

**CARLA LETÍCIA BANDEIRA**

**CRIPTO1: Expressão e Possíveis Ações sobre as Células  
Citotrofoblásticas Extravilosas Humanas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Biologia Celular e Tecidual

Orientadora: Prof. Dra. Estela Maris  
Andrade Forell Bevilacqua

Versão Original

São Paulo  
2015

## RESUMO

BANDEIRA, C. L. **CRIPTO1: Expressão e Possíveis Ações sobre as Células Citotrofoblásticas Extravilosas Humanas**. 2015. 118 f. [Tese (Doutorado em Biologia Celular e Tecidual)]. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

CRIPTO1 (CR1) é um membro da família de proteínas de fatores de crescimento epidermal-CRIPTO-1/FRL-1/Cryptic (EGF-CFC) que desempenha funções específicas durante o desenvolvimento embrionário e tumoral. No primeiro caso, atua como co-receptor obrigatório para Nodal no correto estabelecimento de eixos embrionários. No segundo, constatou-se que é secretado em altos níveis por diversos tipos de cânceres humanos (côlo, mama, pulmão, testículo, ovário, pâncreas e estômago entre outros), mas está ausente ou é pouco expresso em tecidos saudáveis. Nesse sentido, este estudo buscou verificar a presença de CR1 em placentas saudáveis e com distúrbios de invasividade, visto que o desenvolvimento do trofoblasto na interface materno fetal assemelha-se em muitos aspectos ao processo oncogênico. Nossos resultados mostraram um padrão de expressão distinto entre primeiro e terceiro trimestre de gestação, com a presença de CR3 e CR1, respectivamente. Coriocarcinomas também foram imunorreativos para a proteína, que ainda mostrou ter uma relação positiva com o acretismo placentário. Nossos estudos *in vitro* mostraram que CR1 recombinante tem ação indutora em células HTR8/SV-neo, aumentando significativamente a invasão e migração, sendo este último processo expressivamente abolido na presença de RNA de interferência. Concluindo, CRIPTO1 está expresso principalmente em células citotrofoblásticas extravilosas na gestação normal no primeiro e terceiro trimestre de gestação. No primeiro trimestre a distribuição desta expressão em células em processo de diferenciação em células invasivas sugere uma participação nesses processos. Em placentas acetas com aumento da invasividade trofoblástica além dos limites endometriais, há um aumento da expressão desse fator, que também é encontrado em células citotrofoblásticas malignas em coriocarcinomas. A imunolocalização de CRIPTO1 nessas amostras sugere fortemente a participação desse fator em atividades funcionais das células trofoblásticas, tais como invasividade e diferenciação. O aumento da migração dessas células após tratamento com CRIPTO1 e a atenuação

desse processo em células com o gene CRIPTO silenciado experimentalmente corroboram a ação dessa proteína sobre as células trofoblásticas. Este estudo contribui para a identificação de fatores associados com a invasividade trofoblástica em condições normais e patológicas.

**Palavras-chave:** Placenta. Trofoblasto. CRIPTO1. Acretismo Placentário. Coriocarcinoma. Invasão.

## ABSTRACT

BANDEIRA, C. L. **CRIPTO1: Expression and Possible Actions on Human Extravillous Cytotrophoblastic Cells**. 2015. 118 p. [Ph.D. thesis (Cell and Tissue Biology)]. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

CRIPTO1 is a member of the family of proteins of the epidermal growth factor - CRIPTO1 / FRL1 / Cryptic (EGF- CFC) that performs specific functions during embryonic development and tumor. In the first case, it acts as required co-receptor for Nodal in the correct establishment of embryonic axys. In the second case, it was found that it is secreted at high levels by a variety of human cancers (colon, breast, lung, testis, ovary, pancreas and stomach etc.), but is absent or is weakly expressed in normal tissues. Therefore, this study was to ascertain the presence of CR1 in healthy placenta and those with invasiveness disorders, since the development of trophoblast in maternal fetal interface resembles in many ways the oncogenic process. Our results showed a pattern of distinct expression between first and third trimester of pregnancy, with the presence of CR3 and CR1, respectively. Choriocarcinoma were also immunoreactive for the protein, which still showed a positive relationship with the placenta acreta. Our in vitro studies have shown that recombinant CR1 has inducing action in HTR8/SV-Neo cells, significantly increasing the invasion and migration, the latter process is significantly abolished in the presence of RNA interference. In conclusion, CRIPTO1 is expressed mainly in extravillous cytotrophoblast cells in normal pregnancy in the first and third trimester of pregnancy. In the first trimester the distribution of this expression in the process of differentiation in cells in invasive cells suggests a role in this process. In placenta acreta with the increased of the trophoblastic invasiveness besides the endometrial limits, there is an increased expression of this factor, which is also found in malignant choriocarcinoma cytotrophoblast cells. The immunolocalization of CRIPTO1 in these samples strongly suggests the involvement of this factor in functional activities of trophoblast cells, such as invasiveness and differentiation. The increase in migration of these cells after treatment with CRIPTO1 and the attenuation of this process in cells with CRIPTO gene silenced confirm experimentally the action of this protein in the trophoblastic cells. This study contributes to the identification of factors associated with trophoblast invasiveness in normal and pathological conditions.

**Keywords:** Placenta. Trophoblast. CRIPTO1. Placenta Acreta. Choriocarcinoma. Invasion

## 1 INTRODUÇÃO

### **1.1 O fator de crescimento derivado de teratocarcinoma TDGF1 ou CRIPTO1: Histórico**

O cDNA de CRIPTO, ou oficialmente TDGF1 (fator de crescimento derivado de teratocarcinoma), foi casualmente isolado em 1989, durante a busca pelo gene da *glicose-6-fosfato desidrogenase* em uma linhagem celular indiferenciada de teratocarcinoma embrionário humano. O gene descrito presumidamente codificava uma proteína de 188 aminoácidos, com peso preditivo de cerca de 20 kDa e possuía domínios de ligação semelhantes a fatores de crescimento da família dos EGFs – fato que fez com que CR1 fosse erroneamente agrupado como um membro da família EGF-TGF $\alpha$  (CICCODICOLA et al., 1989).

A análise da estrutura genômica de *CR1* mostrou que o gene era constituído por 6 éxons e 5 íntrons, possuía uma região UTR terminal típica para a codificação de moléculas de RNA mensageiro de rápido *turnover*, com alta instabilidade e vida relativamente curta. Além disso, dois dos três loops de cisteínas duplas do domínio EGF de CR1, são truncados, o que impede sua ligação com o receptor de EGF (BRANDT et al., 1994) ou receptores tirosino-kinases do tipo I da família ErkB, o que sugere que CR1 não pertence à superfamília EGF (KANNAN et al., 1997). A presença de um pseudogene transcrito, CRIPTO 3, o qual traduzido, difere de CR1 por apenas 6 aminoácidos também foi descrito (BRANDT, 1994, CICCODICOLA et al., 1989; DONO et al., 1991).

Em 1993 a forma equivalente de CR1 humano foi descrita em camundongo - uma proteína preditiva de 177 aminoácidos, com alta homologia em relação ao CR1 humano, porém, associada ao desenvolvimento embrionário (DONO et al., 1993). Na sequência desse achado, as proteínas nativas e recombinantes de CR1 (humano e de camundongo) foram isoladas mostrando modificações pós traducionais - possivelmente por miristilação, fosforilação e glicosilação. A essas proteínas foi atribuído um papel mitogênico para células epiteliais mamárias, malignas ou não transformadas (BRANDT et al., 1994).

Em 1995 foi descoberto o gene *FRL1* (“*Forming related gene in Leukocytes*”), codificando uma proteína presente durante a gastrulação e estágios iniciais do desenvolvimento embrionário de *Xenopus*, hoje conhecido como homólogo de *CR1*

nesses animais, e renomeado como “XCR1”. Como particularidade, o XCR1 apresentou o mesmo domínio “EGF-Like” observado em CR1, além de ativação mediada por receptores de fatores de crescimento de fibroblastos (FGFR), sem no entanto, pertencer a classe de ligantes FGF (KINOSHITA et al., 1995).

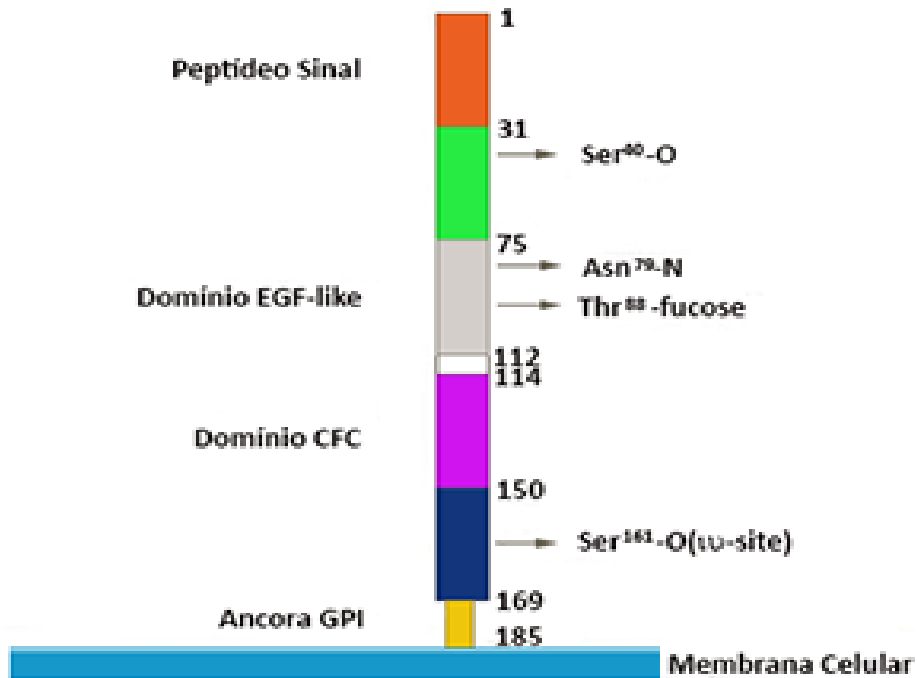
Shen e colaboradores (1997) identificaram em embriões de camundongo a presença de um novo gene, “Cryptic”, assim nomeado pela alta similaridade da proteína preditiva com CR1, propondo então a criação de uma nova família nomeada “CFC” (Cripto, Frl1 e Cryptic). A inclusão na família CFC era baseada nas similaridades encontradas nos domínios “EGF-like” e na presença de um segundo domínio conservado composto por uma região rica em cisteínas (não encontrada em nenhum outro grupo de proteínas) (SHEN et al., 1997).

Desde sua descoberta até o momento, 6 pseudogenes de CR1 já foram descritos (SCOGNAMIGLIO et al., 1999; National Center for Biotechnology Information - NCBI) e estão localizados nos cromossomos 2, 3, 6, 8, 19 e X. Dentre esses, apenas CR3 (ligado ao cromossomo X) possui ambas regiões UTRs, configurando assim, um retrogene funcional capaz de traduzir uma proteína com atividade equivalente a de CR1 em tumores (SUN et al., 2008).

A presença de um domínio EGF-like (domínio EGF modificado), a presença de um domínio CFC rico em cisteínas, um peptídeo sinal NH<sub>2</sub>-terminal e um COOH-terminal pequeno e hidrofóbico contendo pequenas sequências para o ancoramento e clivagem de glicosilfosfatidilinositol (GPI), são as particularidades da família hoje denominada “*família do fator de crescimento epidermal/CR-1-FRL-1-Cryptic*”, ou simplesmente, família EGF-CFC (BIANCO et al., 2010; SALOMON et al., 2000), que inclui, além do CRIPTO1 (**Figura 1**) e CRYPTIC humanos, o Cripto 1 de macacos, Cripto 1 (Cr1 ou Cfc2) e Cryptic (Cfc1) de camundongo, Cripto 1 de galinha, one-eyed pinhead (Oep) de zebrafish, e XCR1/FRL-1, XCR2 e XCR3 de *Xenopus* (CASTRO et al., 2011). Em humanos, CR1 apresenta duas isoformas, 1 e 2, esta última formando-se a partir de um *splicing* alternativo do RNA mensageiro, que origina uma forma mais curta da proteína (com 172 aminoácidos) (NCBI). Recentemente também se evidenciou a presença de genes homólogos em invertebrados basais, como o ouriço do mar, indicando que a origem da família EGF-CFC é muito mais antiga do que se pensava,

acumulando pequenas mudanças evolutivas que permitiram a existência de formas funcionais que se sobrepõem, embora com papéis distintos (RAVISANKAR et al., 2011).

**Figura 1** – Esquema da estrutura da proteína CRIPTO 1 humana.



**Figura 1** - Esquema da estrutura da proteína CRIPTO 1 humana. Modificado de Castro et al., 2011.

### 1.2 Efeitos biológicos associados à expressão de CR1

A proteína CR1 desempenha um importante papel na regulação de diferentes processos do desenvolvimento embrionário, além de regular importantes eventos durante a progressão de determinados tumores (DONO et al., 1993; BIANCO et al., 2005; MORKEL et al., 2003; STRIZZI et al., 2005). Sua forma *cis*, ancorada à membrana, tem ação autócrina e é encontrada em “*lipid-rafts*” e endossomos. Sua forma *trans*, solúvel pela clivagem da âncora GPI por ação da enzima GPI-fosfolipase D, tem ação parácrina. Ambas as moléculas são metabolicamente ativas (KLAUZINSKA et al., 2014; SALOMON et al., 2000; WATANABE 2007a, 2007b).



Em camundongos, a proteína Cr1 participa de processos de transição epitélio-mesenquimal (EMT) e mesenquima-epitelial (MET), para formação da mesoderme e estabelecimento da endoderme, respectivamente. Ainda em camundongos, durante a formação da linha primitiva, Cr1 apresenta-se sob a forma de um gradiente assimétrico, que se espraia para o mesoderma embrionário em formação e define um padrão corporal antero-posterior. O duplo nocaute (Cr1<sup>-/-</sup>) é letal nos estágios mais iniciais do desenvolvimento, apresentando ausência de mesoderme e endoderme, com graves falhas na gastrulação e no estabelecimento de eixos corporais (BIANCO et al., 2010; DING et al., 1998; DONO et al., 1993; LIGUORI et al., 2008; MORTEL et al., 2003).

Em roedores, ainda no estágio embrionário, o fator Cripto 1 foi localizado no cone ectoplacentário, sugerindo um papel para Cr1 nos estágios iniciais da placentação (JOHNSON et al., 1994). Nosso grupo também verificou a expressão de Cr1 em células trofoblásticas, não apenas no início da placentação, mas em todos os estágios placentários desde a sua formação até o termo, sugerindo um papel crucial para o fator no estabelecimento da interface materno fetal (dados não publicados).

Ainda em camundongos, a formação cardíaca pela diferenciação de células-tronco em cardiomiócitos mediada por Cr1, foi demonstrada *in vitro* e *in vivo*. Experimentos utilizando células-tronco mutantes Cr1<sup>-/-</sup> foram incapazes de se transformar em cardiomiócitos funcionais. O fenótipo celular dos cardiomiócitos, entretanto, foi restituído quando o gene Cr1 foi reintroduzido à linhagem celular (PARISI et al., 2003). Nesses experimentos também foram identificadas moléculas alvo da via de sinalização ativada por Cr1, como a via Smad2 (PARISI et al., 2003) e a regulação positiva de Cr1 pelo fator HIF1 $\alpha$ , ligante das regiões de elementos responsivos à hipóxia (HREs), presentes tanto no promotor do gene de camundongos, quanto de humanos (BIANCO et al., 2009), a apelina e o receptor acoplado à proteína G, APJ (D'ANIELLO et al., 2009; XU et al., 1998, 1999).

Johnson e colaboradores (1994) observando os padrões de distribuição de Cr1 em embriões de camundongo inferiu sua atuação como um fator de indução ou sinalização na organogênese cardíaca principalmente em regiões de septos e válvulas. Similarmente, pacientes com defeitos no septo ventricular apresentaram mutações

específicas no gene CR1 (WANG et al., 2011), denotando uma possível correlação entre os diferentes modelos estudados em relação à ação proteica.

Estudos também apontam a associação de Cr1 e Nodal no bloqueio da formação da neuroectoderma em roedores. Diversos autores demonstraram a diferenciação espontânea em neurônios, *in vivo* e *in vitro*, de células tronco Cr1<sup>-/-</sup> ou tratadas com peptídeo de bloqueio para Cr1, tornando CR1 um alvo terapêutico para o tratamento do mal de Parkinson (LIGUORI et al., 2003, 2009; LONARDO et al., 2010; PARISI et al., 2003; PARISH et al., 2005; SONNTAG et al., 2005).

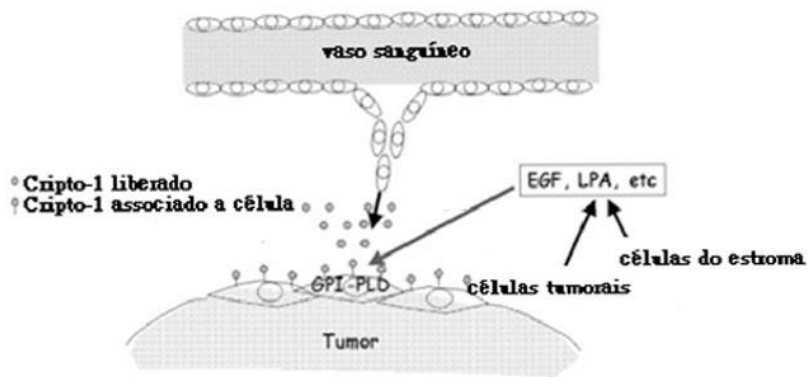
Trabalhos recentes também demonstraram que a forma solúvel de CR1 liga-se na membrana celular à proteína 78 regulada pela glicose (GRP78), resultando na manutenção de células tronco hematopoiéticas, mamárias adultas e fetais (MIHARADA et al., 2011; SPIKE et al., 2014).

A expressão de Cr1 foi evidenciada nas células mesenquimais precursoras dos botões terminais das glândulas mamárias em formação (STRIZZI et al., 2008). Na vida adulta, o gene *Cr1* está expresso em baixos níveis em órgãos como o baço, pulmão, coração e cérebro, e com níveis relevantes nas mamas, onde atua na formação e ramificação dos ductos mamários durante o período de lactação (ADAMSON et al., 2002; DONO et al., 1993). Nestes processos, Cr1 participa da transição epitélio mesenquimal que confere plasticidade às células epiteliais mamárias, assim como, nos processos de hiperplasia destas células. Camundongos transgênicos MMTV-CR-1, que expressam a proteína CR1 humana sob o controle transcricional do promotor MMTV (*Mouse Mammary Tumor Virus*), desenvolvem hiperplasias epiteliais na glândula mamária, evidenciando o papel de CR1 em processos tumorais desse órgão. Em humanos, CR1 está presente entre as proteínas do leite e expresso de forma pronunciada em tumores ductais de mama (BIANCO et al., 2001; KENNEY et al., 1995; SUN et al., 2005; WECHSELLBERGER et al., 2001).

Nos processos patológicos, CR1 está intimamente ligado a processos tumorais e relacionado com um mal prognóstico em cânceres gástricos, de mama, de pulmões e de bexiga (GONG et al., 2007; XU et al., 2014; ZHONG et al., 2008; WEI et al., 2014). A superexpressão de CR1 é observada em diversos tipos de cânceres, como o de

mama, pulmões, pâncreas, ovários, endométrio, testículo, cervicais, gástricos, e de cólon, sugerindo-lhe um papel tumorigênico (ADAMSON et al., 2002; CIARDIELLO et al., 1991; D'ANTONIO et al., 2002; ERTYOY et al., 2000; FRIESS et al., 1994; FONTANINI et al., 1998; QI et al., 1994; SAEKI et al., 1992; SALOMON et al., 2000) Dada às ações conhecidas de CR1 têm se sugerido que atue em eventos múltiplos como na proliferação celular, migração, invasão, transição epitélio mesenquimal (EMT) e angiogênese tumoral (de CASTRO et al., 2010; KLAUSINSKA et al., 2014). Nesse contexto, destaca-se o trabalho de Watanabe e colaboradores (2007a) que demonstraram a ação parácrina do CR1 na angiogênese tumoral. A proteína CR1 secretada pelas células tumorais promoveu a migração direcionada de células endoteliais peritumorais (**Figura 2**).

**Figura 2.** - Ação parácrina de CR1 sobre a angiogênese tumoral.



**Figura 2.** Ação parácrina de CR1 sobre a angiogênese tumoral. A proteína Cripto-1 atua sobre as células endoteliais fazendo com que estas percam sua capacidade de adesão e migrem em direção ao tumor. Esquema retirado e modificado de Watanabe *et al.*, 2007a. (GPI-PLD: glicosilfosfatidilinositol fosfolipase D; EGF: fator de crescimento epidermal; LPA: lipoproteína, Lp(a).

### **1.3 Vias de Sinalização associadas a CRIPTO 1**

Em condições normais, CR1 desempenha funções chave ao longo do período embrionário e posteriormente declina seus níveis de expressão de forma abrupta nos tecidos adultos, com exceções como é o caso do tecido mamário em desenvolvimento durante a gravidez e lactação (SALOMON et al., 2000), e na interface materno-fetal, como demonstrado por nosso grupo (BANDEIRA et al., 2014). Cripto também é expresso, juntamente com outros genes marcadores de células tronco, em células adultas e diferenciadas que retornam à condição de pluripotência por indução (iPSCs) (AASEM et al., 2008; AOI et al., 2008), sendo neste contexto, considerado um marcador de células tronco (BIANCO et al., 2010). Em condições patológicas a re-expressão de CR1 é observada nos distúrbios de invasividade placentária (BANDEIRA et al., 2014) e em processos tumorais onde promove proliferação, migração, invasão, transição epitélio-mesenquimal e angiogênese tumoral (RANGEL et al., 2012). A diversidade de efeitos biológicos apresentada por CR1 deve-se a sua capacidade de interação com diversas moléculas, desencadeando diferentes vias de sinalização.

CR1 modula a sinalização dos membros da família do fator de crescimento transformador beta (TGF $\beta$ ), incluindo NODAL e GDF-1/3 via: i) receptores de treonina – serina quinases do tipo I (AL4/ALK7) e o complexo de receptores de Activina do tipo II, para a ativação de vias de sinalização que envolvem SMAD 2, 3 e 4; ii) interação com Activinas A/B e TGF $\beta$ 1, interferindo na ligação destes aos seus receptores e diminuindo sua resposta em diferentes tipos celulares (BIANCO et al., 2005; KLAUZINSKA et al., 2014; MINCHIOTTI et al., 2001). Activinas e TGF $\beta$ 1 são potentes inibidores do crescimento celular, especula-se que o antagonismo desses fatores pelo CR1 é um dos mecanismos pela qual regula e promove a tumorigênese (SHANI et al., 2008); iii) receptor de superfície celular Glipican, o que leva à fosforilação da tirosina-quinase citoplasmática c-Src e a ativação de MAPK, fosfatidilinositol 3 quinase (PI3K) e proteína quinase B (Akt), vias de sinalização que regulam a proliferação celular, motilidade e sobrevivência celular (BIANCO et al., 2005; RANGEL et al., 2012).

O envolvimento de CR1 com as vias de sinalização Src/MAPK, PI3K/AKT e SMAD2/3 também se dá por meio da ligação com GRP78. Interferências na ligação CR1/GRP78 atenua os efeitos de CR1 sobre a sinalização das Activinas A e B, TGF $\beta$ 1

e Nodal, além de inibir a ativação das vias de sinalização c-Src, Erk/MAPK e PI3K/Akt (GRAY, VALE, 2012; KELBER et al., 2009).

CRIPTO1 ainda realiza *cross-talk* com as via WNT/ $\beta$ -catenina/Tcf na medida em que se liga aos receptores de lipoproteínas de baixa densidade, LRP5 e 6, facilitando sua ligação à WNT3A (NAGAOKA et al., 2013).

Postovit e colaboradores (2007) também demonstraram a regulação de NODAL - correceptor obrigatório de CR1 – por NOTCH4, evidenciando a ligação entre as vias Notch e NODAL/CR1. Em uma via paralela, CR1 regula a expressão do receptor de NOTCH por ligar-se à forma ancorada do receptor presente no retículo endoplasmático/complexo de Golgi, promovendo sua clivagem e translocação para a membrana plasmática, com potencialização da via de sinalização NOTCH e, conseqüentemente, da expressão gênica de NODAL, alvo primário desta via em diferentes modelos celulares (WATANADE et al., 2009).

Embora CR1 não tenha a capacidade de ligação a receptores do tipo tirosina quinase (EGFR, ErbB2, ErbB3 e ErbB4) devido à modificação existente em seu domínio EGF, uma possível interferência de CR1 na sinalização de ErbB4 tem sido sugerida, contando ainda, com a participação da molécula Tomorregulina 1 (BIANCO et al., 1999; SRINIVASAN et al. 2000).

Por fim, CR1 também modula a via de sinalização Apalina e seu receptor APJ durante a embriogênese cardíaca, sendo ambos genes alvos “*downstream*” da sinalização mediada por CR1.

Na literatura diversos fatores já foram descritos regulando a expressão/ação de CR1, dentre eles destacam-se TGF $\beta$ 1, Wnt/ $\beta$ -catenina, Nanog, OCT4 e HIF1 $\alpha$ , positivamente, e Caveolina 1, BMP4, netrina 1 e GCNF, negativamente (NAGAOKA et al., 2011; RANGEL et al., 2012).

#### **1.4 A Placenta como objeto de estudo**

A implantação do embrião no estroma uterino é um evento biológico de fundamental importância para o desenvolvimento do embrião humano e de roedores. Nestas espécies, a implantação inclui uma ação invasiva por parte de células trofoblásticas, que revestem externamente o embrião/feto por toda a gestação e que

medeiam toda e qualquer comunicação materno-fetal (AMOROSO, 1955; RED-HORSE, 2004).

A atividade invasiva das células trofoblásticas assemelha-se em muitos aspectos à invasão tumoral, porém, sendo espacial e temporalmente contida durante a gestação. Muitos fatores de restrição invasiva do trofoblasto têm sido descritos na literatura nas últimas décadas e incluem fatores endócrinos, parácrinos e inúmeras outras moléculas de sinalização. Apesar desses estudos, os mecanismos reguladores deste processo ainda não foram completamente elucidados (BISCHOF, CAMPANA, 2000; TACHI et al., 1970).

A presença de CR1 na interface materno-fetal em humana pode ser mais um desses fatores que contribuem para a regulação da atividade invasiva do trofoblasto como ocorre em tumores de modo geral. Neste contexto, o estudo da expressão de CR1 em células trofoblásticas como modelo de estudo para a compreensão de seus efeitos (migratórios, invasivos e angiogênicos), torna-se ainda mais relevante na medida em que pode adicionar informações para a compreensão de processos de regulação da gestação, seja ela normal ou patológica (com distúrbios de invasividade).

#### *1.4.1 Estrutura placentária*

A placenta humana é um órgão formado por estruturas de diferentes origens, morfologia e funções: o cório frondoso (porção fetal) e a decídua basal, parte da mucosa uterina que também contém células trofoblásticas invasivas.

Este órgão desempenha múltiplas críticas funções durante a gestação. São exemplos do seu papel vital: i) o redirecionamento do sistema endócrino materno com consequente alteração das condições uterinas e metabólicas para a continuidade da gestação (VAUSE, SAROYA, 2005); ii) ativação de mecanismos de tolerância imunológica sistêmica ou local, no ambiente materno-placentário (THELLIN, HEINEN, 2003); iii) estabelecimento de um circuito vascular onde células trofoblásticas substituindo células endoteliais mantém contato direto com o sangue materno, com quem realizam trocas metabólicas e gasosas (PLAISIER, 2010); iv) diálogo materno-embrionário que se estabelece a partir da secreção de numerosas substâncias pela unidade placentária, tais como hormônios, fatores de crescimento, citocinas, eicosanóides e outras moléculas bioativas sintetizadas (RED-HORSE et al., 2004).

Estruturalmente as regiões de trocas estão representadas pelo cório frondoso, constituído por ramificações digitiformes da placa coriônica, as vilosidades coriônicas. Estas estruturas são revestidas por trofoblasto (sinciciotrofoblasto em posição mais externa e citotrofoblasto mais internamente), que descansa sobre um mesênquima rico em macrófagos (células de Hofbauer) e vasos fetais.

A maioria das vilosidades coriônicas é flutuante e está em íntimo contato com o sangue materno presente no espaço entre estas estruturas, o espaço interviloso. Nas extremidades livres destas estruturas (vilosidades terminais) abundam capilares fetais, enquanto que nas demais, vasos de diferentes complexidades (BENIRSCHKE et al., 2006; BOYD, HAMILTON, 1970). O sangue arterial materno entra na placenta pelas artérias uterinas espiraladas. Na interface de contato com a placenta estes vasos terminam como canais abertos, extravasando o sangue diretamente nos espaços intervilosos. O sangue interviloso retorna à circulação materna, drenado por veias uterinas, também em contato com o interstício placentário.

Algumas vilosidades aderem à placa basal na face voltada para o endométrio, sendo denominadas de vilosidades de ancoragem. Nestes locais ocorre a proliferação das células citotrofoblásticas que ultrapassam os limites da vilosidade, invadem o estroma endometrial e assumem diferentes funções, sendo referidas em conjunto como citotrofoblasto extraviloso (BENIRSCHKE et al., 2006). Esta interface caracteriza a porção materna da placenta que também contém células decíduais, células imunológicas e componentes vasculares.

Essa invasão do tecido uterino pelas células do citotrofoblasto extraviloso inicia-se no endométrio alcançando o terço superior do miométrio. Estas células alcançam o leito vascular arterial, onde promovem o remodelamento das artérias espiraladas uterinas, substituindo a musculatura lisa e células endoteliais. Essa atividade invasiva das células trofoblásticas contribui para a diminuição da resistência vascular na placenta e limita a atividade de fatores vasoativos nos domínios placentários, condição relevante para a manutenção de suprimento nutricional e gasoso na interface vilosa de trocas materno-fetais.

#### 1.4.2 A placenta acreta

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 290 mil mulheres morreram no mundo, no ano de 2010, por complicações durante a gestação ou após o parto. Desse valor, 99% dos casos ocorreram em países em desenvolvimento, com uma incidência de 240 mortes a cada 100 mil nascimentos, em sua maior parte devido ao severo sangramento ocorrido no pós-parto (WHO, 2012).

A placentação anormal é uma das complicações gestacionais mais frequentemente associada a casos de hemorragia pós-parto. Nessa categoria, inclui-se também o acretismo placentário como um fator de extrema relevância e responsável pelas histerectomias adotadas como medida profilática. Placentas acretas são responsáveis pela considerável morbidade desses casos (BAUER; BONANNO, 2009; DASKALAKIS et al., 2007; HOFFMAN et al., 2010; SHELLHAAS et al., 2009).

O acretismo, condição apenas diagnosticada após 1930 (IRVING; HERTIG, 1937), apresentou um aumento de 10 vezes na sua incidência até 1980 (1:2.510) (PRIDJIAN et al., 1991) e foi ainda maior em 2002 (1:533) (WU et al., 2005). Esse aumento tem se correlacionado ao aumento nas taxas de partos com intervenção cirúrgica (cesárea), que juntamente com a placentação prévia representa o maior fator de risco no desenvolvimento do acretismo (CLARK; SILVER, 2011; MILLER et al., 1997; SOFIAH; FUNG, 2009; USTA et al., 2005).

Placentas acretas são histologicamente caracterizadas pela ausência de decídua, com contato direto do tecido viloso com o miométrio subjacente (BENIRSCHKE et al., 2006) e por isso, consideradas entre muitos autores como uma patologia totalmente iatrogênica (JAUNIAUX; JURKOVIC, 2012). A etiologia da doença é atribuída à consequente falta de modulação direta das células deciduais sobre as células trofoblásticas extravilosas (EVTs) (IRVING et al., 1937; MILLER et al., 1959; FOX, 1972; HUTTON et al., 1983). Corroborando essa hipótese, estudos demonstraram que a probabilidade de desenvolvimento da placenta acreta aumenta na presença de placentação prévia (CLARK et al., 1985; SILVER et al., 2006), a qual tem sua inserção em pontos uterinos onde a decidualização é menos intensa (KHONG, 2008). Essa probabilidade aumenta ainda de forma expressiva quando o fator “placenta



prévia” é associado à existência de uma cicatriz uterina anterior, região que tampouco apresenta decidualização (MILLER et al., 1997).

Por outro lado, trabalhos relevantes também sugerem que uma invasão excessiva pelas células trofoblásticas pode contribuir para essa patogenia (CRAMER et al., 1987; KIM et al., 2004; STANEK et al., 2007). Em suma, o que se verifica é uma patogenia complexa que inclui a interação de fatores – uma decidualização com deficiências ou inexistente, juntamente com a atividade invasiva atípica por parte do trofoblasto, promovendo o estabelecimento de uma vascularização uteroplacentária aberrante e uma placenta aderida de forma anormal ao útero (BENIRSCHKE et al., 2006; KHONG; ROBERTSON, 1987). A invasão anormal do miométrio é acompanhada de neovascularização placentária típica de placentas acretas, onde o remodelamento vascular exacerbado geralmente atinge as artérias radial, arqueada e parametriaes, vasos que pelo aumentado calibre dificilmente retornarão à homeostasia após o descolamento da placenta (CHOU et al., 2002; KHONG; ROBERTSON, 1987; SHIH et al., 2002; TSENG et al., 2006).

Atualmente o acretismo é caracterizado de acordo com o grau de invasão das células trofoblásticas extravilosas na camada miometrial, sendo a inserção superficial, profunda ou ultrapassando a serosa - podendo até alcançar estruturas adjacentes, como bexiga e ureteres – gerando as denominações placenta acreta, increta ou percreta, respectivamente (BELFORT, 2010; BENIRSCHKE et al., 2006; FOX; SEBIRE, 2007). **1.4.3 Coriocarcinoma**

O termo coriocarcinoma foi cunhado pela primeira vez por Ewing em 1910, que agrupava todas as doenças placentárias conhecidas sob a denominação de “corioma” (HUI, 2011). Atualmente, as “Doenças Trofoblásticas Gestacionais” (DTGs) reconhecidas pela Organização Mundial da Saúde (WHO) contemplam uma gama heterogênea de condições originárias do desenvolvimento anormal do tecido placentário, com variados níveis de proliferação, tanto não neoplásicas, quanto neoplásicas – também chamados tumores trofoblásticos (**Tabela 1**) (BENIRSCHKE et al., 2006).

**Tabela 1** - Classificação das DTGs segundo a Organização Mundial da Saúde

Molas hidatiformes	Neoplasias trofoblásticas	Lesões trofoblásticas não neoplásicas e não molares
Mola completa	Coriocarcinoma	
Mola parcial	Tumor trofoblástico de sítio placentário	Nódulo e Placa de sítio placentário
Mola invasiva	Tumor trofoblástico epitelióide	Sítio placentário exagerado
Mola metastática		

Fonte: Tavassoli et al., 2003 in Benirschke et al., 2006

Dentro do espectro de doenças trofoblásticas gestacionais diferenciam-se as neoplasias trofoblásticas gestacionais (NTGs), lesões malignas e metastáticas oriundas das DTGs e que representam um sério risco de morte quando não tratadas adequadamente, sendo o coriocarcinoma a mais agressiva destas lesões (BUZA; HUI, 2010; KANEHIRA et al., 2013).

O coriocarcinoma é um tumor maligno altamente agressivo, porém extremamente responsivo à quimioterapia, caracterizado por expressivo grau de invasividade. Geralmente, sua manifestação é precedida pela condição gestacional, seja ela normal, com feto natimorto, ectópica, com aborto espontâneo, ou gestação molar, sendo esta última condição responsável pelo aumento significativo (1000-2000 vezes) na probabilidade de desenvolvimento do coriocarcinoma (ALTIERI et al., 2003; BUCKELY, 2006; MORGAN; LURAIN 2008). Percentuais de incidência são descritos na literatura atribuindo 50% de chances de desenvolvimento de um coriocarcinoma após uma mola hidatiforme, 25% após um aborto espontâneo, 22,5% após uma gestação normal e 2,5% após uma gravidez ectópica (BENIRSCHKE, 2006; BENTLEY, 2003). Casos de coriocarcinoma intraplacentário também são relatados, onde o tumor apresenta-se rodeado por uma estrutura vilosa aparentemente normal; no entanto, o diagnóstico pré- e pós-natal é fundamental para evitar possíveis metástases na mãe e feto (BENIRSCHKE, 2006; LIU; GUO, 2006). Em um estudo de caso, a análise genética do tumor intraplacentário demonstrou o compartilhamento de 10 *loci* polimórficos entre o tecido tumoral e o restante da placenta, descartando uma origem

não gestacional derivada de células germinativas (KANEHIRA et al., 2013). O período de manifestação de um coriocarcinoma após a gestação varia de meses a anos – um dos casos reportados mais impressionante é o de uma senhora de 73 anos que desenvolveu o tumor 23 anos após o último parto (DESAI et al., 2010; HUI, 2011). Coriocarcinomas não gestacionais também são encontrados, oriundos de células germinativas femininas ou masculinas; esses tumores, entretanto, são resistentes à quimioterapia e tem mal prognóstico (NOGALES et al., 2003). Microscopicamente o tumor apresenta-se como uma rede intrincada de células, com células citotrofoblásticas dispostas em cordões rodeados por aglomerados de sinciciotrofoblasto. Além disso, o coriocarcinoma apresenta grande heterogeneidade nuclear; mitoses são frequentes nas células do citotrofoblasto. Durante o estabelecimento do tumor, as células trofoblásticas invadem o miométrio e erodem vasos, produzindo intensa hemorragia, o que explica a presença de proeminentes zonas hemorrágicas e necrose tecidual encontrada nos casos de coriocarcinoma. Não há a formação de vilosidades, diferenciando o coriocarcinoma das molas hidatiformes. A alta capacidade imunogênica deste tumor é uma de suas principais características, assim como a não responsividade destas células à ação inibitória de TGF $\beta$ 1 e de moléculas da matriz extracelular do tipo decorim (BAGSHAW, 1969; BENIRSCHKE et al., 2006; GENEST et al., 2003; GOLDSTEIN; BERKOWITZ, 1982; OBER et al., 1971).

A intensa vascularização desses tumores favorece a formação de metástases, com sítios preferenciais nos pulmões e cérebro (OBER et al., 1971) com o agravante de provocarem hemorragias também nestes órgãos (ACOSTA-SISON, 1958; HUI, 2011; SMITH et al., 2005). Metástases atribuídas ao coriocarcinoma podem ser “transmitidas” pela doação de órgãos (BRAUN-PARVEZ et al., 2010).

Embora existam controvérsias nos estudos epidemiológicos que apontam fatores de risco para o desenvolvimento do coriocarcinoma (dentre eles, dieta, paridade, contribuição paterna de alelos, *imprinting* gênico, idade materna, uso de contraceptivos orais e gestações molares prévias), um fator parece ser consenso entre os pesquisadores – o genético (BENIRSCHKE, 2006; HUI, 2011; SLIM et al., 2011; SMITH et al., 2003). A taxa de incidência da doença varia de população para população. Na Europa e Estados Unidos, por exemplo, o coriocarcinoma afeta 1 a cada 40.000

gestações, sendo a população afro-descendente mais afetada do que a caucasiana (HERTIG et al., 1956; SMITH et al., 2003).

O diagnóstico de coriocarcinoma normalmente inclui episódios de sangramento vaginal recorrentes sem motivo aparente e titulações muito aumentadas de  $\beta$ -hCG, produzido pelas células trofoblásticas em molas hidatiformes e coriocarcinomas. A confirmação do diagnóstico, entretanto, depende de exames de raios-X e ressonância magnética. O tratamento envolve curetagem, quimioterapia e na maioria das vezes, histerectomia (LURAIN, 2011; SOPER et al., 2004;).

## **6 CONCLUSÕES**

Nosso trabalho demonstrou pela primeira vez a presença do fator CRIPTO na interface materno fetal. Dentre os resultados obtidos, podemos concluir:

- 1) CRIPTO está presente na interface materno fetal de placentas saudáveis e acretas de terceiro trimestre de gestação, localizando-se principalmente em células trofoblásticas extravilosas.
- 2) Placentas acretas apresentam numericamente mais células trofoblásticas que placentas saudáveis de terceiro trimestre de gestação, e em consequência, o conteúdo proteico de CRIPTO encontrado por área é também aumentado.
- 3) CRIPTO está presente na interface materno fetal de placentas de primeiro trimestre de placentas saudáveis e em coriocarcinomas, localizando-se em células trofoblásticas vilosas, extravilosas e em células deciduais no primeiro caso, e em células trofoblásticas malignizadas no segundo.
- 4) Placentas de primeiro trimestre, células trofoblásticas extravilosas isoladas destas placentas e a linhagem HTR8/SV-neo apresentam a forma CRIPTO3, enquanto que células extravilosas de placentas de terceiro trimestre apresentam CRIPTO1.
- 5) CRIPTO 3 é transcrito e traduzido na interface materno fetal no primeiro trimestre de gestação, representando em nosso modelo de estudo uma isoforma de CRIPTO e não um pseudogene.
- 6) A proteína CR1 recombinante é capaz de aumentar significativamente a atividade migratória e invasiva de células HTR8-SVneo in vitro.
- 7) A proteína CR1 recombinante é incapaz de modular a atividade proliferativa de células HTR8/SVneo in vitro.
- 8) Células HTR8/SVneo transfectadas com siRNA para CR3 apresentam diminuição significativa na atividade migratória.

**REFERÊNCIAS\***

AASEN, T.; RAYA, A.; BARRERO, M. J.; GARRETA, E.; CONSIGLIO, A.; GONZALEZ, F.; VASSENA, R.; BILIC, J.; PEKARIK, V.; TISCORNIA, G.; EDEL, M.; BOUÉ, S.; BELMONTE, J. C. I. Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes. **Nat. Biotechnol.**, v. 26, n. 11, p. 1276–1284, 2008.

ACOSTA-SISON, H. The relative frequency of various anatomic sites as the point of first metastasis in 32 cases of chorionepithelioma. **Amer. J. Obstet. Gynecol.**, v. 75, n. 5, p. 1149–1152, 1958.

ADAMSON, E. D.; MINCHIOTTI, G.; SALOMON D. S. Cripto: a tumor growth factor and more. **J. Cell Physiol.**, v. 190, n. 3, p. 267-278, 2002.

ALTIERI, A.; FRANCESCHI, S.; FERLAY, J.; SMITH, J.; LA VECCHIA, C. Epidemiology and aetiology of gestational trophoblastic diseases. **Lancet Oncol.**, v. 4, n. 11, p. 670–678, 2003.

AMOROSO, E. C. Endocrinology of pregnancy. **Br. Med. Bull.**, v. 11, n. 2, p. 117-125, 1955.

AOI, T.; YAE, K.; NAKAGAWA, M.; ICHISAKA, T.; OKITA, K.; TAKAHASHI, K.; CHIBA T.; YAMANAKA, S. Generation of pluripotent stem cells from adult mouse liver and stomach cells. **Science**, v. 321, n. 5889, p. 699–702, 2008.

BAGSHAW, K. D. **Choriocarcinoma**. The clinical biology of the trophoblast and its tumors. Baltimore: Williams & Wilkins; 1969.

BANDEIRA, C.; BORBELY, A. U; FRANCISCO, R. P. V.; SCHULTZ, R.; ZUGAIB, M.; BEVILACQUA, E. Tumorigenic factor CRIPTO–1 is immunolocalized in extravillous cytotrophoblast in placenta creta. **Bio. Res. Internat.**, v. 2014, 892-856, 2014.

BAUER, S. T.; BONANNO, C. Abnormal placentation. **Semin. Perinatol.**, v. 33, n. 2, p. 88–96, 2009.

BELFORT, M. A. Placenta accreta. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 203, n. 5, p. 430–439, 2010.

BENIRSCHKE, K.; KAUFMANN, P.; BAERGEN, R. N. **Microscopic Survey**. Pathology of the human placenta. 5<sup>th</sup> ed. New York: Springer-Verlag, 2006, 1050 páginas.

BENTLEY, R. C. Pathology of gestational trophoblastic disease. **Clin. Obstet. Gynecol.** v. 46, n. 3, p. 513–522, 2003.

\* De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informações e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.



BIANCO, C.; COTTON, C.; LONARDO, E.; STRIZZI, L.; BARATY, C.; MANCINO, M.; GONZALES, M.; WATANABE, K.; NAGAOKA, T.; BERRY, C.; ARAI, A. E.; MINCHIOTTI, G.; SALOMON, D. S. Cripto-1 is required for hypoxia to induce cardiac differentiation of mouse embryonic stem cells. **Am. J. Pathol.**, v. 175, n. 5, p. 2146-2158, 2009.

BIANCO, C.; KANNAN, S.; DE SANTIS, M.; SENO, M.; TANG, C. K.; MARTINEZ-LACACI, I.; KIM, N.; WALLACE-JONES, B.; LIPPMAN, M. E.; EBERT, A. D.; WECHSELBERGER, C.; SALOMON, D. S. Cripto-1 indirectly stimulates the tyrosine phosphorylation of erb B-4 through a novel receptor. **J. Biol. Chem.**, v. 274, n. 13, p. 8624–8629, 1999.

BIANCO, C.; STRIZZI, L.; EBERT, A.; CHANG, C.; REHMAN, A.; NORMANNO, N.; GUEDEZ, L.; SALLOUM, R.; GINSBURG, E.; SUN, Y.; KHAN, N.; HIROTA, M.; WALLACE-JONES, B.; WECHSELBERGER, C.; VONDERHAAR, B. K.; TOSATO, G.; STETLER-STEVENSON, W. G.; SANICOLA, M.; SALOMON, D. S. Role of human cripto-1 in tumor angiogenesis. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 97, n. 2, p. 132–141, 2005.

BIANCO, C.; STRIZZI, L.; NORMANNO, N.; KHAN, N.; SALOMON, D. S. Cripto-1: an oncofetal gene with many faces. **Curr. Top. Dev. Biol.**, v. 67, p. 85–133, 2005.

BIANCO, C.; WECHSELBERGER, C.; EBERT, A.; KHAN, N. I.; SUN, Y.; SALOMON, D. S. Identification of Cripto-1 in human milk. **Breast Cancer Res. Treat.**, v. 66, n.1, p. 1–7, 2001.

BIANCO, C.; RANGEL, M. C.; CASTRO, N. P.; NAGAOKA, T.; ROLLMAN, K.; GONZALES, M.; SALOMON, D. S. Role of Cripto-1 in stem cell maintenance and malignant progression. **Am. J. Pathol.**, v.177, n. 2, p. 532–540, 2010.

BISCHOF, P.; CAMPANA, A. A putative role for oncogenes in trophoblast invasion? **Hum. Reprod.**, v. 6, p. 51-58, 2000.

BISCHOF, P.; MEISSER, A; CAMPANA, A. Paracrine and autocrine regulators of trophoblast invasion - a review. **Placenta**, v. 21 (Suppl.), p 55-60, 2000.

BOYD, J. D.; HAMILTON, W. J. **The human placenta**. Cambridge: W Heffer & Sons, 1970.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRANDT, R.; NORMANNO, N.; GULLICK, W. J.; LIN, J. H.; HARKINS, R.; SCHNEIDER, D.; JONES, B. W.; CIARDIELLO, F.; PERSICO, M. G.; ARMENANTE F.;

KIM N.; SALOMON, D. S. Identification and biological characterization of an epidermal growth factor-related protein: cripto-1. **J Biol Chem.**,v. 269, n. 25, p. 17320–17328; 1994.

BRAUN-PARVEZ, L.; CHARLIN, E.; CAILLARD, S.; DUCLOUX, D.; WOLF, P.; ROLLE, F.; MOULIN, B. Gestational choriocarcinoma transmission following multiorgan donation. **American Journal of Transplantation.**,v. 10, n. 11, p. 2541-2546, 2010.

BUCKELY, J. Choriocarcinoma. In: SCHOTTENFELD, D.; FRAUMENI, J. (eds). **Cancer Epidemiology and Prevention**, 3rd ed. New York, NY: Oxford University Press, 2006, 1392 páginas.

BURTON, G. J.; JAUNIAUX, E.; CHARNOCK-JONES, D. S. Human early placental development: Potential roles of the endometrial glands. **Placenta**, n. 28 (Suppl.), p. 64-69, 2007.

BUZA, N.; HUI, P. Gestational trophoblastic disease: histopathological diagnosis in the molecular era. **Diagnostic histopathology.**,v. 16, n.11, p. 526-537, 2010.

CHAMBERY, A.; VISSERS, J. P.; LANGRIDGE, J. I.; LONARDO, E.; MINCHIOTTI, G.; RUVO, M.; PARENTE, A. Qualitative and quantitative proteomic profiling of cripto(-/-) embryonic stem cells by means of accurate mass LC-MS analysis. **J. Proteome Res.**, v. 8, p. 1047-1058, 2009.

CHOU, M. M.; TSENG, J. J.; HO, E. S. The application of three–dimensional color power Doppler ultrasound in the depiction of abnormal uteroplacental angioarchitecture in placenta previa percreta. **Ultrasound Obstet. Gynecol.**, v. 19, n. 6, p. 625–627, 2002.

CIARDIELLO, F.; KIM, N.; SAEKI, T.; DONO, R.; PERSICO, M. G.; PLOWMAN, G. D.; GARRIGUES, J.; RADKE, S.; TODARO, G. J.; SALOMON, D. S. Differential expression of epidermal growth factor-related proteins in human colorectal tumors. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**,v. 88, n. 17, p. 7792–7796, 1991.

CICCODICOLA, A.; DONO, R.; OBICI, S.; SIMEONE, A.; ZOLLO, M.; PERSICO, M. G. Molecular characterization of a gene of the “EGF family” expressed in undifferentiated human NTERA2 teratocarcinoma cells. **EMBO J.**, v. 8, n. 7, p. 1987–91, 1989.

CLARK, E. A. S.; SILVER, R.M. Long–term maternal morbidity associated with repeat cesarean delivery. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 205, n. 6, p. S2–10, 2011.

CLARK, S. L.; KOONINGS, P. P.; PHELAN, J. P. Placenta previa/accreta and prior cesarean section. **Obstet. Gynecol.**, v. 66, n. 1, p. 89-92, 1985.

CRAMER, S. F. Letter to the editor: case report. **Pediatr Pathol.**, v. 7, p. 473-475, 1987.

D'ANIELLO, C.; LONARDO, E.; IACONIS, S.; GUARDIOLA, O.; LIGUORO, A. M.; LIGUORI, G. L.; AUTIERO, M.; CARMELIET, P.; MINCHIOTTI, G. G protein-coupled receptor APJ and its ligand apelin act downstream of Cripto to specify embryonic stem cells toward the cardiac lineage through extracellular signal-regulated kinase/p70S6 kinase signaling pathway. **Circ. Res.**, v. 105, n. 3, p. 231-238, 2009.

D'ANTONIO, A.; LOSITO, S.; PIGNATA, S.; GRASSI, M.; PERRONE, F.; DE LUCA, A.; TAMBARO, R.; BIANCO, C.; GULLICK, W. J.; JOHNSON, GR.; IAFFAIOLI, V. R.; SALOMON, D. S.; NORMANNO, N. Transforming growth factor alpha, amphiregulin and cripto-1 are frequently expressed in advanced human ovarian carcinomas. **Int. J. Oncol.**, v. 21, n. 5, p. 941–948, 2002.

DASKALAKIS, G.; ANASTASAKIS, E.; PAPANTONIOU, N.; MESOGITIS, S.; THEODORA, M.; ANTSAKLIS, A. Emergency obstetric hysterectomy. **Acta Obstet. Gynecol. Scand.**, v. 86, n. 2, p. 223–227, 2007.

DASARI, P.; VENKATESAN, B.; THYAGARAJAN, C.; BALAN, S. Expectant and medical management of placenta increta in a primiparous woman presenting with postpartum haemorrhage: The role of Imaging. **Journal of radiology case reports.**, v. 4, n. 5, p. 32, 2010.

de CASTRO, N.P.; RANGEL, M.C.; NAGAOKA, T.; SALOMON, D.S.; BIANCO, C. Cripto-1: an embryonic gene that promotes tumorigenesis. **Future Oncol.**, v.6, n. 7, p. 1127-1142, 2010.

DE LA CRUZ, J. M.; BAMFORD, R. N.; BURDINE, R. D.; ROESSLER, E.; BARKOVICH, A. J.; DONNAI, D.; SCHIER, A. F.; MUENKE, M. A loss-of-function mutation in the CFC domain of TDGF1 is associated with human forebrain defects. **Hum. Genet.**, v. 110, p. 422–428, 2002.

DESAI, N. R.; GUPTA, S.; SAID, R.; DESAI, P.; DAI, Q. Choriocarcinoma in a 73-year-old woman: a case report and review of the literature. **J. Med. Case Rep.**, v. 4, p. 379, 2010.

DING, J.; YANG, L.; YAN, Y. T.; CHEN, A.; DESAI, N.; WYNshaw-BORIS, A.; SHEN, M. M. 1998. Cripto is required for correct orientation of the anterior-posterior axis in the mouse embryo. **Nature**, v. 395, n. 6703, p. 702–707, 1998.

DONO, R.; MONTUORI, N.; ROCCHI, M.; DE PONTI-ZILLI, L.; CICCODICOLA, A.; PERSICO MG. Isolation and characterization of the CRIPTO autosomal gene and its X-linked related sequence. **Am. J. Hum Gen.**, v. 49, n. 3, p. 555–565, 1991.

DONO, R.; SCALERA, L.; PACIFICO, F.; ACAMPORA, D.; PERSICO, M. G.; SIMEONE, A. The murine cripto gene: expression during mesoderm induction and early heart morphogenesis. **Development.**, v. 118, n. 4, p. 1157–1168, 1993.

DOREY, K.; S. HILL, C. A novel Cripto-related protein reveals an essential role for EGF-CFCs in Nodal signalling in *Xenopus* embryos. **Develop. Boil.**, v. 292.2, p. 303-316, 2006.

DRAKE, P. M.; RED-HORSE, K.; FISHER, S. J. Reciprocal chemokine receptor and ligand expression in the human placenta: Implications for cytotrophoblast differentiation. **Dev. Dyn.**,v. 229, p. 877-885, 2004.

EBERT, A. D.; WECHSELBERGER, C.; NEES, M.; CLAIR, T.; SCHALLER, G.; MARTINEZ-LACACI, I.; WALLACE-JONES, B.; BIANCO, C.; WEITZEL, HK.; SALOMON, D. S. Cripto-1-induced increase in vimentin expression is associated with enhanced migration of human Caski cervical carcinoma cells. **Exp. Cell Res.**,v. 257, n. 1, p. 223–229, 2000.

ERTOY, D.; AYHAN, A.; SARAÇ, E.; KARAAĞAOĞLU, E.; YASUI, W.; TAHARA, E.; AYHAN, A. Clinicopathological implication of cripto expression in early stage invasive cervical carcinomas. **Eur. J. Cancer**, v. 36, n. 8, p. 1002–1007, 2000.

FERRETTI, C.; BRUNI, L.; DANGLES-MARIE, V.; PECKING, A. P.; BELLET, D. Molecular circuits shared by placental and cancer cells, and their implications in the proliferative, invasive and migratory capacities of trophoblasts. **Hum Reprod Update.**, v. 13, p. 121-141, 2007.

FISHER, S. J.; CUI, T. Y.; ZHANG, L.; HARTMAN, L.; GRAHL, K.; ZHANG, G.Y.; TARPEY, J.; DAMSKY, C. H. Adhesive and degradative properties of human placental cytotrophoblast cells in vitro. **J. Cell Biol.**, v. 109, p. 891-902, 1989.

FONTANINI, G.; DE LAURENTIIS, M.; VIGNATI, S.; CHINÈ, S.; LUCCHI, M.; SILVESTRI, V.; MUSSI, A.; DE PLACIDO, S.; TORTORA, G.; BIANCO, A. R.; GULLICK, W.; ANGELETTI, CA.; BEVILACQUA, G.; CIARDIELLO, F.. Evaluation of epidermal growth factor-related growth factors and receptors and of neoangiogenesis in completely resected stage I–IIIA nonsmall- cell lung cancer: amphiregulin and microvessel count are independent prognostic indicators of survival. **Clin. Cancer Res.**, v. 4, n.1, p. 241–249, 1998.

FOX, H.; SEBIRE, N. J. **Pathology of the Placenta: Major Problems in Pathology.** 3th ed. Philadelphia: Saunders W. B. Co., 2007, 576 páginas.

FOX, H. Placenta accreta, 1945-1969. **Obstet. Gynecol. Surv.**, v. 27, n. 7, p. 475-490, 1972.

FRANK, H. G.; KAUFMANN, P. Nonvillous parts and trophoblast invasion. **Pathology of the human placenta**. p. 191-312, 2006.

FRIESS, H.; YAMANAKA, Y.; BÜCHLER, M.; KOBRIN, MS.; TAHARA, E.; KORC, M. Cripto, a member of the epidermal growth factor family, is over-expressed in human pancreatic cancer and chronic pancreatitis. **Int. J. Cancer**, v. 56, n. 5, p. 668–674, 1994.

GENEST, D. R.; BERKOWITZ, R. S.; FISHER, R. A.; NEWLANDS, E.S., FEHR, M. Gestational trophoblastic disease. In: TAVASSOLI, F. A.; DEVILEE, P. (eds.). **Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs**. WHO Classification of Tumours. Lyon: IARC Press, 2003, p. 250–254.

GOLDSTEIN, D. P.; BERKOWITZ, R. S. **Trophoblastic neoplasms**. Clinical principles of diagnosis and management. Philadelphia: Saunders, 1982.

GOLDSTEIN, D. P.; ZANTEN-PRZYBYSZ, I. V.; BERNSTEIN, M. R.; BERKOWITZ, R. S. Revised FIGO staging system for gestational trophoblastic tumors. Recommendations regarding therapy. **J. Reprod Med.**, v. 43, n. 1, p. 37-43, 1998.

GONG, Y. P.; YARROW, P. M.; CARMALT, H. L.; KWUN, S. Y., KENNEDY, C. W., LIN, B. P. C.; XING, PX.; GILLETT, D. J. Overexpression of Cripto and its prognostic significance in breast cancer: a study with long-term survival. **Eur. J. Surg. Oncol.**, v. 33, n. 4, p. 438-443, 2007.

GRAHAM, C. H.; HAWLEY, T. S.; HAWLEY, R. G.; MACDOUGALL, J. R.; KERBEL, R. S.; KHOO, N.; LALA, P. K. Establishment and characterization off irst trimester human trophoblast cells with extended lifespan. **Exp Cell Res.**, v. 206, p. 204-211, 1993.

GRAY, P. C.; SHANI, G.; AUNG, K.; KELBER, J.; VALE, W. Cripto Binds Transforming Growth Factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) and Inhibits TGF- $\beta$  Signaling. **Mol. Cell Biol.**, v. 26, n. 24, p. 9268-9278, 2006.

GRAY, P. C.; VALE, W. Cripto/GRP78 modulation of the TGF-beta pathway in development and oncogenesis. **FEBS Lett.**, v. 586, n. 14, p. 1836–1845, 2012.

HANNAN, N. J.; SALAMONSEN, L. A. Role of chemokines in the endometrium and in embryo implantation. **Curr. Opin. Obstet. Gynecol.**, v. 19, p. 266-272, 2007.

HENTSCHKE, M.; KURTH, I.; BORGMEYER, U.; HUBNER, C. A. Germ cell nuclear factor is a repressor of CRIPTO-1 and CRIPTO-3. **J. Biol. Chem.**, v. 281, p. 33497–33504, 2006.

HERTIG, A. T.; MANSELL, H. Tumors of the female sex organs, part I: Hydatidiform mole and choriocarcinoma. In: **Atlas of tumor pathology**, section IX, fascicle 33. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1956.

HOFFMAN, M. S.; KARLNOSKI, R. A.; MANGAR, D.; WHITEMAN, V. E.; ZWEIBEL, B. R.; LOCKHART, J. L.; CAMPORESI, E. M. Morbidity associated with nonemergent hysterectomy for placenta accreta. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 202, n. 6, p. 628.e1–e5, 2010.

HUI, P. **Gestational Trophoblastic Disease: Diagnostic and Molecular Genetic Pathology**. New York: Springer Science & Business Media, 2011, 205 páginas.

HUTTON, L.; YANG, S. S.; BERNSTEIN, J. Placenta accreta. A 26- year clinicopathologic review (1956–1981). **N. Y. State J. Med.** v. 83, n. 6, p. 857-866, 1983.

IRVINIG, C.; HERTIG, A. A study of placenta accreta. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v. 64, p. 178–200, 1937.

IRVING J. A.; LALA P. K. Functional role of cell surface integrins on human trophoblast cell migration: regulation by TGF $\beta$ , IFG-II and IGFBP-1. **Exp. Cell Res.**, v. 217, p. 419–427, 1995

JAUNIAUX, E.; JURKOVIC, D. Placenta accreta: pathogenesis of a 20th century iatrogenic uterine disease. **Placenta**, v. 33, n. 4, p. 244-251, 2012.

JOHNSON, S. E.; ROTHSTEIN, J. L.; KNOWLES, B. B. 1994. Expression of epidermal growth factor family gene members in early mouse development. **Dev Dyn.**, v. 201, n. 3, p. 216-226. 1994.

JOKHI, P. P.; KING, A.; LOKE, Y. W. Cytokine production and cytokine receptor expression by cells of the human first trimester placental-uterine interface. **Cytokine**, p. 126-137, 1997.

KANNAN, S.; DE SANTIS, M.; LOHMEYER, M.; RIESE, D. J.; SMITH, G. H.; HYNES, N.; SENO, M.; BRANDT, R.; BIANCO, C.; PERSICO, G.; KENNEY, N.; NORMANNO, N.; MARTINEZ-LACACI, I.; CIARDIALLO, F.; STERN D. F.; GULLICK, W. J.; SALOMON, D. S. Cripto enhances the tyrosine phosphorylation of Shc and activates mitogen-activated protein kinase (MAPK) in mammary epithelial cells. **J. Biol. Chem.**, v. 272, n. 6, p. 3330-3335, 1997.

KANEHIRA, K.; STAROSTIK, P.; KASZNICA, J.; KHOURY, T. Primary intraplacental gestational choriocarcinoma: histologic and genetic analyses. **Int. J. Gynecol. Pathol.**, v. 32, n. 1, p. 71-75, 2013.

KELBER JA.; PANOPOULOS AD.; SHANI G.; BOOKER EC.; BELMONTE JC.; VALE WW.; GRAY PC. Blockade of Cripto binding to cell surface GRP78 inhibits oncogenic Cripto signaling via MAPK/PI3K and Smad2/3 pathways. **Oncogene**, v. 28, n. 24, p. 2324–2336, 2009.

KENNEY, N. J.; HUANG, R. P.; JOHNSON, G. R.; WU, J. X.; OKAMURA, D.; MATHENY, W.; KORDON, E.; GULLICK, W. J.; PLOWMAN, G.; SMITH, G. H. Detection and location of amphiregulin and Cripto-1 expression in the developing postnatal mouse mammary gland. **Mol. Reprod. Dev.**, v. 41, n. 3, p. 277-286, 1995.

KHONG, T. Y. The pathology of placenta accreta, a worldwide epidemic. **J. Clin. Pathol.**, v. 61, n. 12, p. 1243-1256, 2008.

KHONG, T.; ROBERTSON, W. Placenta creta and placenta praevia. **Placenta**, v. 8, n. 4, p. 399-409, 1987.

KIM K. R.; JUN S. Y.; KIM J. Y.; RO J. Y. Implantation site intermediate trophoblasts in placenta cretas. **Mod. Pathol.**, v. 17, n. 12, p. 1483–1490, 2004.

KINOSHITA, N.; MINSHULL, J.; KIRSCHNER, M. W. The identification of two novel ligands of the FGF receptor by a yeast screening method and their activity in *Xenopus* development. **Cell**, v. 83, n. 4, p. 621–630, 1995.

KLAUZINSKA, M.; CASTRO, N. P.; RANGEL, M. C.; SPIKE, B. T.; GRAY, P. C.; BERTOLETTE, D.; CUTTITTA F.; SALOMON, D. The multifaceted role of the embryonic gene Cripto-1 in cancer, stemcells and epithelial-mesenchymal transition. **Semin. Cancer Biol.**, v. 29C, p. 51-58, 2014.

KNÖFLER, M. Critical growth factors and signalling pathways controlling human trophoblast invasion. **Intern. J. Develop. Biol.**, v. 54, n. 2-3, p. 269-280, 2010.

LALA, P. K.; HAMILTON, G. S. Growth factors, proteases and protease inhibitors in the maternal-fetal dialogue. **Placenta**, v. 17, p. 545-555, 1996.

LASH, G. E. I; OTUN, H. A.; INNES, B. A.; BULMER, J. N.; SEARLE, R. F.; ROBSON, S. C. Inhibition of trophoblast cell invasion by TGFB1, 2, and 3 is associated with a decrease in active proteases. **Biol. Reprod.**, v. 73, n. 2, p. 374-381, 2005.

LIGUORI, G. L.; BORGES, A. C.; D'ANDREA, D.; LIGUORO, A.; GONÇALVES, L.; SALGUEIRO, A. M.; PERSICO, M. G.; BELO, J. A. Cripto-independent Nodal signaling promotes positioning of the A–P axis in the early mouse embryo. **Dev Biol.**, v. 315, n. 2, p. 280-289, 2008.

LIGUORI, G. L.; ECHEVARRIA, D.; BONILLA, S.; D'ANDREA, D.; LIGUORO, A.; PERSICO, M. G.; MARTINEZ, S. Characterization of the functional properties of the

neuroectoderm in mouse Cripto(-/-) embryos showing severe gastrulation defects. **Int J Dev Biol.**, v. 53, n. 4, p. 549-557, 2009.

LIGUORI, G. L.; ECHEVARRIA, D.; IMPROTA, R.; SIGNORE, M.; ADAMSON, E.; MARTINEZ, S.; PERSICO, M. G. Anterior neural plate regionalization in cripto null mutant mouse embryos in the absence of node and primitive streak. **Dev. Biol.**, v. 264, n. 2, p. 537-49, 2003.

LIU, J.; GUO, L. Intraplacental choriocarcinoma in a term placenta with both maternal and infantile metastases: a case report and review of the literature. **Gynecol. Oncol.**, v. 103, n. 3, p. 1147–1151, 2006.

LONARDO, E.; PARISH, C. L.; PONTICELLI, S.; MARASCO, D.; RIBEIRO, D.; RUVO, M.; DE FALCO, S.; ARENAS, E.; MINCHIOTTI, G. A small synthetic cripto blocking Peptide improves neural induction, dopaminergic differentiation, and functional integration of mouse embryonic stem cells in a rat model of Parkinson's disease. **Stem Cells**, v. 28, n. 8, p. 1326–1337, 2010.

LURAIN, J. R. Gestational trophoblastic disease II: classification and management of gestational trophoblastic neoplasia. **Am. J.Obstet. Gynecol.**, v. 204, n. 1, p. 11-18, 2011.

MALLIKARJUNA, K.; VAIJAYANTHI, P.; KRISHNAKUMAR, S. Cripto-1 expression in uveal melanoma: an immunohistochemical study. **Exp. Eye Res.** v. 84, n. 6, p. 1060-1066, 2007.

MARZIONI, D.; CAPPARUCCIA, L.; TODROS T.; GIOVANNELLI A.; CASTELLUCCI M. Cripto regulates hematopoietic stem cells as a hypoxic-niche-related factor through cell surface receptor GRP78. **Cell Stem Cell**, v. 9, n. 4, p. 330-44, 2011.

MARZIONI, D.; CAPPARUCCIA, L.; TODROS, T.; GIOVANNELLI, A.; 111  
CASTELLUCCI M. Growth factors and their receptors: fundamental molecules for human placental development. **Ital. J. Anat. Embryol.**, v. 110, n. 2, p. 183-7, 2005.

MELLER M, VADACHKORIA S, LUTHY DA, WILLIAMS M.A. Evaluation of housekeeping genes in placental comparative expression studies. **Placenta.**, v.26, n. 8. p. 601-607, 2005.

MIHARADA, K.; KARLSSON, G.; REHN, M.; RÖRBY, E.; SIVA, K.; CAMMENGA, J.; KARLSSON, S. Cripto regulates hematopoietic stem cells as a hypoxic-niche-related factor through cell surface receptor GRP78. **Cell Stem Cell.**, v. 9, n. 4, p. 330-344, 2011.



MILLER, D.A.; CHOLLET, J.A.; GOODWIN TM. Clinical risk factors for placenta previa-placenta accreta. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 177, n. 1, p. 210-214, 1997.

MILLER, WG. A clinical and pathology study of placenta accreta. **J. Obstet. Gynaecol. Br. Emp.**, v. 66, p. 353-364, 1959.

MINCHIOTTI, G.; MANCO, G.; PARISI, S.; LAGO, C. T.; ROSA, F.; PERSICO, M. G. 2001. Structure-function analysis of the EGF-CFC family member Cripto identifies residues essential for nodal signalling. **Development.**, v. 128, n. 22, p. 4501-4510, 2001.

MORGAN, J.M.; LURAIN, J. R. Gestational trophoblastic neoplasia: an update. **Curr. Oncol. Rep.**, v. 10, n. 6, p. 497-504, 2008.

MORKEL, M.; HUELSKEN, J.; WAKAMIYA, M.; DING, J.; VAN DE WETERING, M.; CLEVERS, H.; TAKETO, M. M.; BEHRINGER, R. R.; SHEN, M. M.; BIRCHMEIER, W. 2003. Beta-catenin regulates Cripto- and Wnt3-dependent gene expression programs in mouse axis and mesoderm formation. **Development.**, v. 130, n. 25, p. 6283-6294, 2003.

MUNIR, S.; XU, G.; WU, Y.; YANG, B.; LALA, P. K.; PENG, C. Nodal and ALK7 inhibit proliferation and induce apoptosis in human trophoblast cells. **J. Biol. Chem.**, v. 279, n. 30, p. 31277-31286, 2004.

MÜHLHAUSER, J.; CRESCIMANNO, C.; KAUFMANN, P.; HÖFLER, H.; ZACCHEO, D.; CASTELLUCCI, M. Differentiation and proliferation patterns in human trophoblast revealed by c-erbB-2 oncogene product and EGF-R. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 41, n.2, p. 165-73, 1993.

MURTHI, P.; FITZPATRICK, E.; BORG, A. J.; DONATH, S.; BRENNECKE, S. P.; KALIONIS, B. GAPDH 18S rRNA and YWHAZ are suitable endogenous reference <sup>112</sup> genes for relative gene expression studies in placental tissues from human idiopathic fetal growth restriction. **Placenta**, v. 29, n.9. p. 798-801, 2008.

NAGAOKA, T.; KARASAWA, H.; TURBYVILLE, T.; RANGEL, M. C.; CASTRO, N. P.; GONZALES, M.; BAKER, A.; SENO, M.; LOCKETT, S.; GREER, Y. E.; RUBIN, J. S.; SALOMON, D. S.; BIANCO, C. Cripto-1 enhances the canonical Wnt/beta-catenin signaling pathway by binding to LRP5 and LRP6 co-receptors. **Cell. Signal.**, v. 25, n. 1, p. 178-189, 2013.

National Center for Biotechnology Information. NCBI. Disponível em: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP\\_001167607.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_001167607.1). Acesso em 10 de novembro de 2014.

NIEMEYER, C. C.; PERSICO, M. G.; ADAMSON, E. D. Cripto: roles in mammary cell growth, survival, differentiation and transformation. **Cell death differ.**, v. 5, n. 5, p. 440-449, 1998.

NOGALES, F.; TALERMAN, A.; KUBIK-HUCH, R. A.; TAVASSOLI, F. A.; DEVOUASSOUX-SHISHEBORAN, M. Germ cell tumours. In: TAVASSOLI, F. A.; DEVILEE, P. (eds.). **Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs**. WHO Classification of Tumours. Lyon: IARC Press, 2003, p. 163–164.

NORMANNO, N.; LUCA, A.D.; BIANCO, C.; MAIELLO, M.R.; CARRIERO, M.V.; REHMAN, A.; WECHSELBERGER, C.; ARRA, C.; STRIZZI, L.; SANICOLA, M.; SALOMON, D.S. Cripto-1 overexpression leads to enhanced invasiveness and resistance to anoikis in human MCF-7 breast cancer cells. **J. Cell. Physiol.**, v. 198, n. 1, p. 31-39, 2004.

OBER, W. B.; EDGCOMB, J. H.; PRICE, E. B. J. R. The pathology of choriocarcinoma. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 172, n. 10, p. 299-426, 1971.

OHLSSON, R. Growth factors, protooncogenes and human placental development. **Cell Differ. Dev.**, v. 28, n. 1, p. 1-15. 1989

PARISH, CL.; PARISI, S.; PERSICO, M. G.; ARENAS, E.; MINCHIOTTI, G. Cripto as a target for improving embryonic stem cell-based therapy in Parkinson's disease. **Stem Cells.**, v. 23, n. 4, p. 471-476, 2005.

PARISI, S.; D'ANDREA, D.; LAGO, C. T.; ADAMSON, E. D.; PERSICO M. G.; MINCHIOTTI, G. Nodal-dependent Cripto signaling promotes cardiomyogenesis and redirects the neural fate of embryonic stem cells. **J. Cell. Biol.**, v. 163, n. 2, p. 303-314, 2003.

PARISI, S.; D'ANDREA, D.; LAGO, C. T.; ADAMSON, E. D.; PERSICO, M. G.; MINCHIOTTI, G. (2003). Nodal-dependent Cripto signaling promotes cardiomyogenesis and redirects the neural fate of embryonic stem cells. **J. Cell Biol.**, v. 163, n. 2, p. 303-314, 2003.

PLAISIER, M. Decidualisation and angiogenesis. **Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.**, v. 25, n. 3, p. 259-271, 2011.

POLAKIS, P. Wnt signaling and cancer. **Gen. Devel.**, v. 14, p. 1837-1851, 2000.

POLLHEIMER, J.; KNÖFLER, M. Signalling pathways regulating the invasive differentiation of human trophoblasts: A review. **Placenta**, n. 26, (Suppl.), p. 21-30, 2005.

POLLHEIMER J.; LOREGGER T.; SONDEREGGER S.; SALEH L.; BAUER S.; BILBAN M.; CZERWENK K.; HUSSLEIN P.; KNÖFLER M. Activation of the canonical wingless/T-cell factor signalling pathway promotes invasive differentiation of human trophoblast. **Am. J. Pathol.**, v.168, p.1134–1147, 2006.

POSTOVIT, L. M.; SEFTOR, E. A.; SEFTOR, R. E.; HENDRIX, M. J. Targeting Nodal in malignant melanoma cells. **Expert Opin. Ther. Targets.** v. 11, n. 4, p. 497-505, 2007.

PRIDJIAN. G.; HIBBARD, J. U.; MOAWAD, A. H. Cesarean: changing the trends. **Obstet. Gynecol.**, v. 77, n. 2, p. 195-200, 1991.

QI, C. F.; LISCIA, D. S.; NORMANNO, N.; MERLO, G.; JOHNSON, G. R.; GULLICK, W. J.; CIARDIELLO, F.; SAEKI, T.; BRANDT, R.; KIM, N. Expression of transforming growth factor alpha, amphiregulin and cripto-1 in human breast carcinomas. **Br. J. Cancer.**, v. 69, n. 5, p. 903-910, 1994.

RANGEL, M. C.; KARASAWA, H.; CASTRO, NP.; NAGAOKA, T.; SALOMON, D. S.; BIANCO C. Role of Cripto-1 during epithelial-to-mesenchymal transition in development and cancer. **Am. J. Pathol.**, v. 180, n. 6, p. 2188–2200, 2012.

RAVISANKAR, V.; SINGH, T. P.; MANOJ, N. Molecular evolution of the EGF-CFC protein family. **Gene**, v. 482, n. 1, p. 43-50, 2011.

RED-HORSE, K.; ZHOU, Y.; GENBACEV, O.; PRAKOBPHOL, A.; FOULK, R.; MCMASTER, M.; FISHER, S. J. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. **J. Clin. Invest.**, v. 114, n. 6, p. 744-754, 2004.

RED-HORSE, K.; KAPIDZIC, M.; ZHOU, Y.; FENG, K. T.; SINGH, H.; FISHER, S. J. Ephb4 regulates chemokine-evoked trophoblast responses: A mechanism for incorporating the human placenta into the maternal circulation. **Development.**, v. 132, p. 4097-106, 2005.

ROBERTS, H. J.; HU, S.; QIU, Q.; LEUNG, P. C.; CANIGGIA, I.; GRUSLIN, A.; PENG, C. Identification of novel isoforms of activin receptor-like kinase 7 (ALK7) generated by alternative splicing and expression of ALK7 and its ligand, Nodal, in human placenta. **Biol. Reprod.**, v. 68, n. 5, p. 1719-1726, 2003.

SAEKI, T.; STROMBERG, K.; QI, C. F.; GULLICK, W. J.; TAHARA, E.; NORMANNO, N.; CIARDIELLO, F.; KENNEY, N.; JOHNSON, G. R.; SALOMON, D. S.. Differential immunohistochemical detection of amphiregulin and cripto in human normal colon and colorectal tumors. **Cancer Res.**, v. 52, n. 12, p. 3467–3473, 1992.

SALOMON, D. S.; BIANCO, C.; EBERT, A. D.; KHAN, N. I.; DE SANTIS, M.; NORMANNO, N.; WECHSELBERGER, C.; SENO, M.; WILLIAMS, K.; SANICOLA, M.; FOLEY, S.; GULLICK, W. J.; PERSICO, G. The EGF-CFC family: novel epidermal growth factor-related proteins in development and cancer. **Endocr. Relat. Cancer**, v. 7, n. 4, p. 199-226, 2000.

SALOMON, D. S.; BIANCO, C.; EBERT, A. D.; KHAN, N. I.; DE SANTIS, M.; NORMANNO, N.; WECHSELBERGER, C.; SENO, M.; WILLIAMS, K.; SANICOLA, M.; FOLEY, S.; GULLICK, W.J.; PERSICO, M. G. The EGF-CFC family: novel epidermal growth factor-related proteins in development and cancer. **Endocr. Relat. Cancer**, v. 7, n. 4, p. 199–226, 2000.

SCOGNAMIGLIO, B.; BALDASSARRE, G.; CASSANO, C.; TUCCI, M.; MONTUORI, N.; DONO, R.; LEMBO, G.; BARRA, A.; LAGO, CT.; VIGLIETTO, G.; ROCCHI M.; PERSICO, M. G. Assignment of human teratocarcinoma derived growth factor (TDGF) sequences to chromosomes 2q37, 3q22, 6p25 and 19q13.1. **Cytogenet. Cell Genet.**, v. 84, n. 3-4, p. 220-224, 1999.

SHANI, G.; FISCHER, W.H.; JUSTICE, N.J.; KELBER, J.A.; VALE, W.; GRAY, P.C. GRP78 and Cripto form a complex at the cell surface and collaborate to inhibit transforming growth factor beta signaling and enhance cell growth. **Mol. Cell Biol.**, v. 28, p. 666–677, 2008.

SHELLHAAS, C. S.; GILBERT, S.; LANDON, M. B.; VARNER, M. W.; LEVENO, K. J.; HAUTH, J. C.; SPONG, C. Y.; CARITIS, S. N.; WAPNER, R. J.; SOROKIN, Y.; MODOVNIK, M.; O'SULLIVAN, M. J.; SIBAI, B. M.; LANGER, O.; GABBE, S. G; The frequency and complication rates of hysterectomy accompanying cesarean delivery. **Obstet. Gynecol.**, v. 114, n. 2-1, p. 224-229, 2009.

SHEN, M. M.; WANG, H.; LEDER, P. A differential display strategy identifies Cryptic, a novel EGF-related gene expressed in the axial and lateral mesoderm during mouse gastrulation. **Development**, v. 124, n. 2, p. 429–442, 1997.

SHI, Y.; MASSAGUÉ, J. Mechanisms of TGF- $\beta$  signaling from cell membrane to the nucleus. **Cell**, v. 113, n. 6, p. 685-700, 2003.

SHIH, J.; CHENG, W.; SHYU, M.; LEE, C.; HSIEH, F. Power Doppler evidence of placenta accreta appearing in the first trimester. **Ultrasound Obstet Gynecol.**, v. 19, n. 6, p. 623-625, 2002.

SILVER, R. M.; LANDON, M. B.; ROUSE, D. J.; LEVENO, K. J.; SPONG, C. Y.; THOM, E. A.; MOAWAD, A. H.; CARITIS, S. N.; HARPER, M.; WAPNER, R. J.; SOROKIN, Y.; MODOVNIK, M.; CARPENTER, M.; PEACEMAN, A. M.; O'SULLIVAN, M. J.; SIBAI, B.;

LANGER, O.; THORP, J. M.; RAMIN, S. M.; MERCER, B. M.; NATIONAL INSTITUTE OF CHILD HEALTH AND HUMAN DEVELOPMENT MATERNAL-FETAL MEDICINE UNITS NETWORK. Maternal morbidity associated with multiple repeat cesarean deliveries. **Obstet. Gynecol.** v. 107, n. 6, p. 1226-1232, 2006.

SLIM, R.; COULLIN, P.; DIATTA, A. L.; CHEBARO, W.; COURTIN, D.; ABDELHAK, S.; GARCIA, A. NLRP7 and the genetics of post-molar choriocarcinomas in Senegal. **Mol Hum Reprod.**, v. 18, n. 1, p. 52-56, 2012.

SMITH, H. O., KOHORN, E.; COLE, L. A. Choriocarcinoma and gestational trophoblastic disease. **Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.**, v. 32, n. 4, p. 661-684, 2005.

SMITH, H. O.; QUALLS, C. R.; PRAIRIE, B. A.; PADILLA, L. A.; RAYBURN, W. F.; KEY, C. R. Trends in Gestational Choriocarcinoma: A 27-Year Perspective. **Obstet Gynecol.**, v. 102, n. 5, p. 978-987, 2003.

SOFIAH, S.; FUNG Y. C. Placenta accreta: clinical risk factors, accuracy of antenatal diagnosis and effect on pregnancy outcome. **Med. J. Malaysia**, v. 64, n. 4, p. 298–302, 2009.

SONNTAG, K. C.; SIMANTOV, R.; BJÖRKLUND, L.; COOPER, O.; PRUSZAK, J.; KOWALKE, F.; GILMARTIN, J.; DING, J.; HU, Y. P.; SHEN, M. M.; ISACSON, O. Context-dependent neuronal differentiation and germ layer induction of Smad4 and Cripto embryonic stem cells. **Mol. Cell. Neurosci.**, v. 28, n. 3, p. 417–429, 2005.

SOPER, J. T.; MUTCH, D. G.; SCHINK, J. C. Diagnosis and treatment of gestational trophoblastic disease: ACOG Practice Bulletin No. 53. **Gynecol. oncol.**, v. 93, n. 3, p. 575-585, 2004.

SPIKE, B. T.; KELBER, J. A.; BOOKER, E.; KALATHUR, M.; RODEWALD, R.; LIPIANSKAYA, J.; LA, J.; HE, M.; WRIGHT, T.; KLEMKE, R.; WAHL, G. M.; GRAY, P. C. CRIPTO/GRP78 signaling maintains fetal and adult mammary stem cells ex vivo. **Stem Cell Rep.**, v. 2, n. 4, p. 427–439, 2014.

SRINIVASAN, R.; GILLETT, C. E.; BARNES, D. M.; GULLICK, W. J. Nuclear expression of the c-erbB-4/HER-4 growth factor receptor in invasive breast cancers. **Cancer Res.**, v. 60, n. 6, p. 1483–1487, 2000.

STANEK, J.; DRUMMOND, Z. Occult placenta accreta: the missing link in the diagnosis of abnormal placentation. **Pediatr. Dev. Pathol.**, v.10, n. 4, p. 266-273, 2007.

STRIZZI, L.; BIANCO C.; NORMANNO N.; SALOMON D. S. Cripto-1: a multifunctional modulator during embryogenesis and oncogenesis. **Oncogene**, v. 24, n. 37, p. 5731–5741, 2005.

STRIZZI, L.; MANCINO, M.; BIANCO, C.; RAAFAT, A.; GONZALES, M.; BOOTH, B. W.; WATANABE, K.; NAGAOKA, T.; MACK, D. L.; HOWARD, B.; CALLAHAN, R.; SMITH, G. H.; SALOMON, D. S. Netrin-1 can affect morphogenesis and differentiation of the mouse mammary gland. **J. Cell. Physiol.**, v. 216, n. 3, p. 824–834, 2008.

SUN, C.; OROZCO, O.; OLSON, D. L.; CHOI, E.; GARBER, E.; TIZARD, R.; SZAK, S.; SANICOLA, M.; CARULLI, J. P. CRIPTO3, a presumed pseudogene, is expressed in cancer. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 377, n. 1, p. 215–220, 2008.

SUN, Y.; STRIZZI, L.; RAAFAT, A.; HIROTA, M.; BIANCO, C.; FEIGENBAUM, L.; KENNEY, N.; WECHSELBERGER, C.; CALLAHAN, R.; SALOMON, D. S: Overexpression of human Cripto-1 in transgenic mice delays mammary gland development and differentiation and induces mammary tumorigenesis. **Am. J. Pathol.**, v. 167, n. 2, p. 585–597, 2005.

TACHI, S.; TACHI, C.; LINDNER, H.R. Ultrastructural features of blastocystic attachment and trophoblast invasion in the rat. **J. Reprod. Fertil.**, v. 21, n. 1, p. 37-56, 1970.

THELLIN, O.; HEININ, E. Pregnancy and immune system: between tolerance and rejection. **Toxicology**, v. 185, n. 3, p. 179-184, 2003.

TOPCZEWSKA, J.M.; POSTOVIT, L.M.; MARGARYAN, N.V.; SAM, A.; HESS, A.R.; WHEATON, W.W.; NICKOLOFF, B.J.; TOPCZEWSKI, J.; HENDRIX, M.J. Embryonic and tumorigenic pathways converge via Nodal signaling: role in melanoma aggressiveness. **Nat. Med.** v. 12, n. 8, p. 925-932, 2006.

TSENG, J. J.; CHOU, M. M.; HSIEH, Y. T.; WEN, M. C.; HO, E. S.; HSU, S. L. Differential expression of vascular endothelial growth factor, placenta growth factor and their receptors in placentae from pregnancies complicated by placenta accreta. **Placenta**, v. 27, n. 1, p. 70–78, 2006.

USTA, I. M.; HOBEIKA, E. M.; MUSA, A. A. A.; GABRIEL, G. E.; NASSAR, A. H. Placenta previa-accreta: risk factors and complications. **Am. J. Obstet. Gynecol.** v. 193, n. 3, p. 1045–1049, 2005.

VAUSE, S.; SAROYA, D.K. Functions of the placenta. **Anaesthesia**, v. 6, p. 77-80, 2005.

WANG, B.; YAN, J.; PENG, Z.; WANG, J.; LIU, S.; XIE, X.; MA, X: Teratocarcinoma-derived growth factor 1 (TDGF1) sequence variants in patients with congenital heart defect. **Int. J. Cardiol.**, v. 146, n. 2, p. 225–227, 2011.

WATANABE, K.; BIANCO, C.; STRIZZI, L.; HAMADA, S.; MANCINO, M.; BAILLY, V.; MO, W.; WEN, D.; MIATKOWSKI, K.; GONZALES, M.; SANICOLA, M.; SENO, M.; SALOMON, D. S. Growth factor induction of cripto-1 shedding by GPI-phospholipase D and enhancement of endothelial cell migration. **J. Biol. Chem.**, v. 282, n. 43, p. 31643–31655, 2007a.

WATANABE, K.; HAMADA, S.; BIANCO, C.; MANCINO, M.; NAGAOKA, T.; GONZALES, M.; BAILLY, V.; STRIZZI, L.; SALOMON, D. S. Requirement of glycosylphosphatidylinositol anchor of cripto-1 for ‘trans’ activity as a nodal co-receptor. **J. Biol. Chem.**, v. 289, n. 49, p. 35772–35786, 2007b.

WATANABE, K.; NAGAOKA, T.; LEE, J. M.; BIANCO, C.; GONZALES, M.; CASTRO, N. P.; RANGEL, M. C.; SAKAMOTO, K.; SUN, Y.; CALLAHAN, R.; SALOMON, D. S. Enhancement of Notch receptor maturation and signaling sensitivity by Cripto-1. **J. Cell Biol.**, v. 187, n. 3, p. 343–353, 2009.

WATANABE, K.; SALOMON, D. S. Intercellular transfer regulation of the paracrine activity of GPI-anchored Cripto-1 as a Nodal co-receptor. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 403, n. 1, p. 108–113, 2010.

WECHSELBERGER, C.; EBERT, A. D.; BIANCO, C.; KHAN, N. I.; SUN, Y.; WALLACE, B.; MONTESANO, R.; SALOMON, D. S. Cripto-1 enhances migration and branching morphogenesis of mouse mammary epithelial cells. **Exp. Cell Res.**, v. 266, n. 1, p. 95–105, 2001.

WEI, B.; JIN, W.; RUAN, J.; XU, Z.; ZHOU, Y.; LIANG, J.; CHENG H.; JIN K.; HUANG X.; LU P.; HU, Q. Cripto-1 expression and its prognostic value in human bladder cancer patients. **Tumour Biol.**, p.1-9, 2014.

WELLS, M. The pathology of gestational trophoblastic disease: Recent advances. **Pathology**, v. 39, p. 88-96, 2007.

WHO World Health organization. Fact Sheet. 348. WHO; 2012. Maternal mortality. Disponível no site: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs348/en>. Acesso em 10 de janeiro de 2015.

XIE, W.; MERTENS, J. C., REISS, D. J.; RIMM, D. L.; CAMP, R. L.; HAFFY, B. G.; REISS, M. **Cancer Res.** v. 62, n. 2, p. 497-505, 2002.

WU, S.; KOCHERGINSKY, M.; HIBBARD, J. U. Abnormal placentation: twenty-year analysis. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 192, n. 5, p. 1458–1461, 2005.

XU, C. H.; SHENG, Z. H.; HU, H. D.; HAO, K. K.; WANG, Q. B.; YU, L. K. Elevated expression of Cripto-1 correlates with poor prognosis in non-small cell lung cancer. **Tumour Biol.** v. 35, n. 9, p. 8673-8678, 2014.

XU, C.; LIGUORI, G.; ADAMSON, E. D.; Persico, M. G. Specific arrest of cardiogenesis in cultured embryonic stem cells lacking Cripto-1. **Dev. Biol.** v. 196, n. 2, p. 237–247, 1998.

XU, C.; LIGUORI, G.; PERSICO, M. G.; ADAMSON, E. D. Abrogation of the Cripto gene in mouse leads to failure of postgastrulation morphogenesis and lack of differentiation of cardiomyocytes. **Development**, v. 126, n. 3, p. 483–494, 1999.

ZHONG, X. Y.; ZHANG, L. H.; JIA, S. Q.; SHI, T.; NIU, Z. J.; DU, H.; ZHANG GG.; HU Y.; LU AP.; LI JY.; JI, J. F. Positive association of up-regulated Cripto-1 and down-regulated E-cadherin with tumour progression and poor prognosis in gastric cancer. **Histopathology**, v. 52, n. 5, p. 560-568, 2008.