na combinação das evidências individuais até o alcance das conclusões. Frequentemente, estão relacionadas aos ensaios clínicos randomizados;
- Metanálise: revisão cujos resultados da revisão sistemática são homogêneos e podem ser combinados estatisticamente. A somatória dos resultados de estudos individuais recebe peso com a metanálise, sendo os estudos analisados como sujeitos.

5.9 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram extraídos de maneira padronizada por meio do instrumento para caracterização e extração de dados (Apêndice A e B), e estão apresentados na Tabela 7, onde foram caracterizados segundo autor, título, ano, país, tipo de estudo e observação quanto à inclusão ou não na revisão.

Adicionalmente, para cada estudo, foram atribuídas as seguintes classificações: nível de evidência, grau de recomendação e qualidade do estudo.

Nível de evidência classifica a validade da evidência sobre intervenções, de acordo com seu enfoque diagnóstico, etiológico, prognóstico ou terapêutico, sendo diretamente relacionado com o modelo de estudo utilizado, ou seja, o delineamento da pesquisa.

Os principais modelos de estudo foram representados em uma pirâmide hierárquica localizada no ANEXO A. Tal hierarquia indica a sensibilidade de um estudo, sinalizando a que estudo deva ser dado maior peso em situações nas quais uma mesma questão é examinada por diferentes tipos de estudo.

Utilizou-se a Classificação do Nível de Evidência proposto pela Oxford Centre for Evidence- Based Medicine, em versão adaptada por Nobre e Bernardo (2006), para a avaliação do nível de evidência dos estudos desta revisão (Anexo B). Os níveis de evidência são classificados como:

- 1A - revisão sistemática (com homogeneidade) de ensaios clínicos controlados e randomizados;
- 1B – ensaio clínico controlado e randomizado com intervalo de confiança estreito;
- 1C – resultados terapêuticos do tipo “tudo ou nada”;
- 2A - revisão sistemática (com homogeneidade) de estudos de coorte;

- 2B – estudo de coorte (incluindo ensaio clínico de menor qualidade);
- 2C – estudo observacional de resultados terapêuticos (outcomes research);
- 3A - revisão sistemática (com homogeneidade) de estudos caso-controle;
- 3B – estudo caso- controle;
- 4 - relato de caso (incluindo coorte ou caso-controle de menor qualidade;
- 5 – opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consensos, em estudos fisiológicos, com materiais biológicos ou modelos animais.

De acordo com os autores anteriormente citados, o grau de recomendação refere-se a uma medida de qualidade atribuída ao nível de evidência de um estudo e auxilia na interpretação das recomendações. Utilizou-se a Classificação dos Graus de Recomendação proposta pela Oxford Centre for Evidence-Based Medicine (Anexo C) para a classificação do grau de recomendação dos estudos da presente revisão. Os Graus de Recomendação são classificados como:

- a) A – estudos de nível 1 consistentes;
- b) B – estudos de nível 2 ou 3 consistentes ou extrapolações dos estudos de nível 1;
- c) C – estudos de nível 4 consistentes ou extrapolações dos estudos de nível 2 ou 3;
- d) D – evidência de nível 5 ou estudos inconsistentes ou inconclusivos de qualquer nível.

Para facilitar a explicitação de evidência, atribuíram-se ao nível de recomendação as categorias de Evidência Forte (Grau de recomendação A); Evidência Moderada (Grau de Recomendação B); Evidência Fraca (Grau de recomendação C) e Evidência Muito Fraca (Grau de recomendação D) (ANEXO C).

Para a análise de qualidade dos estudos, utilizou-se a escala de Newcastle Ottawa Scale que é um questionário para ser utilizado especificamente no contexto da revisão sistemática contendo questões separadas para estudos de coorte e caso controle (ANEXO D), a qual é ferramenta recomendada pela Colaboração Cochrane, descrita nas Diretrizes Metodológicas: Elaboração de Revisão sistemática e metanálise de estudos observacionais comparativos sobre fatores de risco e de prognóstico. A pontuação dos dados e a avaliação da qualidade é dada por estrelas que indicam as respostas consideradas como corretas. Um estudo pode alcançar no máximo uma estrela para cada questão das sessões Seleção e Resultados e duas estrelas para a sessão Comparabilidade. Portanto, o máximo de estrelas que poderá ser alcançado por cada estudo será de 9. Um índice de qualidade “bom” exige 3 ou 4 estrelas na seleção; 1 ou 2 estrelas na comparabilidade e 2 ou 3 estrelas nos resultados. Uma pontuação de qualidade “razoável” exige* 2 estrelas na seleção; 1 ou 2 estrelas na comparabilidade e 2 ou 3 estrelas nos resultados.

Um escore de qualidade “ruim” reflete* 0 ou 1 estrela na seleção, ou 0 estrelas na comparabilidade, ou 0 ou 1 estrela nos resultados.

*Sugiro a mudança do tempo verbal acima para ficar mais assertivo.

5.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Considerando-se a possível heterogeneidade nos estudos identificados, utilizou-se um modelo estatístico baseado em metanálise. A metanálise é uma técnica de investigação que seleciona estudos e extrai resultados por meio de procedimentos rigorosos. Os resultados são, então, resumidos por meio de análise estatística com o objetivo de diminuir a subjetividade dos métodos tradicionais de revisão narrativa. Assim, pode-se afirmar que a metanálise é um estudo observacional da evidência que se baseia na aplicação do método estatístico a um estudo de revisão sistemática, o qual integra dois ou mais estudos primários (RAMALHO, 2005).

Utilizou-se a diferença média ponderada dos efeitos aleatórios, na qual é admitida alguma heterogeneidade e erro de amostragem, para calcular uma estimativa do tamanho do efeito, com intervalos de confiança de 95% (DERSIMONIAN; LAIRD, 1986).

Para esse modelo, foram comparados os valores de média e desvio padrão obtidos para os níveis teciduais da citocina IFN γ . Quando o erro padrão (SE) foi adotado como medida de variabilidade, os valores foram convertidos para desvio padrão, usando-se a fórmula $SD = SE\sqrt{n}$, onde n é o tamanho da amostra utilizada em cada grupo. Quando esses dados foram relatados em gráficos, um programa de análise de imagem (Image-Pro Plus 4.5, Media Cybernetics, MD, EUA) calibrado para cada imagem, foi usado para extrair esses valores (MENDONÇA *et al.*, 2018).

A variabilidade do desfecho avaliado foi apresentada como estatística de heterogeneidade (I_2). Devido ao caráter contínuo das variáveis investigadas, a razão de risco (RR) e a diferença média padrão (SMD) foram utilizadas como estimativa de efeito. Devido à relativa semelhança na faixa etária das gestantes incluídas no grupo controle e de abortamento recorrente, a idade não foi aplicada para a exploração de heterogeneidade (HIGGINS *et al.*, 2005). A metanálise foi realizada por meio do software Review Manager 5 (RevMan, [Computer program], Version 5.3. Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2014).

6 RESULTADOS

A Figura 1 mostra a seleção dos estudos e estes foram relacionados com o tema da pesquisa, sendo utilizado o fluxograma no modelo Prisma Checklist.

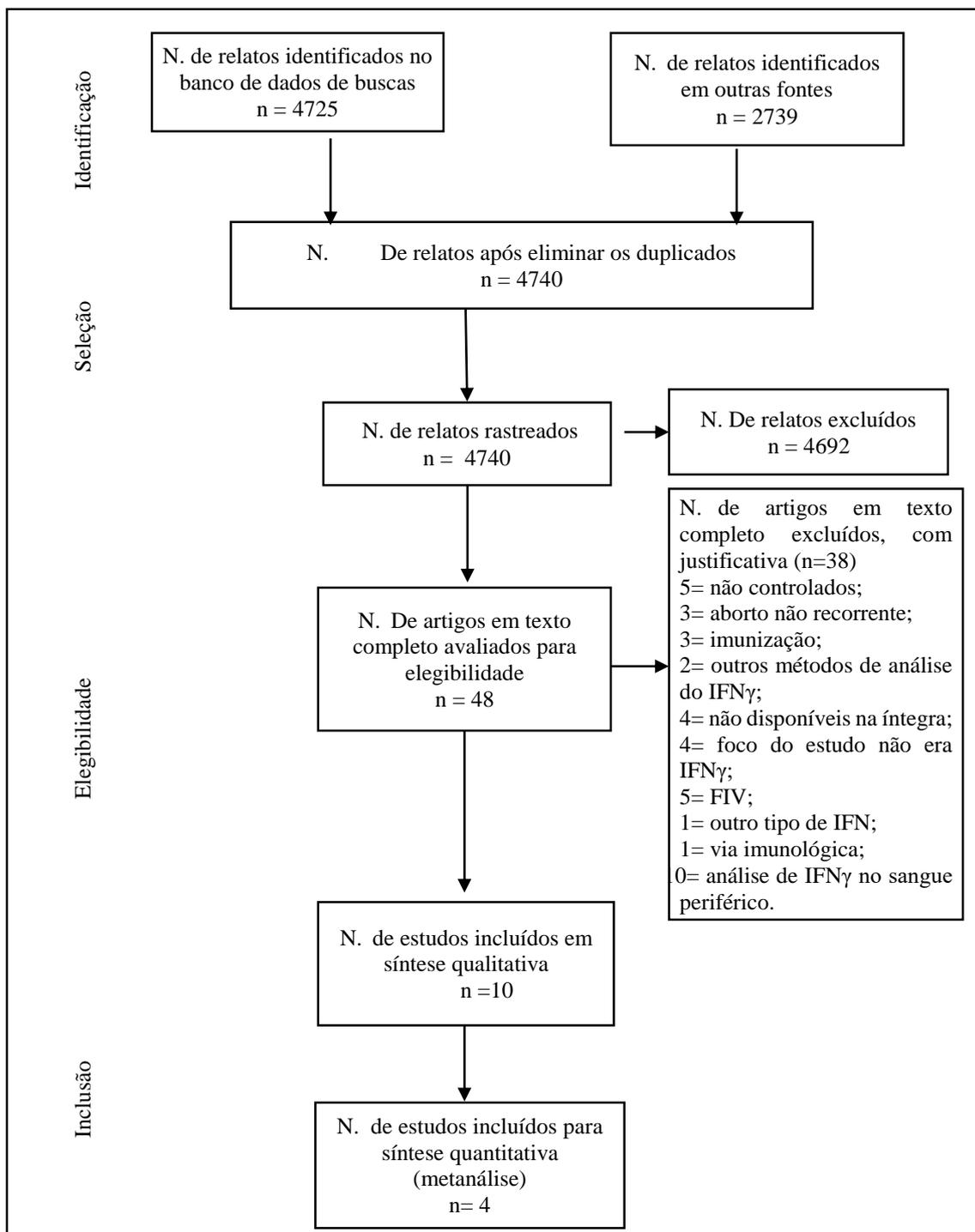


Figura 1 - Fluxograma da seleção de artigos que foram incluídos na revisão sistemática. FONTE: Da autora.

Nota : Baseado em Preferred Reporting Items For Systematic Reviews And Meta Analyses–PRISMA (MOHER *et al* 2015).

Como resultado da busca nas bases de dados, foram encontrados 7464 estudos, dos quais 2724 foram removidos por estarem em duplicação, restando 4740 artigos; destes, 4692 foram eliminados de acordo com os critérios da revisão proposta. Para a análise de texto completa, restaram 48 estudos elegíveis, dos quais, após leitura cuidadosa, apenas 10 artigos se encontravam de acordo com o objetivo desta revisão e em uma segunda avaliação restaram para metáanálise 4 artigos.

Os resultados estão apresentados em dois capítulos. No primeiro, caracterizam-se as bases de dados e os estudos obtidos; no segundo, estão apresentadas as características dos estudos e as evidências sobre o IFN γ no abortamento recorrente.

6.1. BASES DE DADOS E ESTUDOS OBTIDOS.

Os dados da caracterização da produção científica sobre IFN γ e abortamento recorrente em frequência absoluta e relativa estão listados a seguir.

O processo de seleção dos artigos foi bastante elaborado, pois se utilizou estratégia de busca muito ampla, o que gerou muitos resultados falso-positivos.

Conforme a tabela 4, foram utilizadas 15 bases de dados, com abrangência primária, secundária, geral e específica.

Tabela 4- Estudos identificados segundo as bases de dados. Alfenas, 2019.

Base de Dados	Estudos Obtidos		Estudos Únicos	
	N	%	N	%
PubMed	66	0,83%	26	0,48%
OVID	227	3,02%	105	1,96%
Cochrane	274	3,66%	264	4,92%
Scopus	4158	55,81%	2935	54,67%
ClinicalTrials.gov	429	5,74%	366	6,82%
Grey Literature Report	0	0,00%	0	0,00%
OpenGrey	0	0,00%	0	0,00%
Oalster	45	0,60%	37	0,69%
CADTH Evidence Driven	0	0,00%	0	0,00%
OpenDoar	0	0,00%	0	0,00%
Ajol	1	0,01%	1	0,02%
Base	73	0,98%	28	0,52%
Health Sciences Online	375	5,02%	153	2,85%
WorldWideScience.org	1337	17,95%	1235	23,00%
LA Trobe University	40	0,48%	40	0,75%
BVS	439	5,88%	179	3,33%
Total	7464	100,00%	5369	100,00%

Fonte: Da autora

Nas buscas realizadas, foram identificados 7464 estudos, dos quais somente 5365 (71,93%) eram únicos em cada base. A Scopus e a WorldWideScience.org foram as bases de dados eletrônicas que trouxeram o maior número de publicações (54,67% e 23,00%, respectivamente), seguidas pela BVS (3,33%) e ClinicalTrials.gov (6,82%). As bases de dados menos representativas foram: Grey Literature Report, OpenGrey, CADTH Evidence Driven e OpenDoar com 0% de estudos encontrados.

Tabela 5- Estudos duplicados. Alfenas, 2019.

Base	Estudos duplicados	
	N	%
Duplicados na primeira busca nas bases de dados	1497	20,06%
Duplicados na segunda busca nas bases de dados	4	0,05%
Duplicados na base de dados Scopus	1223	16,39%
Total de estudos excluídos por duplicidade	2724	36,50%

Fonte: Da autora.

Das 7464 publicações encontradas, 20,06% (1497) estavam duplicadas nas base de dados no primeiro intento desta revisão; na segunda busca, evidenciou-se um aumento de 0,05% (4) para pesquisas recentes com o tema; após o acréscimo da base de dados Scopus, identificaram-se 1223 novas publicações, perfazendo um total de 36,50% (2724) das publicações excluídas por duplicidade, conforme a tabela 5.

Tabela 6- Estudos analisados e excluídos. Alfenas, 2019.

	N	%
Estudos analisados	4740	63,50%
Estudos excluídos de acordo com os critérios da pesquisa	4692	98,99%
Estudo analisados detalhadamente	48	1,01%

Fonte: Da autora

Portanto, a tabela 6 informa que, das 4740 (63,50%) publicações restantes, após exclusão de artigos em duplicidade, 98,99% (4692) estavam de acordo com os critérios de exclusão desta pesquisa e também foram excluídos. Sendo assim, apenas 1,01% (48) dos estudos foram para uma análise qualitativa detalhada.

Na tabela 7 (a seguir), estão descritos os 48 artigos que passaram para a leitura de textos completos e sua elegibilidade para inclusão na revisão sistemática. Observou-se que a maioria dos estudos foi do tipo caso controle (N= 34), o que corresponde a um total de 70,83

% das publicações. Apenas um estudo foi caracterizado em seu desenho como estudo Coorte (2,08 %). Pode-se ainda inferir que, entre os países que mais publicam sobre o tema em questão, está a China com 22,92% (11) e o Japão com 10,42% (5); os demais países contribuíram com no máximo duas publicações.

Tabela 7- Caracterização dos estudos para elegibilidade. Alfenas, 2019.

						Continua
Autor	Título	Ano	País	Tipo do estudo	Observação	
An, L.F. <i>et al.</i> ,	Unexplained infertility patients have increased serum IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-21, TNF α , IFN γ and increased Tfh/CD4T cell ratio: Increased Tfh and IL-21 strongly correlate with presence of autoantibodies	2015	China	Caso controle	Infertilidade	
Bates, M. <i>et al.</i> ,	Aberrant cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in recurrent pregnancy loss?	2002	Reino Unido	Caso controle	Pré - selecionado	
Bednarek, W. <i>et al.</i> ,	Prognostic significance of soluble intercellular adhesion molecule serum levels in women with threatened abortion	2006	Polônia	Caso controle	Avalia moléculas de adesão	
Blanco, O. <i>et al.</i> ,	Human decidual stromal cells express HLA-G Effects of cytokines and decidualization.	2007	Espanha	Experimental	Sem grupo controle	
Brincat, M.	Recurrent abortions: What is the role of the cytokine? Aborti ricorrenti: Qual è il ruolo delle citochine?	2008	Itália	Descritivo	Excluído	
Calleja-Agius, J. <i>et al.</i> ,	Pro- and antiinflammatory cytokines in threatened miscarriages.	2011	Inglaterra	Caso controle	Ameaça de aborto	
Cauchi, M. N. <i>et al.</i> ,	Predictors of Pregnancy Success in Repeated Miscarriage.	1991	Austrália	Randomizado	Imunização paterna	
Chen, C. P. <i>et al.</i> ,	Expression of Interferon γ by Decidual Cells and Natural Killer Cells at the Human Implantation Site.	2015	Taiwan	Estudo observacional	Sem grupo controle	
Comba, M. D. <i>et al.</i> ,	Role of inflammatory mediators in patients with recurrent pregnancy loss.	2015	Turquia	Caso controle	Incluído	
Dong, P. <i>et al.</i> ,	Simultaneous detection of decidual Th1/Th2 and NK1/NK2 immunophenotyping in unknown recurrent miscarriage using 8-color flow cytometry with FSC/Vt extended strategy.	2017	China	Caso controle	Avalia NK1 e NK2	
Eskiciogl, F.	The association of HLA-G and immune markers in recurrent miscarriages.	2016	Turquia	Caso controle	Utiliza Western blot	

Tabela 7- Caracterização dos estudos para elegibilidade. Alfenas,2019.

						(continuação)
Autor	Título	Ano	País	Tipo do estudo	Observação	
Fan, W. <i>et al.</i> ,	Influence of blockade of costimulation on Th1/Th2 cytokines shift in unexplained early recurrent spontaneous.	2006	China	Transversal	Não disponível na íntegra	
Fukui, A. <i>et al.</i> ,	Expression of natural cytotoxicity receptors and cytokine production on endometrial natural killer cells in women with recurrent pregnancy loss or implantation failure, and the expression of natural cytotoxicity receptors on peripheral blood natural killer.	2017	Japão	Caso controle	Falha de implantação/ FIV	
Fukui, A. <i>et al.</i> ,	Intracellular cytokine expression of peripheral blood natural killer cell subsets in women with recurrent spontaneous abortions and implantation failures.	2008	EUA	Coorte	FIV	
Han, A.R., Yang, K. M., Kwak, K. J.,	Predominant T Helper 1 Immune Response in Women with Reproductive Failures.	2010	Coreia	Caso controle	FIV	
Hosseini, H. <i>et al.</i> ,	Cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in recurrent miscarriage.	2004	Irã	Caso controle	Pré-selecionado	
Huang, Q. <i>et al.</i> ,	Effect of miR-30e regulating NK cell activities on immune tolerance of maternal-fetal interface by targeting PRF1	2019	China	Caso controle	Incluído	
Ismail, A. M. <i>et al.</i> ,	Role of Th-1 cell cytokines, leukemia inhibitory factor and hoxA genes in women with recurrent pregnancy loss	2017	Egito	Caso controle	Incluído	
Ismail, A. M. <i>et al.</i> ,	The Role of Uterine NK Cells and T Cell Cytokines in Recurrent Miscarriage.	1999	Egito	Ensaio clínico	Não avalia interferon	
Jenkins, C. <i>et al.</i> ,	Evidence of a T (H) 1 type response associated with recurrent miscarriage.	2000	Reino Unido	Caso controle	Pré-selecionado	
Li, G. <i>et al.</i> ,	Association between PD-1/PD-L1 and T regulate cells in early recurrent miscarriage.	2015	China	Caso controle	Avalia a via imunológica	
Lim, K. J. <i>et al.</i> ,	The role of T-helper cytokines in human reproduction.	2000	Inglaterra	Caso controle	Reprodução humana	
Klatzmann, D. <i>et al.</i> ,	Low-dose Interleukin-2 in Women With Unexplained Miscarriages	2019	França	Ensaio clínico	Intervenção/ estudo não concluído	
Liu, J. <i>et al.</i> ,	Natural killer, natural killer T, helper and cytotoxic T cells in the decidua from recurrent spontaneous abortion with normal and abnormal chromosome karyotypes	2018	China	Caso Controle	Incluído	

Tabela 7- Caracterização dos estudos para elegibilidade. Alfenas,2019.

						(continuação)
Autor	Título	Ano	País	Tipo do estudo	Observação	
Makhseed, M. <i>et al.</i> ,	Circulating cytokines and CD30 in normal human pregnancy and recurrent spontaneous abortions.	2000	Kwuit	Caso controle	Pré-selecionado	
Malinowski, A. <i>et al.</i> ,	Immunologic characteristics of women recurrent spontaneous abortion of unknown etiology. II. Characterization of humoral immunology].	1997	Polônia	Caso controle	Não disponível na íntegra	
MARZI, M. <i>et al.</i> ,	Characterization of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic human pregnancy.	1996	Itália	Estudo transversal	Não estudou aborto	
Motak-Pochrzest H.; Malinowski A.	The occurrence of immunological disturbances in patients with recurrent miscarriage (RM) of unknown etiology.	2019	Polônia	Estudo transversal	Pré-selecionado	
Palfi, M. <i>et al.</i> ,	Circulating interferon-gamma- and interleukin-4-secreting cells in recurrent spontaneous abortions.	1999	Suécia	Caso controle	Tratamento com imunoglobulina	
Park, A. J.; Lee, M. K.	Peripheral Th1 and Th2 Lymphocytes Values by Intracellular Cytokine Staining for Interferon-and Interleukin-4 in the Patients with Repeated Spontaneous Abortion.	2005	Coreia	Experimental	Não disponível na íntegra	
Raghupath, R. <i>et al.</i> ,	Maternal Th1- and Th2-type reactivity to placental antigens in normal human pregnancy and unexplained recurrent spontaneous abortions.	1999	Kuwait	Caso controle	Incluído	
Rezaei, A. <i>et al.</i> ,	T-helper (1) cytokines increase during early pregnancy in women with a history of recurrent spontaneous abortion	2002	Irã	Caso controle	Pré-selecionado	
Shimada, S. <i>et al.</i> ,	No difference in natural-killer-T cell population, but Th2/Tc2 predominance in peripheral blood of recurrent aborters.	2003	Japão	Caso controle	Pré-selecionado	
Shimada, S. <i>et al.</i> ,	No difference in natural killer or natural killer T-cell population, but aberrant T-helper cell population in the endometrium of women with repeated miscarriage.	2004	Japão	Caso Controle	Incluído	
Sotnikova, N. <i>et al.</i> ,	Interaction of decidual CD56+ NK with trophoblast cells during normal pregnancy and recurrent spontaneous abortion at early term of gestation.	2014	Rússia	Caso controle	Incluído	
Takuya M. <i>et al.</i> ,	Correlation Between the TH1 and TH2 Cells by Intracellular Cytokine Detection and MLR-blocking Antibodies in Patients with Unexplained Recurrent Abortion.	2004	Japão	Estudo correlacional	Estudo correlacional	

Tabela 7- Caracterização dos estudos para elegibilidade. Alfenas,2019.

(continuação)

Autor	Título	Ano	País	Tipo do estudo	Observação
Takuya, M. <i>et al.</i> ,	Correlation Between the TH1 and TH2 Cells by Intracellular Cytokine Detection and MLR-blocking Antibodies in Patients with Unexplained Recurrent Abortion.	2004	Japão	Estudo correlacio- nal	Estudo correlacional
Talukdar, A. <i>et al.</i> ,	Peripheral Gamma Delta T cells secrete inflammatory cytokines in women with idiopathic recurrent pregnancy loss.	2018	Índia	Caso controle	Avalia outro tipo de interferon
Wang, W. <i>et al.</i> ,	Dysregulation of macrophage activation by decidual regulatory T cells in unexplained recurrent miscarriage patients.	2011	China	Caso controle	Incluído
Wilson, R. <i>et al.</i> ,	Abnormal cytokine levels in non-pregnant women with a history of recurrent miscarriage.	2004	China	Caso controle	Pré-selecionado
Wu, M. <i>et al.</i> ,	Soluble costimulatory molecule stim3 regulates the differentiation of Th1 and Th2 in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion.	2015	China	Caso controle	Pré-selecionado
Xu, L. <i>et al.</i> ,	Expression of C-type lectin receptors and Toll-like receptors in decidua of patients with unexplained recurrent spontaneous abortion.	2017	China	Caso controle	Incluído
Yamada, H. <i>et al.</i> ,	Circulating cytokines during early pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion: decreased TNF-alpha levels in abortion with normal chromosome karyotype.	2004	Japão	Transversa 1	Não disponível na íntegra
Yang, K. M. <i>et al.</i> ,	Women with Multiple Implantation Failures and Recurrent Pregnancy Losses have Increased Peripheral Blood T Cell Activation.	2010	EUA	Caso controle	FIV
Yuan, J. <i>et al.</i> ,	Characterization of the subsets of human NKT-like cells and the expression of Th1/Th2 cytokines in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion.	2015	China	Caso controle	Incluído
Zenclusse, A. C. <i>et al.</i> ,	Questioning the Th1/Th2 Paradigm in Reproduction: Peripheral Levels of IL-12 are Down-Regulated in Miscarriage Patients.	2002	Alem a-nha	Caso controle	Não avalia aborto recorrente
Zenclusse, A. C. <i>et al.</i> ,	Questioning the Th1/Th2 Paradigm in Reproduction: Peripheral Levels of IL-12 are Down-Regulated in Miscarriage Patients.	2002	Alem- anha	Caso controle	Aborto espontâneo/ Não avalia aborto recorrente

Tabela 7- Caracterização dos estudos para elegibilidade. Alfenas, 2019. (conclusão)

Autor	Título	Ano	País	Tipo do estudo	Observação
Zenclusse, A. C. <i>et al.</i> ,	Upregulation of decidual P-selectin expression is associated with an increased number of Th1 cell populations in patients suffering from spontaneous abortions.	2001	Alema-nha	Caso controle	Aborto espontâneo/ Não avalia aborto recorrente
Zhu, L. <i>et al.</i> ,	Increased natural killer cell subsets with inhibitory cytokines and inhibitory surface receptors in patients with recurrent miscarriage and decreased or normal subsets in kidney transplant recipients late post-transplant	2018	Alema-nha	Caso controle	Pré-selecionado
Ziganshina M. M. <i>et al.</i> ,	Time course of the cytokine profiles during the early period of normal pregnancy and in patients with a history of habitual miscarriage.	2013	Rússia	Caso controle	Avalia interleucina

Fonte: Da Autora.

Tabela 8- Estudos excluídos e incluídos. Alfenas, 2019.

Estudos	N	%
Estudos excluídos com justificativa	38	79,17%
Estudos incluídos na síntese qualitativa	10	20,83%

Da autora.

Analisando os dados obtidos na tabela 8, verificou-se que 79,17% (38) dos estudos restantes não estavam de acordo com o que foi proposto nesta revisão sistemática, e apenas 20,83% de estudos (10) estavam em total acordo com os critérios de inclusão e, assim, foram submetidos à análise qualitativa.

Tabela 9- Justificativa da exclusão após análise detalhada. Alfenas, 2019.

Justificativa da exclusão	N	%
Outros métodos de análise do IFN γ	2	5,26%
Outro tipo de IFN	1	2,63%
Via imunológica	1	2,63%
Abortamento não recorrente	3	7,89%
Imunização	3	7,89%
Foco do estudo não era IFN γ	4	10,53%
Não controlados	5	13,16%
Não disponíveis na integra	4	10,53%
FIV	5	13,16%
Análise de IFN γ no sangue periférico.	10	26,32%
Total excluído	38	100,00%

Fonte: Da autora.

A tabela 9 informa detalhadamente os motivos das exclusões, a saber: em duas categorias, foram identificados 2,63% (1) de estudos levados à exclusão por serem estudos que analisavam outro tipo de IFN e estudos que avaliavam a via imunológica e não o IFN γ propriamente dito. Outras exclusões com 10,53% (4) foram porque o foco de estudo não era o IFN γ e, sim, outra citocina, bem como, em outras duas categorias, perfazendo 7,89 % (3) dos estudos; a exclusão foi devido à avaliação de abortamento não recorrente e imunização paterna prévia e o foco principal do estudo não era o IFN γ . Ainda, duas categorias em uma avaliação de 5,26% (2) chegaram à exclusão por possuírem outro método de análise do IFN γ e não por estarem na íntegra para avaliação, mesmo após tentativa de contato com os autores e/ou com o periódico de origem; 13,16% (5) destes artigos também foram levados à exclusão por avaliarem o IFN γ na reprodução humana (Fertilização *in vitro*- FIV) e estudos não controlados. Finalmente, 26,32 % (10) dos artigos avaliados com justificativas foram excluídos por utilizarem o sangue periférico como método de avaliação principal.

6.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS E EVIDÊNCIAS SOBRE O IFN γ NO ABORTAMENTO RECORRENTE.

Após a exclusão dos estudos com as devidas justificativas, passou-se à uma avaliação acurada dos artigos restantes para a obtenção dos resultados almejados, ficando da seguinte forma resumidos na tabela 10 a seguir.

Tabela 10- Caracterização dos estudos quanto à idade, amostra, método de avaliação, material, tipo de medida, dosagem do interferon e resultados. Alfenas, 2019.

Autor	Idade	Amostra			Método De Avaliação	Material	Tipo de Medida	Dosagem do Interferon			Resultado
		AR	G	NG				CAR	CG	CNG	
Comba, M.D. <i>et al.</i> ,	CAR: 21-33 CNG: 26-31	21		20	Elisa	Material de curetagem		665,20 +- 317,28p g/ml	408,39 +- 234,38 pg/ml		IFN γ aumentado no aborto recorrente
Huang, Q. <i>et al.</i> ,		49	52		Citometria de fluxo	Material de curetagem					IFN γ aumentado no aborto recorrente
Ismail A.M. <i>et al.</i> ,	CAR: 25-33 CNG: 24-32	37		35	Elisa	Material de curetagem		291,6 +- 222,9 pg/ml	78,7 +- 49,8 pg/ml		IFN γ aumentado no aborto recorrente
Liu, J. <i>et al.</i> ,	CAR: 23-31 CG: 27-33	25	21		Citometria de fluxo	Material de curetagem					Não há diferença estatística
Raghupathy, R. <i>et al.</i> ,		19	16		Elisa	Material de curetagem		106,1 +- 20,73 pg/ml	21,95 +- 9,76 pg/ml		IFN γ aumentado no aborto recorrente
Shimada, S. <i>et al.</i> ,	CAR 26-40 CNG 26-44	20		17	Citometria de fluxo	Material de curetagem		Média 28,4	Média 39,5		IFN γ menor no aborto recorrente
Sotnikova, N. <i>et al.</i> ,	CAR: 20-34 CG: 21-37 CNG: 24-39	26	37	13	Citometria de fluxo	Material de curetagem	Triplicata	Média 25,38 +- 6,9	Média 7,72/ +- 0,8	Média 3,7 +- 0,7	IFN γ aumentado no aborto recorrente
Wang, W. <i>et al.</i> ,	CAR: 25-40 CG: 26-35	15	15		Citometria de fluxo	Material de curetagem		124,06 +- 26,22 pg/ml	101,50 +-30,60 pg/ml	Não citado	Não há diferença estatística
Yuan, J. <i>et al.</i> ,	CAR: 29-40 CG: 27-38 CNG: 30-40	10	10	10	Elisa	Material de curetagem	Duplicata	100,54 +- 44,32 pg/ml	61,62 +- 23,78 pg/ml	Não citado	IFN γ aumentado em aborto
Xu, L. <i>et al.</i> ,	CG: 26-32	40	40		Elisa	Material de curetagem		319,8 ng/ml	458,2 ng/ml	Não citado	IFN γ aumentado em não grávidas

Fonte: Da Autora.

Legenda: CAR: Casos de Aborto Recorrentes. CG: Controle Grávida. CNG: Controle Não Grávida.

A tabela 10 apresenta informações detalhadas sobre os estudos que foram incluídos na análise qualitativa.

Comba *et al* (2015) recrutaram 20 controles não grávidas saudáveis com idades entre 26 e 31 anos de idade e 21 casos com idade entre 21 e 33 anos, diagnosticadas com abortamento recorrente inexplicáveis, após serem excluídas causas endócrinas, anatômicas e infecciosas. Todos os casos e controles foram submetidos à coleta de sangue periférico e a curetagem uterina foi realizada em ambos os grupos para a obtenção de material endometrial para a análise das citocinas.

Huang *et al* (2019), que recrutaram 49 casos de abortamento recorrente e 52 casos de controles grávidas, não relatam em sua descrição a idade das pacientes selecionadas. Mas todos os casos e controles se encontravam grávidas entre 7 e 9 semanas de gestação. Foram submetidas à curetagem uterina para a obtenção do material a ser estudado e utilizado (citometria de fluxo). Apresentaram seus resultados em níveis percentuais de expressão celular e sem a dosagem da molécula de interesse.

Ismail *et al* (2017) recrutaram 37 casos de abortamento recorrente e 35 controles não grávidas, cujo grupo de casos se encontrava entre 25 a 33 anos de idade e grupo controle entre 24 a 32 anos de idade. A amostragem do material foi adquirido sob curetagem uterina e avaliada sob a técnica do método de ELISA.

Raghupathy *et al* (1999) recrutaram 19 casos de abortamento recorrente, excluindo doenças e/ ou anomalias e 16 controles grávidas. Ambos os grupos foram submetidos à coleta de sangue periférico e à curetagem uterina para estabelecimento da dosagem de citocinas (ELISA). Os autores não relataram a idade dos participantes.

Liu *et al* (2018) recrutaram 25 casos de abortamento recorrente e 25 controles grávidas, em que a idade do grupo controle era entre 27 e 33 anos e a do grupo de casos entre 23 e 31 anos; as pacientes foram recrutadas entre 6 e 10 semanas de gestação para a obtenção de tecido decidual e viloso e, após, que foi submetido à técnica de citometria de fluxo. Utilizou-se a percentagem de células e não valores numéricos para a obtenção de dados quantitativos.

Shimada *et al* (2004) recrutaram 20 casos de abortamento recorrente e 17 controles não grávidas saudáveis. A idade do grupo de casos era entre 26 e 40 anos e dos controles entre 26 e 44 anos. O material para a obtenção das citocinas foi a curetagem uterina dos casos e controles, o qual foi submetido à citometria de fluxo.

Sotnikova *et al* (2014) recrutaram 26 casos de abortamento recorrente entre 20 e 34 anos de idade, 37 controles grávidas com idade entre 21 e 37 anos e 13 controles não grávidas entre 24 e 39 anos. Todas foram submetidas à curetagem uterina para a avaliação das citocinas

por método de citometria de fluxo e descreveram que as análises foram realizadas em triplicatas para se minimizar o risco de viés.

Yuan *et al* (2015) recrutaram 10 casos de abortamento recorrente entre 29 e 40 anos, 10 controles grávidas entre 27 e 38 anos e 10 controles não grávidos entre 30 e 40 anos, todos submetidos à amostragem de sangue periférico e material de curetagem uterina. As análises do teste de ELISA foram em duplicatas para se minimizar os riscos de viés.

Wang; Hao; Lin (2011) recrutaram 15 casos de abortamento recorrente e 15 controles grávidas, cujas idades eram entre 25 e 40 anos e 26 e 35 anos, respectivamente. Ambos os grupos se encontravam entre 6 a 10 semanas de gestação. Utilizou-se a curetagem uterina para a obtenção de amostras teciduais que foram submetidas à técnica de citometria de fluxo.

Xu *et al* (2016) recrutaram 40 casos de abortamento recorrente e 40 controles grávidas cujo grupo de casos possuía idades entre 28 e 34 anos e o controle, entre 26 e 32 anos. A amostragem foi de sangue periférico e de curetagem uterina para a obtenção das citocinas sob avaliação do método de Elisa.

6.2.1 Avaliação dos Níveis de Evidência

Tabela 11- Classificação do delineamento da pesquisa e nível de evidência e grau de recomendação. Alfenas, 2009.

Estudo	Deliniamento da pesquisa	Nível de Evidência	Grau
Comba, M. D <i>et al.</i> , Huang, Q. <i>et al.</i> , Ismail, A.M. <i>et al.</i> , Liu, J. <i>et al.</i> , Raghupathy, R. <i>et al.</i> , Shimada, S. <i>et al.</i> , Sotnikova, N. <i>et al.</i> , Wang, W. <i>et al.</i> , Xu, L. <i>et al.</i> , Yuan, J. <i>et al.</i> ,	Caso controle	3b	B Evidência moderada

Fonte: Da autora.

Após, abrangente busca e exclusão de todos os artigos que não eram pertinentes aos critérios pré-estabelecidos previamente no estudo proposto, restaram 10 artigos, todos cujo desenho de estudo era de caso controle. Não se encontrou nenhum estudo clínico randomizado

sobre o tema, e o estudo coorte encontrado ainda se achava em fase ativa de busca de material e de métodos, portanto, excluídos da presente revisão.

De acordo com a atual literatura sobre prática clínica baseada em evidências e diretrizes metodológicas, reportado na tabela 11, os estudos obtidos classificaram-se com nível de evidência 3B (Estudo Caso-Controle), assim ficando classificado de acordo com o grau de recomendação proposto pela Oxford Center for Evidence Based Medicine, com grau de recomendação B (estudos consistentes) e com grau de evidência moderada.

6. 2.2. Avaliação da qualidade dos estudos

Os resultados da qualidade dos estudos, baseados nos critérios da escala de qualidade de Newcastle-Ottawa (NOS), revelaram que os estudos pontuaram entre 6 e 8 (50% classificados com pontuação 7; 40 % classificados com pontuação 8 e 10% classificados com pontuação 6). Tabela 12. De acordo com a interpretação, pontuação maior ou igual a sete leva à conclusão de que os artigos possuem relevância científica para a produção de uma revisão sistemática com ou sem metanálise.

Sob uma ótica analítica e crítica dos resultados acerca do risco de viés nos estudos inclusos nesta revisão, observou-se que não houve avaliação cega, tanto para os pacientes quanto para os pesquisadores, o que leva a inferir que possa ter ocorrido viés de coleta nos dados.

Tabela 12- Escala de avaliação de qualidade do estudo: NEWCASTLE- Ottawa. Alfenas, 2019.

Estudo	Seleção*				Comparabilidade**	Exposição *			Classificação NEW CASTLE Ottawa
	Definição de caso adequado?	Representatividade dos casos	Seleção dos controles	Definição dos controles	Comparabilidade de casos e controle baseados no desenho ou na análise	Determinação da exposição.	Mesmo método de determinação para casos e controles	Taxa de não resposta.	
Comba, M. D <i>et al.</i> ,	*	*	*	*	**	*	*		8
Huang, Q. <i>et al.</i> ,	*	*			**	*	*		6
Ismail, A.M. <i>et al.</i> ,	*	*	*	*	**	*	*		8
Liu, J. <i>et al.</i> ,	*	*	*	*	*	*	*		7
Raghupathy, R. <i>et al.</i> ,	*	*	*	*	**		*		7
Shimada, S. <i>et al.</i>	*	*		*	**	*	*		7
Sotnikova, N. <i>et al.</i> ,	*		*	*	**	*	*		7
Yuan, J. <i>et al.</i> ,	*	*	*	*	**	*	*		8
Wang,W. <i>et al.</i> ,	*	*	*	*	**		*		7
Xu, L. <i>et al.</i> ,	*	*	*	*	**	*	*		8

Fonte: Da autora.

6.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com 40% dos estudos que haviam sido incluídos na análise qualitativa, como descrito na tabela 13.

Tabela 13- Seleção de estudos para análise estatística. Alfenas, 2019.

Estudos	N	%
Estudos incluídos na síntese qualitativa	10	100%
Estudos incluídos na síntese quantitativa	4	40%

Fonte: Da autora.

A justificativa para a não inclusão dos 60% dos estudos na análise quantitativa se deu porque 30% dos estudos não possuíam o grupo de interesse (controles grávidas) e 30% não apresentaram dados quantitativos de média e desvio padrão em seus resultados, mesmo após terem sido analisados por softwares específicos.

6.3.1 Metanálise

Os resultados da metanálise, comparando-se os níveis de IFN γ em gestantes com e sem histórico de abortamento recorrente, estão detalhados na figura 2. O conjunto de estudos incluídos na metanálise apresentavam elevada heterogeneidade ($I_2= 90\%$). Entretanto, o efeito individual observado para todos os estudos incluídos na metanálise, bem como a estimativa de efeito geral, indicaram que as células decíduais de gestantes com histórico de abortamento recorrente produzem níveis de IFN γ significativamente mais elevados quando comparadas com a produção dessa citocina em gestantes sem histórico de abortamento (SMD: -2.14 [95% CI: -3.51, -0.77], $P = 0.002$).

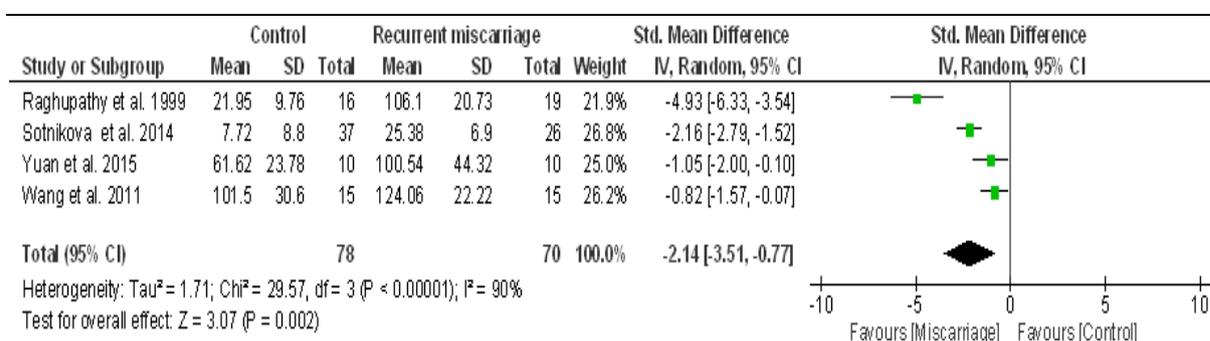


Figura 2 - *Forest plot* obtido a partir de metanálise, comparando os níveis teciduais de IFN γ em pg/mL de gestantes com histórico de abortamento recorrente (miscarriage) e aquelas sem histórico de abortamento (controle).

7 DISCUSSÃO

O presente estudo mostra que existem vários locais de armazenamento de informações e de pesquisas, alguns com maior rigor científico e destaque catedrático que outros. Porém, não menos importante, estão disponibilizadas publicações científicas não convencionais e não comerciais, semipublicadas, difíceis de se encontrar em canais tradicionais de distribuição, e com um controle bibliográfico ineficaz, frequentemente não incluídas em bibliografias e em catálogos, conhecidas como literatura cinzenta, que também merecem ser acessadas quando há o desejo de realizar um estudo aprofundado sobre determinado assunto.

Este estudo objetivou minimizar qualquer perda na literatura, por isso lançou mão da ferramenta denominada pesquisa baseada em evidências, por meio de revisão sistemática, por acreditar que a ausência de evidências não representa a evidência de ausências sobre o assunto em questão. Detendo o saber de que uma revisão sistemática tem poder científico de relevância perante a comunidade científica e cuja busca é e deve ser ampla, não nos embasamos apenas em bases de dados convencionais e formais, mas recorreremos à ferramenta denominada Grey Literature, consagrada em 1978, no Seminário de York, no Reino Unido para obter toda a informação possível (ALBERANI, 2002; ALMEIDA, 1998, 2000; GOMES; MENDONÇA; SOUZA, 2007; POBLACIÓN, 1992).

Vários tipos de documentos se enquadram nessa literatura cinzenta, tais como “relatórios – incluindo preprints; relatórios preliminares e avançados; relatórios institucionais, internos, técnicos e estatísticos; memorandos; relatórios de pesquisas de mercado; relatórios do estado da arte; relatórios de comissões e de grupos de estudo; teses; anais de conferências; especificações técnicas e normas; traduções (não distribuídas comercialmente); bibliografias; documentação técnica e comercial, documentos oficiais. (BOTELHO; OLIVEIRA, 2017; JUTEL *et al.*, 2006).

Esses locais de busca trouxeram muitos títulos sobre o tema abortamento e o IFN γ inicialmente, os quais, que os critérios pré-estabelecidos, foram filtrados e assim incluídos de fato nesta pesquisa.

Estudos publicados sinalizam que o IFN γ pode desempenhar um papel positivo ou negativo durante a gravidez, o que tem gerado muitas controvérsias na literatura. Sendo uma citocina Th1, como IL-2, IL-3 e TNF- α , o IFN γ tem uma função pró-inflamatória. Então, por um período de tempo, aceitou-se que o IFN γ não suporta gravidezes bem sucedidas. No entanto, outros estudos demonstraram que o IFN γ tem funções importantes em gravidezes bem sucedidas. Modelos murinos têm sido utilizados ao longo dos anos para provar que as citocinas

do tipo Th 1, entre elas o IFN γ , são mediadoras em gravidezes mal sucedidas (RAGHUPATHY *et al.*, 1999).

Estudos em roedores, apresentados por Wegmann e Colegas, na década de 1990, tentaram provar que, enquanto um perfil predominante de citocinas Th2 está associado com uma gravidez bem sucedida, citocinas Th1 levavam à sua não evolução.

Níveis mais elevados de citocinas pró-inflamatórias, ou do tipo Th1, têm sido encontrados em mulheres com abortamento espontâneo recorrente em oposição às mulheres grávidas normais. Quando comparadas com as mesmas células de mulheres com gravidezes normais, as células de sangue periférico de mulheres que sofreram abortamentos recorrentes segregavam maiores quantidades de citocinas inflamatórias. Ao estudar a produção de citocinas em mulheres grávidas, antes da possível detecção dessa patologia (perda recorrente), o aumento dos níveis de IFN γ foram encontrados nas mulheres com história de abortamento espontâneo recorrente quando comparado com as mulheres grávidas normais. Em contraste, os níveis mais baixos de IFN γ foram encontrados em gravidezes que chegaram a termo (MARZI *et al.*, 1996).

Os resultados desta revisão demonstraram que há aumento da produção de IFN γ nas mulheres com abortamento recorrente quando estes são comparados com mulheres grávidas normais (70% versus 10%), ou seja, entre 10 estudos, apenas 1 teve como resultado a diminuição do IFN γ , enquanto 7 apresentaram o aumento. Os grupos avaliados, dentro dos critérios pré-estabelecidos na inclusão e na exclusão, em sua maioria (60%), são dos últimos 5 anos de pesquisa. Também, nota-se que os países, onde as pesquisas foram realizadas, todos incluídos na análise quantitativa, estão inseridos no contexto constitucional cujas leis estão de acordo com a liberação do aborto, inclusive na China, onde é permitido, independentemente da idade gestacional, com sua realização liberada em serviços públicos. De acordo com definição da Organização Mundial da Saúde (2009), todas as participantes das avaliações se encontravam em idade fértil, visto que a menor idade incluída nos estudos foi de 20 anos e a maior idade foi de 44 anos de idade; portanto, isso traz a percepção de que os grupos, tanto nos casos quanto nos controles, possuíam uma homogeneidade etária nos grupos avaliados, o que dá credibilidade para a avaliação, visto que um dos maiores problemas em estudos caso controle é o risco de viés de seleção. Apenas dois estudos não descreveram a idade das participantes. Observou-se, ainda, que os grupos controle, em todos os grupos avaliados, vinham de busca espontânea, o que minimiza o risco de viés de seleção.

Sabe-se que, para a avaliação dos estudos de caso controle, se faz necessário um grupo, como o nome diz, controle. Este deve conter as características da comunidade em geral, em que o desfecho tem a probabilidade de ocorrer, desde que possuam o desfecho, no caso desta revisão

sistemática, o abortamento recorrente. Comba *et al* (2015), Ismail *et al* (2017) e Shimada *et al* (2004) utilizaram como controle mulheres não grávidas; e Sotnikova *et al* (2014) e Yuan *et al* (2015) se utilizaram de 2 grupos controles, um de mulheres grávidas em início de gestação e outro de mulheres não grávidas, isto para que o grupo controle fosse homogêneo, ficando o mais próximo da população geral, o que minimiza o risco de viés e, assim, se extrapole sua validade interna para a externa.

Quanto aos métodos de avaliação do interferon gama (uma citocina celular), o método utilizado regularmente é a técnica de imunohistoquímica. Porém, essa avaliação pode ser individualizada para as células também, por meio da citometria de fluxo, método de grande valia para diferenciar fenótipos celulares; como exemplo, tem-se a utilização do perfil de produção de citocinas por linfócitos T CD4+, subdividindo-os em células com perfil Th1 (de características pró-inflamatórias) ou células de perfil Th2 (de características anti-inflamatórias). Com essa técnica, podem-se definir quais citocinas estão sendo produzidas e que populações celulares as estão produzindo, mas com uma ressalva importante: a citometria de fluxo permite apenas determinar o percentual de células produtoras de uma determinada citocina, mas não quantifica a citocina que está sendo liberada ao meio extracelular. Esse tipo de informação deve ser buscado sob a técnica de ELISPOT ou ELISA (CUNHA *et al.*, 2012).

Neste estudo, foi utilizado, em cinco avaliações, o método de ELISA e, em cinco, o método de citometria de fluxo. Isso denota nos resultados que, quando foi utilizada a técnica de avaliação por citometria de fluxo, os resultados foram expressos em média de desvio padrão, mas em dois estudos cujos dados não foram assim expressos, utilizou-se a percentagem celular, o que impossibilitou o uso desses dados para a metá-análise; já nos estudos em que o método de avaliação foi pela técnica de ELISA, os resultados foram apresentados em picogramas por mililitros (pg/ ml) ou nanogramas por mililitros (ng/ml), gerando, assim, por meio de técnicas de conversão estatística, uma síntese quantitativa para sua utilização.

Os resultados ainda revelaram que dois destes estudos, ao avaliarem suas amostras, Yuan *et al* (2015) e Sotnikova *et al* (2014), respectivamente, utilizaram-se de duplicatas e triplicatas, um cuidado, realizado e descrito, para minimizar falhas ou erros nas medidas, para se evitar risco de viés de medida.

Quanto ao material utilizado para a avaliação do IFN γ , viu-se que foram utilizados tecido decidual e endometrial em 100% das avaliações e, ainda, quatro autores se utilizaram da coleta de sangue periférico para a comparação dos níveis de citocinas, bem como de outras citocinas, que aqui não foram discutidas, pois o objetivo principal desta revisão era inferir os valores de IFN γ no abortamento recorrente. O produto conceptual está inserido na cavidade

uterina, e é ali que ocorre a “tolerância imunológica”, em relação aos antígenos paterno fetais, crucial para o sucesso reprodutivo (KIEFFER *et al.*, 2019). Esse fato gerou a decisão de avaliar o IFN γ no tecido decidual para inferir robustez aos achados e aos seus resultados.

Os dados obtidos revelam que existe correlação de níveis aumentados do IFN γ no abortamento recorrente idiopático e o não idiopático cujos valores estão elevados.

Esta revisão representa a primeira tentativa de se revisar extensivamente a literatura e fornecer uma estimativa abrangente do papel do IFN γ no abortamento recorrente.

A validade dos resultados está diretamente relacionada à qualidade dos estudos selecionados por meio desta busca. Utilizou-se a Escala de Avaliação de Qualidade Newcastle-Ottawa (específica para estudo de casos controle) para a avaliação da qualidade dos estudos incluídos (Tabela 12). Todos os estudos selecionados para a análise estatística classificaram-se como razoavelmente bem na Escala de Avaliação de Qualidade, indicando que os artigos possuem relevância científica para uma revisão sistemática com ou sem metanálise.

Alguns pontos fracos foram encontrados nos estudos selecionados, como por exemplo, 2 métodos de avaliação do IFN γ (Citometria de fluxo e ELISA), que geraram resultados fornecidos em Média e Desvio Padrão e picogramas/mililitros, respectivamente, revelando, assim, que não há um consenso na literatura de qual o melhor método de avaliação para o IFN γ , ou seja, um padrão ouro.

Fatores técnicos associados às técnicas utilizadas na coleta de dados (ELISA x Citometria) também podem contribuir com algum grau de variabilidade, uma vez que existem diferenças de sensibilidade e de especificidade analítica. As características analíticas aqui avaliadas em picogramas/mililitro, média e desvio padrão, também devem ser consideradas como potenciais fontes de variabilidade metodológica, especialmente no que se refere ao armazenamento e ao preparo das amostras utilizadas.

Outros fatores que são passíveis de influenciar os resultados, tais como localidade residencial e hábitos, não foram citados na maioria dos estudos; o Índice de Massa Corpórea das pacientes recrutadas só foram fornecidos nos estudos de Comba *et al* (2015) e Ismail *et al* (2017). Já os demais estudos, não forneceram informações detalhadas dos exames dos grupos alocados. Esses dados poderiam influenciar ou não o grupo estudado, mas, para esta análise, seria necessário que houvesse estes registros.

Portanto, para uma avaliação mais acurada e precisa dessa variabilidade, a análise dos dados obtidos foram para a metanálise. De posse dessas informações, os dados revelaram que a heterogeneidade não pode ser explicada pela faixa etária das gestantes, uma vez que esse parâmetro foi similar em todos os estudos. A heterogeneidade pode ter sido influenciada por

fatores metodológicos, pois os fatores biológicos das amostras, tais como variabilidade biológica, etnia, comorbidades e estado nutricional, podem ser influenciadores nas medidas de desfecho e, assim, levar a um impacto sobre a heterogeneidade estimada, mas não foram encontrados descritos.

Explorar a heterogeneidade mediante supressão de estudos específicos mostrou-se inviável, uma vez que o número de estudos comparáveis foi reduzido. Assim, a supressão de um estudo para isolar potenciais elementos de heterogeneidade reduziria a consistência da medida de efeito geral. Esta pesquisa não encontrou relatos claros e descritos em relação a variáveis biológicas, como alterações hormonais, exercícios físicos, ritmo circadiano, respostas fisiológicas dos neurotransmissores frente a situações adversas e a respostas imunes, as mais variadas a agentes internos ou externos que possam alterar o ambiente circulatório, que incorram em variações fisiológicas as quais possam afetar o organismo materno e não só o ambiente conceptual, o que pode levar a alterações dos níveis das citocinas, entre estas, o $IFN\gamma$, não refletindo a realidade local.

Assim, a relação heterogeneidade versus consistência de efeito sofreria interferência mútua, sem agregar valor analítico à metanálise. A heterogeneidade deve ser sempre considerada para melhor interpretação da evidência, uma vez que indica a necessidade de estudos adicionais controlados e randomizados, com amostras maiores e grupo controle apropriado (gestantes sem histórico de abortamento) sem o qual se torna impossível isolar o efeito do $IFN\gamma$.

Por fim, enfatizar que, embora o número de estudos seja pequeno, todos apresentaram efeitos concordantes, o que contribui com a consistência do efeito geral obtido na metanálise. Isso faz refletir sobre a necessidade de um padrão para os níveis basais de $IFN\gamma$ na interface materno-fetal e sobre o impacto das alterações desses níveis nas gestações iniciais, já que se sabe que a dosagem periférica dessas citocinas não reflete o ambiente uterino.

8 CONCLUSÃO

Esta revisão abrangeu inúmeras bases de dados, formais e informais. Os achados evidenciaram que o IFN γ está presente em quantidade significativa em abortamento recorrente idiopático em relação às mulheres não grávidas e grávidas no início da gestação. Os resultados mostram uma correlação entre essa citocina e o abortamento recorrente na proporção de 70 % versus 10% dos estudos analisados para com grávidas normais ou não grávidas. Ademais, há necessidade de se estabelecer um padrão para os níveis basais de IFN γ na interface materno-fetal, pois a dosagem periférica não revela com precisão os valores de IFN γ endometrial uma vez que, por exemplo, situações como infecções virais subclínicas e anemia, entre outras, poderiam não refletir o universo intra-útero onde se abarga o binômio mãe-feto; gerando, assim, um viés ou fator de confusão, o que produz resultados não fidedignos.

Esses resultados trazem uma resposta parcial aos questionamentos deste estudo, por possuírem limitações, como força de evidência moderada, o que leva a inferir que há a necessidade de mais estudos bem desenhados, tais como ensaios clínicos randomizados e/ou coortes, para se imputar uma resposta à comunidade científica, com níveis de evidências robustas.

Portanto, sugere-se a busca por metodologia simples e de fácil acesso econômico para a dosagem do IFN γ e sua padronização e que esta revisão não tenha um ponto final, mas que seja um ponto de partida para que novos estudos, novas pesquisas e novos resultados. Visto que restaram tão pequeno número de artigos finais, gera-se uma certa angústia do ponto de vista científico, o que nos motiva a um norte de esperança para a possibilidade de se mostrar o vazio de conhecimento que aborde a questão do abortamento recorrente e a necessidade de estudos mais robustos. Quando isso ocorrer, poderemos propor uma resposta àquelas que são diretamente afetadas, as abortadoras de repetição, de modo a minimizar suas dores físicas e emocionais quanto à causa de suas perdas gestacionais.

REFERÊNCIA

- ABRAMSON, J.; STAGNARO-GREEN A. Thyroid antibodies and fetal loss: an evolving story. **Thyroid.**, [S.l.], v. 11, n. 1, p. 57-63, jan. 2001.
- ADIB-RAD *et al.* Psychological distress in women with recurrent spontaneous abortion. A case-control study. **Turk J Obstet Gynecol.**, [S.l.], v. 16, n. 3, p. 151-157, 2019.
- AFRICAN JOURNALS ONLINE (AJOL). Disponível em: <https://www.ajol.info/>. Acesso em: 8 jul. 2019.
- AIN, R.; CANHAM, L. N.; SOARES, M. J. Gestation stage-dependent intrauterine trophoblast cell invasion in the rat and mouse: novel endocrine phenotype and regulation. **Developmental Biology**, [S.l.], v. 260, n. 1, p. 176–190, ago. 2003.
- ALBERANI, V. "letteratura grigia" in rete è ancora "letteratura grigia". **Bollettino AIB**, Roma, v. 42, n. 3, p. 325-331, set. 2002.
- ALBIERI, A. *et al.* Interferon-gamma alters the phagocytic activity of the mouse trophoblast. **Reproductive biology and endocrinology: RB&E**, [S.l.], v. 3, p. 34, 10 ago. 2005.
- ALMEIDA, M. R. G. **Literatura cinzenta: teoria e prática**. São Luís: Edições UFMA/Sousândrade, 2000.
- ALMEIDA, M. do R. G. **La literatura gris: sistemas y redes en el ámbito nacional e internacional. Una propuesta para Brasil**. 1998. 255 f. Tese (Doctorado en Ciencias de la Información) – Universidad Complutense de Madrid, Madrid, 1998.
- AMARANTE-PAFFARO, A. *et al.* Phagocytosis as a potential mechanism for microbial defense of mouse placental trophoblast cells. **Reproduction**, [S.l.], v. 128, n. 2, p. 207–218, ago. 2004.
- AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE (ASRM). 2018. Disponível em: <https://www.asrm.org/?vs=1>. Acesso em: 8 jul. 2019.
- ASHKAR, A. A. *et al.* Interferon gamma contributes to initiation of uterine vascular modification, decidual integrity, and uterine natural killer cell maturation during normal murine pregnancy. **The Journal of experimental medicine**, [S.l.], v. 192, n. 2, p. 259–70, 17 jul. 2000.
- ATHANASSAKIS, I. *et al.* Th1- and Th2-type lymphokine-assisted induction and release of chemokine receptors from primary human trophoblast cells. **Human Immunology**, Nova York, 61, n. 7, p. 651–657, jul. 2000.
- BIELEFELD ACADEMIC SEARCH ENGINE (BASE): BASIC SEARCH. Disponível em: <https://www.base-search.net/>. Acesso em: 8 jul. 2019.
- BATES, M.D. Aberrant cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in recurrent pregnancy loss? **Human Reproduction**, Nova York, v. 17, n. 9, p. 2439–2444, set. 2002.

BERNARDO, W. M.; NOBRE, M. R. C.; JATENE, F. B. A prática clínica baseada em evidências: parte II - buscando as evidências em fontes de informação. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 50, n. 1, p. 104–108, jan. 2004.

BÍBLIA, A. T. Isaías. In: **Bíblia Sagrada**. Traduzida em português por João Ferreira de Almeida. Revista e Atualizada no Brasil. 2ed. Barueri: Sociedade Bíblica do Brasil, 2008. p. 988.

BÍBLIA, N. T. Marcos. In: **Bíblia Sagrada**. Traduzida em português por João Ferreira de Almeida. Revista e Atualizada no Brasil. 2ed. Barueri: Sociedade Bíblica do Brasil, 2008. p. 1318.

BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE. **Descritores em Ciências da Saúde: DeCS**. 2017. Disponível em: <http://decs.bvsalud.org>. Acesso em 20 de jun. 2019.

BLANCO, O. *et al.* Human decidual stromal cells express HLA-G Effects of cytokines and decidualization. **Human Reproduction**, Nova York, v. 23, n. 1, p. 144–152, 16 nov. 2007.

BOTELHO, R. G.; OLIVEIRA, C. Literaturas branca e cinzenta: uma revisão conceitual. **Ciência da Informação**, Brasília, v. 44, n. 3, p. 501-513, set./dez. 2015.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIA TECNOLOGIA E INSUMOS ESTRATÉGICOS. **Diretrizes Metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de estudos observacionais comparativos sobre fatores de risco e prognóstico**. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BUBANOVIC, I. Induction of thymic tolerance as possibility in prevention of recurrent spontaneous abortion. **Medical Hypotheses**, Birmingham v. 60, n. 4, p. 520–524, 1 abr. 2003.

CADTH Evidence Driven. Disponível em: <https://www.cadth.ca/>. Acesso em: 8 jul. 2019.

CALLEJA-AGIUS, J. *et al.* Pro- and antiinflammatory cytokines in threatened miscarriages. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, [S.l.], v. 205, n. 1, p. 83.e8-83.e16, jul. 2011.

CAUCHI, M. N. *et al.* Predictors of Pregnancy Success in Repeated Miscarriage. **American Journal of Reproductive Immunology**, [S.l.], v. 26, n. 2, p. 72–75, 1 set. 1991.

CLINICALTRIALS.GOV. Disponível em: <https://www.clinicaltrials.gov/>. Acesso em: 8 jul. 2019.

COCHRANE. **Trusted Evidence**. Informed decisions. Better health. Disponível em: <https://www.cochrane.org/>. Acesso em: 8 jul. 2019.

COMBA, C. *et al.* Role of inflammatory mediators in patients with recurrent pregnancy loss. **Fertility and Sterility**, [S.l.], v. 104, n. 6, p. 1467–1474.e1, dez. 2015.

CUNHA, C. F. *et al.* **Citometria de Fluxo: Imunofenotipagem e Avaliação da Produção de Citocinas**. 2012. Disponível em: http://www.ioc.fiocruz.br/picf/PROD_LITERAT/Apostilas/ApostilaCMFCurso_Ferias2012.pdf. Acesso em: 8 jul. 2019.

CUNNINGHAM, F. G. *et al.* **Obstetrícia de Williams**. 24. ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

DERSIMONIAN, R.; LAIRD, N. Meta-analysis in clinical trials. **Controlled clinical trials**, [S.l.], v. 7, n. 3, p. 177-188, 1986.

DONG, P. *et al.* Simultaneous detection of decidual Th1/Th2 and NK1/NK2 immunophenotyping in unknown recurrent miscarriage using 8-color flow cytometry with FSC/Vt extended strategy. **Bioscience reports**, [S.l.], v. 37, n. 3, p. BSR20170150, 30 jun. 2017.

EGOZCUE, S. *et al.* Human male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion. **Hum Reprod Update**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 93-105, Jan- Feb 2000.

EL-HASHEMITE, N. *et al.* Loss of Tsc1 or Tsc2 induces vascular endothelial growth factor production through mammalian target of rapamycin. **Cancer research**, [S.l.], v. 63, n. 17, p. 5173-7, 1 set. 2004.

FAN, W.; LI, S.; LIU, X. Influence of blockade of costimulation on Th1/Th2 cytokines shift in unexplained early recurrent spontaneous. **Sichuan da xue xue bao. Yi xue ban Journal of Sichuan University. Medical science edition**, [S.l.], v. 37, n. 5, p. 773-5, set. 2006.

FARRAR, M. A.; SCHREIBER, R. D. The Molecular Cell Biology of Interferon-gamma and its Receptor. **Annual Review of Immunology**, [S.l.], v. 11, n. 1, p. 571-611, abr. 1993.

FLEMMING, K. Asking answerable questions. **Evidence-Based Nursing**, Londres, v. 1, n. 2, p. 36-37, 1 abr. 1998.

FLETCHER, R.H.; FLETCHER W. S. Tratamento. In: FLETCHER, R.H.; FLETCHER W. S. **Epidemiologia Clínica: elementos essenciais**. São Paulo: Artmed, 2006. Cap. 8. p. 155-178.

FUKUI, A. *et al.* Expression of natural cytotoxicity receptors and cytokine production on endometrial natural killer cells in women with recurrent pregnancy loss or implantation failure, and the expression of natural cytotoxicity receptors on peripheral blood natural killer. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, Malden, v. 43, n. 11, p. 1678-1686, nov. 2017.

FUKUI, A. *et al.* Intracellular cytokine expression of peripheral blood natural killer cell subsets in women with recurrent spontaneous abortions and implantation failures. **Fertility and Sterility**, [S.l.], v. 89, n. 1, p. 157-165, jan. 2008.

GALVÃO, T. F.; PANSANI, T. S. A.; HARRAD, D. Principais itens para relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 335-342, Jun 2015.

GERMAIN, S. J. *et al.* Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: the role of circulating syncytiotrophoblast microparticles. **J Immunol**, [S.l.], v. 178, p. 5949-5956, 2007.

GOMES, S. L. R.; MENDONÇA, M. A. R.; SOUZA, C. M. Literatura cinzenta. In: CAMPELLO, B. S.; CENDÓN, B.V.; KREMER, J.M. (Org.). **Fontes de informação para pesquisadores e profissionais**. Belo Horizonte: UFMG, 2007. p. 97-103.

GREY LITERATURE REPORT. Disponível em: <http://www.greylit.org/>. Acesso em: 8 jul.

2019.

HAMMER, A. *et al.* Amnion Epithelial Cells, in Contrast to Trophoblast Cells, Express All Classical HLA Class I Molecules Together With HLA-G. **American Journal of Reproductive Immunology**, New York, v.37, n. 2, p. 161-171, Mar 1997.

HAN KWANG MOONKWAK KIM, JOANNE, A. R. Predominant T Helper 1 Immune Response in Women with Reproductive Failures. **Korean Journal of Reproductive Medicine**, [S.l.], v. 37, n. 3, 1 set. 2010.

HEALTH SCIENCES ONLINE. Disponível em: <http://hso.info>. Acesso em: 8 jul. 2019.

HIGGINS, J. P. T. *et al.* Measuring inconsistency in meta-analyses. **Bmj**, [S.l.], v. 327, n. 7414, p. 557-560, 2003.

HIGGINS, J. P.; *et al.* **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions**. 2 ed. Chichester (UK): John Wiley & Sons, 2019.

HIGGINS, J. P.; *et al.* **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions**. 2 ed. Chichester (UK): John Wiley & Sons, 2005.

HOSSEIN, H. *et al.* Cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in recurrent miscarriage. **Cytokine**, [S.l.], v. 28, n. 2, p. 83–86, 2004.

HUANG, Q. *et al.* Effect of miR-30e regulating NK cell activities on immune tolerance of maternal-fetal interface by targeting PRF1. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Columbia, v.109, p.1478-1487, 2019.

IJZERMANS, J. N.M.; MARQUET, R. L. Interferon-gamma: a review. **Immunobiology**, [S.l.], v. 179, n. 4-5, p. 456-473, 1989.

ISMAIL, A. M. **The Role of Uterine NK Cells and T Cell Cytokines in Recurrent Miscarriage**. 2018. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01688284?cond=Abortion%2C+Spontaneous&gndr=Female&rank=65>. Acesso em: 26 jun. 2019.

JENKINS, C. *et al.* Evidence of a T(H) 1 type response associated with recurrent miscarriage. **Fertility and sterility**, [S.l.], v. 73, n. 6, p. 1206–8, jun. 2000.

JUTEL, A. What's in a Name? death before birth. **Perspectives in Biology and Medicine**, Maryland, v. 49, n. 3, p. 425–434, 2006.

KIEFFER, T. E. C. *et al.* Pregnancy persistently affects memory T cell populations. **Journal of reproductive immunology**, [S.l.], v. 119, p. 1-8, 2017.

KING, A. *et al.* Recognition of trophoblast HLA class I molecules by decidual NK cell receptors - a review. **Placenta**, [S.l.], v. 21, p. S81-S85, 2000.

KLATZMANN, D. A. M.; GILLES KAYEM. **Low-dose Interleukin-2 in Women With Unexplained Miscarriages**. 2019. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT3970954?cond=Abortion%2C+Habitual&gndr=Female&rank=33>. Acesso em: 26 jun. 2019.

KUDO, Y. *et al.* Modulation of indoleamine 2,3-dioxygenase by interferon-gamma in human

placental chorionic villi. **Molecular Human Reproduction**, [S.l]v. 6, n. 4, p. 369–374, 1 abr. 2000.

LA TROBE UNIVERSITY. Disponível em: <https://www.latrobe.edu.au>. Acesso em: 8 jul. 2019.

LASH, G.E. *et al.* JN Interferon-gamma inhibits extravillous trophoblast cell invasion by a mechanism that involves both changes in apoptosis and protease levels. **Faseb J.**[S.l], v. 20, p. 2512-2518, 2006.

LEF, MICAL A. *et al.* The role of interferons in early pregnancy. **Gynecological Endocrinology**, [S.l], v. 30, n. 1, p. 1–6, 4 jan. 2014.

LI, G. *et al.* Association between PD-1/PD-L1 and T regulate cells in early recurrent miscarriage. **International journal of clinical and experimental pathology**, [S.l], v. 8, n. 6, p. 6512–8, 2015.

LIM, K. J. *et al.* The role of T-helper cytokines in human reproduction. **Fertility and Sterility**, [S.l], v. 73, n. 1, p. 136–142, jan. 2000.

LIN, H. *et al.* Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. **Journal of immunology (Baltimore, Md: 1950)** [S.l], v. 151, n. 9, p. 4562–73, 1 nov. 1993.

LINDENMANN, A. I.; ISAACS, J. Virus interference. I. The interferon. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B - Biological Sciences**, [S.l], v. 147, n. 927, p. 258–267, 12 set. 1957.

LIU, J. *et al.* Natural killer, natural killer T, helper and cytotoxic T cells in the decidua from recurrent spontaneous abortion with normal and abnormal chromosome karyotypes. **Biochem Res Commun**, [S.l], v. 508, n. 2, p. 354-360, 2018.

MAKHSEED, M. *et al.* Circulating cytokines and CD30 in normal human pregnancy and recurrent spontaneous abortions. **Human Reproduction**, [S.l], v. 15, n. 9, p. 2011–2017, set. 2000.

MALINOWSKI, A. *et al.* Immunologic characteristics of women recurrent spontaneous abortion of unknown etiology. II. Characterization of humoral immunology. **Ginekologia polska**, [S.l], v. 68, n. 5A, p. 240–7, maio 1997.

MANASTER, I. *et al.* Endometrial NK cells are special immature cells that await pregnancy. **J Immunol.**, [S.l], v. 181, p. 1869–1876, 2008.

MARZI, M. *et al.* Characterization of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic human pregnancy. **Clinical and Experimental Immunology**, [S.l], v. 106, n. 1, p. 127–133, out. 1996.

MATOVINA, M. *et al.* Possible role of bacterial and viral infections in miscarriages. **Fertility and Sterility**, [S.l], v. 81, n. 3, p. 662–669, mar. 2004.

MATTAR, R.; TRAINÁ, E.; DAHER, S. Limites na investigação imunológica e genética em aborto recorrente. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 3, p. 101-104, 2015

MEDAWAR, P. B. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. **Symp Soc Exp Biol.**, [S.l.], v. 7, p. 320-328, 1953.

MENDONÇA, A. A. S. *et al.* Relevance of trypanothione reductase inhibitors on *Trypanosoma cruzi* infection: A systematic review, meta-analysis, and in silico integrated approach. **Oxidative medicine and cellular longevity**, [S.l.], v. 2018, 2018.

MICHELON, T. *et al.* Imunologia da gestação. **Rev. da AMRIGS**, Porto Alegre, v. 50, n. 2, p. 145-151, 2006.

MOFFETT-KING, A. Natural killer cells and pregnancy. **Nat Rev Immunol.** [S.l.], v. 2, n. 9, 565-563, Sep 2002.

MOHER D, LIBERATI A, TETZLAFF J, A. D. Principais itens para relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 335–342, jun. 2015.

MOSSMANN, T. R.; SAD, S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. **Immunol Today.**, [S.l.], v.17, n. 3, p. 138-146, Mar 1996.

MOTAK-POCHRZEST, H.; MALINOWSKI, A. The occurrence of immunological disturbances in patients with recurrent miscarriage (RM) of unknown etiology. **Neuro Endocrinol Lett**, [S.l.], v. 34, n. 7, p. 701–707, 2013.

MURPHY, S. P. *et al* “Interferon Gamma in Successful Pregnancies.” **Biology of Reproduction.** [S.l.], v. 80, n. 5, p. 848-859, 2009.

NAIMAN, B. M. *et al.* Evaluation of type 1 immune response in naïve and vaccinated animals following challenge with *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo: Involvement of WC1+ gammadelta and CD4 T cells. **Infection and Immunity**, [S.l.], v. 70, n. 11, p. 6147-6157, 2002.

NEEDLEMAN, I. G. A guide to systematic reviews. **Journal of clinical periodontology**, [S.l.], v. 29 Suppl 3, p. 6- 9; discussion 37–8, 2002.

OALSTER. Disponível em: <https://oaister.worldcat.org>. Acesso em: 8 jul. 2019.

OPENDOAR-DIRECTORY OF OPEN ACCESS REPOSITORIES. Disponível em: <https://v2.sherpa.ac.uk/opensoar/>. Acesso em: 8 jul. 2019.

OPENGREY. Disponível em: <http://www.opengrey.eu/>. Acesso em: 8 jul. 2019.

PALFI, M. *et al* Circulating interferon-gamma- and interleukin-4-secreting cells in recurrent spontaneous abortions. **American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)**, New York, v. 41, n. 4, p. 257–63, abr. 1999.

PARK, M. I.; KYUNG, A. J. Peripheral Th1 and Th2 Lymphocytes Values by Intracellular Cytokine Staining for Interferon-and Interleukin-4 in the Patients with Repeated Spontaneous Abortion. **The Korean Journal of Laboratory Medicine**, [S.l.], v. 25, n. 2, 1 abr. 2005.

PESTKA, S.; KRAUSE, C. D.; WALTER, M. R. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. **Immunol Rev.**, [S.l.], v. 202, 8-32, 2004.

- PLEVYAK, M.; *et al.* Deficiency of decidual IL-10 in first trimester missed abortion: a lack of correlation with the decidual immune cell profile. **American Journal of Reproductive Immunology**, New York, v. 47, n. 4, p. 242-250, Apr 2002.
- POBLACIÓN, D.A. **Literatura cinzenta ou não convencional**: um desafio a ser enfrentado. *Ciência da Informação*, Brasília, v. 21, n. 3, p. 243-246, set./dez. 1992.
- PORTAL REGIONAL DA BVS. Disponível em: <https://bvsalud.org/>. Acesso em: 8 jul. 2019.
- PRISMA. Disponível em: <http://www.prisma-statement.org/PRISMAStatement/>. Acesso em: 8 jul. 2019.
- RAGHUPATHY, R. *et al.* Maternal Th1- and Th2-type reactivity to placental antigens in normal human pregnancy and unexplained recurrent spontaneous abortions. **Cell Immunol**, v.[S.I]. 196, n. 2, p. 122–130, 15 set. 1999.
- RAI, R.; REGAN, L. Recurrent miscarriage. **Lancet**. [S.I], v.12, n.368, p.601-611, Aug 1997
- RAI, R.; SACKS, G.; TREW, G. Natural killer cells and reproductive failure- theory, practice and prejudice. **Hum Reprod.**, [S.I], v. 20, n.5, p. 1123-1126, May. 2005.
- RAMALHO, A. **Manual para redacção de estudos e projectos de revisão sistemática com e sem metanálise**. 1ed. Coimbra: Formasau, 2005.
- REZAEI, Abbas; DABBAGH, Ali. T-helper (1) cytokines increase during early pregnancy in women with a history of recurrent spontaneous abortion. **Medical Science Monitor**, [S.I], v.8, n. 8, 2002.
- RICHARDSON, W. S. *et al.* The well-built clinical question: a key to evidence-based decisions. **ACP Journal Club**, Philadelphia, [S.I], v. 123, n. 3, p. A12, 1995.
- ROUAS-FREISS, N. *et al.* Fetomaternal tolerance: role of HLA-G molecule in the protection of the fetus against maternal natural killer activity. **Comptes rendus de l'Academie des sciences. Serie III, Sciences de la vie**, v. 320, n. 5, p. 385–92, maio 1997.
- SARGENT, I. L., BORZYCHOWSKI, A. M., REDMAN, C. W. G. NK cells and human pregnancy—an inflammatory view. **Trends Immunol**, [S.I], v. 27, p. 399–404, 2006.
- SHIMADA, S. *et al.* No difference in natural killer or natural killer T-cell population, but aberrant T-helper cell population in the endometrium of women with repeated miscarriage. **Hum Reprod**, [S.I], v. 19, n. 4, p. 1018–1024, 12 fev. 2004.
- SHIMADA, S. *et al.* No difference in natural-killer-T cell population, but Th2/Tc2 predominance in peripheral blood of recurrent aborters. **American journal of reproductive immunology (New York, N.Y: 1989)**, New York, v. 50, n. 4, p. 334–9, out. 2003.
- SOTNIKOVA, N. *et al.* Interaction of decidual CD56+ NK with trophoblast cells during normal pregnancy and recurrent spontaneous abortion at early term of gestation. **Scand J Immunol**, v. 80, n. 3, p. 198–208, set. 2014.
- TAKUYA, M. *et al.* Correlation Between the TH1 and TH2 Cells by Intracellular Cytokine Detection and MLR-blocking Antibodies in Patients with Unexplained Recurrent Abortion.

Acta medica et biologica, [S.l.], v. 52, n. 1, p. 29–36, 2004.

TALUKDAR, A. *et al.* Peripheral Gamma Delta T cells secrete inflammatory cytokines in women with idiopathic recurrent pregnancy loss. **Cytokine**, [S.l.], v. 102, p. 117–122, fev. 2018.

WANG, W. J.; HAO, C.F.; LIN, Q. D. Dysregulation of macrophage activation by decidual regulatory T cells in unexplained recurrent miscarriage patients. **Journal of reproductive immunology**, [S.l.], v. 92, n. 1-2, p. 97-102, 2011.

WELLS, G. *et al.* A Newcastle-Ottawa Scale (NOS) para avaliar a qualidade de estudos não randomizados em meta-análises. 2013. Disponível em: http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp. Acesso em: 8 jul. 2019.

WILCOX, A. J. *et al.* Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med.*, [S.l.], v. 319, n. 4, p. 189-194, Jul 1988.

WILSON, R. *et al.* Abnormal cytokine levels in non-pregnant women with a history of recurrent miscarriage. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, [S.l.], v. 115, n. 1, p. 51–54, 2004.

WIRA, C. R.; RODRIGUEZ-GARCIA, M.; PATEL, M. V. The role of sex hormones in immune protection of the female reproductive tract. **Nature Reviews Immunology**, [S.l.], v. 15, n. 4, p. 217-230, 2015.

WOLTERS KLUWER OVID IS THE WORLD'S MOST TRUSTED MEDICAL RESEARCH PLATFORM. <Disponível em: <http://www.ovid.com/>. Acesso em: 8 jul. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The World Health Report 1998 Life in the 21st century A vision for all**. Geneva, 1998.

WORLDWIDESCIENCE. Disponível em: <https://worldwidescience.org/>. Acesso em: 8 jul. 2019.

WU, M. *et al.* Soluble costimulatory molecule sTim3 regulates the differentiation of Th1 and Th2 in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, [S.l.], v. 8, n. 6, p. 8812, 15 jun. 2015.

XU, L. *et al.* Expression of C-type lectin receptors and Toll-like receptors in decidua of patients with unexplained recurrent spontaneous abortion. **Reproduction, Fertility and Development**, [S.l.], v. 29, n. 8, p. 1613, 2017.

YAMADA, H. *et al.* Circulating cytokines during early pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion: decreased TNF-alpha levels in abortion with normal chromosome karyotype. [**Hokkaido igaku zasshi**] **The Hokkaido journal of medical science**, [S.l.], v. 79, n. 3, p. 237–41, mai. 2004.

YANG, K. M. *et al.* Women with Multiple Implantation Failures and Recurrent Pregnancy Losses have Increased Peripheral Blood T Cell Activation. **American Journal of Reproductive Immunology**, [S.l.], v. 63, n. 5, p. 370–378, 17 mar. 2010.

YUAN, J. *et al.* Characterization of the subsets of human NKT-like cells and the expression of Th1/Th2 cytokines in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion. **Journal of**

Reproductive Immunology, [S.l], v. 110, p. 81–88, ago. 2015.

ZENCLUSSEN, A. C. *et al.* Questioning the Th1/Th2 Paradigm in Reproduction: Peripheral Levels of IL-12 are Down-Regulated in Miscarriage Patients. **American Journal of Reproductive Immunology**, [S.l], v. 48, n. 4, p. 245–251, out. 2002.

ZENCLUSSEN, A. C. *et al.* Upregulation of decidual P-selectin expression is associated with an increased number of Th1 cell populations in patients suffering from spontaneous abortions. **Cell Immunol**, [S.l], v. 213, n. 2, p. 94–103, 1 nov. 2001.

ZHU, *et al.* Increased natural killer cell subsets with inhibitory cytokines and inhibitory surface receptors in patients with recurrent miscarriage and decreased or normal subsets in kidney transplant recipients late post-transplant. **Clinical & Experimental Immunology**, [S.l], v. 193, n. 2, 2018.

ZIGANSHINA, M. M. *et al.* Time course of the cytokine profiles during the early period of normal pregnancy and in patients with a history of habitual miscarriage. **Bull Exp Biol Med**, v. 154, n. 3, p. 385–387, 2013.

**APÊNDICE A – Instrumento para seleção inicial e caracterização das publicações
identificadas. Alfenas, 2019.**

SELEÇÃO INICIAL DOS ESTUDOS IDENTIFICADOS	
Data: _____	
No. do estudo: _____	
Título resumido: _____	
Base de dados _____	
Autor: _____	
Consentimento informado: () Sim () N	
Presença de resumo:	() Sim () Não
Tipo de publicação:	() Artigo () Dissertação () Tese () Registro de EC () Outros: _____
Modelo utilizado:	() Humano () Experimental () in vivo (animais) () in vitro (células, tecidos, órgãos) () Dúvida
Presença de IFN γ	() Não Tipo : _____ () Sim () aumentou () diminuiu () manteve igual () Dúvida
Grupo experimental	() Não N $^{\circ}$ de participantes: _____ () Sim () Dúvida
Grupo controle	() Não () N $^{\circ}$ de participantes:
Metodos de avaliação () Elisa () citometria de Fluxo () outro
Incluir: () Sim () Não Nome do Revisor: _____	
Código do Revisor: Revisor A () Revisor B ()	

APÊNDICE B - Instrumento para caracterização e extração de dados dos estudos selecionados. Alfenas, 2019.

SELEÇÃO DEFINITIVA DOS ESTUDOS INCLUÍDOS			
Data: _____		No. do estudo: _____	
Ano de publicação: _____		País de publicação: _____	
Título resumido: _____			
Idioma: _____			
MÉTODO			
Objetivo primário			
Objetivo secundário			
Modelo do estudo	<input type="checkbox"/> Revisão sistemática <input type="checkbox"/> EC <input type="checkbox"/> Coorte <input type="checkbox"/> Caso-controle <input type="checkbox"/> Transversal <input type="checkbox"/> Resultados de intervenções terapêuticas <input type="checkbox"/> Séries de casos <input type="checkbox"/> Relato de caso <input type="checkbox"/> Outros:		
Enfoque	<input type="checkbox"/> Diagnóstico. <input type="checkbox"/> Etiológico <input type="checkbox"/> Prognóstico <input type="checkbox"/> Terapêutico.		
Cenário	<input type="checkbox"/> Experimental		<input type="checkbox"/> Não experimental
	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
Grupos controle	INF _g		
	IL2	TNF	
	IL4	IL10	
Grupo experimental	INF _g		
	IL2	TNF	
	IL 4	IL10	
Estudo controlado	<input type="checkbox"/> Sim		<input type="checkbox"/> Não
Estudo cego	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> único	<input type="checkbox"/> duplo
	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> triplo	<input type="checkbox"/> quádruplo
Duração do estudo			
Medidas utilizadas:			
Escalas/instrumentos utilizados			
Submissão ao CEP:			

ANEXO A - Pirâmide De Evidência

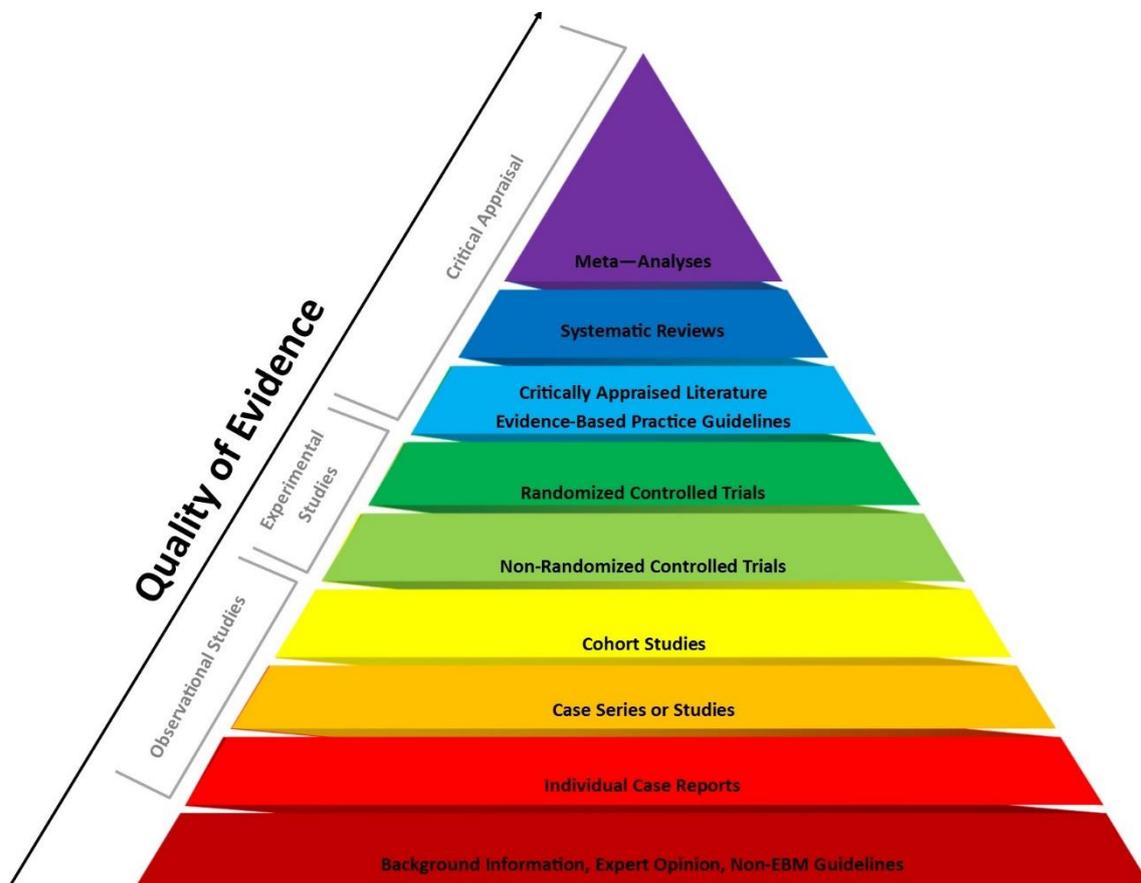


Figura 3 - Pirâmide de Evidência*.

* Fonte: Central Michigan University

Download disponível em <https://libguides.cmich.edu/cmed/ebm>

ANEXO B - Grau de recomendação e nível de evidência dos estudos terapêuticos em função do desenho de pesquisa*.

Grau de Recomendação	Nível de evidência	Estudos Terapêuticos
A	1a	Revisão sistemática (com homogeneidade) de Ensaio Clínicos Controlados e Randomizados
	1b	Ensaio Clínico Controlado e Randomizado com intervalo de confiança Estreito
	1c	Resultados Terapêuticos do tipo “Tudo ou Nada”
B	2a	Revisão Sistemática (com homogeneidade) de Estudos de Coorte
	2b	Estudo de Coorte (incluindo Ensaio Clínico Randomizado de menor qualidade)
	2c	Estudo observacional de resultados terapêuticos (<i>outcome research</i>) e Estudo Ecológico
	3a	Revisão Sistemática (com homogeneidade) de Estudos Caso-Controle
	3b	Estudo Caso-Controle
C	4	Relato de Casos (incluindo Coorte ou Caso-Controle de menor qualidade)
D	5	Opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consensus, estudos fisiológicos, com materiais biológicos ou modelos animais.

Adaptado do Oxford Centre for Evidence-based Medicine (BERNARDO, NOBRE, 2000)

ANEXO C - Grau de recomendação e nível de evidência dos estudos terapêuticos em função do desenho de pesquisa*.

Grau de recomendação dos estudos terapêuticos em função do desenho de pesquisa*.

Grau de recomendação	Descrição
A	Estudos de nível 1 consistentes
B	Estudos de nível 2 ou 3 consistentes ou extrapolações* dos estudos de nível 1.
C	Estudos de nível 4 ou extrapolações dos estudos de nível 2 ou 3.
D	Estudos de nível 5 ou estudos inconclusivos e/ou inconsistentes de qualquer nível.

Extrapolações são quando os dados usados em uma situação que apresenta diferenças clínicas potencialmente importantes do que quando na situação original do estudo.

Atribuição de categorias qualitativas aos graus de recomendação obtidos para os estudos.

Grau de Recomendação	Descrição
A	Evidência forte
B	Evidência moderada
C	Evidência fraca
D	Evidência muito fraca

ANEXO D - Newcastle - Ottawa Quality Assessment Scale: Case Control Studies.

Note: A study can be awarded a maximum of one star for each numbered item within the Selection and Exposure categories. A maximum of two stars can be given for Comparability.

Selection

- 1) Is the case definition adequate?
 - a) yes, with independent validation
 - b) yes, eg record linkage or based on self reports
 - c) no description
- 2) Representativeness of the cases
 - a) consecutive or obviously representative series of cases
 - b) potential for selection biases or not stated
- 3) Selection of Controls
 - a) community controls
 - b) hospital controls
 - c) no description
- 4) Definition of Controls
 - a) no history of disease (endpoint)
 - b) no description of source

Comparability

- 1) Comparability of cases and controls on the basis of the design or analysis
 - a) study controls for _____ (Select the most important factor.)
 - b) study controls for any additional factor (This criteria could be modified to indicate specific control for a second important factor)

Exposure

- 1) Ascertainment of exposure
 - a) secure record (eg surgical records)
 - b) structured interview where blind to case/control status
 - c) interview not blinded to case/control status
 - d) written self report or medical record only
 - e) no description
- 2) Same method of ascertainment for cases and controls
 - a) yes
 - b) no

3) Non-Response rate

- a) same rate for both groups
- b) non respondents described
- c) rate different and no designation

Instruções: As estrelas representadas no modelo indicam as respostas consideradas como corretas. Um estudo pode alcançar no máximo uma estrela para cada questão das sessões Seleção e Resultados e duas estrelas para a sessão Comparabilidade. Portanto, o máximo de estrelas que poderá ser alcançado por cada estudo será 9