

VILNIAUS UNIVERSITETAS
MEDICINOS FAKULTETAS

Medicina

Akušerijos ir ginekologijos klinika

Ieva Lukošūtė, 6 k. 9 gr.

VIENTISŲJŲ STUDIJŲ MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

**Gimdos gleivinės natūralių kilių koncentracijos audinyje ryšys su
pakartotiniais persileidimais**

**Uterine Natural Killer Cells Concentration in Endometrium in Recurrent
Miscarriage**

Darbo vadovas

Doc. dr. Dalia Laužikienė

Vilnius, 2025

ieva.lukosiute@mf.stud.vu.lt

TURINYS

1. SANTRUMPOS	3
2. SANTRAUKA.....	4
3. ABSTRACT	5
4. ĮVADAS	6
5. TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI	8
6. KLINIKINIO ATVEJO APRAŠYMAS	8
7. APTARIMAS	18
7.1 Nevaisingumas	18
7.2 Gimdos gleivinės natūralieji kiteriai.....	20
7.3 Gimdos gleivinės natūraliųjų kiterių ląstelių funkcijos nėštumo metu	21
7.4 Imuninė tolerancija nėštumo metu	23
7.5 Gimdos gleivinės natūraliųjų kiterių ląstelių koncentracijos poveikis nėštumui	23
7.6 Gimdos gleivinės natūraliųjų kiterių ląstelių tyrimo metodai.....	24
7.7 Gimdos gleivinės natūraliųjų kiterių ląstelių koncentracija.....	26
7.8 Imunomoduliacinis gydymas	27
7.8.1 Žmogaus normalusis imunoglobulinas.....	27
7.8.2 Lipidų infuzinė emulsija.....	28
7.8.3 Gliukokortikosteroidai.....	29
7.8.4 Granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius.....	30
7.8.5 PRP terapija	30
7.9 Literatūros analizė	31
8. IŠVADOS	34
9. PASIŪLYMAI	35
10. LITERATŪROS ŠALTINIŲ SĄRAŠAS	35

1. SANTRUMPOS

IVF – apvaisinimas mėgintuvėlyje (angl. IVF – *in vitro fertilization*)

FET – atšildytų embrionų perkėlimo procedūra (angl. FET – *frozen embryo transfer*)

hCG – žmogaus chorioninis gonadotropinas (angl. hCG – *human chorionic gonadotropin*)

CD56brightCD16- – gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių fenotipas

CD56dim/CD16+ – periferinių kraujo natūraliųjų kiliųjų ląstelių fenotipas

AMH – antimiulerinis hormonas

E2 – estradiolis

FSH – folikulus stimuliuojantis hormonas

LH – liuteinizuojantis hormonas

DHEA-SO4 – dehidroepiandrosterono sulfatas

FT4 – laisvas tiroksinas

TTH – tiotropinas

IL8 – interleukinas 8

IL10 – interleukinas 10

IL15 – interleukinas 15

IP10 – interferono gama indukuotas baltymas

KIR – KIR receptoriai (angl. KIR – *killer-cell immunoglobulin-like receptors*)

MTHFR – MTHFR geno mutacija (angl. MTHFR – *methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation*)

VEGF – kraujagyslių endotelio augimo faktorius (angl. VEGF – *vascular endothelial growth factor*)

PIGF – placentos augimo faktorius (angl. PIGF – *placental growth factor*)

TNF- α – navikų nekrozės faktorius alfa (angl. TNF- α – *tumor necrosis factor alpha*)

IFN- γ – interferonas gama

HLA – žmogaus leukocitų antigenai (angl. HLA – *human leukocyte antigen*)

MMP-2, MMP-9 – metaloproteinazės (angl. MMP-2, MMP-9 – *matrix metalloproteinases*)

G-CSF – granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius (angl. G-CSF – *granulocyte colony-stimulating factor*)

2. SANTRAUKA

Pakartotiniai persileidimai yra didėjančios svarbos vaisingumo problema, paliečianti vis daugiau reprodukcinio amžiaus porų. Pastaraisiais metais mokslininkai vis daugiau dėmesio skiria gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių vaidmeniui nėštumo metu, ypač kai yra susiduriama su neaiškos kilmės nevaisingumu. Gimdoje esančios natūraliųjų kilių ląstelės padeda įsiskverbti trofoblastui, persitvarkyti kraujagyslėms ir reguliuoti imuniniam atsakui. Visa tai turi veikti tiksliai tam, kad embrionas sėkmingai įsitvirtintų ir placenta tinkamai vystytųsi.

Tyrimai rodo, kad gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių disbalansas gali būti susijęs su pakartotiniais persileidimais. Perteklinė natūraliųjų kilių koncentracija ar sustiprėjęs jų citotoksinis aktyvumas gimdos gleivinėje gali sukelti uždegiminius procesus, tuo tarpu nepakankama šių ląstelių koncentracija – kraujotakos sutrikimus. Abi priežastys gali sutrikdyti nėštumo vystymąsi.

Tikslas – įvertinti gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos ryšį su pakartotiniais persileidimais ir aprašyti klinikinį atvejį.

Uždaviniai – įvertinti gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos ryšį su pakartotiniais persileidimais. Įvertinti koncentracijos pokyčių klinikinę svarbą remiantis literatūros apžvalga ir klinikiniu atveju, taip pat aptarti diagnostikos ir gydymo galimybes.

Apžvelgta mokslinė literatūra, kurioje analizuojami atvejo-kontrolės tyrimai, ir pristatytas klinikinis atvejis, kuriame vertinta gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių

koncentracija ir taikytas gydymas moteriai, patyrusiai pakartotinius persileidimus. Nagrinėjamos gydymo strategijos vartojant gliukokortikosteroidus, lipidų intravenines infuzijas, injekcinį žmogaus natūralųjį imunoglobuliną bei granulocitų kolonijas stimuliuojantį faktorių.

Išvada: kaip rodo literatūros apžvalga, nors per didelė arba per maža gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija dažnai siejama su nesėkmingomis nėštumo baigtimis, jų vaidmuo yra sudėtingas ir priklauso ne tik nuo skaičiaus, bet ir nuo citotoksinių bei receptorių aktyvumo. Siekiant efektyviau spręsti aptariamą vaisingumo problemą, ateityje tyrinėtojai turėtų ne vien skaičiuoti, kiek natūraliųjų kilių ląstelių veikia gimdos gleivinėje, bet ir analizuoti jų citotoksinių aktyvumą. Taip pavyktų tiksliau identifikuoti moteris, kurioms imunomoduliacinis gydymas galėtų būti veiksmingas.

Raktažodžiai: pakartotiniai persileidimai, gimdos gleivinės natūralieji kiliai, imunomoduliacinis gydymas, gimdos gleivinės natūraliųjų kilių citotoksinių aktyvumas.

3. ABSTRACT

Recurrent miscarriages are an increasingly significant fertility issue, affecting a growing number of couples of reproductive age. In recent years, scientists have focused more attention on the role of endometrial natural killer cells during pregnancy, particularly in cases of unexplained infertility. Natural killer cells in the uterus assist in trophoblast invasion, vascular remodeling, and immune response regulation. These processes must function precisely to ensure successful embryo implantation and proper placental development.

Studies show that an imbalance of endometrial natural killer cells may be associated with recurrent miscarriages. An excessive concentration or heightened cytotoxic activity of these cells in the endometrium can lead to inflammatory processes, while an insufficient number of natural killer cells can cause circulatory disorders. Both factors can disrupt pregnancy progression.

Aim: To evaluate the relationship between endometrial natural killer cell concentration and recurrent miscarriage, and to present a clinical case.

Objectives: To assess the association between endometrial natural killer cell concentration and recurrent miscarriage; to evaluate the clinical relevance of natural killer cell concentration changes based on a literature review and clinical case; and to discuss potential diagnostic and treatment approaches.

The reviewed scientific literature includes case-control studies, and a clinical case is presented in which endometrial natural killer cell concentration was evaluated and treatment applied to a woman who experienced recurrent miscarriages. The explored treatment strategies include the use of glucocorticosteroids, intravenous lipid infusions, injectable human immunoglobulin, and granulocyte colony-stimulating factor.

Conclusion: As shown by the literature review, although both excessive and insufficient endometrial natural killer cell concentrations are often linked to unsuccessful pregnancy outcomes, their role is complex and depends not only on their number but also on their cytotoxic and receptor activity. To address this fertility issue more effectively, future research should go beyond counting the number of natural killer cells in the endometrium and analyze their cytotoxic activity. This approach would allow for more accurate identification of women who may benefit from immunomodulatory treatment.

Keywords: recurrent miscarriages, endometrial natural killer cells, immunomodulatory treatment, cytotoxic activity of endometrial natural killer cells.

4. ĮVADAS

Pakartotiniai persileidimai ir implantacijos nesėkmės yra sudėtingos vaisingumo problemos, kurios paveikia iki 2 proc. vaisingo amžiaus porų ir gali sukelti tiek fizinių, tiek emocinių sunkumų (1). Nors priežastys gali būti įvairios – nuo chromosominių pažaidų iki imunologinių sutrikimų – bandant išsiaiškinti sutrikimus, kurie neturi nustatytos priežasties, ypač daug dėmesio skiriama gimdos gleivinėje veikiančioms natūraliųjų kilerių ląstelėms (2). Nėštumo pradžioje endometriume dominuoja gimdos gleivinės natūraliųjų kilerių ląstelės, kurios reguliuoja trofoblasto įsiskverbimą bei kraujagyslių remodeliaciją, taip prisidedamos prie vaisiaus imuninės apsaugos (3). Naujausi tyrimai rodo, kad per didelė arba per maža gimdos gleivinės natūraliųjų kilerių ląstelių koncentracija arba per didelis citotoksinis aktyvumas gali skatinti uždegimines reakcijas, sutrikdyti placentos vystymąsi ir padidinti persileidimo riziką (4).

Temos aktualumas: pakartotiniai persileidimai ir implantacijos nesėkmės šiomis dienomis tampa aktualia problema pagalbinio apvaisinimo (IVF) srityje. Nepaisant sėkmingo euploidiškų embrionų perkėlimo, dalis pacientų vis tiek susiduria su pasikartojančiomis nesėkmėmis, kurios gali būti vadinamos „neaiškos kilmės nevaisingumu“ (2). Pakartotinės pagalbinio apvaisinimo procedūros, papildomi ar kartojami diagnostiniai tyrimai didina finansinę

naštą tiek pacientams, tiek sveikatos priežiūros sistemai. Pasikartojančios vaisingumo nesėkmės neigiamai veikia pacientų gyvenimo kokybę, pacientai dažnai susiduria su depresija, nerimu ir socialine izoliacija (5). Neaiškios kilmės nevaisingumas dažnai siejamas su imunologinėmis problemomis. Padidėjusi gimdos gleivinės natūralių kilių ląstelių koncentracija endometriume vis dažniau įvardijama kaip potencialus vaisingumo problemų biomarkeris (6).

Diagnostikos metodų vystymasis ir prieinamumas dar labiau sustiprina šios temos aktualumą. Gimdos gleivinės natūralių kilių ląstelių koncentraciją ir aktyvumą tiksliai leidžia įvertinti šiuolaikiniai tyrimai – tkmės citometrija ir imunohistochemija (6), (7). Mokslinėje literatūroje daugėja straipsnių, kurie nurodo, kad per didelė gimdos gleivinės natūralių kilių ląstelių koncentracija gali lemti pernelyg intensyvų imuninį atsaką, kuris trukdo embrionui tinkamai implantuotis. Kita vertus, kai kuriais atvejais, net ir esant normaliai ląstelių koncentracijai, per didelis gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių citotoksinis aktyvumas gali sukelti nepageidaujamas nėštumo baigtis. Tai rodo, kad svarbu ne tik kiekybiškai, bet ir kokybiškai įvertinti pacienčių gimdos gleivinės natūraliųjų kilių būseną. Taigi gerėjantis molekulinis mechanizmas supratimas atveria naujas galimybes taikyti individualizuotą gydymą.

Tikslas

Apžvelgti naujausią mokslinę literatūrą apie gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos sąsają pakartotiniuose persileidimuose ir aprašyti pacientės su sumažėjusia gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija klinikinį atvejį.

Uždaviniai

1. Atlikti literatūros apžvalgą ir įvertinti, ką naujausi moksliniai tyrimai atskleidžia apie gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos ryšį su pakartotiniais persileidimais.
2. Įvertinti gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos pokyčių klinikinę svarbą, apžvelgiant, kokie imunologiniai mechanizmai gali lemti didesnį persileidimų dažnį.
3. Įvertinti konkretaus klinikinio atvejo duomenis, pateikiant pacientės anamnezę, persileidimų istoriją ir gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos vertinimo rezultatus.
4. Aptarti diagnostikos ir gydymo rekomendacijas, kurios galėtų būti naudingos moterims su gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos disbalansu.

5. TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI

Literatūros paieška atlikta peržiūrint mokslinių darbų publikacijas PubMed, Elsevier, Sciencedirect, Google Scholar duomenų bazėse. Naudoti žodžiai - „uterine natural killer“, „cd56 nk“, „cd56 bright“, „immunologic causes“ deriniai su „pregnancy“, „recurrent miscarriage“, „recurrent pregnancy loss“. Ieškota per pastaruosius dešimt metų publikuotų pilno teksto mokslinių straipsnių anglų kalba. Išplėstinei literatūros apžvalgai atrinkti atvejo ir kontrolės straipsniai, kuriuose tiriamas ryšys tarp gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos ir persileidimų. Pagal pavadinimus atrinktos 546 publikacijos, pagal santraukas atrinktos 128 publikacijos, 50 iš jų naudotos literatūrai apžvelgti ir 9 – atvejo bei kontrolės tyrimams aptarti. Gavus pacientės rašytinį sutikimą, aprašytas ir išnagrinėtas pasikartojančių persileidimų klinikinis atvejis. Literatūros sąrašas sudarytas naudojant Vankuverio citavimo stilių ir Zotero programą.

6. KLINIKINIO ATVEJO APRAŠYMAS

Pristatomas 34 metų amžiaus moters vaisingumo problemos atvejis. Pacientė, kurios KMI –17.6, ūgis – 174 cm, svoris – 53 kg, devynerius metus gyvena su vyru santuokoje, tiek pat metų pora bandė susilaukti vaikų. Prieš penkerius metus, nepavykus pastoti natūraliai, pora kreipėsi į Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų vaisingumo specialistus. Pirmosios konsultacijos metu pacientė neturėjo jokių simptomų ar nusiskundimų, o jos menstruacijų ciklas buvo gana reguliarus. Ginekologinė anamnezė parodė, kad pacientės lytinė branda vėlesnė, menarchė – 16 metų, mėnesinių ciklas ilgas – 28–29 dienos, kraujuojama penkias dienas. Mėnesinės reguliarios, lėtines ligas neigia.

Siekiant atmesti nevaisingumo problemas dėl mozaikinio kariotipo, 2023 03 07 pacientei ir jos vyrui buvo atlikti kariotipų tyrimai. Gauti rezultatai: 46 XX ir 46XY – chromosome skaičiaus ir struktūros pakitimų neaptikta.

Vyro spermograma – normospermija. AMH - 4,872 – aukštesnis kiaušidžių rezervas. Pacientė prižiūrima endokrinologo dėl hiperprolaktinemijos, nustatyta prolaktinoma. Pacientė reguliariai vartojo folio rūgštį. Šeiminėje anamnezėje nurodoma, kad pacientės tėčio brolis turi raidos sutrikimą, tačiau kariotipo tyrimas atmeta genetinių sutrikimų, kaip galimos nepastojimo priežasties, tikimybę.

Prieš pradėdant pagalbinio apvaisinimo procedūrą 2021 07 15 – 2021 10 28, pacientei buvo atlikti biocheminiai kraujo tyrimai, kurių metu įvertintas hormonų kiekis kraujyje ir skydliaukės funkcija. Atliktas bendras kraujo tyrimas, estradiolio (E2) tyrimas, folikulus stimuliuojančio hormono (FSH) tyrimas, dehidroepiandrosterono sulfato (DHEA-SO4) tyrimas, liuteinizuojančio hormono (LH) tyrimas, laisvo tiroksino (FT4) tyrimas, prolaktino (PRL) tyrimas, testosterono tyrimas, tiotropino (TTH, TSH) tyrimas. (1 lentelė) Taip pat atliktas lytiškai plintančių ligų paletės tyrimas. (2 lentelė) Pacientės partneriui taip pat buvo atlikti tyrimai: spermograma, nustatytas kariotipas. Beveik visi tyrimai atitiko normos ribas, bet pacientei buvo nustatytas aukštas, normą viršijantis prolaktino kiekis – 1137,96 mU/L. 2021 11 17 pacientei paskirtas vartoti bromkriptinas, 2,5 mg 30 dienų. 2022 01 08, pasibaigus gydymui, pakartotas prolaktino tyrimo rezultatas buvo normos ribose – 125 mU/L.

1 lentelė. Biocheminiai kraujo tyrimai.

Tyrimas	Matavimo vienetas	Normų ribos	Rezultatas	Pastabos
DHEA-SO ₄ (dehidroepiandrosterono sulfatas)	μmol/L	1,65–9,15	6,23	
Folikulus stimuliuojantis hormonas (FSH)	U/L	folikul.f: 3,5–12,5; ovuliac.f: 4,7–21,5; liutein.f: 1,7–7,7; menopauzėje: 25,8–134,8	6,59	
Laisvas tiroksinas (FT ₄)	pmol/L	9,01–19,05	12,67	
Liuteinizuojantis hormonas (LH)	U/L	folikul.f: 2,4–12,6; ovuliac.f: 14,0–95,6; liutein.f: 1,0–11,4; menopauzėje: 7,7–58,5	4,6	
Prolaktinas (PRL)	mU/L	102,0–496,0	1137,96	+
Skydliaukės mikrosominiai antikūnai (ATPO)	klU/L	0,00–5,61	<1	
Testosteronas	nmol/L	0,29–1,67	0,58	
Tirotripinas (TTH, TSH)	mIU/L	0,350–4,940	1,48	
Estradiolis	pmol/l	folikul.f. 114-332 ovul. f. 222-1959 liutein.f. 222-854	140	

2 lentelė. Lytiškai plintančių ligų tyrimas.

Tyrimas	Matavimo metodas	Tyrimo rezultatas
Chlamydia trachomatis	PGR	NERASTA
Neisseria gonorrhoeae	PGR	NERASTA
Mycoplasma hominis	PGR	NERASTA
Mycoplasma genitalium	PGR	NERASTA
Ureaplasma urealyticum	PGR	NERASTA
Ureaplasma parvum	PGR	NERASTA
Trichomonas vaginalis	PGR	NERASTA

2022 04 17, prasidėjus pacientės menstruacijų ciklui, atsižvelgus į jos hormonų tyrimų atsakymus ir ultragarsinio tyrimo rezultatus, nuspręsta taikyti trumpąjį kiaušidžių stimuliavimo protokolą. Kadangi ciklas prasidėjo 04 17 – ši diena laikoma pirmąja ciklo diena. Stimuliacija pradėta 04 19, naudojant FSH Gonal-F preparatą. 04 25, septintą stimuliacijos dieną, siekiant išvengti priešlaikinės ovuliacijos, į procedūros protokolą įtraukti GnRH antagonistai. Folikulų augimas stebėtas ultragarsu bei hormonų tyrimais. 04 30, folikulams pasiekus reikiamą dydį –18–22 mm, pacientei paskirta hCG injekcija Ovitrelle kiaušialąsčių brendimui užbaigti. 05 02 atliktas kiaušialąsčių išpunktavimas. Procedūra vyko vaizdinių tyrimų kontrolės metu, naudojant sedaciją. Išpunktuota 19 kiaušialąsčių, visos buvo brandžios. Išpunktuotos kiaušialąstės buvo apvaisintos partnerio sperma, naudojant IVF metodą, embrionai inkubuoti 6 dienas. Buvo apvaisinta 18 embrionų, iš kurių buvo išaugintos blastocistos. Įsodinimui buvo tinkami 10 embrionų. 05 07 į gimdą patalpintas vienas 5Aa embrionas. Likę 9 embrionai užšaldyti trijuose šiaudeliuose. Embrionų perkėlimas vyko taikant trumpąjį kiaušidžių stimuliavimo protokolą natūraliame modifikuotame cikle su Ovitrelle. Du mėnesius prieš perkelti blastocistas, 2022 02 17, dvidešimt antrą ciklo dieną, pacientei pabraižyta gimdos gleivinė.

Nuo įkėlimo dienos naudotas medikamentinis gydymas: aspirinas, 100 mg 1 k. d., prednizolonas, 5 mg 1 k. d. (pacientei pageidaujant), progesterono ovulės, 200 mg 2 k. d., bemiparino natrio druska, 2500 TV/1 k. d. Visi vaistai naudoti kasdien iki hCG tyrimo.

Pacientė atvyko 05 16, dešimtą dieną po embriono perkėlimo procedūros, atliktas kraujo hCG tyrimas. Atsakymas – hCG – 17,4 U/I. Dvyliktą dieną po embriono perkėlimo hCG

kiekis sumažėjo iki 8,12 U/I. IVF procedūros eigoje, 04 29, pacientei atlikti kraujo krešumo tyrimai. Pakitimų nuo normos verčių nenustatyta. (3 lentelė)

3 lentelė. Kraujo krešumo tyrimai

Tyrimas	Matavimo vienetas	Normų ribos	Rezultatas
ADTL (silicio)	s	suaugusių 28-40	32,2
Fibrinogenas (Klauso)	g/L	1,8 – 3,5 g/L	2,78
INR (Owren)		suaugusių 0,90-1,19 (terapinis intervalas: mažo intensyvumo 2,0-3,0; vidutinio intensyvumo 2,5-3,5; didelio intensyvumo 3,5-4,5)	0,95
SPA	%	suaugusių 70-130 (terapinis intervalas 15-26)	113

Praėjus keturiems mėnesiams po pirmos nesėkmingo pagalbinio apvaisinimo procedūros, nuspręsta, kad galima atlikti atšildytų embrionų perkėlimo (FET) procedūrą. 09 09 atšildytos ir patalpintos dvi 3Bb ir 4Aa kokybės blastocistos. Prieš FET procedūrą, 08 12, pabraižyta gimdos gleivinė. Dvidešimtą ciklo dieną gimdos gleivinės storis buvo tinkamas – 11,2 mm. Embrionų perkėlimas atliktas, taikant trumpąjį kiaušidžių stimuliavimo protokolą natūraliame modifikuotame cikle su Ovitrelle. Pacientei paskirti vartoti vaistai: aspirinas, 100 mg 1 k. d., bemiparino natrio druska, 2500 TV/1 k. d., prednizolonas, 5 mg 1 k. d., 10 07 padidinta prednizolono dozė iki 2 tab. per dieną. 09 19 hCG - 73,8 U/I. 10 07 vaizdiniais tyrimais matomas nėštumas 6+6 savaitės. Po savaitės, 10 14, pakartojus ultragarso procedūrą, nustatytas nesivystantis nėštumas.

Po dviejų nesėkmingų embrionų perkėlimų, siekiant atmesti nevaisingumo problemas dėl mozaikinio kariotipo, atliktas kariotipo nustatymas. Gauti rezultatai: 46 XX ir 46XY – chromosome skaičiaus ir struktūros pakitimų nenustatyta.

Trečioji embrionų perkėlimo procedūra, antroji FET atlikta praėjus keturiems mėnesiams po persileidimo. 2023 02 24 atšilo dvi blastocistos – 4Bb ir 1Cc kokybės. Embrionai perkelti, taikant trumpąjį kiaušidžių stimuliavimo protokolą natūraliame modifikuotame cikle su Ovitrelle. Dvidešimtą ciklo dieną gimdos gleivinės storis – 10,3 mm. Pacientė vartojo: aspiriną, 100 mg 1 k. d., bemiparino natrio druską, 2500 TV/1 k. d., prednizoloną, 5 mg 2 k. d., progesterono ovules, po 200 mg 3 k. d. Aštuntą dieną po įkėlimo paskirtas injekcinis progesteronas, 25 ml, 1 amp. 2 k. d. 03 06, vienuoliką dieną po įkėlimo, hCG – 29,6 U/I. Pakartojus po dviejų dienų, hCG buvo sumažėjęs – 21,9 U/I.

Po trečio nepavykusio embrionų perkėlimo pacientė buvo nukreipta atlikti imunologinius tyrimus - tam, kad būtų atmestos imunologinės priežastys. 08 18 pacientė Latvijoje, IVF RIGA vaisingumo klinikoje, atliko šiuos tyrimus: antinuklearinių antikūnų tyrimą, antikūnų prieš branduolio antigenus tyrimą (4 lentelė), gimdos tipo KIR receptorių nustatymo tyrimą (5 lentelė). Siekiant atmesti nevaisingumą dėl mikro trombų susidarymo, atliktas MTHFR tyrimas (6 lentelė). Taip pat atlikta biopsija apskaičiuoti gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentraciją (7 lentelė).

4 lentelė. Antinuklearinių antikūnų (ANA, ENA) tyrimai

Autoantikūnų tyrimas	Atsakymas	Norma
Antikūnai prieš branduolio antigenus (ANA)	Neigiamas (titras 1:40)	< arba = 1:40
ENA: - nRNP/Sm	Neigiamas	Neigiamas
- Sm	Neigiamas	Neigiamas
- SS-A	Neigiamas	Neigiamas
- Ro-52	Neigiamas	Neigiamas
- SS-B	Neigiamas	Neigiamas
- Scl-70	Neigiamas	Neigiamas
- PM-Scl	Neigiamas	Neigiamas
- Jo-1	Neigiamas	Neigiamas
- CENP-B	Neigiamas	Neigiamas
- PCNA	Neigiamas	Neigiamas
- dsDNR	Neigiamas	Neigiamas
- nukleosomas	Neigiamas	Neigiamas
- histonai	Neigiamas	Neigiamas
- rib. P-Baltymas	Neigiamas	Neigiamas
- AMA-M2	Neigiamas	Neigiamas
-DFS70	Neigiamas	Neigiamas

5 lentelė. KIR gimdos genotipo tyrimas

Receptorius	Rezultatas	Norma
2DL1	positive	positive
2DL2	negative	positive
2DL3	positive	positive
2DL4	positive	positive
2DL5	negative	positive
2DS1	negative	positive
2DS2	negative	positive
2DS3	negative	positive
2DS4del	positive	positive
2DS5	negative	positive
3DL1	positive	positive
3DL2	positive	positive
3DL3	positive	positive
3DS1	negative	positive
2DP1	positive	positive
3DP1	positive	positive

6 lentelė. MTHFR tyrimas

Genas	Žymuo	Variantas	Genotipas	Rezultatas
F5	R534Q	1601G>A	Variant c. 1601G>A,p. R534Q	neaptiktas
F5	H1327R	3980A>G	Variant c. 3980A>G,p. H1327R	neaptiktas
F5	Y1730C	5189A>G	Variant c. 5189A>G,p. Y1730C	neaptiktas
F2	*	97>A	Variant c. *97>A	neaptiktas
MTHFR	A222V	665C>T	Variant c. 665C>T,p. A222V	heterozigotinė mutacija
MTHFR	E429A	1286A>C	Variant c. 1286A>C,p. E429A	neaptiktas

Antinuklearinių antikūnų tyrimų atsakymai neigiami, taigi pacientei autoimuninių ligų rizika bei imunologinės persileidimų priežastys dėl autoimuninių ligų gali būti atmetamos. KIR (Killer-cell immunoglobuline-like receptors) gimdos genotipo rezultatai: genotipas KIRAA. Šis genotipas didina preeklampsijos ir nevaisingumo riziką. Atlikus MTHFR tyrimą, nustatyta MTHFR 665C > T heterozigotinė mutacija, tačiau toks rezultatas nepatvirtina padidėjusios trombofilijos rizikos.

Endometriumo biopsija atlikta septintą dieną po ovuliacijos, kai gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija yra didžiausia viso ciklo metu. Endometriumo biopsijos audinys tirtas imunohistochemijos būdu, atliktas gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos skaičiavimas bei endometriumo mikrobiologinis tyrimas. Tyrimo atsakymai parodė per mažą gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentraciją. Bakterijų nenustatyta.

7 lentelė. Gimdos gleivinės natūraliųjų kelių ląstelių koncentracija

Žymuo	Koncentracija	Norma
CD56bright/CD16-	30 mm ²	40–300 ²

2024 05 06 atlikta ketvirta embrionų perkėlimo procedūra Vilniaus universiteto ligoninėje Santaros klinikose. Embrionų perkėlimą nutarta atlikti stimuliuotame cikle, naudojant Ovitrelę ir Estrofem 2 mg. Penktą ciklo dieną Rygoje buvo atlikta gimdos PRP procedūra. 05 05 atšilo 2 embrionai, 4Bc ir 1B1 kokybės, jie abu perkelti į gimdą. Paskirtas gydymas: aspirinas, 100 mg 1 k. d., progesterono ovulės, 200 mg, 2 k. d., injekcinis progesteronas, 25 ml 1 k. d. IVF Riga vaisingumo gydytoja, atlikusi imunologinius tyrimus, papildomai paskyrė vartoti granulocitų kolonijas stimuliuojantį faktorių – filgrastimą, vaistiniu pavadinimu Zarzio. Injekcinis tirpalas naudotas 3 kartus, leidžiantis kas antrą dieną po 15 MV/0,25 ml nuo stimuliacijos pradžios. 05 15, dešimtą dieną po įkėlimo, hCG – > 1.

Nepavykus keturioms embrionų perkėlimų procedūroms, buvo nuspręsta pabandyti natūralaus pastojimo galimybę, naudojant žmogaus normaliojo imunoglobulino injekcijas – Cutaqig 165 mg/ml. Pacientės pirma ciklo diena – 2025 02 02. Žmogaus normalusis imunoglobulinas pradėtas leisti numatomą ovuliacijos dieną, 02 12. 2 ml injekcija į pilvo paodį buvo leidžiama kas antrą dieną. 03 08 atliktas hCG tyrimas, kurio atsakymas buvo 3098,88 IU/l. Tą pačią dieną atlikus ultragarsinį tyrimą, nėštumas buvo matomas, embrionas prisitvirtinęs žemai, prie gimdos kaklelio. Gydytojo rekomendacija buvo vartoti folio rūgštį, omega 3 maisto papildus ir 100 g. aspirino vieną kartą per dieną.

Atvykus pacientei 03 19 dieną, gydytojo ginekologo echoskopijos tyrimu patvirtintas nėštumas 6 sav. +2 d. Vizito metu nutarta, kad pacienetės gydymą reikia papildyti mažos molekulinės masės heparinu – Zibor (bemiparino natrio druska), 2500 TV, leidžiantis vieną kartą per dieną. 04 01 pacientei prasidėjo nežymus kraujavimas, tačiau kitą dieną ginekologas patvirtino, kad nėštumas vystosi normaliai, kraujavimo priežastis nebuvo nustatyta. 04 02 nėštumas matomas 8+2 savaitės.

Vilniaus universiteto ligoninėje Santaros klinikose 04 22 atliktas vaisiaus ultragarsinis tyrimas. Nėštumo trukmė 11 sav. + 1d., jokių vaisiaus pakitimų nuo normos nenustatyta.

7. APTARIMAS

7.1 Nevaisingumas

Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) teigimu, nevaisingumas yra apibrėžiamas kaip negalėjimas pastoti per dvylika mėnesių ar daugiau, kai reguliarių lytinių santykių metu nenaudojamos kontraceptinės priemonės. Kas šešta pora pasaulyje susiduria su nevaisingumo problemomis, tai sudaro apie 15–18 proc. porų. 85 proc. porų nevaisingumo priežastys yra identifikuojamos. Dažniausios iš jų – kiaušidžių disfunkcija, vyrų nevaisingumas ir kiaušintakių ligos. Likusių 15 proc. porų nevaisingumas yra idiopatinis ir vadinamas neaiškios kilmės nevaisingumu (8). Nevaisingumą dažniausiai nulemiantys veiksniai yra genetiniai, anatomiciniai, endokrininiai, imunologiniai bei infekciniai susirgimai. Genetiniai veiksniai, ypač chromosomų pakitimai, yra dažniausiai pasitaikanti persileidimų priežastis. Chromosomų pakitimai gali būti tiek paveldimi iš tėvų, tiek gali atsirasti spontaniškai embriono vystymosi metu. Tyrimai rodo, kad apie 2–5 proc. porų, susiduriančių su pakartotiniais persileidimais, turi subalansuotus chromosomų persitvarkymus, o tam tikros genų mutacijos, ypač susijusios su krešėjimo procesu, padidina trombozių riziką ir gali lemti nepageidaujamas nėštumo baigtis. Anatomicinės priežastys apima gimdos struktūros anomalijas, tokias kaip gimda su pertvara, dviragė gimda ar sąaugos ar miomos, kurios trukdo normaliai nėštumo eigai ir gali lemti nesėkmingą implantaciją. Endokrininės problemos, tokios kaip nepakankama progesterono gamyba, trukdo embriono implantacijai ir vystymuisi, o hipotirozė, ypač diagnozavus antikūnus prieš skydliaukės peroksidazę (aTPO), yra susijusi su padidėjusia persileidimų rizika. Imunologiniai veiksniai, įskaitant antifosfolipidinį sindromą, kuris sukelia trombozes, dažniausiai baigiasi pasikartojančiais persileidimais. Kai kurie autoimuniniai sutrikimai taip pat gali turėti įtakos nėštumo eigai, tačiau jų tikslūs mechanizmai dar nėra išaiškinti. Lytiškai plintančios ligos bei aplinkos poveikis, pavyzdžiui, rūkymas, alkoholio vartojimas, cheminių medžiagų poveikis, taip pat gali prisidėti prie nesėkmingų nėštumo baigčių (9).

PSO tyrimai rodo, kad apie 37 proc. nevaisingų porų išsivysčiusiose šalyse susiduria su moterų nevaisingumu. Pagrindinės priežastys yra ovuliacijos sutrikimai – oligoovuliacija ar anovuliacija. Ovuliacijos sutrikimai dažniausiai yra susiję su policistinių kiaušidžių sindromu (PKS), hipotaliaminėmis bei hipofizinėmis būklėmis ir natūraliu kiaušidžių senėjimu, kuris lemia kiaušialąsčių kiekio ir kokybės sumažėjimą, taip pat padidina mejozės sutrikimų riziką. Svarbų vaidmenį atlieka ir kiaušintakių ligos bei dubens sąaugos, atsirandančios dėl dubens uždegiminės ligos, kurią sukelia kai kurios lytiškai plintančios ligos. Endometriozė, kai endometriumo audinys išveša už gimdos ribų, sukelia dubens skausmą bei nevaisingumą. Endometriozė trukdo

kiaušialąstės ir spermos pratekėjimui, sukelia dubens sąaugas ir gali pažeisti kiaušides. Gimdos miomos, ypač submukozinės ar intramuralinės, dažnai trukdo embrionui implantuotis. Genetiniai sutrikimai, tokie kaip Turnerio sindromas, Klainfelterio sindromas ir kitos genų mutacijos, dar labiau didina nevaisingumo riziką (10).

Be anksčiau minėtų priežasčių, svarbus vaidmuo tenka motinos imuninės sistemos prisitaikymui nėštumo metu. Kad užtikrintų vaisiaus vystymąsi, nėštumo metu moters imuninė sistema patiria reikšmingus pokyčius, nes vaisiaus ir placentos audiniai, turintys tiek motinos, tiek tėvo genetinę informaciją, yra laikomi pusiau svetimu motinos organizmui. Viena iš dažniausiai aptariamų imunologinių persileidimo priežasčių yra natūraliųjų kiliųjų ląstelių disbalansas moters organizme. Nėštumo metu gimdos gleivinėje kaupiasi specifinė natūraliųjų kiliųjų ląstelių populiacija – gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės. Šios ląstelės dalyvauja placentos vystymėsi, skatina kraujagyslių formavimąsi ir padeda embrionui įsitvirtinti gimdoje. Tačiau, jei šių ląstelių yra per daug arba jos tampa per daug aktyvios, gali būti pažeidžiamos trofoblastų ląstelės, taip sukeliami imuninė atmetimo reakcija. Tai gali apsunkinti implantacijos procesą arba lemti ankstyvą persileidimą. Tačiau pastebima ir priešinga situacija – per maža gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija arba jų funkcijos sutrikimas taip pat yra siejama su persileidimais dėl kraujotakos nepakankamumo. Dar viena reikšminga persileidimų priežastis yra sutrikęs imuninių T ląstelių balansas tarp Th17 ir Treg ląstelių tipų. Th17 ląstelės yra prouždegiminės, jų perteklius gali paskatinti autoimuninius procesus ar pažeisti vaisiaus audinius. O Treg ląstelės veikia priešuždegimiškai – jos padeda organizmui toleruoti vaisiaus antigenus. Normalaus nėštumo metu dominuoja būtent Treg ląstelės, slopindamos per stiprų imuninį atsaką. Tačiau kai šis balansas sutrinka ir padaugėja Th17 ląstelių kiekis arba sumažėja Treg ląstelių, galimos implantacijos nesėkmės ar persileidimai.

Ne mažiau svarbi persileidimo priežastis yra sumažėjusi HLA-G ir HLA-E molekulių raiška trofoblasto ląstelėse. Šios molekulės atlieka esminį vaidmenį slopinant motinos imuninį atsaką nėštumo metu. Jos sąveikauja su gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelėmis ir KIR receptoriais. Sumažėjus šių molekulių raiškai, motinos imuninės ląstelės gali neatpažinti trofoblastų ląstelių ir aktyvuotis vaisiaus atmetimo reakcija. Tai ypač aktualu moterims, kurioms pasireiškia pasikartojantys persileidimai ir nenustatomos jokios genetinės ar anatomicinės priežastys (11).

Literatūroje implantacijos nesėkmės apibūdinamos kaip nesėkmingas nėštumas po mažiausiai keturių geros kokybės embrionų perkėlimo per tris ar daugiau perkėlimus, taikant šviežius ar šaldytus ciklus, 40 metų amžiaus ir jaunesnėms pacientėms. Imuninės ląstelės, ypač

gimdos gleivinės natūralieji kiliai, reikšmingai dalyvauja implantacijos procese. Implantacijos nesėkmių atveju dažnai identifikuojama padidėjusi gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių citotoksinė funkcija ir sumažėjusi angiogeninių faktorių VEGF ir PLGF gamyba. Tai lemia gimdos gleivinės kraujotakos nepakankamumą, taigi ir netinkamą kraujagyslių formavimąsi bei apsunkintą implantaciją (2).

Pakartotiniai persileidimai apibrėžiami kaip du ar trys spontaniai persileidimai iki 24-os nėštumo savaitės (12). Pakartotinių persileidimų atveju dažnai aptinkami imuninių ląstelių pokyčiai – sumažėjusi CD56brightCD16- koncentracija ir padidėjusi citotoksinių CD56dim/CD16+ ląstelių koncentracija (3). CD56dim/CD16+ ląstelės pasižymi padidėjusia NKp46, NKp44 ir NKp30 receptorių raiška, kas lemia padidėjusį citotoksiškumą ir gali lemti neigiamą nėštumo baigtį (12).

7.2 Gimdos gleivinės natūralieji kiliai

Gimdos gleivinės natūralieji kiliai yra imuninės ląstelės, randamos endometriume. Šios ląstelės sudaro didžiausią leukocitų dalį endometriume nėštumo metu, siekdamos net iki 70 procentų visų imuninių ląstelių. Gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelės yra žymimos CD56bright/CD16 fenotipu, tuo tarpu periferinių kraujo natūraliųjų kilių ląstelės žymimos CD56dim/CD16+ fenotipu. Periferiniai natūralieji kiliai pasižymi citotoksiškumu prieš vėžines ir virusų pažeistas ląsteles, o gimdos gleivinės natūraliųjų kilių svarbiausios funkcijos – reguliacinė ir palaikomoji (3).

Šios ląstelės pradeda kauptis endometriume liuteininės fazės metu, taip pat jų koncentracija ypač pagausėja ankstyvo nėštumo metu. Gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių aktyvumas bei koncentracija yra reguliuojami hormonų progesterono bei estrogeno. Progesteronas skatina endometriumo jungiamojo audinio ląsteles gaminti IL-15, kuris yra esminis citokinas, palaikantis gimdos gleivinės natūraliųjų kilių brendimą ir išgyvenamumą.

Gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių paviršiuje yra išsidėstę KIR, NKG2 ir citotoksiškumo receptoriai. Jie leidžia užmegzti ryšį su besiformuojančia placenta ir periferijos ląstelėmis. Per šiuos receptorius gimdos gleivinės natūralieji kiliai atpažįsta HLA molekules, kurios yra ant trofoblasto, o tai padeda užtikrinti, kad motinos imuninė sistema nepradės atakuoti vaisiaus nėštumo pradžios metu. Gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos ar

aktyvumo pasikeitimai gali lemti nėštumo komplikacijas, tokias kaip pasikartojantys persileidimai, implantacijos nesėkmės, preeklampsija ir vaisiaus augimo sutrikimai (13).

Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės ypač svarbios ankstyvojo nėštumo metu – jos valdo daugelį esminių procesų, reikalingų sėkmingam nėštumui. Šių ląstelių veikla yra daugiafunkcinė. Jos atsakingos už keletą tarpusavyje susijusių funkcijų. Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės reguliuoja placentos vystymąsi tiesiogiai ir netiesiogiai. Jos skatina trofoblasto ląstelių augimą, diferenciaciją, apsaugo trofoblasto ląsteles nuo apoptozės, keičia ekstraląstelinį matriksą ir reguliuoja maisto medžiagų bei deguonies tiekimą. Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės dalyvauja hormonų sintezėje, formuoja pernešimo baltymus ir užtikrina barjerinę placentos funkciją. Visa tai reikalinga tinkamam placentos brendimui ir funkcionavimui (3).

7.3 Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių funkcijos nėštumo metu

Trofoblasto įsiskverbimo kontroliavimas yra viena svarbiausių gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių funkcijų. Trofoblasto įsiskverbimas vyksta tuomet, kai jo ląstelės pradeda migruoti į gimdos gleivinę. Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės kontroliuoja šį procesą, gamindamos įvairias matrikso metaloproteinazes (MMP-2 ir MMP-9), o jos pertvarko ekstraląstelinį matriksą. Matrikso metaloproteinazės gamina augimo faktorius: hepatocitų augimo faktorius ir transformuojantį augimo faktorių beta, o šie lemia trofoblasto ląstelių elgseną. MMP taip pat dalyvauja spiralinių arterijų persitvarkyme, kuris yra reikalingas normaliam placentos funkcionavimui (14).

Antra ypač svarbi gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių funkcija – kraujagyslių formavimosi ir pertvarkymo procesų reguliacija. Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės gamina angiogeninius faktorius, įskaitant VEGF, PLGF ir angiopoetinus, o jie ir nulemia gimdos kraujagyslių vystymąsi ir persitvarkymą. VEGF skatina endotelio ląstelių vystymąsi ir naujų kraujagyslių formavimąsi, o PLGF veikia kartu su VEGF, padėdamas placentos kraujagyslėms tinkamai formuotis. Specialūs baltymai – angiopoetiniai – reguliuoja, kaip gimdoje vystosi ir stiprėja kraujagyslės. Ypač svarbu, kad spiralinės arterijos persitvarkytų tinkamai. Persitvarkymo metu kraujagyslių sienelės tampa platesnės ir elastingesnės, todėl į besivystančią placenta lengviau priteka daugiau kraujo. Tinkamas kraujo kiekis būtinas tam, kad vaisius gautų pakankamai deguonies bei maisto medžiagų ir galėtų normaliai vystytis (3).

Trečioji gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių funkcija yra reguliuoti gimdos aplinkos imuninį atsaką. Šios ląstelės, gamindamos priešūždegiminius citokinus, sukuria sėkmingam nėštumui reikalingą imuninę aplinką. IL-10 ir TGF- β yra pagrindiniai imuninę sistemą slopinantys mediatoriai, kurie užtikrina, kad motinos imuninė sistema neatmestų iš dalies svetimo vaisiaus. Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės taip pat gamina kitus citokinus: IL-8 kuris skatina ląstelių migraciją, o GM-CSF ir LIF stimuliuoja trofoblasto augimą ir palaiko jo gyvybingumą. Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės veikia kartu su kitomis imuninėmis ląstelėmis per savo paviršiaus receptorius, kurie atpažįsta specifines HLA molekules ant trofoblasto ląstelių. Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių paviršiuje aptinkami įvairūs receptoriai: KIR receptoriai, NKG2A/CD94 kompleksas bei citotoksiškumo receptoriai (NKp30, NKp44, NKp46), taip pat NKG2D ir DNAM-1 receptoriai. Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių veikimo mechanizmai prasideda nuo receptorių-ligandų susijungimo. KIR receptoriai sąveikauja su HLA-C molekulėmis ant trofoblasto ląstelių, o NKG2A/CD94 kompleksas atpažįsta HLA-E. Šis receptorių-ligandų susijungimas aktyvuoja signalų perdavimo kelius, inicijuojančius citokinų ir augimo faktorių gamybą. Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės gamina interleukiną 8 (IL-8) ir interferoną gama (IP-10), kurie paskatina trofoblasto migraciją, bei interleukiną 10 (IL-10) ir transformuojantį augimo faktorių beta (TGF- β), kurie veikia priešūždegimiškai. Granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojantis faktorius (GM-CSF) yra citokinas, skatinantis trofoblasto augimą ir vystymąsi.

Signalų plitimo mechanizmai gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelėse yra kompleksiniai ir apima kelis pagrindinius molekulinis kelius. PI3K/AKT signalinis perdavimo būdas yra vienas pagrindinių – jis aktyvinamas per receptorių tirozino kinazes ir yra atsakingas už ląstelių išgyvenamumą bei vystymąsi. PI3K/AKT aktyvacija paskatina antiapoptozinių baltymų gamybą ir metabolinių procesų reguliaciją. JAK/STAT signalinis kelias reguliuoja, kaip gaminami citokinai. Janus kinazės (JAK) yra aktyvuojamos, kai citokinai prisijungia prie savo receptorių. JAK fosforilina STAT veikia kaip transkripcijos faktorius. Šie faktoriai keliauja į branduolį ir kontroliuoja citokinų genų ekspresiją. NF κ B signalinis kelias yra atsakingas už uždegiminių mediatorių gamybą gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės. Šis kelias yra reguliuojamas tinkamam imuninės sistemos atsakui užtikrinti (15). Visi šie veikimo mechanizmai gali kisti, nes priklauso nuo hormoninės aplinkos, ypač progesterono, reguliuojančio gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių diferenciaciją ir aktyvumą. Pakitus bent vienam iš šių mechanizmų, gali suintensyvėti uždegiminis atsakas, trofoblastas gali netinkamai įsiskverbti, o spiralinės arterijos – netinkamai persitvarkyti.

7.4 Imuninė tolerancija nėštumo metu

Imuninė tolerancija nėštumo metu yra sudėtingas ir dar ne visiškai iki galo suprastas procesas. Vaisius motinos organizmui yra pusiau svetimas, tad motinos imuninei sistemai tenka labai tiksliai prisitaikyti, kad nėštumas nebūtų atmestas. Gimdos gleivinės natūralieji kiliai sudaro didžiausią leukocitų grupę endometriume pirmą nėštumo trimestrą ir vaidina lemiamą vaidmenį, kad imuninė sistema toleruotų vaisių. Kitaip nei periferinių, natūraliųjų kilių ląstelės yra atsakingos už reagavimą į patogenus, gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelėms atitenka reguliacinė funkcija, kuri užtikrina sėkmingą nėštumą (16).

Gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelės gamina citokinus interleukiną-8 (IL-8) ir interferono gama indukuotą baltymą 10 (IP-10), o jie tiesiogiai skatina trofoblastų įsiskverbimą į gimdos audinius. Tokiu būdu trofoblastai prasiskverbia į spiralines arterijas ir keičia jų struktūrą tinkamai placentos kraujotakai. Taip pat šių citokinių pagalba yra reguliuojamas imuninio atsako stiprumas (17).

Trofoblastų paviršiuje yra HLA-G molekulės. Su jomis sąveikauja gimdos gleivinės natūralieji kiliai. HLA-G dalyvauja slopinant imuninį atsaką ir prisideda prie vaisiaus toleravimo [17]. Gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių veikimo intensyvumas kinta nėštumo metu. Intensyviausiai jos veikia pirmąjį trimestrą, mat turi užtikrinti, kad persitvarkytų kraujagyslės ir vystytųsi placenta. Vėlesniais nėštumo mėnesiais gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija turi mažėti. Jeigu gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija išlieka didelė arba per maža, tai gali lemti nepageidaujamas nėštumo baigtis (18).

Šių veikimo mechanizmų išaiškinimas ir supratimas ypač svarbus siekiant suprasti, kaip motinos imuninis atsakas palaiko nėštumą ir užtikrina saugų vaisiaus vystymąsi. Supratimas leidžia kurti gydymo ar prevencijos strategijas (19).

7.5 Gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos poveikis nėštumui

Sėkmingam nėštumui būtina pusiausvyra tarp įvairių imuninių ląstelių gimdos gleivinėje. Kai gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija pakinta, sutrikusi pusiausvyra sukelia patologinius procesus, galinčius komplikuoti nėštumo eigą ir netgi nulemti nepalankią baigtį. Per didelė gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija yra susijusi su sutrikusiu uždegiminiu atsaku. Kai šių kilių ląstelių pagausėja, jos išskiria neįprastai daug

prouždegiminių citokinų TNF- α ir IFN- γ . Citokinų perteklius pažeidžia normalius imuninės tolerancijos mechanizmus, kurie yra būtini sėkmingam nėštumui. Moksliniai duomenys patvirtina, kad padidėjęs uždegiminių citokinų kiekis gali tiesiogiai pakenkti besiformuojančiai placentai ir sutrikdyti jos veiklą (20). Per didelis gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių aktyvumas taip pat gali išbalansuoti normalų placentos vystymąsi. Nors gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės būtinos, kad placenta normaliai formuotųsi, joms veikiant per aktyviai, gali sutrikti procesas, kurio metu trofoblasto ląstelės įauga į gimdos sienelę ir formuoja placenta. Esant per mažai gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracijai, dažnai stebimas per nepakankamas augimo faktorių kiekis, galintis lemti per daug vangią placentos kraujotaką. Priklausomai nuo to, kaip pakinta citokinų ir augimo faktorių santykis, trofoblastas gali įaugti arba per stipriai, arba per silpnai. (21). Taip pat padidėjusi gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija gali sutrikdyti normalų spiralinių kraujagyslių vystymąsi. Šių ląstelių įprastai reikia spiralinėms arterijoms persiformuoti, tačiau esant per didelei jų koncentracijai, gali prasidėti pernelyg intensyvus kraujagyslių kitimas. Tokiu atveju kraujagyslės praranda savo natūralų elastingumą, tampa per daug standžios, o tai sutrikdo normalią kraujo tėkmę į besiformuojančią placenta (22). Galiausiai, padidėjusi gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija arba aktyvumas gali pakeisti imuninę toleranciją trofoblasto atžvilgiu. Tai vyksta todėl, kad pasikeičia KIR receptorių ir HLA molekulių sąveika. Per didelis citotoksinis aktyvumas dažnai gali lemti nesėkmingą nėštumą (23). Dėl sutrikusio imuninio atsako galimos ir vėlyvesnės nėštumo komplikacijos, tokios kaip preeklampsija ir sulėtėjęs vaisiaus augimas.

7.6 Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių tyrimo metodai

Gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija ir aktyvumas vertinami iš endometriumo biopsijos mėginio, atlikus imunohistocheminį CD56bright/CD16- ląstelių dažymą, srauto citometrijos bei citokinų analizės ELISA ir RT-PCR metodais.

Dėl savo paprastumo ir prieinamos kainos imunohistochemija yra dažniausiai naudojamas metodas gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracijai skaičiuoti. Naudojant šį metodą galima suskaičiuoti gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių kiekį ir pasiskirstymą endometriumo biopsijos mėginyje. Endometriumo biopsijos mėginys paimamas liuteininėje menstruacinio ciklo fazėje, apie 21-24 mėnesinių ciklo dieną. Tuo metu gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija būna didžiausia. Biopato audiniai fiksuojami formalinu ir paruošiami mikroskopijai. Naudojami specifiniai antikūnai CD56bright/CD16-

ląstelėms pažymėti. Vėliau bioptato audiniai yra nudažomi DAB metodu, tuomet imunohistochemiškai pažymėtos ląstelės aiškiai matomos mikroskopo lauke. Analizė atliekama apskaičiuojant CD56bright/CD16- ląstelių kiekį ir tankį kvadratiname milimetre audinio. Ši metodika leidžia gauti tikslius kiekybinius duomenis (24). Šiam tyrimui nereikia brangios įrangos, todėl jo kaina išlieka prieinama, tačiau trūkumas tas, kad juo negalima įvertinti gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių funkcinio aktyvumo.

Antras pagal populiarumą metodas yra srauto citometrija. Šis metodas suteikia galimybę ištirti gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląsteles ne tik kiekybiškai, bet ir kokybiškai. Pasitelkiant srauto citometriją, galima atskirti skirtingas gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių grupes pagal paviršines molekules – receptorius. Srauto citometrijos metodo ypatybė ta, kad jį pasitelkus galima įvertinti gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių aktyvumą. Mėginiui endometriumo bioptatas yra susmulkinamas, filtruojamas ir žymimas su specifiniais fluorescenciniais antikūnais. Pagrindinis taikinytis – CD56bright/CD16- gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės. Taip pat galima tirti ankstyvuosius aktyvacijos žymenis – CD69, ir vėlyvuosius – HLA-DR. Pasitelkiant šį metodą galima ištirti kiliųjų paviršiaus receptorius, taip įvertinant citotoksinį aktyvumą (7). Šiam tyrimui naudojamos šviežio audinio ląstelės, todėl jo atlikimas ne visuomet įmanomas naudojant endometriumo biopsiją. Be to, tai sudėtingas ir brangus metodas, reikalaujantis specializuotos laboratorinės įrangos.

Kiti analizei naudojami metodai – ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ir RT-PCR (real-time polymerase chain reaction). Šių tyrimų atsakymai papildo vienas kitą. ELISA skirtas matuoti baltymų ekspresijos lygiui gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelėse. Tai imunofermentinis tyrimas, kuris geba išmatuoti tikslias gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių gaminamų citokininų IL-10, TNF- α , IFN- γ koncentracijas. Tyrimas padeda suprasti, kokį poveikį gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės daro aplinkiniam audiniui.

RT-PCR naudojamas nustatyti mRNR lygį. RT-PCR – atvirkštinės transkripcijos polimerazės grandininė reakcija – suteikia galimybę išsiaiškinti, kaip aktyviai gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelėse vyksta citokininų gamybą koduojančių genų nuskaitymas. Šis metodas suteikia informacijos apie potencialią citokininų gamybą, nes nustato, kurie citokininų genai yra aktyvūs ir koks jų aktyvumo lygis. Šie tyrimai yra pagrindiniai, norint išsiaiškinti, kaip gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės paveikia vietinį imuninį atsaką ir dalyvauja implantacijos procese (25).

7.7 Gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija

Per didelė arba per maža gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija gali būt susijusi su nesėkmingomis nėštumo baigtimis, tokiomis kaip nesėkminga implantacija arba ankstyvas persileidimas. Nors šiuo metu mokslininkai ieško aiškos koreliacijos tarp gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos ribų ir patloginės nėštumo baigties, tačiau iki šiol nėra standartizuota šių imuninių ląstelių skaičiavimo metodika. Literatūroje yra aptinkama autorių, kurie siūlo orientacines ribas identifikuojant moteris, kurios galėtų bandyti pasinaudoti imunomoduliaciniu gydymu nevaisingumo problemoms spręsti.

Literatūroje vienas iš dažniausiai sutinkamų gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos matavimo būdų yra procentinė CD56bright/CD16- ląstelių išraiška endometriume (26). Vadovaujantis naujausiais tyrimais, atitinkantis normą, nesukeliantis patologijų, šių imuninių ląstelių kiekis yra laikomas nuo 1,2 proc. iki 4,5 proc. ląstelių (6). Kitas, mūsų regione dažniausiai naudojamas, metodas yra absoliutaus CD56bright/CD16- ląstelių kiekio skaičiavimas. Dažniausia normos riba laikomas iki 300 ląstelių/mm² (24). Tiriamą gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentraciją endometriume galima suskirstyti į tris pagrindines grupes: sumažėjusi, normali bei padidėjusi koncentracija.

Normalia gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija laikoma 40-300 ląstelių/mm². Tai yra optimali koncentracija, matuojant vidurinėje liuteininėje fazėje vaisingoms moterims (27). Kiti autoriai pateikia šiek tiek kitokią normą, nėštumui palanki aplinka iki 250 ląstelių/mm² [28]. Kai kurie tyrimai nurodo vidutinį gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių skaičių – $190,5 \pm 123,7$ ląst./mm² (29). Tačiau dažniausiai sutrariama normos riba mažiau nei 300 ląst./mm² (27), (29). Esant šiai koncentracijai, gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelės tinkamai atlieka savo funkcijas: reguliuoja gimdos kraujagyslių persitvarkymą, dalyvauja formuojant imuninę toleranciją ir užtikrina tinkamą implantaciją (24). Šios grupės pacientės turi geriausią prognozę sėkmingam nėštumui (27).

Sumažėjusi gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija yra laikomas bet koks kiekis mažesnis nei 40 ląstelių/mm². Sumažėjusi gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija yra retesnė būklė lyginant su šių imuninių ląstelių kiekio padidėjimu. Sumažėjusi koncentracija dažnai susijusi su padidėjusiu CD56dim/CD16+ ir CD57+ ląstelių kiekiu gimdos gleivinėje (24). Toks disbalansas gali sutrikdyti normalų implantacijos procesą ir placentos formavimosi mechanizmus. Šios grupės pacientėms imuninis disbalansas dažnai lemia nesėkmingą nėštumo eigą (27).

Autoriai sutaria, kad padidėjusi gimdos gleivinės ląstelių koncentracija yra >300 ląstelių/mm². Ši koncentracija dažniau stebima pacientėms su neišaiškintos kilmės pasikartojančiais persileidimais (6). Padidėjusi gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija ypač būdinga pirminių pasikartojančių persileidimų atveju, lyginant su antriniais persileidimais (27). Manoma, kad per didelė gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija sukelia per stiprų imuninį atsaką, kuris gali sutrikdyti normalią implantaciją ir paveikti placentos vystymąsi (27).

7.8 Imunomoduliacinis gydymas

7.8.1 Žmogaus normalusis imunoglobulinas

Pakartotiniai persileidimai yra sudėtingas uždavinys nevaisingumo specialistams, nes net apie 50 proc. atvejų priežastis lieka neaiški. Ji dažnai siejama su imuniniu nevaisingumu (30). Nustatyta, kad pakartotiniai persileidimai dažnai yra siejami su keliais imunologiniais mechanizmais. Vienas svarbiausių – padidėjęs natūraliųjų kiliųjų ląstelių skaičius bei citotoksinis aktyvumas, taip pat aptinkamas Th1/Th2 citokinų disbalansas bei sumažėjęs reguliacinių T limfocitų (Treg) aktyvumas. Nustatyta, kad šie imuniniai pokyčiai sukuria nepalankią aplinką nėštumui (31). Šiais imunologiniais mechanizmais paremtas žmogaus normaliojo imunoglobulino terapijos veikimas. Ši terapija efektyviai sumažina gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių aktyvumą, mažindama ir jų citotoksinį poveikį (32). Taip pat žmogaus normalusis imunoglobulinas didina Treg limfocitų aktyvumą, o jie yra ypač svarbūs palaikant imunologinę toleranciją nėštumo metu. Nėštumui palaikyti ne mažiau svarbus tinkamas citokinų balansas, tad terapija mažina uždegimą skatinančių TNF- α ir IFN- γ gamybą bei didina prieš uždegiminių citokinų, tokių kaip IL-10, produkciją (30). Šis gydymo būdas dažniausiai skiriamas kai yra identifikuojama per didelė gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija. 2022 metais atliktame tyrime nurodoma – net 62 proc. pacienčių, kurios vartojo žmogaus normaliojo imunoglobulino terapiją, pavyko sėkmingai pastoti, o placebo grupėje šis rodiklis tik 35 proc. Gyvų gimusių kūdikių skaičius žmogaus normaliojo imunoglobulino terapijos grupėje svariai didesnis – 58 proc., palyginus su 35 proc. placebo grupėje (30). Kad būtų pasiektas norimas rezultatas, vienas iš svarbiausių aspektų laiku pradėtas imunomoduliacinis gydymas. Žmogaus normaliojo imunoglobulino terapiją reikėtų pradėti labai anksti – ketvitą arba penktą nėštumo savaitę (33). Svarbu įvertinti pacientės natūraliųjų kiliųjų ląstelių aktyvumą, autoimuninius žymenis, bei ankstesnių nėštumų baigtis. Gera žinia ta, kad žmogaus normaliojo imunoglobulino terapija dažnu atveju yra lengvai toleruojama.

Įvardijami šalutiniai poveikiai yra nesunkūs: galvos skausmas, silpnumas, dūrio vietos reakcijos. Sunkių šalutinių poveikių fiksuota mažai (33). Galima teigti, kad žmogaus normaliojo imunoglobulino terapija yra potencialo turinti gydymo priemonė moterims su pakartotiniais persileidimais ar pasikartojančiomis implantacijos nesėkmėmis. Tačiau vis dar labai reikalingi tolimesni išsamūs tyrimai, norint atrasti tinkamiausius pacienčių atrankos kriterijus ir sukurti efektyviausias gydymo schemas.

7.8.2 Lipidų infuzinė emulsija

Moterų, patyrusių pakartotinius persileidimus arba implantacijos nesėkmės gydymas lipidų infuzinėmis emulsijomis yra gana naujas metodas (34). Naujausi tyrimai rodo, kad infuzinės lipidų emulsijos skyrimas gali turėti teigiamo poveikio, siekiant sumažinti gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių citotoksinį aktyvumą (35). Lipidų infuzinę emulsiją sudaro keturios skirtingos riebalų rūšys: sojų aliejus, trigliceridai, alyvuogių aliejaus ir žuvų taukai, praturtinti omega-3 riebalų rūgštimis. Šis riebalų rūgščių junginys moduliuoja imuninį atsaką, veikdamas keliais būdais. Svarbiausias siekis, naudojant lipidų emulsijos terapiją, yra mažinti gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių citotoksinį aktyvumą. Tai pasiekama keliais biologiniais keliais. Riebalų rūgštys sąveikauja su peroksisomų proliferatorių aktyvuojamais receptoriais (PPARs), kurie yra gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių paviršiuje. Kai PPARs aktyvuojasi, gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės praranda dalį savo citotoksinio aktyvumo, sumažėja jų gebėjimas aktyvinti apoptozę. Taip pat susilpnėja uždegimą skatinančius baltymų TNF- α ir IFN- γ gamyba.

Antras biologinis kelias – mažinti uždegimo žymenų gamybą, interleukinus IL-15 ir IL-18. Šie interleukinai turi tiesiogiai veikia gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių aktyvumą ir proliferaciją. Sumažinus interleukinų gamybą, mažėja gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija bei aktyvumas endometriume. Įdomu ir tai, kad pastebėtas teigiamas poveikis HLA-G molekulių funkcijai. Šią molekulę išreiškia trofoblasto ląstelės. HLA-G užtikrina embriono apsaugą nuo motinos imuninės sistemos. Lipidų emulsija skatina HLA-G veikimą ir mažina gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių citotoksinį aktyvumą. Taip pat pastebėta, kad gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių aktyvumo markeris CD69 sumažėja taikant lipidų terapiją. (35), (36). Šis gydymo būdas dažniausiai skiriamas, kai identifikuojama per didelė gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija. Lipidų emulsijos infuzijos, naudojamos pagalbinio apvaisinimo procedūros metu, pradedamos prieš 7–10 dienų iki numatomo

embriono įkėlimo (34). Gydomas tęsiamas iki dvyliktos nėštumo savaitės, atliekant infuzijas kas keturiolika dienų. Dažniausia naudojamas 20 proc. lipidų emulsijos tirpalas, kuris skiedžiamas su fiziologiniu tirpalu. (35). Lipidų emulsija yra kaip alternatyvus metodas gydyti žmogaus normaliuoju imunoglobulinu. Tačiau lipidų emulsijos gydymas yra ženkliai pigesnis, todėl ir prieinamesnis. Taip pat lipidų emulsijos infuzijos turi mažesnę anafilaksijos reakcijų riziką. Lipidų emulsijos gydymo veiksmingumas vertinamas nevienareikšmiškai (36). Kai kurie tyrimai pateikia reikšmingą teigiamą poveikį – sėkmingas nėštumas siekia daugiau nei 50 proc. (35), tačiau kitų tyrimų rezultatai rodo nereikšmingą skirtumą, lyginant su kontrolinėmis grupėmis.

7.8.3 Gliukokortikosteroidai

Prednizolonas yra priskiriamas gliukokortikoidų grupei. Jis veikia mažindamas gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių citotoksinį aktyvumą. Vartojamas nėštumo metu prednizolonas paveikia citokinų balansą, skatina priešūždegiminių citokinų (IL-10) gamybą, tuo pačiu slopina uždegiminių citokinų TNF- α ir IL-1 β veiklą. Sunormalizuotas citotoksinis aktyvumas mažina uždegiminį atsaką bei teigiamai veikia gimdos gleivinės receptyvumą (37); (38). Šis gydymo būdas dažniausiai skiriamas kai identifikuojama per didelė gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija. Nepaisant teigiamo poveikio, gliukokortikoidų vartojimas nėštumo metu siejamas ir su rizika. Prednizolono vartojimas gali lemti hormonų disbalansą, o tai gali sumažinti progesterono gamybą. Per mažas progesterono kiekis ankstyvojo nėštumo metu gali lemti persileidimą. Yra duomenų, kad prednizolono vartojimas taip pat gali paskatinti priešlaikinį gimdymą (38). 2022 metais mokslininkai tyrė prednizolono naudojimą pagalbinių apvaisinimų metu ir nustatė, kad jis gali pagerinti endometriumo receptyvumą, tačiau nėra pakankamai įrodyta, kad prednizolonas reikšmingai padidina sėkmingą nėštumo baigtį (37). 2023 metais mokslinis tyrimas, kuriame dalyvavo moterys, patyrusios implantacijos nesėkmes, parodė, kad prednizolonas (10 mg per parą) reikšmingai nepagerino gyvų gimusių kūdikių skaičiaus, lyginant su placebo grupe. Šiame tyrime gyvų gimusių kūdikių dažnis buvo beveik identiškas prednizolono ir placebo grupėse (39). Įdomu tai, kad 2021 metais atlikto tyrimo autoriai pateikia duomenis, kad prednizolono monoterapija nėra tokia veiksminga, kaip vartojant kartu su intraveniniu žmogaus imunoglobulinu. Nurodoma, kad sėkmingai pavyko pastoti 37,5 proc. tiriamųjų vartojant prednizoloną, o kombinuojant kartu su intraveniniu žmogaus imunoglobulinu – net 54,4 proc. skirtumas statistiškai reikšmingas. Taip pat gyvų gimusių kūdikių skaičius vartojusioms intraveninį žmogaus imunoglobuliną ir prednizoloną buvo ženkliai didesnis – 44,8 proc., lyginant su 30,6 proc. vartojant tik prednizoloną. Šis skirtumas taip pat statistiškai reikšmingas (32).

7.8.4 Granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius

Granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius (G-CSF) yra augimo faktorius, kuris skatina neutrofilų gamybą. Pastaruoju metu, pastebėjus teigiamą poveikį, vis daugiau dėmesio skiriama imunomoduliaciniam poveikiui nėštumo metu. G-CSF padeda reguliuoti uždegiminius procesus, kurie gali turėti įtakos embriono implantacijai bei placentos formavimuisi. G-CSF veikia per receptorius, esančius ant kaulų čiulpų, fibroblastų, monocitų ir makrofagų ląstelių paviršiaus. G-CSF receptoriai randami ir moterų reprodukcinės sistemos ląstelėse: trofoblastuose, gimdos gleivinės ir liaukų, kiaušidžių folikulų bei gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelėse. G-CSF veikia gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių aktyvumą, kuris yra svarbiausias veiksnys nėštumo imunologinėje reguliacijoje. G-CSF skatina išsiskirti prieš uždegiminius citokinus, tokius kaip IL-10, ir slopina uždegiminį procesą gimdoje. Tokiu būdu G-CSF sukuria imunologinę aplinką, palankią sėkmingai embriono implantacijai ir tolimesniam vystymuisi (40). G-CSF taip pat veikia per makrofagus, kurie yra skirstomi į M1 ir M2 tipus. M1 tipo makrofagai skatina uždegiminį atsaką bei gali sąlygoti audinių pažeidimus, o M2 tipo makrofagai turi prieš uždegiminį poveikį, dalyvauja kraujagyslių formavime. G-CSF stimuliuoja makrofagų diferenciaciją į M2 tipo ląsteles, jos dalyvauja spiralinių arterijų persitvarkyme ir užtikrina tinkamą kraujotaką į placenta (41). Kitas svarbus G-CSF veikimo aspektas – šis vaistas skatina angiogenezę, o tai padidina kraujo tiekimą į implantacijos vietą, kas gali reikšmingai pagerinti audinių pasirengimą embriono implantacijai. Be to, G-CSF mažina ląstelių apoptozę gimdos gleivinėje. Taip užtikrinamas audinių paruošimas implantacijai (42). Trofoblastų migravimas į endometriumą yra kitas svarbus nėštumo etapas, kurį taip pat reguliuoja G-CSF. Šis citokinas skatina trofoblastų migraciją, aktyvindamas genus, atsakingus už audinių persitvarkymą ir kraujagyslių formavimąsi (43). Šis vaistas dažniausiai skiriamas kai patvirtinamas per mažą gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija.

Nors G-CSF gydymas laikoma saugiu, kai kurioms pacientėms jis gali būti neveiksmingas arba sukelti tam tikras nepageidaujamas reakcijas. Šio vaisto efektyvumas priklauso nuo dozavimo, gydymo būdo ir pacienčių individualios imunologinės būklės, todėl parinkti tinkamiausią gydymą yra gana sudėtinga.

7.8.5 PRP terapija

Trombocitais praturtintos plazmos (PRP) terapija vis dažniau minima kaip papildoma priemonė gydant nevaisingumą, kai įprastinės priemonės nepadaeda sėkmingai užauginti tinkamos gimdos gleivinės storio ir kai susiduriama su implantacijos nesėkmėmis. PRP gaminama iš pacientės kraujo, išcentrifugavus ir pašalinus eritrocitus. Infuzijai naudojama atskirta kraujo plazma su trombocitais. Centrifugavimas gali būti atliekamas dukart, siekiant didesnės PRP preparato koncentracijos (44). Dažniausiai pacientėms skiriama intrauterinė infuzija – mažas kiekis, apie 0,5–1 ml, per ploną kateterį suleidžiamas į gimdos ertmę. PRP preparatas turi didelę augimo faktorių VEGF, PDGF ir TGF- β , kurie skatina ląstelių proliferaciją ir angiogenezę, koncentraciją. Naujausi atlikti tyrimai rodo, kad intrauterinė PRP terapija reikšmingai prisideda prie storesnės gimdos gleivinės augimo (45). Tinkamas endometriumo storis pagerina embriono implantacijos sąlygas bei padidina sėkmingo nėštumo tikimybę.

Kita svarbi PRP taikymo kryptis – pasikartojančios implantacijos nesėkmės, kai moteriai nepavyksta pastoti net ir po keleto kokybiškų embrionų perkėlimų (46). Manoma, kad PRP išskiriami citokinai gali reguliuoti gimdos gleivinės imuninę aplinką, sumažindami per daug aktyvų uždegiminį atsaką, kuris dažnai yra susijęs su nesėkminga embriono implantacija (47). Tyrimai rodo, kad PRP infuzijos metodas gali reikšmingai padidinti klinikinio nėštumo ir gyvų gimusių kūdikių rodiklius (46). Tai siejama ne vien su implantacijai tinkamu gimdos gleivinės storium, bet ir su embrionui palankią aplinką palaikančiu citokinų balansu. Vis dėlto, mažos imtys, skirtingi klinikiniai protokolai, PRP paruošimo metodikos skirtumai kol kas neleidžia teigti, kad PRP terapija gali būti laikoma patikima priemone nevaisingumui gydyti (44); (45).

Be endometriumo regeneracijos ir imunomoduliacijos poveikio, kai kurie tyrimai nagrinėjo PRP galimą įtaką kiaušidžių rezervui (44). Moterys, turinčios mažą AMH ir padidėjusį FSH kiekį, dažniau susiduria su vaisingumo problemomis. Nors kai kurie tyrimai rodo, kad PRP terapijos pagalba AMH padidėja ir FSH mažėja, tačiau rezultatai yra priešaringi.

PRP terapija dažniausiai laikoma saugia procedūra. Autologinė PRP turi itin mažą imuninių reakcijų ar infekcijos tikimybę, kadangi ji ruošiama iš pačios pacientės kraujo.

7.9 Literatūros analizė

Pastaruoju metu atvejo-kontrolės tyrimais buvo siekiama išsiaiškinti, ar pakitusi gimdos gleivinės natūraliųjų kilerių ląstelių koncentracija turi tiesioginį ryšį su pakartotiniais persileidimais, bet gauti rezultatai yra priešaringi. Vieni tyrimai nustatė statistškai reikšmingą ryšį

tarp padidėjusios gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracijos ir pasikartojančių persileidimų, kiti – ne. Dar kita dalis autorių teigia, kad už absoliutų ląstelių kiekį svarbesnis citotoksinis aktyvumas. Kelių klinikinių studijų rezultatai rodo, kad pasikartojančius persileidimus patiriančių moterų gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija yra ženkliai didesnė nei kontrolinėje vaisingų moterų grupėje.

Kuon ir kolegų 2017 metais atliktas tyrimas parodė, kad neaiškios kilmės pakartotinių persileidimų atvejais gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija buvo ženkliai didesnė nei kontrolinės grupės – 257 ± 212 ląstelės/mm², kai sveikų moterų – 148 ± 73 ląstelės/mm² (28). Panašius rezultatus pateikė Chen X ir kolegų tyrimas (48). Mokslininkai analizavo, ar moterys, kurios patyrė pakartotinį persileidimą, turėjo didesnę CD56bright/CD16- ląstelių koncentraciją prieš pastodamos, ir ar ši koncentracija buvo susijusi su vaisiaus genetiniais sutrikimais. Rezultatai parodė, kad pakartotinių persileidimų grupėje gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija buvo statistškai reikšmingai didesnė nei grupės, kuri sėkmingai pagimdė. Vidutinė šių imuninių ląstelių koncentracija tarp persileidusių moterų buvo 3,09 proc., o tarp gimdžiusių – 1,95 proc.

Dar didesnį skirtumą tarp grupių tyrėjai atrado analizuodami moteris su euploidiniais persileidimais. Šioje tiriamųjų grupėje gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija siekė net 3,76 proc., o tarp moterų su aneuploidiniais persileidimais grupėje – tik 2,21 proc. Šis skirtumas buvo statistškai reikšmingas ir leidžiantis manyti, kad kai pakartotinis persileidimas nėra susijęs su embriono chromosominiais defektais, jis gali būti nulemtas pernelyg aktyvaus imuninio atsako. Panašūs rezultatai gauti Chen X ir kolegų tyrime (6). Tyrimo autoriai palygino gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentraciją pakartotinius persileidimus patiriančių moterų grupėje su koncentracija, kuri priimta laikyti norma vaisingoms moterims. Vidutinis gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių procentas buvo didesnis pakartotinius persileidimus patiriančioje nei kontrolinėje grupėje: moterims su pakartotiniais persileidimais jis siekė 3,2 proc., o vaisingų moterų grupėje – 2,5 proc. Šis skirtumas buvo statistškai reikšmingas. Įdomu ir tai, kad 16,5 proc. moterų, patiriančių pakartotinius persileidimus, gimdos gleivinėje natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija buvo mažesnė nei normos riba. Galima teigti, kad ir per didelė, ir per maža gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija gali būti susijusi su vaisingumo problemomis.

Mokslininkai, tyrinėję gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentraciją, taip pat tyrinėjo ir šių imuninių ląstelių kilmę. Buvo manoma, kad lėtinis endometritas gali turėti įtakos imuninės sistemos pokyčiams gimdos gleivinėje, taigi buvo svarbu išsiaiškinti, ar gimdos gleivinės

natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracijos padidėjimas nėra susijęs su lėtiniu uždegimu. Chiokadze M ir kolegų straipsnyje atlikta analizė, kurioje be gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių buvo tirtos CD138⁺ plazminės ląstelės, kurios yra lėtinio endometrito žymuo [24]. Tyrimo rezultatai parodė, kad toms pacientėms, kurioms nustatytas gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracijos padidėjimas, šis padidėjimas nebuvo susijęs su padidėjusiu CD138⁺ ląstelių skaičiumi. Zhao Y su kolegomis taip pat paneigė hipotezę, kad gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių pokyčiai galėtų būti susiję su lėtiniu endometritu, nes CD138⁺ plazminių ląstelių kiekis pakartotinius persileidimus patyrusių moterų grupėje nebuvo reikšmingai didesnis nei kontrolinėje grupėje (49). Tai leidžia manyti, kad padidėjęs imuninės sistemos aktyvumas nėra uždegiminės ligos pasekmė, tik parodo netinkamą imuninio atsako mechanizmą, galintį trukdyti embriono implantacijai ir placentos vystymuisi.

Keletas tyrimų išskyrė ne tik bendrą gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentraciją, bet ir specifinius jų potipius, pavyzdžiui, CD56dim/CD16⁺ subpopuliaciją, kuri pasižymi didesniu citotoksiškumu. Giuliani ir kolegų atliktas tyrimas parodė, kad citotoksinių CD56dim/CD16⁺ ląstelių koncentracija buvo reikšmingai didesnė pakartotinių persileidimų grupėje, lyginant su kontroline grupe (50). Pakartotinių persileidimų grupėje šių ląstelių koncentracija siekė vidutiniškai 7,9 proc., o kontrolinės grupės moterų endometriume CD56dim/CD16⁺ ląstelių koncentracija siekė 5,6 proc. Šis skirtumas buvo statistiškai reikšmingas. Tokie duomenys rodo, kad ne tiek bendra gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija, kiek jų citotoksiškumas gali turėti reikšmę sėkmingam nėštumui. Panašūs duomenys aprašomi Chiokadze M ir kolegų tyrime (24). Nustatyta, kad net moterims, kurių gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių skaičius atitinka normą, aptinkamas citotoksinių pogrupio CD56dim/CD16⁺ ląstelių perteklius. Autoriai taip pat atrado, kad pacientėms, kurioms nustatytas ženkliai sumažėjusi CD56⁺ ląstelių koncentracija, pasireiškėdavo paradoksali reiškinys - citotoksinių CD56dim/CD16⁺ ląstelių koncentraciją netgi viršydavo bendrą CD56⁺ ląstelių koncentraciją.

Nors daugybė tyrimų pakitusią gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentraciją sieja su pakartotiniais persileidimais, kai kuriuose tyrimuose šis ryšys buvo nepatvirtintas. Kuon RJ ir kolegų tyrimas parodė, kad gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija nesiskyrė tarp tiriamųjų grupių, tačiau didžiausia jų koncentracija buvo pakartotinių persileidimų grupėje (29).

Apibendrinant šiuos mokslinių darbų duomenis, galima teigti, kad didelė gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija dažnai susijusi su pakartotiniais persileidimais,

tačiau ryšys vertinamas nevienareikšmiškas. Keletas tyrimų patvirtino, kad padidėjusi gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija, ypač citotoksiškesnių potipių, gali padidinti persileidimų riziką. Tačiau kiti tyrimai rodo, kad kai kurioms persileidimus patiriančioms pacientėms gimdos gleivinės natūraliųjų kilių koncentracija gali būti normos ribose arba sumažėjusi. Taigi pakartotiniai persileidimai gali būti susijusę ne tik su gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija, bet ir su jų citotoksiškumu.

8. IŠVADOS

Atlikta literatūros analizė bei klinikinio atvejo apžvalga leido išsamiai įvertinti gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos ryšį su pakartotiniais persileidimais.

Gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelės atlieka daug svarbių funkcijų, ypač nėštumo pradžioje – reguliuoja, kaip įsiskverbia trofoblastas, dalyvauja, kai persitvarko spiralinės arterijos, kas būtina, kad placenta vystytųsi tinkamai. Tačiau ne tik gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracija, bet ir citotoksinių aktyvumo pokyčiai, receptorių veiklos ypatumai gali lemti vaisingumo problemas.

Pasitaiko atvejų, kai gimdos gleivinėje natūraliųjų kilių koncentracija išlieka normos ribose, tačiau sutrinka pusiausvyra tarp skirtingų natūraliųjų kilių potipių – pasikeičia reguliacinių CD56bright/CD16– ląstelių ir citotoksiškų CD56dim/CD16+ ląstelių tarpusavio santykis. Dažniau tokia situacija būdinga moterims, kurių bendra gimdos gleivinės natūraliųjų kilių koncentracija reikšmingai didesnė nei norma, tačiau net kai ląstelių koncentracija normali, kartu gali padidėti uždegiminių citokinų – TNF- α bei IFN- γ – kiekis. Padidėjęs citotoksinių aktyvumas gali sukurti per stiprų uždegiminį atsaką gimdos gleivinėje, sutrikdydamas tinkamą embriono implantaciją ir placentos vystymąsi. Tai rodo, kad sėkminga nėštumo pradžia priklauso ne tik nuo bendros gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių koncentracijos, bet ir nuo jų funkcinio aktyvumo.

Vertinant gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląsteles, plačiausiai dėl savo prieinamumo, paprastumo ir galimybės tiksliai kiekybiškai įvertinti endometriumo biopstatą taikoma imunohistochemija. Tačiau imunohistochemijos tyrimo pagalba negalima įvertinti ląstelių citotoksinių aktyvumo. Tuo tarpu srauto citometrijos tyrimas suteikia žymiai daugiau informacijos apie gimdos gleivinės natūraliųjų kilių ląstelių funkcines charakteristikas. Naudojant šį metodą galima ne tik suskaičiuoti specifinių ląstelių populiacijas, bet ir įvertinti jų aktyvumo žymenis,

paviršinių receptorių raišką bei citotoksinį aktyvumą. Vis dėlto šis metodas reikalauja šviežio audinio, didesnio jo kiekio, specializuotos įrangos ir aukštos kvalifikacijos darbuotojų, todėl jo taikymas praktikoje yra labai ribotas.

Atsižvelgiant į veikimo mechanizmus, imunomoduliaciniai vaistai gali būti skiriami priklausomai nuo gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracijos. Žmogaus normaliojo imunoglobulino terapija, lipidų emulsijos infuzijos bei gliukokortikosteroidai skiriami pacientėms, kurioms yra nustatyta per didelė gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija. Granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius (G-CSF) bei PRP terapija skiriama, kai aptinkama nepakankama gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracija.

Apibendrinant galima teigti, kad per didelė arba per maža gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų koncentracija gali būti susijusi su pasikartojančių persileidimų atvejais. Tačiau vien tik gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentracijos matavimas diagnostikai nėra pakankamas, nes pakartotinių persileidimų patofiziologija priklauso ir nuo ląstelių funkcinio aktyvumo bei individualaus imuninės sistemos veikimo. Tolesni tyrimai turėtų išsamiau analizuoti imuninės sistemos veikimą. Svarbu nustatyti, ar ir kaip galima reguliuoti padidėjusį gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų aktyvumą imunomoduliaciniu gydymu ir tokiu būdu mažinti pakartotinių persileidimų riziką. Kuriant personalizuoto gydymo protokolus ir remiantis išsamiau imunologinių duomenų vertinimu, galima ženkliai padidinti sėkmingų nėštumų tikimybę.

9. PASIŪLYMAI

Tolesniais gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų funkcijų ir persileidimo temos tyrimais reikėtų sukurti standartizuotus diagnostikos metodus, leidžiančius tiksliai įvertinti gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų koncentraciją ir citotoksinį aktyvumą. Svarbu parengti diagnostikos protokolus, apimančius tiek srauto citometriją, tiek imunohistocheminį dažymą, papildomai įtraukiant ir molekulinis metodus. Tai suteiktų galimybę išryškinti esminius imuninės sistemos pokyčius, kurie gali turėti įtakos pasikartojantiems persileidimams.

Ateities tyrimuose būtina analizuoti molekulinis mechanizmus, lemiančius gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentraciją, citokinų balansą ir receptorių raiškos ypatumus. Išsamūs eksperimentiniai tyrimai padėtų identifikuoti, kaip veikia gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelės pasikartojančių persileidimų atvejais. Tai leistų tiksliau parinkti imunomoduliacinį gydymą pacientėms.

Atsižvelgiant į daugialypę idiopatinių pakartotinių persileidimų etiologiją, būtų naudinga kurti individualizuotus gydymo protokolus, kurie būtų skiriami atsižvelgiant ne vien tik į gimdos gleivinės natūraliųjų kiliųjų ląstelių koncentraciją, bet ir kitų imuninės sistemos rodiklių analizę. Identifikavus imuninį profilį, būtų galima atrinkti pacientės, kurioms labiausiai tiktų tam tikri imunomoduliaciniai gydymo būdai: intraveninė žmogaus imunoglobulino terapija, lipidų emulsijų infuzijos, prednizolonas ar granulocitų kolonijas stimuliuojantis faktorius (G-CSF). Standartizuota diagnostika ir tikslesnė pacienčių atranka leistų pagerinti gydymo efektyvumą bei sėkmingo nėštumo tikimybę.

Norint sustiprinti teigiamą požiūrį į imuninio nevaisingumo diagnostikos bei gydymo galimybes, būtina stiprinti bendradarbiavimą tarp imunologų, ginekologų, šeimos gydytojų bei molekulinės biologijos specialistų. Be to, vertinant vaisingumo sutrikimų psichosocialinį poveikį, būtina didinti informacijos prieinamumą pačioms pacientėms. Tai padėtų moterims geriau suprasti gydymo galimybes ir mažintų įtampą planuojant nėštumą.

Taigi, į standartizuotą imuninės sistemos analizę ir individualių gydymo strategijų kūrimą orientuoti tolesni klinikiniai tyrimai gali padėti spręsti vaisingumo problemas ir sumažinti pakartotinius persileidimus.

10. LITERATŪROS ŠALTINIŲ SĄRAŠAS

1. Uța C, Tîrziu A, Zimbru EL, Zimbru RI, Georgescu M, Haidar L, et al. Alloimmune Causes of Recurrent Pregnancy Loss: Cellular Mechanisms and Overview of Therapeutic Approaches. *Medicina*. 2024 Nov 19;60(11):1896.
2. Gudaitė J, Didžiokaitė G, Kvedarienė V. NK ląstelių reikšmė moterų vaisingumui ir reprodukciniams baigtims.
3. Sfakianoudis K, Rapani A, Grigoriadis S, Pantou A, Maziotis E, Kokkini G, et al. The Role of Uterine Natural Killer Cells on Recurrent Miscarriage and Recurrent Implantation Failure: From Pathophysiology to Treatment. *Biomedicines*. 2021 Oct 9;9(10):1425.
4. Xie M, Li Y, Meng YZ, Xu P, Yang YG, Dong S, et al. Uterine Natural Killer Cells: A Rising Star in Human Pregnancy Regulation. *Front Immunol*. 2022 Jun 1;13:918550.
5. Inversetti A, Perna G, Lalli G, Grande G, Di Simone N. Depression, Stress and Anxiety among Women and Men Affected by Recurrent Pregnancy Loss (RPL): A Systematic Review and Meta-Analysis. *Life*. 2023 May 27;13(6):1268.
6. Chen X, Mariee N, Jiang L, Liu Y, Wang CC, Li TC, et al. Measurement of uterine natural killer cell percentage in the periimplantation endometrium from fertile women and women with recurrent reproductive failure: establishment of a reference range. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2017 Dec;217(6):680.e1-680.e6.
7. Marron K, Walsh D, Harrity C. Detailed endometrial immune assessment of both normal and adverse reproductive outcome populations. *J Assist Reprod Genet*. 2019 Feb;36(2):199–210.
8. Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA*. 2021 Jul 6;326(1):65.
9. Recurrent pregnancy loss: Definition and etiology - UpToDate. Recurrent pregnancy loss.
10. Female infertility: Causes - UpToDate.
11. Immunology of the maternal-fetal interface - UpToDate.

12. Alecsandru D, Klimczak AM, Garcia Velasco JA, Pirtea P, Franasiak JM. Immunologic causes and thrombophilia in recurrent pregnancy loss. *Fertility and Sterility*. 2021 Mar;115(3):561–6.
13. Zhang X, Wei H. Role of Decidual Natural Killer Cells in Human Pregnancy and Related Pregnancy Complications. *Front Immunol*. 2021 Aug 26;12:728291.
14. Jing M, Chen X, Qiu H, He W, Zhou Y, Li D, et al. Insights into the immunomodulatory regulation of matrix metalloproteinase at the maternal-fetal interface during early pregnancy and pregnancy-related diseases. *Front Immunol*. 2023 Jan 9;13:1067661.
15. Zhou J, Yan P, Ma W, Li J. Cytokine modulation and immunoregulation of uterine NK cells in pregnancy disorders. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2025 Feb;81:40–53.
16. Weng J, Couture C, Girard S. Innate and Adaptive Immune Systems in Physiological and Pathological Pregnancy. *Biology*. 2023 Mar 3;12(3):402.
17. Hussain T, Murtaza G, Kalhoro DH, Kalhoro MS, Yin Y, Chughtai MI, et al. Understanding the Immune System in Fetal Protection and Maternal Infections during Pregnancy. Xu H, editor. *Journal of Immunology Research*. 2022 Jun 24;2022:1–12.
18. Chen H, Chen Y, Zheng Q. The regulated cell death at the maternal-fetal interface: beneficial or detrimental? *Cell Death Discov*. 2024 Feb 26;10(1):100.
19. Moffett A, Shreeve N. Local immune recognition of trophoblast in early human pregnancy: controversies and questions. *Nat Rev Immunol*. 2023 Apr;23(4):222–35.
20. De Los Santos MJ, Alecsandru D. Circulating cytokines during the blastocyst peri-implantation period. *Fertility and Sterility*. 2021 Apr;115(4):905–6.
21. Wei XW, Zhang YC, Wu F, Tian FJ, Lin Y. The role of extravillous trophoblasts and uterine NK cells in vascular remodeling during pregnancy. *Front Immunol*. 2022 Jul 22;13:951482.
22. Kanter JR, Mani S, Gordon SM, Mainigi M. Uterine natural killer cell biology and role in early pregnancy establishment and outcomes. *F&S Reviews*. 2021 Oct;2(4):265–86.
23. Li Q, Sharkey A, Sheridan M, Magistrati E, Arutyunyan A, Huhn O, et al. Human uterine natural killer cells regulate differentiation of extravillous trophoblast early in pregnancy. *Cell Stem Cell*. 2024 Feb;31(2):181-195.e9.

24. Chiokadze M, Bär C, Pastuschek J, Dons'koi BV, Khazhlyenko KG, Schleußner E, et al. Beyond Uterine Natural Killer Cell Numbers in Unexplained Recurrent Pregnancy Loss: Combined Analysis of CD45, CD56, CD16, CD57, and CD138. *Diagnostics*. 2020 Aug 29;10(9):650.
25. Lu X, Cui J, Cui L, Luo Q, Cao Q, Yuan W, et al. The effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transplantation on endometrial receptivity are associated with Th1/Th2 balance change and uNK cell expression of uterine in autoimmune premature ovarian failure mice. *Stem Cell Res Ther*. 2019 Dec;10(1):214.
26. Von Woon E, Greer O, Shah N, Nikolaou D, Johnson M, Male V. Number and function of uterine natural killer cells in recurrent miscarriage and implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2022 Jun 30;28(4):548–82.
27. Yılmaz N, Yıldırım Kopuk Ş, Gacar G, Çorakçı A, Çalışkan E. Role of High Endometrial Natural Killer Cell Concentration in Patients with Recurrent Miscarriage. *anajog*. 2024 Apr 1;1(1):13–9.
28. Kuon R, Weber M, Heger J, Santillán I, Vomstein K, Bär C, et al. Uterine natural killer cells in patients with idiopathic recurrent miscarriage. *American J Rep Immunol*. 2017 Oct;78(4):e12721.
29. Kuon RJ, Vomstein K, Weber M, Müller F, Seitz C, Wallwiener S, et al. The “killer cell story” in recurrent miscarriage: Association between activated peripheral lymphocytes and uterine natural killer cells. *Journal of Reproductive Immunology*. 2017 Feb;119:9–14.
30. Yamada H, Deguchi M, Saito S, Takeshita T, Mitsui M, Saito T, et al. Intravenous immunoglobulin treatment in women with four or more recurrent pregnancy losses: A double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *eClinicalMedicine*. 2022 Aug;50:101527.
31. Tanaka J, Kitashoji A, Fukunaga Y, Kashihara J, Nakano A, Kamizono A. Intravenous Immunoglobulin Suppresses Abortion Relates to an Increase in the CD44^{bright} NK Subset in Recurrent Pregnancy Loss Model Mice. *Biology of Reproduction*. 2016 Aug 11;95(2):37–37.
32. Sung N, Khan SA, Yiu ME, Jubiz G, Salazar MD, Skariah A, et al. Reproductive outcomes of women with recurrent pregnancy losses and repeated implantation failures are significantly improved with immunomodulatory treatment. *Journal of Reproductive Immunology*. 2021 Nov;148:103369.

33. Yang X, Meng T. Is there a Role of Intravenous Immunoglobulin in Immunologic Recurrent Pregnancy Loss? Bayry J, editor. *Journal of Immunology Research*. 2020 Dec 27;2020:1–14.
34. Marchand GJ, Masoud AT, Ulibarri H, Arroyo A, Coriell C, Goetz S, et al. Effect of a 20% intravenous fat emulsion therapy on pregnancy outcomes in women with RPL or RIF undergoing IVF/ICSI: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Transl Res*. 2023 Aug 31;9(4):236–45.
35. Canella PRBC, Barini R, Carvalho PDO, Razolli DS. Lipid emulsion therapy in women with recurrent pregnancy loss and repeated implantation failure: The role of abnormal natural killer cell activity. *J Cellular Molecular Medi*. 2021 Mar;25(5):2290–6.
36. Martini A, Jasulaitis S, Fogg L, Uhler M, Hirshfeld-Cytron J. Evaluating the utility of intralipid infusion to improve live birth rates in patients with recurrent pregnancy loss or recurrent implantation failure. *J Hum Reprod Sci*. 2018;11(3):261.
37. Boomsma CM, Kamath MS, Keay SD, Macklon NS. Peri-implantation glucocorticoid administration for assisted reproductive technology cycles. Cochrane Gynaecology and Fertility Group, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 2022 Jun 30 [cited 2025 Apr 2];2022(6). Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD005996.pub4>
38. Solano ME, Arck PC. Steroids, Pregnancy and Fetal Development. *Front Immunol*. 2020 Jan 22;10:3017.
39. Sun Y, Cui L, Lu Y, Tan J, Dong X, Ni T, et al. Prednisone vs Placebo and Live Birth in Patients With Recurrent Implantation Failure Undergoing In Vitro Fertilization: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2023 May 2;329(17):1460.
40. Hou Z, Jiang F, Yang J, Liu Y, Zha H, Yang X, et al. What is the impact of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in subcutaneous injection or intrauterine infusion and during both the fresh and frozen embryo transfer cycles on recurrent implantation failure: a systematic review and meta-analysis? *Reprod Biol Endocrinol*. 2021 Dec;19(1):125.
41. Zhang JY, Wu P, Chen D, Ning F, Lu Q, Qiu X, et al. Vitamin D Promotes Trophoblast Cell Induced Separation of Vascular Smooth Muscle Cells in Vascular Remodeling via Induction of G-CSF. *Front Cell Dev Biol*. 2020 Dec 22;8:601043.

42. Su Q, Pan Z, Yin R, Li X. The value of G-CSF in women experienced at least one implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Front Endocrinol.* 2024 Apr 16;15:1370114.
43. Garmendia JV, De Sanctis CV, Hajdúch M, De Sanctis JB. Exploring the Immunological Aspects and Treatments of Recurrent Pregnancy Loss and Recurrent Implantation Failure. *IJMS.* 2025 Feb 3;26(3):1295.
44. Sharara FI, Lelea LL, Rahman S, Klebanoff JS, Moawad GN. A narrative review of platelet-rich plasma (PRP) in reproductive medicine. *J Assist Reprod Genet.* 2021 May;38(5):1003–12.
45. Aghajanova L, Zhang A, Lathi RB, Huddleston HG. Platelet-rich plasma infusion as an adjunct treatment for persistent thin lining in frozen embryo transfer cycles: first US experience report. *J Assist Reprod Genet.* 2024 Feb;41(2):483–91.
46. Deng H, Wang S, Li Z, Xiao L, Ma L. Effect of intrauterine infusion of platelet-rich plasma for women with recurrent implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology.* 2023 Dec 31;43(1):2144177.
47. Huang C, Ye X, Ye L, Lu L, Liu F. Platelet-Rich Plasma Intrauterine Infusion as Assisted Reproduction Technology (ART) to Combat Repeated Implantation Failure (RIF): A Systematic Review and Meta-Analysis. *ijph* [Internet]. 2023 Aug 17 [cited 2025 Apr 2]; Available from: <https://publish.kne-publishing.com/index.php/ijph/article/view/13394>
48. Chen X, Zhang T, Liu Y, Cheung WC, Zhao Y, Wang CC, et al. Uterine CD56⁺ cell density and euploid miscarriage in women with a history of recurrent miscarriage: A clinical descriptive study. *Eur J Immunol.* 2021 Feb;51(2):487–9.
49. Zhao Y, Chen X, Zhang T, Chan LKY, Liu Y, Chung JPW, et al. The use of multiplex staining to measure the density and clustering of four endometrial immune cells around the implantation period in women with recurrent miscarriage: comparison with fertile controls. *J Mol Hist.* 2020 Oct;51(5):593–603.
50. Giuliani E, Parkin KL, Lessey BA, Young SL, Fazleabas AT. Characterization of Uterine NK Cells in Women with Infertility or Recurrent Pregnancy Loss and Associated Endometriosis. *American J Rep Immunol.* 2014 Sep;72(3):262–9.