

The Role of Immunotherapy in the Treatment of Recurrent Miscarriage

ARTICLE INFO

Article Type

Review Article

Authors

Sara Rasoul Panah¹, Hamed Mohammadi^{1*}

1- Non-Communicable Diseases Research Center, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

***Corresponding Authors:** Hamed Mohammadi; Non-Communicable Diseases Research Center, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

Received: 22 April, 2023

Accepted: 08 June, 2023

e Published: 30 October 2023

Article History

ABSTRACT

After implantation, the maternal immune system must tolerate the semi-allogeneic embryo for approximately 280 days of human pregnancy. Regulation and adaptation of the immune system is critical during this period, and any disorder in the balance of the immune system leads to reproductive disorders such as recurrent pregnancy loss. Studies show that immunotherapy plays an important role in improving complications caused by the immune system, including recurrent pregnancy loss, and is used as a critical treatment factor of recurrent miscarriage. Various immunomodulatory agents, namely, corticosteroids, tacrolimus, aspirin and heparin and cyclosporins, intravenous immunoglobulins, intralipids, etc., prevent maternal immune system attack to the semi-allogeneic fetus and production and proliferation of cytokines And harmful cells for pregnancy by exerting anti-inflammatory and immunomodulatory effects with different mechanisms. Also, factors such as G-CSF and GM-CSF have a positive effect on the pregnancy process by recruitment and differentiated leukocytes in the placenta tissue and also helping the placenta grow better. This review examines the types of immunotherapies commonly used in the treatment of recurrent miscarriage and future treatments being developed.

Keywords: c

نقش ایمونوترابی در درمان سقط مکرر

سارا رسول پناه^۱، حامد محمدی^{۱*}

^۱ مرکز تحقیقات غیرواگیر دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

چکیده

پس از لانه‌گزینی، سیستم ایمنی مادر باید جنین نیمه آلوژنیک را تقریباً در طول ۲۸۰ روز از بارداری انسان تحمل کند. تنظیم و انطباق سیستم ایمنی در این دوره حیاتی است و هرگونه ناهماهنگی در تعادل سیستم ایمنی، منجر به اختلالات تولید مثلی مانند سقط مکرر می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که ایمونوترابی در بهبود عوارض بارداری ناشی از اختلال سیستم ایمنی از جمله سقط مکرر نقش مهمی دارد و به عنوان یک عامل کلیدی در درمان سقط مکرر به کار می‌رود. عوامل مختلف تعدیل کننده سیستم ایمنی مانند کورتیکواستروئیدها، تاکرولیموس، آسپرین و هپارین و سیکلوسپورین‌ها، ایمونوگلوبولین‌های داخل وریدی، اینترالپیدها و غیره با مکانیسم‌های متفاوت با اعمال اثرات ضدالتهابی و تعدیل کننده سیستم ایمنی از تولید و تکثیر سایتوکاین‌ها و سلول‌های مضر بر بارداری و حمله سیستم ایمنی مادر به جنین نیمه آلوژنیک جلوگیری می‌کنند. همچنین فاکتورهایی مانند G-CSF و GM-CSF با جذب و ایجاد تمایز در لکوسیت‌ها در بافت جفت و همچنین کمک به رشد بهتر جفت تاثیر مثبتی بر روند بارداری می‌گذارند. این مطالعه مروری به بررسی انواع ایمونوترابی‌های رایج در درمان سقط مکرر و درمان‌های در حال توسعه در آینده می‌پردازد.

کلید واژه‌ها: سقط مکرر؛ ایمونوترابی؛ کورتیکواستروئید؛ ایمونوگلوبولین داخل وریدی؛ میکروبیوتا.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۸

*نویسنده مسئول: حامد محمدی؛ مرکز تحقیقات غیرواگیر دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران.

مقدمه

سقط جنین شایع ترین عارضه بارداری است، اما اغلب غیرمنتظره است و می‌تواند ویرانگر و غیرقابل توضیح باشد [۱]. سقط جنین به عنوان یک سقط خود به خودی بارداری که در پیش از هفته ۲۴ بارداری رخ می‌دهد، تعریف می‌شود [۲]. سقط جنین می‌تواند یک رویداد مجزا باشد یا می‌تواند

مکرراً رخ دهد. به طور کلی پذیرفته شده است که از هر ۵ تا ۶ بارداری، ۱ مورد به سقط جنین ختم می‌شود، اما سقط مکرر (RPL) ۱ تا ۲ درصد از زوج‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۳]. سازمان بهداشت جهانی (WHO)، سقط مکرر را به عنوان سقط متوالی به تعداد ≥ 3 قبل از هفته ۲۰ بارداری تعریف می‌کند، در حالی که انجمن آمریکایی پزشکی تولید مثل (ASRM) [۲]، سقط مکرر را پس از دو بار سقط با شواهد بالینی بارداری (شواهد سونوگرافی یا هیستوپاتولوژیک از بارداری) تعریف می‌کند [۴]. سقط مکرر شامل دو نوع سقط مکرر اولیه و ثانویه است. در نوع اولیه فرد بدون اینکه بارداری موفق داشته باشد، چندین سقط متوالی داشته است، اما در نوع ثانویه، سقط‌های متوالی پس از یک بارداری موفق آغاز می‌شوند. نوع اولیه با پیش‌آگهی بدتری همراه است [۷]. هر بارداری شامل یک جنین منحصر به فرد از نظر ژنتیکی و یک آندومتر تازه بازسازی شده است. اگرچه محرک‌های زمینه‌ای ممکن است بین زنان متفاوت باشد، اما احتمال داده می‌شود که مکانیسم‌های پاتولوژیک خاصی برای شروع سقط با هم همراه شوند. در این زمینه چندین ریسک فاکتور برای سقط مکرر شناسایی شده است که شامل، سن مادر، تعداد سقط جنین قبلی، سندرم آنتی فسفولیپید، ناهنجاری مادرزادی رحم (سپتوم رحم)، ناهنجاری‌های اکتسابی رحم (میوم، پولیپ یا چسبندگی رحم)، اندومتريت مزمن و اختلال در تشکیل دسیدوا، کم کاری تیروئید، کاربوتیپ‌های غیر طبیعی والدین، چاقی ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$)، سبک زندگی پرخطر (استرس، سیگار کشیدن و مصرف زیاد الکل) هستند [۸]. با این حال، هیچ ریسک فاکتوری برای سقط جنین در بیش از ۵۰ درصد زنان شناسایی نشده است [۱۱]. از آنجایی که هیچ معیار آزمایشگاهی قطعی برای تشخیص سقط جنین ناشی از سیستم ایمنی وجود ندارد، ایمونوترابی معمولاً در بیمارانی که هیچ علت مشخص دیگری برای سقط مکرر ندارند استفاده می‌شود. این رویکرد درمانی برای افتراق سقط جنین ناشی از عوامل ایمونولوژیک از سایر علل احتمالی سقط استفاده می‌شود.

معیارهای تشخیصی برای رد کردن سایر علل احتمالی سقط مکرر شامل، (۱) کاربوتایپ طبیعی هر دو والد، (۲) تست تحمل گلوکز طبیعی، (۳) حفره طبیعی رحم که توسط عکس برداری رنگی از رحم، سونوگرافی سه بعدی، یا هیستروسکوپی نشان داده شده است، (۴) عملکرد طبیعی تیروئید، (۵) سطح پرولاکتین طبیعی سرم و (۶) آنتی بادی ضد فسفولیپیدی منفی (aPL) [۳]. می‌باشد. سابقه سقط جنین در بارداری‌های بعدی با خطر بیشتری در دوران پیش از زایمان و زایمان همراه است [۱۲]. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که هر سقط قبلی احتمال زنده‌زایی را تا ۲۴ درصد کاهش می‌دهد [۱۵]. بنابراین مهم است که ما علل وقوع سقط مکرر را درک کنیم و زنانی را که ممکن است در معرض خطر سقط جنین باشند، شناسایی کنیم [۱۶]. مطالعه حاضر به بررسی انواع ایمونوترابی سقط مکرر می‌پردازد تا بهترین راهبرد تحقیقات و درمان را برای زنان با سقط مکرر ارائه کند.

^۱ Recurrent pregnancy loss (RPL)
^۱ American Society for Reproductive Medicine (ASRM)
^۳ Anti-phospholipid antibodies (aPL)

درمان‌های مبتنی بر مولکول‌های کوچک

کورتیکواستروئیدها

کورتیکواستروئیدها در سال ۱۹۳۵ کشف شدند و در دهه ۱۹۵۰ توسط سازمان غذا و داروی آمریکا تایید شدند. کورتیکواستروئیدها در فرمول‌های متفاوت برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شوند و اثرات متعددی بر بدن انسان دارند [۱۷]. در میان کورتیکواستروئیدها، پردنیزولون به دلیل اثرات ضد التهابی و تعدیل‌کننده ایمنی به طور گسترده در اختلالات تولید مثلی مرتبط با عوامل ایمنی استفاده می‌شود [۲]. پردنیزولون یک استروئید با کمترین عارضه جانبی است، زیرا فقط مقدار کمی (حدود ۱۰٪) به جنین می‌رسد و قسمت عمده آن در جفت متلاشی می‌شود [۱۹، ۱۸]. مکانیسم‌های عمل پردنیزولون در عوارض بارداری و سقط مکرر که در مطالعات مختلف هم به آن‌ها اشاره شده به شرح زیر است، پردنیزولون سلول‌های کشنده طبیعی رحم (uNK Cells) را در آندومتر قبل از لانه‌گزینی در زنان مبتلا به سقط مکرر کاهش می‌دهد. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد پردنیزولون می‌تواند جذب، فعالیت، لانه‌گزینی (Homing) و تولید سایتوکین‌های مربوط به سلول‌های کشنده طبیعی رحم را تغییر دهد [۲۰] و عملکرد و فعالیت سایتوتوکسیته این سلول‌ها را کاهش دهد [۲۱، ۲۲]. پردنیزولون با سرکوب لئوسیت‌های T کمکی نوع ۱ (Th1) ترشح سایتوکاین‌های مرتبط با این سلول‌ها را در جفت کاهش می‌دهد و لئوسیت‌های T کمکی نوع ۲ (Th2) و سلول‌های T تنظیمی (Tregs) را ارتقا می‌بخشد و بدین وسیله منجر به کاهش نسبت Th1/Th2 می‌شود [۲۳-۲۵]. همچنین پردنیزولون در زنان با سقط مکرر بیان فاکتور رشد رگ‌زایی آندومتر را تغییر می‌دهد و بلوغ عروق خونی را کاهش می‌دهد [۲۶]. علاوه بر این تجویز پردنیزولون با دوز پایین نتیجه بارداری را در بیماران مبتلا به سندرم آنتی فسفولیپید که سقط جنین مرتبط با این سندرم را تجربه کردند، بهبود بخشیده است [۲۷-۲۹]. به نظر می‌رسد ترکیب کورتیکواستروئیدها با سایر عوامل مزایای بالینی بیشتری را فراهم می‌کند. به عنوان مثال، در یک کارآزمایی بالینی انجام شده در دو گروه مختلف با ترکیبی از آسپرین و هیپارین، در گروه اول با ۲۰ میلی گرم پردنیزولون و در گروه دوم بدون پردنیزولون، مزایای قابل توجهی در میزان زنده‌زایی مشاهده شد: به ترتیب در گروه اول ۵۲ تولد از ۷۴ بیمار (۷۰٪) در مقایسه با ۷ تولد از ۷۶ بیمار (۹٪) در گروه دوم [۳۰]. با این حال، به دلیل عوارض جانبی پردنیزولون، مانند خطر بالای ابتلا به دیابت و فشار خون بالا در بارداری و خطر زایمان زودرس، دستورالعمل‌ها استفاده از پردنیزولون را تا زمانی که مطالعات بیشتر در دسترس نباشد، توصیه نمی‌کنند [۳۱]. دستورالعمل انجمن زنان و زایمان و مامایی آلمان / اتریش / سوئیس (DGGG / OEGGG / SGGG) همانند

Uterine Natural Killer Cells (uNK Cells)⁴
Regulatory T Cells (Tregs)⁵
Austrian Society of Gynaecology and Obstetrics (OEGGG)⁶
Swiss Society of Gynaecology and Obstetrics (SGGG)⁷
German Society of Gynaecology and Obstetrics (DGGG)⁸

دستورالعمل انجمن اروپایی تولیدمثل انسان و جنین‌شناسی (ESHRE)^۹ استفاده درمانی از کورتیکواستروئیدها را فقط برای بیماران مبتلا به بیماری‌های خود ایمنی از قبل پیشنهاد می‌کنند تا از بروز عوارض جانبی قابل توجه در ارتباط با استفاده از کورتیکواستروئیدها در دوران بارداری جلوگیری شود [۳۲، ۳۳].

تاکرولیموس

تاکرولیموس^{۱۰} که در ابتدا با نام FK506 شناخته می‌شد، آنتی بیوتیکی ماکرولیدی است، که از استرپتومایسس تسوکوبانسیس^{۱۱}، یک قارچ خاکی در ژاپن در سال ۱۹۸۴ کشف شد [۳۴] و اولین بار در سال ۱۹۹۰ در بیماران تحت پیوند کبد مورد استفاده قرار گرفت [۳۴]. تاکرولیموس یک عامل سرکوب‌کننده سیستم ایمنی است که بوسیله کاهش حساسیت گیرنده‌های سیستم ایمنی نسبت به آلو آنتی‌ژن‌های دهنده منجر به مهار پس زدن پیوند آلوگرفت می‌شود و مانع تولید، تکثیر و در نهایت فعال شدن سلول‌های ایمنی درگیر در این زمینه می‌شود [۳۵]. علاوه بر این، مطالعات مختلف حاکی از این هستند که تاکرولیموس در بیماری پیوند علیه میزبان (GVHD) و اختلالات خودایمنی مانند آرتریت روماتوئید و بیماری‌های التهابی دژنراتیو مغز نیز مؤثر است [۳۶]. گزارش‌های متعددی مبنی بر بی‌خطر بودن تاکرولیموس در دوران بارداری وجود دارد و ثابت شده تاکرولیموس برای کنترل وضعیت ایمنی در زنان باردار تحت پیوند عضو یا مبتلا به بیماری‌های خودایمنی ضروری است [۳۷-۴۰]. تاکرولیموس بصورت مستقیم و غیرمستقیم بر لانه‌گزینی و سرکوب واکنش سیستم ایمنی مادر به جنین و ایجاد تحمل ایمنی نسبت به جنین برای رسیدن به بارداری موفق، اثر می‌گذارد [۴۱]. در واقع تاکرولیموس به پروتئین اتصالی به FK506 (ایمونوفیلین^{۱۲} FKBP12) متصل می‌شود و متعاقب ایجاد کمپلکس با کلسینورین^{۱۳}، از تولید IL-2، IFN- γ ، TNF α ، IL-1 β و IL-6 و فعال شدن و تکثیر لئوسیت T جلوگیری می‌کند [۳]. تاکرولیموس با اتصال به گیرنده پروژسترون منجر به فعال شدن این گیرنده و القای بلوغ سلول‌های اپیتلیوم آندومتر می‌شود و در نهایت گالکتین-۱^{۱۴} تولید شده از این سلول‌ها باعث القای آپوپتوز Th1، tDC و NK رحمی در سلول‌های اپیتلیال آندومتر بالغ می‌شود [۴۲-۴۴].

European Society of Human Reproduction and Embryology^۹
(ESHRE)
Tacrolimus^{۱۰}
Streptomyces Tsukubaensis^{۱۱}
immunophilin^{۱۲}
Calcineurin^{۱۳}
Galectin-1^{۱۴}

در آن دخیل هستند. آسپرین و هپارین هر دو اثر مفیدی بر انعقاد و التهاب دارند که منجر به کاهش خطر سقط جنین در APS می‌شوند^[۵۵] و به عنوان اولین خط درمانی برای سقط مکرر حاملگی مرتبط با آنتی‌بادی‌های آنتی فسفولیپید بکار می‌روند^[۵۶]. مطالعات مختلف همچنین تأثیر مثبت ترکیب آسپرین و هپارین را در عوارض بارداری مربوط به APS گزارش کرده‌اند^[۵۷]. در مطالعه‌ای که در دو گروه برای درمان سقط مکرر مرتبط با آنتی‌بادی‌های آنتی فسفولیپیدی انجام شده، دیده شده بیماران که تحت درمان با آسپرین و هپارین قرار گرفته‌اند در مقایسه با بیماران که فقط از آسپرین استفاده کرده‌اند نتیجه بسیار بهتری در نرخ زنده‌زایی داشتند (۸۰٪ در مقابل ۴۴٪)^[۵۸ و ۵۹]. در مطالعه دیگری با مقایسه میزان زنده‌زایی در زنان تحت درمان با هپارین و در مقابل آسپرین و پردنیزون و آسپرین، ۷۵ درصد نرخ زنده‌زایی در هر دو گروه مشاهده شد. با این حال، هم زایمان زودرس همراه با پارگی زودرس غشاهای کیسه آمنیوتیک و هم پره‌اکلامپسی در زنان باردار تحت درمان با پردنیزون و آسپرین در مقایسه با هپارین و آسپرین به طور معنی‌داری بیشتر بود^[۵۶]. با این حال، تحقیقات بیشتری در مورد کارایی درمان با هپارین به تنهایی یا همراه با آسپرین در هر دو موارد ترومبوفیلی شناخته شده و ناشناخته مورد نیاز است تا مزایای بالقوه این استراتژی درمانی بیشتر ارزیابی شود و در مورد درمان ایده آل توافق حاصل شود^[۱۳].

سیکلواسپورین

سیکلواسپورین^{۱۷} یکی از اصلی‌ترین عوامل سرکوب کننده سیستم ایمنی است که پس از پیوند آلوزنیک برای کاهش واکنش پذیری سیستم ایمنی گیرنده استفاده می‌شود^[۶۰]. سیکلواسپورین همچنین در درمان برخی از بیماری‌های خود ایمنی مانند لوپوس اریتماتوز سیستمیک^{۱۸} و آرتریت روماتوئید مفید است^[۶۱ و ۶۲]. سیکلواسپورین هم ایمنی هومورال و هم ایمنی سلولی را مختل می‌کند و با مهار مسیرهای سیگنالینگ وابسته به کلسیم از بیان IL-2، TNF- α و IFN- γ و تکثیر سلول‌های T جلوگیری می‌کند^[۶۳]. مطالعات نشان می‌دهند که سیکلواسپورین قادر است میزان تولید IL-4 را افزایش دهد و باعث تغییر پاسخ به Th2 و افزایش آن در رابط مادری-جنینی شوند. همچنین اعتقاد بر این است که تولید سایتوکین‌های مرتبط با Th1 توسط سیکلواسپورین مهار می‌شود^[۶۴]. عملکرد سلول‌های کشنده طبیعی، ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک نیز تحت تأثیر سیکلواسپورین مختل می‌شود^[۳]. در سه ماهه اول بارداری، تولید CXCL12 و CXCR4 توسط سیکلواسپورین از طریق مسیر سیگنالینگ MAPK/ERK1/2 در تروفوبلاست افزایش می‌یابد که منجر به افزایش تکثیر و تهاجم سلول‌های تروفوبلاست و مهار آپوپتوز در این سلول‌ها می‌شود^[۶۵ و ۶۶]. سیکلواسپورین با تنظیم ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ و ۹ (MMP2 و MMP9)^{۱۹} در سه ماهه اول می‌تواند تهاجم

علاوه بر این تاکرولیموس فعالیت سلول‌های Th1، سلول‌های NK/NKT و ماکروفاژها را از طریق مسیر CN-NFAT مهار می‌کند و در ادامه از طریق همین مسیر تمایز imDC به tDC را القا می‌کند و در نتیجه به القای Tregs کمک می‌کند^[۴۷-۴۵]. تاکرولیموس همچنین ممکن است بر سایر بیماری‌های ناشی از ناهنجاری‌های ایمنی مربوط به مادر و جنین و همچنین ساختار و عملکرد جفت تأثیر بگذارد و بنابراین ممکن است از تأخیر رشد جنین و فشار خون بالا در بارداری جلوگیری کند^[۴۸].

در ارزیابی بالینی انجام شده در یک بیمار مبتلا به سقط مکرر با سابقه ۱۱ سقط متوالی به ترتیب بین هفته‌های ۵ تا ۸ بارداری تحت درمان با آسپرین در دوز پایین، هپارین، پردنیزولون (۵ میلی‌گرم در روز)، ایمونوگلوبولین وریدی (۱ گرم بر کیلوگرم هر ۳ روز) قرار گرفت و بارداری موفق مشاهده نشد. با این حال، همین بیمار پس از درمان مداوم با تاکرولیموس (۲ میلی‌گرم در روز) در طول بارداری، بدون هیچ درمان دیگری، بارداری موفق را به پایان رساند^[۴۹]. تعیین وضعیت ایمنی در رحم بر اساس اطلاعات خون محیطی مادر دشوار است. مشکل درمان تاکرولیموس در بیماران با سقط مکرر این است که تغییرات در جمعیت سلولی رحمی بلافاصله پس از درمان تاکرولیموس در خون محیطی ظاهر نمی‌شود و اگرچه وضعیت ایمنی مزمن کل بدن روی رحم تأثیر می‌گذارد، اما وضعیت رحم به راحتی در کل بدن منعکس نمی‌شود. در برخی موارد، تغییرات ممکن است وجود نداشته باشند یا ضعیف باشند یا پس از سقط جنین ظاهر شوند و حتی ممکن است فعالیت این سلول‌ها در رحم سرکوب شود و ریسک آلودگی به عفونت افزایش یابد^[۵۰ و ۵۱]. بنابراین، با وجود اینکه سرکوب سیستم ایمنی با تاکرولیموس ممکن است یک درمان امیدوارکننده برای ناباروری باشد اما تحقیقات اضافی، از جمله کارآزمایی‌ها و مطالعات بیشتر جهت تعیین دوز قطعی تاکرولیموس مورد نیاز و شناسایی معیارهای تشخیصی دقیق که قادر به انعکاس به موقع فعل و انفعالات جنین و مادر هستند، ضروری است که انجام شوند^[۴۸].

آسپرین و هپارین

آسپرین و هپارین (اعم از هپارین تجزیه نشده یا با وزن مولکولی کم) داروهای ضد ترومبوز هستند که اغلب با هدف جلوگیری از لخته شدن بیش از حد خون تجویز می‌شوند. آسپرین که به نام استیل سالیسیلیک اسید^{۱۵} نیز شناخته می‌شود، از تشکیل ترومبوسان A2^{۱۶} و تجمع پلاکت‌ها جلوگیری می‌کند^[۵۲ و ۵۳]. هپارین‌ها با اتصال به آنتی ترومبین، منجر به فعال شدن قوی این آنزیم و مهار ترومبوز می‌شوند^[۵۴]. به طور کلی فرض بر این است که عوارض بارداری در سندرم آنتی فسفولیپید (APS) نتیجه یک حالت انعقادی بیش از حد در عروق جفت است که نهایتاً منجر به ترومبوز می‌شود. اخیراً مکانیسم پاتوفیزیولوژیکی پیچیده‌تری در این باره توصیف شده که هم سیستم انعقادی و هم التهاب

Cyclosporine^{۱۷}
Systemic Lupus Erythematosus (SLE)^{۱۸}
Matrix metalloproteinases (MMPs)^{۱۹}

Acetylsalicylic Acid (ASA)^{۱۵}
Thromboxane A2 (TxA2)^{۱۶}

۵. افزایش تولید CXCR4 و CXCL12 از طریق مسیر سیگنالینگ MAPK/ERK1/2 در تروفوبلاست		
۶. بهبود تهاجم تروفوبلاست با تنظیم ماتریکس متالوپروتئیناز ۲ و ۹		
۷. اختلال در عملکرد سلولهای NK، DC و ماکروفاژها		

درمان‌های مبتنی بر مولکول‌های بزرگ

ایمونوگلوبولین داخل وریدی (IVIg)

IVIg²⁰ یک عامل تعدیل کننده ایمنی است که از آنتی‌بادی‌ها و اتوآنتی‌بادی‌های طبیعی، قطعات Fab از IgG، آنتی‌بادی‌های ضد عوامل آنتی‌ژنی باکتری‌ها و سایتوکین‌های مختلف تخلیص شده از پلاسماهای ۱۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰ اهداکننده سالم تهیه می‌شود [۷۳ و ۷۴]. اولین بار در سال ۱۹۸۱ برای کاهش ترومبوسیتوپنی ناشی از ایمنی در بیماران مبتلا به نقص ایمنی اولیه و ثانویه استفاده شد [۷۳] و متعاقباً در اختلالات مانند بیماری کاوازاکی، مولتیپل اسکلروزیس، درماتومیوزیت، اختلالات بارداری و بیماری پیوند در مقابل میزبان (GVHD)²¹ مورد استفاده قرار گرفت [۷۴ و ۷۵]. مکانیسم‌های متعددی برای جلوگیری از سقط بارداری دارد. مطالعات گزارش کرده‌اند که IVIg با اثر ضد التهابی خود منجر به مهار قابل توجه در تولید سایتوکین‌های پیش التهابی IL-2، IL-10، TNF- α و IFN- γ می‌شود [۷۶] که تصور می‌شود این عمل بواسطه وجود تداخل با ترشح سایتوکین یا آنتی‌بادی‌های مسدود کننده خاص رخ می‌دهد [۷۷] یا به دلیل تعامل با سیستم کمپلمان باشد که این روند از آسیب به جفت در بیماران دارای سندرم آنتی فسفولیپید که سیستم کمپلمان موضعی فعالی دارند که جفت را مورد هدف قرار می‌دهد و منجر به سقط جنین و تاخیر رشد و آسیب به جفت می‌شود جلوگیری می‌کند [۷۸] (این مکانیسم در حیوانات آزمایشگاهی تایید شده و در انسان‌ها نشان داده نشده است) [۷۹]. همچنین گزارشات دیگر نشان می‌دهند که IVIg نسبت سلول‌های تولید کننده سایتوکین‌های ضد التهابی را افزایش می‌دهد و عملکرد کشندگی سلولی سلول‌های NK خون محیطی را کاهش می‌دهد [۸۰ و ۸۱]. آزمایشات دیگر نشان داده‌اند که آنتی‌بادی‌های نامتقارن (Assymetric IgG) در سرم زنان با حاملگی طبیعی یافت شده است. آن‌ها با فعالیت خاص به آنتی‌ژن‌های پدري جفت متصل می‌شوند و دیده شده در سقط مکرر، سطح این آنتی‌بادی‌ها پایین تر است، اما IVIg سطوح این آنتی‌بادی‌ها را به سطح طبیعی برمی گرداند [۸۲]. اکثر عوارض جانبی خفیفی دارد و عوارض جانبی جدی نادر است که این معمولاً به سرعت تزریق مربوط می‌شود. واکنش‌های حساسیتی شدید که شامل تب، استفراغ، سردرد، لرز، بثورات پوستی و غیره هستند، به ندرت رخ می‌دهند و اکثر این علائم با کاهش سرعت تزریق عود می‌کنند. گزارش‌هایی از ترومبوز در زنان مبتلا

Intravenous Immunoglobulin (IVIg)²⁰
Graft-Versus-Host Disease (GvHD)²¹

تروفوبلاست را بهبود بخشد [۶۶]. در یک مطالعه انجام شده بر روی اثرات سرکوب‌کننده‌های ایمنی خوراکی بر پیامد حاملگی بیماران سقط مکرر، نتیجه گیری شد که سیکلوسپورین یا پردنیزولون می‌توانند به طور قابل توجهی میزان زنده‌زایی را در بیماران سقط مکرر افزایش دهند و میزان سقط جنین پس از این درمان را کاهش دهند [۶۷]. در مطالعه دیگری بر روی بیماران با سقط مکرر خود به خودی مقاوم در برابر ایمنی که دارای سندرم آنتی بادی فسفولیپیدی بودند، پس از درمان‌های ناموفق با آسپرین، پردنیزون، هپارین، لئوسیت‌تراپی و ایمونوگلوبولین داخل وریدی با سیکلوسپورین درمان شدند. سیکلوسپورین قادر به کاهش تیتراژ آنتی‌بادی‌ها در این بیماران بود و همچنین به میزان ۷۶/۹۲ درصد بارداری موفق‌تری دیده شد [۶۸]. هیچ عوارض جانبی و پیامد نامطلوبی در بارداری هنگام استفاده از سیکلوسپورین گزارش نشده است [۶۹]. با توجه به شواهد محدود در مورد کارایی و کیفیت درمان سیکلوسپورین، هنوز این درمان برای بیماران توصیه نمی‌شود و استفاده از آن در حال حاضر

باید به آزمایشات بالینی محدود شود [۴].

جدول ۱. انواع روش‌های ایمونوتراپی مبتنی بر مولکول‌های کوچک در زنان با سقط مکرر

روش ایمونوتراپی (منابع)	تعریف	مکانیسم عمل
کورتیکواستروئید (۷۰، ۲۳-۲۵، ۱۸)	داروی استروئیدی ضدالتهابی و تعدیل کننده ایمنی	۱. کاهش تعداد و سمیت سلول‌های کشنده ی طبیعی رحم ۲. کاهش نسبت Th1/Th2 ۳. کاهش سایتوکین‌های تولیدی سلول‌های Th1 ۴. افزایش سایتوکین‌های تولیدی سلول‌های Th2 ۵. افزایش نسبت سلول‌های T تنظیمی
تاکرولیموس (FK506) (۳، ۲۴، ۳۵-۴۲، ۴۷)	یک عامل سرکوبگر سیستم ایمنی است که برای مهار رد پیوند آلوگرافت، که حساسیت سیستم ایمنی گیرنده نسبت به پیوند را کاهش می‌دهد	۱. مهار مسیر Calcineurin/Calmodulin/NF AT ۲. جلوگیری از تولید IFN- γ ، IL-2، IL-1 β ، TNF α و IL-6 و فعال شدن و تکثیر لئوسیت T ۳. القای آپوپتوز tDC، Th1 و NK ۴. القای تمایز imDC به tDC و القای Tregs
آسپرین و هپارین (۷۱، ۵۴، ۵۵، ۷)	داروهای ضد ترومبوز هستند که اغلب با هدف جلوگیری از لخته شدن بیش از حد خون تجویز می‌شوند	۱. جلوگیری از تشکیل ترومبوکسان A2 و تجمع پلاکت‌ها ۲. مهار ترومبوز با اتصال به آنتی ترومبین و فعال کردن آن
سیکلوسپورین (۶۰، ۶۶-۶۳)	یک عامل سرکوب کننده سیستم ایمنی، که مسیر کلسینورین/کالمودولین/NF-AT را مهار می‌کند	۱. مهار مسیر Calcineurin/Calmodulin/NF AT ۲. جلوگیری از بیان IL-2، TNF- α و IFN- γ و تکثیر سلول‌های T ۳. افزایش میزان تولید IL-4 و در ادامه تاثیر بر تولید Th2 ۴. مهار تولید تولید سایتوکین‌های مرتبط با Th1

۳-۲. آنتی (Anti-TNF) TNF

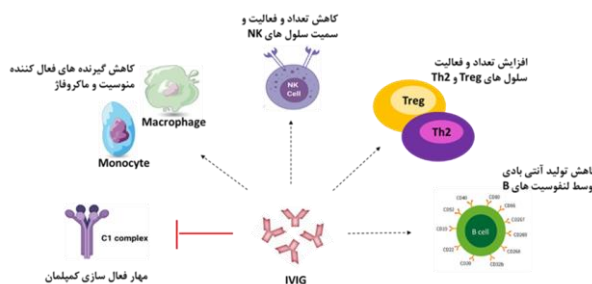
در حاملگی‌های طبیعی، تغییر فنوتیپ Th1 (پیش‌تهایی) به فنوتیپ Th2 (ضد‌تهایی) اتفاق می‌افتد [۸۸]. غلبه سلول‌های Th1 منجر به پره‌اکلامپسی، زایمان زودرس، محدودیت رشد داخل رحمی و سقط مکرر می‌شود. در سقط مکرر افزایش بیان سایتوکین‌های تولیدی سلول‌های Th1 رخ می‌دهد و فاکتور نکروزدهنده تومور-آلفا (TNF- α) [۲۲] سایتوکین اصلی تولیدی این سلول است که تأثیر نامطلوبی بر لقاح و شکست لانه‌گزینی دارد [۸۹]. در واقع، TNF- α با افزایش بیان پروتئین شبه فیبرینوژن ۲ (FGL2)، یک پروترومبیناز [۲۳] مرتبط با فیبرینوژن، که باعث سنتز ترومبین، رسوب فیبرین و فعال شدن جزء C5 کمپلمان و نوتروفیل‌ها می‌شود و به این وسیله در سقط جنین با واسطه ترومبوز نقش دارد [۹۰]. داروهای ضد TNF- α سایتوکین TNF- α را هدف قرار می‌دهند و برای درمان اختلالات خود ایمنی، مانند آرتریت روماتوئید استفاده می‌شوند. این داروها، از جمله Adalimumab (آنتی بادی مونوکلونال ایمونوگلوبولین G1 نوترکیب انسانی علیه TNF- α) یا Humira و Etanercept (پروتئین فیوژن Fc دایمریک)، التهاب را کاهش می‌دهند. امروزه از این آنتی‌بادی‌ها در درمان اختلالات مختلف مانند سقط جنین استفاده می‌شود [۹۱]. بیشتر مطالعات در مورد Adalimumab نشان می‌دهد که این ماده قادر است نسبت TNF- α /IL-10 را کاهش دهد و این باعث افزایش میزان موفقیت بارداری می‌شود [۹۲ و ۹۳]. به ویژه زمانی که این دارو در زمان لانه‌گزینی وجود داشته باشد [۹۴]. در مطالعه دیگر مشاهده شد که Etanercept می‌تواند سطوح TNF- α و فعالیت سلول‌های NK را کاهش دهد و نرخ زنده‌زایی را در بیماران سقط مکرر خودبخود با ناهنجاری‌های ایمونولوژیک افزایش دهد [۹۵]. مسدود کننده‌های TNF- α دسته جدیدی از داروها هستند، بنابراین هنوز نکات مبهمی در ارتباط با آن‌ها وجود دارد که باعث ایجاد این علامت سوال می‌شود که فواید آن‌ها بیشتر است یا اثرات نامطلوب‌شان؟ [۹۶].

۳-۳. فاکتور محرک کلنی گرانولوسیتی (G-CSF)

G-CSF [۲۴] یک پلی‌پپتید ۱۷۷ آمینواسیدی با وزن مولکولی حدود ۲۵ کیلو دالتون است که گرانولوسیت‌های عمدتاً پلی‌مورفونکلتر را تحریک می‌کند و بر تکثیر و تمایز آن‌ها تأثیر می‌گذارد [۹۷] و گیرنده‌های با میل ترکیبی بالا به نام G-CSFR یا c-fms از ۱۸۳ آمینواسید با وزن مولکولی تقریباً ۱۴ کیلو دالتون، در سطح سلول هدفش دارد [۹۸]. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که این سایتوکین و رسپتورش بر روی سلول‌های تروفوبلاست و سلول‌های استرومایی دسیدوای پستانداران از جمله انسان بیان می‌شوند [۹۸ - ۱۰۱]. در چندین مطالعه آزمایشگاهی و در مدل‌های حیوانی نشان داده شده است که G-CSF تأثیر مثبتی بر رشد

به ترومبوفیلی ارثی، سندرم آنتی فسفولیپید یا سایر حالت‌های پروترومبوتیک به دنبال انفوزیون IVIG وجود دارد. بنابراین، در این بیماران یک ضد انعقاد مانند هپارین با وزن مولکولی کم باید همزمان با IVIG تجویز شود [۸۳]. نارسایی حاد کلیه معمولاً هنگامی که یک داروی IVIG حاوی ساکارز تجویز می‌شود، گزارش شده است. بنابراین، منع مصرف داروهای IVIG حاوی ساکارز در دیابت وجود دارد. خوشبختانه، در حال حاضر تعداد کمی از داروهای IVIG حاوی ساکارز هستند که این مشکل را برطرف می‌کند. نگرانی در مورد انتقال وپروس‌هایی مانند هیپاتیت B و C و HIV وجود دارد. با این حال، روش آماده‌سازی و آزمایش‌ها اهداکنندگان می‌تواند از انتقال وپروس جلوگیری کند. محدودیت اصلی IVIG قیمت بالای آن است [۸۴].

مطالعات متعددی کارایی IVIG را در زنان با سقط مکرر بررسی کرده‌اند. به عنوان مثال، درمان IVIG در بیماران با سقط مکرر با افزایش تعداد و عملکرد سلول‌های NK محیطی منجر به کاهش معنی‌دار در درصد و کشندگی سلولی سلول‌های NK و بیان گیرنده‌های فعال کننده و در مقابل افزایش قابل توجه گیرنده‌های مهاری و بهبود نتیجه ی بارداری شد [۸۵]. بررسی دیگر، تأثیر IVIG را بر تغییر پاسخ‌های Th1 و Th2 در زنان با سقط مکرر ارزیابی کرد. پس از تجویز IVIG، سطح بیان mRNA فاکتور رونویسی و ترشح سایتوکین مربوط به Th1 به طور قابل توجهی کاهش یافت. در مقابل، این پارامترها برای سلول‌های Th2 در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. علاوه بر این، نسبت Th1/Th2 پس از درمان کاهش یافت. ۸۷/۵ درصد از گروه‌های تحت درمان با IVIG و ۴۱/۶ درصد از گروه‌های درمان نشده در این ارزیابی زنده‌زایی داشتند [۸۶]. در جهت افزایش کارآمدی این درمان، تمرکز بر شناسایی زیرمجموعه‌هایی از زنان مبتلا به سقط مکرر خواهد بود که بیشترین سود را از درمان IVIG می‌برند تا پروتکل‌های درمانی قوی‌تری شناسایی شود [۸۷].



شکل ۱. مکانیسم‌های ایمونوگلوبولین داخل وریدی در بهبود سقط مکرر

Tumor Necrosis Factor (TNF)²²
Prothrombinase²³
Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF)²⁴

درمان‌های مبتنی بر سلول لنفوسیت ایمونوتراپی

لنفوسیت ایمونوتراپی (LIT)²⁶ فرآیندی برای حفظ بارداری است که در آن گلبول‌های سفید خون محیطی، که به طور مستقل از شوهر یا یک شخص سوم جمع‌آوری شده‌اند، به مادر تزریق می‌شوند تا سیستم ایمنی برای تحمل آنتی‌ژن‌های جنینی آماده شود^[۱۱۳ و ۱۱۴]. این روش درمانی، برای اولین بار در سال ۱۹۸۱، بر روی چهار بیمار با سقط مکرر بدون دلیل (URPL)²⁷ انجام شد که از این تعداد، سه نوزاد طبیعی و یک نوزاد نارس به دنیا آمد^[۱۱۵]. در این روش نمونه خون، جمع‌آوری شده و لکوسیت‌ها با سانتیفریوژ گرادیان تراکم فایکول Ficoll-Hypaque جدا می‌شوند، سپس لکوسیت‌ها چندین بار شسته شده و در نرمال سالین یا محلول نمکی بافر فسفات (PBS) حل می‌شوند و برای تزریق به میزان کافی آماده می‌شوند^[۱۱۶]. یافته‌ها نشان می‌دهند که تزریق لکوسیت‌ها با ساختار آنتی‌ژنی مشابه سلول‌های تروفوبلاست، سلول‌های ایمنی مادر را به گونه‌ای فعال می‌کند تا جنین را تحمل کند، بنابراین رشد جنین را قبل و بعد از لانه‌گزینی بهبود می‌بخشد^[۱۱۷]. تفاوت بین دو روش ایمن‌سازی با لنفوسیت‌های پدری (PLI)²⁸ و ایمن‌سازی با لنفوسیت شخص ثالث عبارتند از: (۱) مقدار سلول‌های منتقل شده، در شخص ثالث بسیار بیشتر از PLI است^[۱۱۸]. (۲) مسیر ایمن‌سازی در PLI معمولاً زیر جلدی و داخل پوستی است، در حالی که لنفوسیت‌ها به صورت داخل وریدی در شخص ثالث تزریق می‌شوند^[۱۱۸]. (۳) پاسخ‌های ایمونولوژیک سیستم ایمنی مادر در این دو استراتژی متفاوت خواهد بود^[۱۱۸]. نکته ی مهم در این روش دوز و مسیر ایمن‌سازی است. معمولاً برای یک ایمن‌سازی با اثر مطلوب، حداقل ۱۰۶ × ۱۰۰ یا بیش از ۱۰۶ × ۱۰۰ لنفوسیت مورد نیاز است^[۱۱۹ و ۱۲۰]. مسیرهای داخل جلدی (i.d.)، داخل وریدی (i.v.) و به میزان کمتر زیر جلدی (s.c.) و عضلانی (i.m.) برای ایمن‌سازی مؤثر هستند (۱۲۱). اگرچه مکانیسم‌های اساسی LIT برای سقط مکرر هنوز به طور کامل مشخص نشده است، اما فرضیه‌های زیر برای توصیف مکانیسم این روش وجود دارد: تولید عوامل آنتی‌بادی‌های ضد ایدئوتیپی (Ab2)^[۱۲۲]، آنتی‌بادی‌های مسدودکننده واکنش مختلط لنفوسیتی (MLR- Babs یا MLR-BF)^[۱۲۳]، تغییر در الگوی تولید سایتوکین‌ها^[۱۲۴]، تولید آنتی‌بادی‌های سایتوتوکسیک علیه پدر (APCAs)^[۱۲۴] و فاکتور مسدود کننده ناشی از پروژسترون (PIBF)^[۱۲۵] به احتمال زیاد می‌توانند از جنین در برابر اثرات توکسیک سیستم ایمنی مادر جلوگیری کنند و همچنین با متعادل کردن تغییرات Th2 و جلوگیری از فعالیت بیش از حد سلول‌های NK، بارداری را موفق

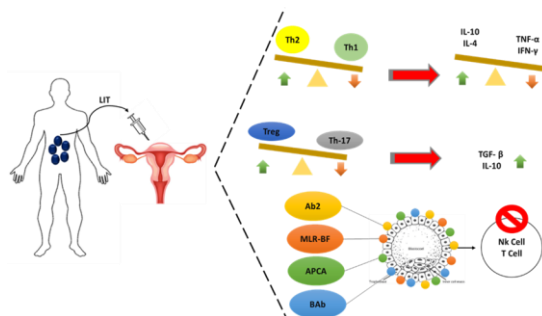
تروفوبلاست و متابولیسم جفت دارد^[۱۰۳ و ۱۰۲]. علاوه بر این نقش ضد سقط جنین نیز در مدل‌های حیوانی بررسی شده و دیده شده فقدان-G-CSF به طور غیر مستقیم در سقط‌های اولیه دخیل هست و منجر به سقط مکرر و افزایش میزان پره‌اکلامپسی می‌شود^[۹۹ و ۱۰۴-۱۰۶]. نشان داده شده است که تخمک‌گذاری انسان تحت تأثیر G-CSF است. این سایتوکین از طریق نقش حیاتی خود در تکثیر سلول‌های کورویونی و فرآیند لانه‌گزینی بر مراحل اولیه بارداری تأثیر می‌گذارد. مطالعات دیگر نشان داد که بسیاری از سلول‌های ایمنی تحت تأثیر این سایتوکین قرار می‌گیرند، زیرا این سایتوکین تعداد سلول‌های Treg را افزایش می‌دهد^[۱۲۶]، پاسخ‌های Th2 را با افزایش تولید IL-4 تقویت می‌کند^[۱۰۷]، سلول‌های دندرتیک و سلول‌های اندوتلیال را فعال می‌کند، تولید، تکثیر و عملکرد سلول‌های NK را از راه‌های مختلف کاهش می‌دهد^[۱۰۶]. علاوه بر این تزریق موضعی و داخل رحمی این سایتوکین نیز منجر به ضخیم شدن آندومتر می‌شود که این موضوع در زنان با آندومتر نازک نیز تأثیرگذار خواهد بود^[۱۰۸]. باتوجه به هزینه ارزان G-CSF و عدم ایجاد ناهنجاری در نوزاد و عوارض جانبی جزئی در مادر، با وجود گوناگونی در نتایج و مطالعات، G-CSF این پتانسیل را دارد که به یک رویکرد امیدوارکننده در مدیریت اختلالات تولید مثلی تبدیل شود. با این وجود، تجویز G-CSF برای بهبود نتیجه بارداری و تغییرات ایمونولوژیک در بیماران با سقط مکرر، نیاز به تحقیقات با کیفیت بالا و بیشتری دارد^[۹۰].

۳-۴. فاکتور محرک کلنی گرانولوسیتی - ماکروفاژی (GM-CSF)

GM-CSF²⁵ یک سایتوکین است که توسط لنفوسیت‌های T، ماکروفاژها، سلول‌های اندوتلیال و فیبروبلاست‌ها تولید می‌شود و تمایز، بقا و فعال شدن گرانولوسیت‌ها و ماکروفاژها را تحریک می‌کند^[۱۰۹]. همچنین توسط سلول‌های اپیتلیال غدد یا لومن رحم در طول بارداری تولید می‌شود، علاوه بر این، تروفوبلاست‌های جفتی گیرنده GM-CSF را بیان می‌کنند^[۹۰]. در جذب لکوسیت برای بازسازی بافت رحم، تعدیل سیستم ایمنی مادر برای جلوگیری از طرد جنین و حمایت از رشد جنین نقش دارد^[۱۱۰]. مطالعات اخیر سطوح خونی پایین‌تر این سایتوکین را در بیماران مبتلا به سقط مکرر ارزیابی کرده‌اند، که نشان می‌دهد کمبود GM-CSF ممکن است منجر به پیامدهای مضر بارداری شود^[۱۱۱]. تحقیقات نشان داده‌اند که افزودن GM-CSF به محیط کشت جنین، بقای جنین منتقل شده، نرخ لانه‌گزینی و نرخ زنده‌زایی را افزایش می‌دهد^[۱۱۲]. با توجه به اثرات مثبت GM-CSF بر تولید مثل انسان، ممکن است این سایتوکین در زنان مبتلا به اختلالات تولید مثل مؤثر باشد. با این حال، مطالعات محدودی برای ارزیابی اثر GM-CSF در بیماران سقط مکرر وجود دارد، که اهمیت مطالعات بیشتر در مقیاس بزرگتر را برجسته می‌کند^[۳].

Lymphocyte Immunization Therapy (LIT)²⁶
Unexplained Recurrent Pregnancy Loss (URPL)²⁷
Paternal Lymphocyte Immunization Therapy (PLI)²⁸

Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF)²⁵



شکل ۲. مکانیسم احتمالی لنفوسیت ایمنوتراپی که منجر به افزایش باروری در زنان با سابقه سقط مکرر می‌شود. LIT باعث تولید آنتی‌بادی‌های ضد ایدوبوتایی (Ab2)، آنتی‌بادی‌های مسدودکننده واکنش مختلط لنفوسیتی (MLR-Babs یا MLR-BF)، آنتی‌بادی‌های سایتوتوکسیک علیه پدر (APCAs) و فاکتور مسدود کننده ناشی از پروسترون (PIBF) می‌شود که می‌تواند آنتی‌ژن لکوسیت انسانی پدري (HLA) را در سطح جنین بپوشاند و در نتیجه از حمله سلول‌های T و NK مادری جلوگیری کند. علاوه بر این، LIT به طور قابل توجهی Th1 و Th17 را کاهش می‌دهد و سطح Th2 و Treg را افزایش می‌دهد و در نتیجه منجر به تغییرات سایتوکاینی خواهد شد که به نفع بارداری هستند. به طور کلی، LIT سیستم ایمنی مادر را تعدیل می‌کند تا از جنین محافظت کند و بارداری را موفق کند.

پلاسمای غنی از پلاکت (PRP)

پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) ³¹ یک محصول بیولوژیک اتولوگ است که حاوی پلاکت در پلاسمای غلیظ است ^[۱۳۲]. فاکتورهای PRP عبارتند از: PDGF, TGF-β, VEGF, FGF, HGF, EGF, سروتونین، آدنوزین، کلسیم، دوپامین، هیستامین، دی‌فسفات، کاتکول‌آمین‌ها، IGF I, II, CTGF, IL-1 و IL-8 ^[۱۳۳-۱۳۵]. کموکاین‌ها، سایتوکاین‌ها و فاکتورهای رشد موجود در PRP ممکن است شرایط آندومتر را بهبود بخشند و منجر به آنژیوژنز، ساخت دسیدوا و ادامه بارداری در شرایط مناسب شوند. رگ‌زایی مناسب برای تشکیل شبکه مویرگی دسیدوا، رشد جنینی و ادامه بارداری بسیار مهم است. بنابراین، رشد و نمو ناکافی عروق، که منجر به هیپوکسی و جریان خون ناکافی می‌شود، ممکن است در سقط مکرر دخیل باشد ^[۱۳۶]. عوامل متعدد رگ‌زایی نقش اساسی در ساخت عروق پرزهای کوریونی و دسیدوا دارند. گزارش شده است که عواملی مانند TGF-β, PDGF و VEGF در آندومتر زنان با سابقه سقط مکرر دچار اختلال می‌شوند ^[۱۳۷-۱۴۰]. تغییر در نسبت غلظت فاکتورهای رشد در رحم می‌تواند باعث اختلال در تنظیم ساخت دسیدوا و لانه‌گزینی شود. PRP نسبت‌های فیزیولوژیکی طبیعی فاکتورهای رشد، کموکاین‌ها و سایتوکاین‌ها را در آندومتر حفظ می‌کند. عناصر موجود در PRP، از جمله VEGF, IGF, FGF, TGF-β و IL-1 نقش اساسی در رگ‌زایی و

می‌کنند ^[۱۳۶]. APCA, MLR-Bf و Ab2 ها می‌توانند مولکول‌های آنتی‌ژن لکوسیت انسانی (HLA) پدري را در سطح جنین بپوشانند و از حمله سلول‌های NK و T مادر جلوگیری کنند ^[۱۳۷]. همچنین می‌توانند گیرنده اینترلوکین ۲ مادر (IL-2R) را کاهش دهند، که در نهایت باعث مهار لنفوسیت‌های T شوند ^[۱۳۸ و ۱۳۹] و سایتوکاین‌های تولید شده توسط Th2 مانند IL-4 و IL-10 که به نفع یک بارداری موفق عمل می‌کنند را افزایش می‌دهند، در حالی که سایتوکاین‌های Th1 مانند اینترفرون گاما (IFN-γ) و فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF-α) که اثرات مضر دارند را کاهش می‌دهند ^[۸۸]. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که واکسیناسیون بیماران سقط مکرر با لنفوسیت‌های پدري باعث افزایش در تولید فاکتور Babs می‌شود و همچنین می‌تواند تولید Babs را در بارداری بعدی القا کند و منجر به نتیجه موفقیت‌آمیز شود ^[۱۳۰]. همچنین مشاهده شده است که ایمنوتراپی زنان مبتلا به سقط مکرر بدون توضیح با استفاده از سلول‌های تک هسته‌ای پدري می‌تواند به ترتیب باعث کاهش و افزایش سطح سلول‌های Th17 و Treg شود ^[۱۳۷]. از آنجایی که PLI شامل تجویز سلول‌های تک‌هسته‌ای آلوژنیک زنده است، نگرانی در مورد عوارض جانبی احتمالی وجود دارد ^[۱۳۱]. در یک مطالعه انجام شده روی ۲۵۸۷ زن تحت درمان در آلمان از سال ۱۹۹۶ تا ۲۰۰۳ گزارش شد که عوارض جانبی حاد با عوارض گزارش شده پس از واکسیناسیون داخل جلدی برای بیماری‌های عفونی در یک اندازه است و هیچ موردی از آنافیلاکسی، خودایمنی یا بیماری پیوند در مقابل میزبان وجود ندارد. خطر انتقال عفونت مانند هر انتقال فرآورده‌های خونی وجود دارد. ویروس‌های سیتومگالوویروس، هپاتیت B و C، HIV و تریپونما پالیدوم پالیدوم ^{۲۹} (سیفلیس) ممکن است منتقل شوند ^[۱۳۱]. بنابراین، هر دو طرف باید قبل از ایمن‌سازی غربالگری شوند تا این عفونت‌ها رد شوند. عوارض جانبی مادر شامل اریتم موضعی، تحریک، تورم و گاه تاول زدن است. این واکنش‌ها همیشه گذرا هستند اما ممکن است تا دو هفته ادامه داشته باشند. همچنین خطر حساسیت به گروه‌های خونی فرعی وجود دارد. سوسپانسیون گلبول‌های سفید مورد استفاده برای ایمن‌سازی ممکن است توسط گلبول‌های قرمز آلوده شود. از این رو، ممکن است مادر آنتی‌بادی‌هایی علیه گروه‌های خونی پدر ایجاد کند. در مورد زنان با Rh منفی می‌توان با تجویز آنتی D ^{۳۰} بر این مشکل غلبه کرد ^[۷]. علیرغم بررسی‌های فراوان پیرامون مکانیسم احتمالی LIT که به وسیله آن حاملگی را حفظ می‌کند، سوالات زیادی در مورد علت سقط مکرر و نقش عوامل ایمنولوژیک در درمان آن وجود دارد. مطالعات نشان می‌دهند که همه زنان مبتلا به سقط مکرر واجد شرایط دریافت LIT نیستند و برخی از معیارها باید برای انتخاب بیمارانی که می‌توانند از این درمان سود ببرند باید مورد توجه قرار گیرد ^[۷].

Treponema Pallidum^{۲۹}
Rho(D) Immune Globulin^{۳۰}

Platelet-Rich Plasma (PRP)³¹

۱. نقش در رگ زایی و ساخت دسیدوا بوسیله ی ترشح فاکتورهای IGF, IL-1 و TGF-β, FGF	۲. جلوگیری از رشد ناکافی عروق و ایجاد هیپوکسی و جریان خون ناکافی	۱. یک محصول بیولوژیک اتولوگ حاوی پلاکت در پلاسمای غلیظ	پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) (۱۴۳-۱۴۳)
۱. کاهش سایتوکین های Th1 و افزایش سایتوکین های Th2	۲. القای تغییر فنوتیپ ماکروفاژهای M1 به فنوتیپ ضدالتهابی M2 در دسیدوا	۳. کاهش تکثیر لنفوسیت ها در پاسخ به آنتی ژن های پدري	۴. افزایش IL-10 و TGF-β و کاهش TNF-α و IFN-γ
۱. کاهش سایتوکین های Th1 و افزایش سایتوکین های Th2	۲. القای تغییر فنوتیپ ماکروفاژهای M1 به فنوتیپ ضدالتهابی M2 در دسیدوا	۳. کاهش تکثیر لنفوسیت ها در پاسخ به آنتی ژن های پدري	۴. افزایش IL-10 و TGF-β و کاهش TNF-α و IFN-γ

درمان های دیگر

اینترالیپید (Intralipid)

اینترالیپید یک امولسیون چربی تجاری است. این محصول مصنوعی از روغن سویا، فسفولیپیدهای تخم مرغ، گلیسرین و آب تشکیل شده است [۱۴۹]. این ماده بصورت داخل وریدی استفاده می شود و جز اصلی آن را اسیدهای چرب غیراشباع چندانگانه (PUFA) ³³ به ویژه اسید لینولئیک تشکیل می دهند [۱۵۰ و ۱۵۱]. تجویز داخل وریدی اینترالیپیدها قادر به سرکوب تکثیر سلول های ایمنی با تغییر ترکیب فسفولیپیدهای غشای سلولی است که در ادامه سیالیت و گیرنده های غشاء را تعدیل می کند. روغن سویا موجود در اینترالیپید قادر به جلوگیری از عملکرد واسطه های پیش التهابی به ویژه توسط سلول های Th1 است [۱۵۲] و از این طریق سیستم ایمنی را سرکوب می کند. علاوه بر این PUFA ها، به ویژه اسید لینولئیک، نیز قادر به سرکوب سلول های ایمنی به ویژه تکثیر لنفوسیت ها، هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در داخل بدن هستند [۱۵۳-۱۵۵]. مکانیسم احتمالی دیگر اینترالیپیدها شامل: اختلال در کموتاکسی و مهاجرت نوتروفیل ها [۱۵۲ و ۱۵۶]، تحت تاثیر قرار دادن سیستم ریتیکولاندوتلیال در نتیجه تجمع امولسیون لیپیدی در اندامها [۱۵۷ و ۱۵۸] و سلول های مرتبط مانند سلول های طحال و کوفپر و کاهش سیگنال های فعال سازی لنفوسیت های T و B با مهار تولید واسطه های ضروری مانند IL-2 است [۱۶۱-۱۵۹]. منع مصرف اینترالیپید در صورت اختلال در متابولیسم چربی، نارسایی کبد و حساسیت به پروتئین تخم مرغ، سویا یا بادام زمینی گزارش شده است، همچنین بر اساس اطلاعات، عوارض جانبی مانند افزایش دمای بدن، لرز، حالت تهوع یا سردرد با بروز کمتر از ۱٪ مشخص شده است. مزایای اینترالیپید این است که نسبتاً ارزان است و فرآورده خونی نیست و شواهد فعلی نشان می دهند که اینترالیپید ممکن است نتیجه بارداری را در زنان با سقط مکرر بهبود بخشد [۱۶۲]. اما با این حال، قبل از اینکه بتوان آن را به عنوان درمان استاندارد توصیه کرد، اینترالیپید هم به آزمایش های دقیق مانند سایر اشکال درمان برای سقط مکرر بارداری نیاز دارد [۱۶۳].

Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA)³³

ساخت دسیدوا دارند [۱۴۱-۱۴۳]. بنابراین، با بهبود ساخت دسیدوا و رگ زایی، در اثر تزریق PRP در رحم ممکن است از شکست رشد جنینی جلوگیری کرده و شانس زنده زایی در بیماران مبتلا به RPL را افزایش دهد. مطالعات نشان داده اند که تزریق PRP به رحم بیماران مبتلا به RPL قبیل از انتقال جنین در IVF می تواند شانس تولد زنده را افزایش دهد [۱۴۴].

سلول های بنیادی مزانشیمی (MSCs)

سلول های بنیادی مزانشیمی ^{۳۲}، سلول های استرومایی مشتق شده از بافت چربی، خون بند ناف، ژله های وارتون، آندومتر و مایع آمنیوتیک هستند که توانایی خود نوسازی، تمایز چندانگانه، ترشح عوامل متعدد و تنظیم پاسخ های ایمنی را از خود نشان می دهند. با در نظر گرفتن این پتانسیل ها، سلول های بنیادی مزانشیمی ممکن است یک رویکرد امیدوارکننده برای ایمونوتراپی باشند [۱۴۵]. مکانیسم های عمل MSC ها در بهبود نتیجه بارداری در موش های مستعد سقط شامل کاهش سایتوکین های Th1، تنظیم مثبت سایتوکین های Th2، القای تغییر فنوتیپ ماکروفاژهای M1 به فنوتیپ ضدالتهابی M2 در دسیدوا از طریق تعامل بین CD200 روی سلول های بنیادی مزانشیمی با CD200R روی M1، کاهش تکثیر لنفوسیت ها در پاسخ به آنتی ژن های پدري است [۱۴۶]. در یک مطالعه انجام شده در مدل موش با سقط مکرر خودبخود، میزان سقط در درمان با سلول های بنیادی مزانشیمی کاهش یافت و نتیجه بارداری از طریق افزایش IL-10 و TGF-β و کاهش TNF-α و بیان mRNA IFN-γ بهبود یافت [۱۴۷]. طبق مطالعات تخمین زده می شود که سلول های بنیادی مزانشیمی می توانند به طور موثر در ایمونوتراپی بیماران مبتلا به نارسایی های تولید مثلی مورد استفاده قرار گیرند، با این حال، کارآزمایی های طراحی شده بیشتری برای تایید این یافته ها مورد نیاز است [۳].

جدول ۲. انواع روش های ایمونوتراپی مبتنی بر سلول در زنان با سقط مکرر

روش (منابع)	تعریف	مکانیسم عمل
لنفوسیت ایمونوتراپی (LIT) (۸۸، ۱۱۳، ۱۱۴، ۱۲۲)	لنفوسیت های جمع آوری شده از شوهر یا اهداکنندگان خون سالم با HLA متفاوت	۱. تحریک سیستم ایمنی مادر و تولید آنتی بادی های مختلف مانند APCA و Ab ۲ و MLR-Bf . ۲. محافظت از جنین در برابر اثرات توکسیک سیستم ایمنی مادر با متعادل کردن تغییرات Th2 و جلوگیری از فعالیت بیش از حد سلول های NK
۱۲۹-۱۲۴، ۱۴۸)		۳. پوشاندن آنتی ژن های HLA جنینی و جلوگیری از حمله سلول های NK و T مادر
		۴. افزایش تولید سایتوکین های Th1 و کاهش سایتوکین های Th2

Mesenchymal Stem Cells (MSCs)^{۳۲}

۶. درمان‌های آینده

شکل MTT است و در درمان چندین بیماری موفق بوده است. شکل دیگر MTT پیوند میکروبیوتای واژن (VMT) است که شامل انتقال میکروبیوتای واژن از اهداکننده زن سالم به حفره واژن بیمار با هدف بازگرداندن ترکیب میکروبی طبیعی واژن است [۱۷۶، ۱۷۷، ۱۸۴]. طبق مطالعات، سه مکانیسم عمل احتمالی درگیر در درمان VMT به شرح زیر است: رقابت برای تغذیه اولین مکانیسم ممکن درمان VMT است. در این مکانیسم، میکروب‌های مضر نمی‌توانند در رقابت تغذیه‌ای بر میکروبیوتای سالم واژن غلبه کنند (۱۸۵، ۱۸۶). یکی دیگر از مکانیسم‌های احتمالی VMT افزایش محصولات باکتری‌کش و ویروس‌کش است. فرض بر این است که گونه‌های لاکتوباسیلوس که میکروبیوتای غالب واژن هستند، با تولید مواد باکتری‌کش و ویروس‌کش، از جمله اسید لاکتیک، باکتریوسین‌ها^{۴۵} و H₂O₂ از رشد بیش از حد پاتوژن‌ها و سایر میکروارگانیسم‌های فرصت طلب جلوگیری می‌کنند و نقش محافظتی مهمی در واژن ایفا می‌کند [۱۸۷، ۱۸۸]. در مکانیسم بعدی، گونه‌های لاکتوباسیلوس می‌توانند با تولید ترکیباتی که مستقیماً پاتوژن‌ها را می‌کشند یا مهار می‌کنند، مانع از اتصال و کلونیزاسیون عوامل بیماری‌زا، ایجاد یک سد میکروبی روی اپیتلیوم و تحریک مکانیسم‌های دفاعی میزبان شوند. علاوه بر این، چندین مطالعه آزمایشگاهی نشان داده‌اند که گونه‌های لاکتوباسیلوس می‌توانند از چسبیدن پاتوژن‌ها از جمله ای کلای^{۴۶}، گاردنرلا واژینالیس^{۴۷}، کلیسیلا پنومونیه^{۴۸}، سودوموناس آئروزیینوزا^{۴۹}، استافیلوکوک اورئوس^{۵۰}، استرپتوکوک گروه B^{۵۱} و تریکوموناس واژینالیس^{۵۲} بر روی سطح سلول‌های اپیتلیال جلوگیری کنند [۱۸۹-۱۹۳]. خطر اصلی VMT، انتقال احتمالی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فرصت طلب است. بنابراین غربالگری دقیق اهداکنندگان VMT برای جلوگیری از قرار گرفتن در معرض عوامل عفونی بسیار مهم است [۱۹۴]. پیشرفت‌های فناوری که امکان شناسایی اهداکنندگان مناسب بر اساس جوامع باکتریایی را فراهم می‌کند، همراه با افزایش تحقیقات در مورد ایمنی و کارایی VMT و همچنین مقررات و دستورالعمل‌های تعیین‌شده، می‌تواند فرآیند VMT را ایمن‌تر کند [۱۹۵]. مطالعات بیشتری که برای بررسی اثربخشی و ایمنی VMT در حال انجام است، نشان می‌دهند که در آینده، VMT به طور گسترده‌تری برای درمان بیماری‌هایی مانند واژینوز باکتریایی استفاده خواهد شد. علاوه بر این، گزارش شده است که مسایل دیگری مانند HIV، HPV و بیماری‌های مقاربتی می‌توانند جوامع میکروبیوتای واژن را تغییر دهند. بر این اساس، بازیابی میکروبیوتای واژن با استفاده از VMT ممکن است از آسیب

حفره واژن بخش مهمی از دستگاه تناسلی زنان است که از رحم و دهانه رحم تا اندام تناسلی خارجی (فرج) امتداد دارد. این جایگاه در بدن انسان دارای یک جامعه میکروبی منحصر به فرد است که عمدتاً از گونه‌های لاکتوباسیلوس [۱۶۴] از جمله گونه‌هایی مانند لاکتوباسیلوس کریسپاتوس^{۳۴}، لاکتوباسیلوس گازسری^{۳۵}، لاکتوباسیلوس اینرز^{۳۶} و لاکتوباسیلوس جنسنی^{۳۷} [۱۶۶ و ۱۶۵] تشکیل شده است. گونه‌های لاکتوباسیلوس با تولید اسید لاکتیک، H₂O₂ و پروتئین‌های ضد میکروبی از فلور واژن در برابر پاتوژن‌های تناسلی محافظت می‌کنند [۱۶۷]. اسید لاکتیک در حفظ هموستاز واژن و جلوگیری از رشد پاتوژن‌ها بسیار مهم است. دو منبع اسید لاکتیک در واژن وجود دارد، اولین منبع توسط اپیتلیوم واژن از طریق تولید L-لاکتات تامین می‌شود که ۲۰ درصد از کل اسید لاکتیک را تشکیل می‌دهد. منبع دوم توسط میکروبیوتای واژن که مسؤؤل متابولیسم گلیکوژن و تولید اکثر اسید لاکتیک، عمدتاً به شکل D-لاکتات است که ۸۰٪ از کل اسید لاکتیک را تشکیل می‌دهد [۱۶۸-۱۶۹]. طبق مطالعات، عوامل زیادی ممکن است بر روی جوامع میکروبی واژن تأثیر بگذارد، از جمله بیماری‌ها (واژینوز باکتریایی)، سن، فیزیولوژی هورمونی (نوزادی، کودکی، بلوغ، مرحله تولیدمثل، مرحله پس از یائسگی)، قومیت، استرس، فعالیت جنسی، سبک زندگی، رژیم غذایی، ورزش و مصرف پروبیوتیک‌ها و تنباکو [۱۷۰-۱۷۴]. با این حال، کاهش گونه‌های لاکتوباسیلوس و افزایش میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی در حفره واژن منجر به دیس‌بیوز^{۳۸} یا عدم تعادل در میکروبیوتای^{۳۹} واژن (VD) می‌شود [۱۷۵ و ۱۷۶]. عدم تعادل میکروبیوتای واژن با چندین شرایط نامطلوب مانند زایمان زودرس، بیماری التهابی لگن، افزایش خطر و انتقال عفونت‌های مقاربتی و نابرووری مرتبط است که بر سلامت زنان تأثیر می‌گذارد [۱۷۷]. مطالعات نشان داده‌اند که VD در ۱۸ تا ۲۹ درصد از زنان رخ می‌دهد [۱۷۸ و ۱۷۹] و این وضعیت به شدت با شانس کمتر باردار شدن در طی لقاح آزمایشگاهی (IVF)، خطر بالاتر از دست دادن حاملگی یوپلوئید و عوارض مامایی مانند پارگی زودرس غشای آمنیوتیک (PPROM)^{۴۱} زایمان زودرس مرتبط است [۱۷۸، ۱۸۰-۱۸۲]. بسیاری از زنان مبتلا به VD هیچ علائم واژن، مانند بو یا ترشح را گزارش نمی‌کنند و حتی پس از ارزیابی به نظر می‌رسد سالم هستند [۱۸۳]. درمان انتقال میکروبی (MTT)^{۴۲} به عنوان یک گزینه درمانی بالقوه برای رسیدگی به چنین مسایلی ظاهر شده است. پیوند میکروبیوتای مدفوعی (FMT)^{۴۳} پرکاربردترین

Vaginal Microbiota Transfer (VMT)^{۴۴}
Bacteriocins^{۴۵}
Escherichia Coli (E. Coli)^{۴۶}
Gardnerella Vaginalis^{۴۷}
Klebsiella Pneumoniae^{۴۸}
Pseudomonas Aeruginosa^{۴۹}
Staphylococcus Aureus^{۵۰}
Group B Streptococcus^{۵۱}
treptococcus Vaginalis^{۵۲}

Lactobacillus Crispatus^{۳۴}
Lactobacillus Gasseri^{۳۵}
Lactobacillus Iners^{۳۶}
Lactobacillus Jensenii^{۳۷}
Dysbiosis^{۳۸}
Microbiota^{۳۹}
Vaginal Dysbiosis (VD)^{۴۰}
Prelabor Rupture of Membranes (PPROM)^{۴۱}
Microbial Transfer Therapy (MTT)^{۴۲}
Fecal Microbiota Transplant (FMT)^{۴۳}

منابع:

1. Woolner AM, Raja EA, Bhattacharya S, Danielian P, Bhattacharya S. Inherited susceptibility to miscarriage: a nested case-control study of 31,565 women from an intergenerational cohort. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2020;222(2):168. e1-. e8.
2. Rossen LM, Ahrens KA, Branum AM. Trends in risk of pregnancy loss among US women, 1990–2011. *Paediatric and perinatal epidemiology*. 2018;32(1):19-29.
3. Abdolmohammadi-Vahid S, Aghebati-Maleki L, Ahmadian-Heris J, Danaii S, Yousefi M. *Recent Advances in Immunotherapeutic Approaches for Recurrent Reproductive Failure*. 2022.
4. Frérot M, Lefebvre A, Aho S, Callier P, Astruc K, Aho Glélé LS. What is epidemiology? Changing definitions of epidemiology 1978-2017. *PloS one*. 2018;13(12):e0208442.
5. Dbstet A. WHO: recommended definitions, terminology and format for statistical tables related to the perinatal period and use of a new certificate for cause of perinatal deaths. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1977;56(3):247-53.
6. Medicine PCotASfR. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertility and sterility*. 2008;90(5):S60.
7. Carp H. Immunotherapy for recurrent pregnancy loss. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2019;60:77-86.
8. RPL EGGo, Bender Atik R, Christiansen OB, Elson J, Kolte AM, Lewis S, et al. ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss. *Human reproduction open*. 2018;2018(2):hoy004.
9. Medicine PCotASfR. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertility and sterility*. 2020;113(3):533-5.
10. Alijotas-Reig J, Garrido-Gimenez C. Current concepts and new trends in the diagnosis and management of recurrent miscarriage.

رسیدن بیشتر به سلامت باروری توسط این قبیل بیماری‌ها جلوگیری کند [۱۹۶، ۱۹۷].

۷. نتیجه گیری

سقط مکرر یکی از شایعترین عوارض بارداری است که حدود ۱ تا ۲ درصد از زوج‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۳] و منجر به ناراحتی روانی برای بیماران و شریک زندگی آن‌ها می‌شود. چندین ریسک فاکتور در این زمینه شناسایی شده‌اند که بخشی از این عوامل را اختلالات ایمونولوژیکی تشکیل می‌دهند. امروزه به خوبی مشخص شده است که سیستم ایمنی مادر نسبت به جنین بی‌تفاوت نیست، بلکه آنتی‌ژن‌های جنین در حال رشد را تشخیص می‌دهد و به آن پاسخ می‌دهد. بنابراین، ایجاد تحمل مناسب مادر نسبت به جنین برای اطمینان از لانه‌گزینی و بارداری موفق بسیار مهم است و هرگونه اختلال در این تعادل سیستم ایمنی منجر به عوارض بارداری از جمله سقط مکرر می‌شود. بنابراین، برای پیشگیری و درمان اینگونه عوارض به روش‌های درمانی متفاوت و مناسب در زمینه‌های ایمونولوژیکی نیاز هست. اگرچه مزیت عوامل ایمونوتراپی به عنوان تعدیل‌کننده‌ها و سرکوب‌کننده‌های ایمنی در حال حاضر در پیشگیری از واکنش‌های مضر علیه جنین آشکارتر شده است، اما از آنجایی که معیارهای ارجاع به درمان به دلیل عدم توافق در تعریف سقط مکرر، متفاوت است و همچنین به علت کمبود شواهد ایمونولوژیکی، پزشکان در زمینه درمان با دوراهی مواجه می‌شوند. به همین جهت، برای شناسایی و اصلاح ریسک فاکتورها و ارائه حمایت روانشناختی، باید رویکردهای فردی مناسب در زمینه درمان ایجاد شود و همچنین مطالعات بیشتری برای دستیابی به رویکردهای ایمنی درمانی نوآورانه، ایمن و خاص‌تر برای کاهش عوارض جانبی و افزایش ایمنی، اثربخشی و میزان موفقیت درمان مورد نیاز است. بر این اساس انتظار می‌رود که در آینده روش‌های ایمونوتراپی بیش از پیش مورد توجه قرار بگیرند.

تأییدیه اخلاقی

این مطالعه مروری، ملاحظات اخلاقی در بر ندارد.

تعارض در منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تضاد منافی وجود ندارد که بتوان آن را به عنوان آسیب رساندن به بی‌طرفی تحقیق گزارش شده تلقی کرد. همچنین این مقاله به مجله دیگری ارسال نشده است.

19. Dan S, Wei W, Yichao S, Hongbo C, Shenmin Y, Jiexiong W, et al. Effect of prednisolone administration on patients with unexplained recurrent miscarriage and in routine intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2015;74(1):89-97.
20. Fawzy M, El-Refaeey A-AA. Does combined prednisolone and low molecular weight heparin have a role in unexplained implantation failure? *Archives of gynecology and obstetrics*. 2014;289:677-80.
21. Quenby S, Kalumbi C, Bates M, Farquharson R, Vince G. Prednisolone reduces preconceptual endometrial natural killer cells in women with recurrent miscarriage. *Fertility and sterility*. 2005;84(4):980-4.
22. Tang A-W, Alfirevic Z, Turner MA, Drury JA, Small R, Quenby S. A feasibility trial of screening women with idiopathic recurrent miscarriage for high uterine natural killer cell density and randomizing to prednisolone or placebo when pregnant. *Human Reproduction*. 2013;28(7):1743-52.
23. Makhseed M, Raghupathy R, Azizieh F, Omu A, Al-Shamali E, Ashkanani L. Th1 and Th2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions. *Human reproduction*. 2001;16(10):2219-26.
24. Kwak-Kim JY, Gilman-Sachs A, Kim CE. T helper 1 and 2 immune responses in relationship to pregnancy, nonpregnancy, recurrent spontaneous abortions and infertility of repeated implantation failures. *Immunology of Gametes and Embryo Implantation*. 2005;88:64-79.
25. Chen X, Oppenheim JJ, Winkler-Pickett RT, Ortaldo JR, Howard OZ. Glucocorticoid amplifies IL-2-dependent expansion of functional FoxP3+ CD4+ CD25+ T regulatory cells in vivo and enhances their capacity to suppress EAE. *European journal of immunology*. 2006;36(8):2139-49.
26. Lash GE, Bulmer JN, Innes BA, Drury JA, Robson SC, Quenby S. Prednisolone treatment reduces endometrial spiral artery development in women with recurrent miscarriage. *Angiogenesis*. 2011;14:523-32.
- Obstetrical & gynecological survey. 2013;68(6):445-66.
11. van Dijk MM, Kolte AM, Limpens J, Kirk E, Quenby S, van Wely M, et al. Recurrent pregnancy loss: diagnostic workup after two or three pregnancy losses? A systematic review of the literature and meta-analysis. *Human reproduction update*. 2020;26(3):356-67.
12. Boue J, Boué A, Lazar P. *The epidemiology of human spontaneous abortions with chromosomal anomalies. Aging Gametes: Their Biology and Pathology*: Karger Publishers; 1975. p. 330-48.
13. Black M, Shetty A, Bhattacharya S. Obstetric outcomes subsequent to intrauterine death in the first pregnancy. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2008;115(2):269-74.
14. Bhattacharya S, Townend J, Shetty A, Campbell D, Bhattacharya S. Does miscarriage in an initial pregnancy lead to adverse obstetric and perinatal outcomes in the next continuing pregnancy? *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2008;115(13):1623-9.
15. Daya S, Gunby J, Group RMIT. The effectiveness of allogeneic leukocyte immunization in unexplained primary recurrent spontaneous abortion. *American Journal of Reproductive Immunology*. 1994;32(4):294-302.
16. Vomstein K, Feil K, Strobel L, Aulitzky A, Hofer-Tollinger S, Kuon R-J, et al. Immunological risk factors in recurrent pregnancy loss: guidelines versus current state of the art. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(4):869.
17. Kapugi M, Cunningham K. Corticosteroids. *Orthopaedic Nursing*. 2019;38(5):336-9.
18. Addison R, Maguire D, Mortimer R, Roberts M, Cannell G. Pathway and kinetics of prednisolone metabolism in the human placenta. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 1993;44(3):315-20.

35. Kino T, Hatanaka H, Hashimoto M, Nishiyama M, Goto T, Okuhara M, et al. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a *Streptomyces* I. Fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics. *The Journal of antibiotics*. 1987;40(9):1249-55.
36. Parhizkar F, Motavalli-Khiavi R, Aghebati-Maleki L, Parhizkar Z, Pourakbari R, Kafil HS, et al. The impact of new immunological therapeutic strategies on recurrent miscarriage and recurrent implantation failure. *Immunology Letters*. 2021;236:20-30.
37. Kanzaki Y, Kondoh E, Kawasaki K, Mogami H, Chigusa Y, Konishi I. Pregnancy outcomes in liver transplant recipients: A 15-year single-center experience. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2016;42(11):1476-82.
38. Kidney ISGo, Nephrology PotISO. Pregnancy outcomes after kidney graft in Italy: are the changes over time the result of different therapies or of different policies? A nationwide survey (1978–2013). *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2016;31(11):1957-65.
39. Coscia LA, Constantinescu S, Armenti DP, Moritz MJ. The 25th Anniversary of the National Transplantation Pregnancy Registry. *Clinical Transplants*. 2015;31:57-68.
40. Mohamed-Ahmed O, Nelson-Piercy C, Bramham K, Gao H, Kurinczuk JJ, Brocklehurst P, et al. Pregnancy outcomes in liver and cardiothoracic transplant recipients: a UK national cohort study. *PLoS One*. 2014;9(2):e89151.
41. Hirota Y, Burnum KE, Acar N, Rabinovich GA, Daikoku T, Dey SK. Galectin-1 markedly reduces the incidence of resorptions in mice missing immunophilin FKBP52. *Endocrinology*. 2012;153(5):2486-93.
42. Terness P, Kallikourdis M, Betz AG, Rabinovich GA, Saito S, Clark DA. Tolerance signaling molecules and pregnancy: IDO, galectins, and the renaissance of regulatory T cells. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2007;58(3):238-54.
27. Forges T, Monnier-Barbarino P, Guillet-May F, Faure GC, Béné M-C. Corticosteroids in patients with antiovarian antibodies undergoing in vitro fertilization: a prospective pilot study. *European journal of clinical pharmacology*. 2006;62:699-705.
28. Hasegawa I, Yamamoto Y, Suzuki M, Murakawa H, Kurabayashi T, Takakuwa K, et al. Prednisolone plus low-dose aspirin improves the implantation rate in women with autoimmune conditions who are undergoing in vitro fertilization. *Fertility and sterility*. 1998;70(6):1044-8.
29. Bramham K, Thomas M, Nelson-Piercy C, Khamashta M, Hunt BJ. First-trimester low-dose prednisolone in refractory antiphospholipid antibody-related pregnancy loss. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2011;117(25):6948-51.
30. Gomaa MF, Elkholy AG, El-Said MM, Abdel-Salam NE. Combined oral prednisolone and heparin versus heparin: the effect on peripheral NK cells and clinical outcome in patients with unexplained recurrent miscarriage. A double-blind placebo randomized controlled trial. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2014;290:757-62.
31. Laskin CA, Bombardier C, Hannah ME, Mandel FP, Ritchie K, Farewell V, et al. Prednisone and aspirin in women with autoantibodies and unexplained recurrent fetal loss. *New England Journal of Medicine*. 1997;337(3):148-54.
32. Gur C, Diav-Citrin O, Shechtman S, Arnon J, Ornoy A. Pregnancy outcome after first trimester exposure to corticosteroids: a prospective controlled study. *Reproductive toxicology*. 2004;18(1):93-101.
33. Hasbargen U, Reber D, Versmold H, Schulze A. Growth and development of children to 4 years of age after repeated antenatal steroid administration. *European journal of pediatrics*. 2001;160:552-5.
34. Kino T, Inamura N, Sakai F, Nakahara K, Goto T, Okuhara M, et al., editors. Effect of FK-506 on human mixed lymphocyte reaction in vitro. *Transplantation proceedings*; 1987.

52. Vane JR. Inhibition of prostaglandin biosynthesis as the mechanism of action of aspirin-like drugs. *Adv Biosci.* 2014;9:395-411.
53. Vane J, Botting R. The mechanism of action of aspirin. *Thrombosis research.* 2003;110(5-6):255-8.
54. Chuang Y-J, Swanson R, Raja SM, Olson ST. Heparin enhances the specificity of antithrombin for thrombin and factor Xa independent of the reactive center loop sequence: evidence for an exosite determinant of factor Xa specificity in heparin-activated antithrombin. *Journal of Biological Chemistry.* 2001;276(18):14961-71.
55. MB E. Prevention of recurrent miscarriage for women with antiphospholipid antibody or lupus anticoagulant. *Cochran Database of Systemic Reviews.* 2009;2.
56. Cowchock FS, Reece EA, Balaban D, Branch DW, Plouffe L. Repeated fetal losses associated with antiphospholipid antibodies: a collaborative randomized trial comparing prednisone with low-dose heparin treatment. *American journal of obstetrics and gynecology.* 1992;166(5):1318-23.
57. Alijotas-Reig J, Esteve-Valverde E, Ferrer-Oliveras R, Sáez-Comet L, Lefkou E, Mekinian A, et al. Comparative study of obstetric antiphospholipid syndrome (OAPS) and non-criteria obstetric APS (NC-OAPS): report of 1640 cases from the EUROAPS registry. *Rheumatology.* 2020;59(6):1306-14.
58. Ziakas PD, Pavlou M, Voulgarelis M. Heparin treatment in antiphospholipid syndrome with recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Obstetrics & Gynecology.* 2010;115(6):1256-62.
59. Rai R, Cohen H, Dave M, Regan L. Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies). *Bmj.* 1997;314(7076):253.
60. Azizi R, Ahmadi M, Danaii S, Abdollahi-Fard S, Mosapour P, Eghbal-Fard S, et al. Cyclosporine A improves pregnancy
43. Barrientos G, Freitag N, Tirado-Gonzalez I, Unverdorben L, Jeschke U, Thijssen VL, et al. Involvement of galectin-1 in reproduction: past, present and future. *Human reproduction update.* 2014;20(2):175-93.
44. Ramhorst RE, Giribaldi L, Fraccaroli L, Toscano MA, Stupirski JC, Romero MD, et al. Galectin-1 confers immune privilege to human trophoblast: implications in recurrent fetal loss. *Glycobiology.* 2012;22(10):1374-86.
45. Wallin EF, Hill DL, Linterman MA, Wood KJ. The calcineurin inhibitor tacrolimus specifically suppresses human T follicular helper cells. *Frontiers in Immunology.* 2018;9:1184.
46. Díaz-Molina B, Diaz-Bulnes P, Carvajal Palao R, Bernardo MJ, Rodriguez RM, Corte-Iglesias V, et al. Early everolimus initiation fails to counteract the cytotoxic response mediated by CD8+ T and NK cells in heart transplant patients. *Frontiers in Immunology.* 2018;9:2181.
47. Li H, Shi B. Tolerogenic dendritic cells and their applications in transplantation. *Cellular & molecular immunology.* 2015;12(1):24-30.
48. Yamaguchi K. Tacrolimus treatment for infertility related to maternal-fetal immune interactions. *American Journal of Reproductive Immunology.* 2019;81(4):e13097.
49. Nakagawa K, Kuroda K, Sugiyama R, Yamaguchi K. After 12 consecutive miscarriages, a patient received immunosuppressive treatment and delivered an intact baby. *Reproductive Medicine and Biology.* 2017;16(3):297-301.
50. Moffett A, Regan L, Braude P. Natural killer cells, miscarriage, and infertility. *Bmj.* 2004;329(7477):1283-5.
51. Park DW, Lee HJ, Park CW, Hong SR, Kwak-Kim J, Yang KM. Peripheral blood NK cells reflect changes in decidual NK cells in women with recurrent miscarriages. *American journal of reproductive immunology.* 2010;63(2):173-80.

- live birth rate of unexplained recurrent abortion-initial cohort study. *Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology*. 2017;44(2):230-5.
70. Cavalcante MB, da Silva PHA, Sampaio OGM, Câmara FEA, Cavalcante CTdMB, Barini R. The use of immunotherapies for recurrent miscarriage: An overview of systematic reviews and meta-analysis. *Journal of Reproductive Immunology*. 2023:103986.
 71. Umoh IU, Aquaisua A, Udo N. The effect of fresh stem juice extract of *Costus afer* on the cytohistomorphology of the kidney in aspirin-treated Wistar rats. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*. 2019;7(2):78-81.
 72. Sokos DR, Berger M, Lazarus HM. Intravenous immunoglobulin: appropriate indications and uses in hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation*. 2002;8(3):117-30.
 73. Imbach P, d'Apuzzo V, Hirt A, Rossi E, Vest M, Barandun S, et al. High-dose intravenous gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood. *The lancet*. 1981;317(8232):1228-31.
 74. Luke PP, Jordan ML, Scantlebury VP, Vivas CA, Fedorek S, Hakala TR, et al. REVERSAL OF STEROID AND ANTIBODY-RESISTANT REJECTION USING IVIG IN RENAL TRANSPLANT PATIENTS.: Abstract# 430 Poster Board#-Session: P70-II. *Transplantation*. 2000;69(8):S225.
 75. Branch DW, Porter TF, Paidas MJ, Belfort MA, Gonik B. Obstetric uses of intravenous immunoglobulin: successes, failures, and promises. *Journal of allergy and clinical immunology*. 2001;108(4):S133-S8.
 76. Andersson J, Skansen-Saphir U, Sparrelid E, Andersson U. Intravenous immune globulin affects cytokine production in T lymphocytes and monocytes/macrophages. *Clinical & Experimental Immunology*. 1996;104:10-20.
 77. Sherer Y, Wu R, Krause I, Gorstein A, Levy Y, Peter JB, et al. Cytokine levels in various outcomes in women with recurrent pregnancy loss and elevated Th1/Th2 ratio. *Journal of cellular physiology*. 2019;234(10):19039-47.
 61. Sketris I, Yatscoff R, Keown P, Canafax DM, First MR, Holt DW, et al. Optimizing the use of cyclosporine in renal transplantation. *Clinical biochemistry*. 1995;28(3):195-211.
 62. Hetland ML. Modern treatment strategies in rheumatoid arthritis. *Dan Med Bull*. 2011;58(11):B4320.
 63. Wang W, Sung N, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. T helper (Th) cell profiles in pregnancy and recurrent pregnancy losses: Th1/Th2/Th9/Th17/Th22/Tfh cells. *Frontiers in immunology*. 2020;11:2025.
 64. Piao H-L, Wang S-C, Tao Y, Zhu R, Sun C, Fu Q, et al. Cyclosporine A enhances Th2 bias at the maternal-fetal interface in early human pregnancy with aid of the interaction between maternal and fetal cells. 2012.
 65. Zhou W-H, Du M-R, Dong L, Zhu X-Y, Yang J-Y, He Y-Y, et al. Cyclosporin A increases expression of matrix metalloproteinase 9 and 2 and invasiveness in vitro of the first-trimester human trophoblast cells via the mitogen-activated protein kinase pathway. *Human Reproduction*. 2007;22(10):2743-50.
 66. Alvarez-Arroyo MV, Yaguë S, Wenger RM, Pereira DS, Jiménez S, González-Pacheco FR, et al. Cyclophilin-mediated pathways in the effect of cyclosporin A on endothelial cells: role of vascular endothelial growth factor. *Circulation research*. 2002;91(3):202-9.
 67. Ma N, Qin R, Qin W, Liao M, Zhao Y, Hang F, et al. Oral immunosuppressants improve pregnancy outcomes in women with idiopathic recurrent miscarriage: A meta-analysis. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 2022;47(7):870-8.
 68. Fu J. Analysis of the use of cyclosporin A to treat refractory immune recurrent spontaneous abortion. *Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology*. 2015;42(6):739-42.
 69. Ling Y, Huang Y, Chen C, Mao J, Zhang H. Low dose Cyclosporin A treatment increases

85. Ahmadi M, Ghaebi M, Abdolmohammadi-Vahid S, Abbaspour-Aghdam S, Hamdi K, Abdollahi-Fard S, et al. NK cell frequency and cytotoxicity in correlation to pregnancy outcome and response to IVIG therapy among women with recurrent pregnancy loss. *Journal of cellular physiology*. 2019;234(6):9428-37.
86. Ahmadi M, Abdolmohammadi-Vahid S, Ghaebi M, Aghebati-Maleki L, Afkham A, Danaii S, et al. Effect of Intravenous immunoglobulin on Th1 and Th2 lymphocytes and improvement of pregnancy outcome in recurrent pregnancy loss (RPL). *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;92:1095-102.
87. Christiansen OB, Kolte AM, Krog MC, Nielsen HS, Egerup P. Treatment with intravenous immunoglobulin in patients with recurrent pregnancy loss: An update. *Journal of Reproductive Immunology*. 2019;133:37-42.
88. Raghupathy R. Th 1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. *Immunology today*. 1997;18(10):478-82.
89. Kwak-Kim J, Chung-Bang H, Ng S, Ntrivalas E, Mangubat C, Beaman K, et al. Increased T helper 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF. *Human reproduction*. 2003;18(4):767-73.
90. Mekinian A, Cohen J, Alijotas-Reig J, Carbillon L, Nicaise-Roland P, Kayem G, et al. Unexplained recurrent miscarriage and recurrent implantation failure: is there a place for immunomodulation? *American Journal of Reproductive Immunology*. 2016;76(1):8-28.
91. Alijotas-Reig J, Esteve-Valverde E, Ferrer-Oliveras R, Llurba E, Gris JM. Tumor necrosis factor-alpha and pregnancy: focus on biologics. An updated and comprehensive review. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2017;53:40-53.
92. Winger EE, Reed JL, Ashoush S, Ahuja S, El-Toukhy T, Taranissi M. Treatment with adalimumab (Humira®) and intravenous immunoglobulin improves pregnancy rates in women undergoing IVF. *American journal of intravenous immunoglobulin (IVIg) preparations. Human antibodies*. 2001;10(2):51-3.
78. Salmon J, Girardi G, Holers V. Activation of complement mediates antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss. *Lupus*. 2003;12(7):535-8.
79. Walpen AJ, Laumonier T, Aebi C, Mohacsi PJ, Rieben R. Immunoglobulin M-enriched intravenous immunoglobulin inhibits classical pathway complement activation, but not bactericidal activity of human serum. *Xenotransplantation*. 2004;11(2):141-8.
80. Ruiz JE, Kwak JY, Baum L, Gilman-Sachs A, Beaman KD, Kim YB, et al. Effect of intravenous immunoglobulin G on natural killer cell cytotoxicity in vitro in women with recurrent spontaneous abortion. *Journal of Reproductive immunology*. 1996;31(1-2):125-41.
81. Szereday L, Späth P, Szekeres-Bartho J. Natural killer cell activity and cytokine production after in vitro immunoglobulin treatment of lymphocytes derived from pregnant women with or without risk for spontaneous abortion. *American Journal of Reproductive Immunology*. 1999;42(5):282-7.
82. ZENCLUSSEN AC, GENTILE T, MARGNI R, KORTEBANI G, MAZZOLLI A. Asymmetric antibodies and pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2001;45(5):289-94.
83. Ramírez E, Romero-Garrido JA, López-Granados E, Borobia AM, Pérez T, Medrano N, et al. Symptomatic thromboembolic events in patients treated with intravenous-immunoglobulins: results from a retrospective cohort study. *Thrombosis research*. 2014;133(6):1045-51.
84. Sapir T, Blank M, Shoenfeld Y. Immunomodulatory effects of intravenous immunoglobulins as a treatment for autoimmune diseases, cancer, and recurrent pregnancy loss. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005;1051(1):743-78.

101. Umesaki N, Tanaka T, Miyama M, Mizuno K, Ogita S. Production and function of human decidual granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF). *Placenta*. 1999;20:105-16.
102. Svinarich DM, Bitonti OM, Araneda H, Romero R, Gonik B. Induction and posttranslational expression of G-CSF and RANTES in a first trimester trophoblast cell line by lipopolysaccharide. *American Journal of Reproductive Immunology*. 1996;36(5):256-9.
103. Marino VJ, Roguin LP. The granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) activates Jak/STAT and MAPK pathways in a trophoblastic cell line. *Journal of cellular biochemistry*. 2008;103(5):1512-23.
104. Novales JS, Salva AM, Modanlou HD, Kaplan DL, del Castillo J, Andersen J, et al. Maternal administration of granulocyte colony-stimulating factor improves neonatal rat survival after a lethal group B streptococcal infection. 1993.
105. Sugita K, Hayakawa S, Karasaki-Suzuki M, Hagiwara H, Chishima F, Aleemuzaman S, et al. Granulocyte colony stimulation factor (G-CSF) suppresses interleukin (IL)-12 and/or IL-2 induced interferon (IFN)- γ production and cytotoxicity of decidual mononuclear cells. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2003;50(1):83-9.
106. Würfel W. Treatment with granulocyte colony-stimulating factor in patients with repetitive implantation failures and/or recurrent spontaneous abortions. *Journal of reproductive immunology*. 2015;108:123-35.
107. Pan L, Delmonte JJ, Jalonon CK, Ferrara J. Pretreatment of donor mice with granulocyte colony-stimulating factor polarizes donor T lymphocytes toward type-2 cytokine production and reduces severity of experimental graft-versus-host disease. 1995.
108. Gleicher N, Kim A, Michaeli T, Lee H, Shohat-Tal A, Lazzaroni E, et al. A pilot cohort study of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of unresponsive thin endometrium resistant to reproductive immunology. 2009;61(2):113-20.
93. Sills ES, Walsh DJ, Shkrobot LV, Palermo GD, Walsh AP. Clinical experience with intravenous immunoglobulin and tnf- α inhibitor therapies for recurrent pregnancy loss. *Ulster Med J*. 2009;78(1):57-8.
94. Winger EE, Reed JL, Ashoush S, El-Toukhy T, Ahuja S, Taranissi M. Degree of TNF- α /IL-10 cytokine elevation correlates with IVF success rates in women undergoing treatment with adalimumab (Humira) and IVIG. *American journal of reproductive immunology*. 2011;65(6):610-8.
95. Jerzak M, Ohams M, Górski A, Baranowski W. Etanercept immunotherapy in women with a history of recurrent reproductive failure. *Ginekologia polska*. 2012;83.(۴)
96. Rump J, Schönborn H. Conception and course of eight pregnancies in five women on TNF blocker etanercept treatment. *Zeitschrift für Rheumatologie*. 2010;69(10):903-9.
97. Nagata S, Tsuchiya M, Asano S, Kaziro Y, Yamazaki T, Yamamoto O, et al. Molecular cloning and expression of cDNA for human granulocyte colony-stimulating factor. *Nature*. 1986;319(6052):415-8.
98. Uzumaki H, Okabe T, Sasaki N, Hagiwara K, Takaku F, Tobita M, et al. Identification and characterization of receptors for granulocyte colony-stimulating factor on human placenta and trophoblastic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1989;86(23):9323-6.
99. Litwin S, Lagadari M, Barrientos G, Roux ME, Margni R, Miranda S. Comparative Immunohistochemical Study of M-CSF and G-CSF in Feto-Maternal Interface in a Multiparity Mouse Model. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2005;54(5):311-20.
100. McCracken SA, Grant KE, MacKenzie IZ, Redman CW, Mardon HJ. Gestational regulation of granulocyte-colony stimulating factor receptor expression in the human placenta. *Biology of reproduction*. 1999;60(4):790-6.

- mechanisms and challenges. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2018;80(3):e12853.
117. Pandey MK, Rani R, Agrawal S. An update in recurrent spontaneous abortion. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2005;272:95-108.
118. Christiansen OB, Mathiesen O, Huth M, Lauritsen JG, Grunnet N. Placebo-controlled trial of active immunization with third party leukocytes in recurrent miscarriage. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 1994;73(3):261-8.
119. Smith JB, Cowchock FS, Lata JA, Hankinson BT. The number of cells used for immunotherapy of repeated spontaneous abortion influences pregnancy outcome. *Journal of reproductive immunology*. 1992;22(3):217-24.
120. Matsubayashi H, IZUMI SI, SUGI T, YOSHIKATA K, MAKINO T, MARUYAMA T, et al. Anti-paternal antibodies by flow cytometry in the management of alloimmunization on recurrent miscarriages. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2000;44(5):284-8.
121. Illeni MT, Marelli G, Parazzini F, Acaia B, Bocciolone L, Bontempelli M, et al. Immunology: Immunotherapy and recurrent abortion: a randomized clinical trial. *Human Reproduction*. 1994;9(7):1247-9.
122. Ito K, Tanaka T, Tsutsumi N, Obata F, Kashiwagi N. Possible mechanisms of immunotherapy for maintaining pregnancy in recurrent spontaneous aborters: analysis of anti-idiotypic antibodies directed against autologous T-cell receptors. *Human Reproduction*. 1999;14(3):650-5.
123. Adachi H, Takakuwa K, Mitsui T, Ishii K, Tamura M, Tanaka K. Results of immunotherapy for patients with unexplained secondary recurrent abortions. *Clinical Immunology*. 2003;106(3):175-80.
124. Khonina N, Broitman E, Shevela E, Pisman N, Chernykh E. Mixed lymphocyte reaction blocking factors (MLR-Bf) as potential biomarker for indication and efficacy of paternal lymphocyte immunization in standard therapies. *Human Reproduction*. 2013;28(1):172-7.
109. Egea L, Hirata Y, Kagnoff MF. GM-CSF: a role in immune and inflammatory reactions in the intestine. *Expert review of gastroenterology & hepatology*. 2010;4(6):723-31.
110. Robertson SA, Seamark AC, Seamark RF. Uterine epithelial GM-CSF and its interlocutory role during early pregnancy in the mouse. *Immunobiology of Reproduction*: Springer; 1994. p. 82-98.
111. Perricone R, De Carolis C, Giacomelli R, Guarino MD, De Sanctis G, Fontana L. GM-CSF and pregnancy: evidence of significantly reduced blood concentrations in unexplained recurrent abortion efficiently reverted by intravenous immunoglobulin treatment. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2003;50(3):232-7.
112. Ziebe S, Loft A, Povlsen BB, Erb K, Agerholm I, Aasted M, et al. A randomized clinical trial to evaluate the effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in embryo culture medium for in vitro fertilization. *Fertility and sterility*. 2013;99(6):1600-9. e2.
113. Liu Z, Xu H, Kang X, Wang T, He L, Zhao A. Allogenic lymphocyte immunotherapy for unexplained recurrent spontaneous abortion: a meta-analysis. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2016;76(6):443-53.
114. Liang X, Qiu T, Qiu L, Wang X, Zhao A, Lin Q. Female third party lymphocytes are effective for immunotherapy of patients with unexplained primary recurrent spontaneous abortion: a retrospective analysis of outcomes. *The European Journal of Contraception & Reproductive Health Care*. 2015;20(6):428-37.
115. Taylor C, Faulk WP. Prevention of recurrent abortion with leucocyte transfusions. *The Lancet*. 1981;318(8237):68-70.
116. Hajipour H, Nejabati HR, Latifi Z, Hamdi K, Bahrami-asl Z, Fattahi A, et al. Lymphocytes immunotherapy for preserving pregnancy:

- and clinical application. *Operative Techniques in Sports Medicine*. 2011;19(3):149-53.
134. Wasterlain AS, Braun HJ, Dragoo JL. Contents and formulations of platelet rich plasma. *Platelet Rich Plasma in musculoskeletal practice*. 2016:1-29.
135. Nazari L, Salehpour S, Hosseini MS, Hashemi Moghanjoughi P. The effects of autologous platelet-rich plasma in repeated implantation failure: a randomized controlled trial. *Human Fertility*. 2020;23(3):209-13.
136. Tan S-Y, Hang F, Purvarshi G, Li M-Q, Meng D-H, Huang L-L. Decreased endometrial vascularity and receptivity in unexplained recurrent miscarriage patients during midluteal and early pregnancy phases. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2015;54(5):522-6.
137. Lea RG, Underwood J, Flanders KC, Hirte H, Banwatt D, Finotto S, et al. A subset of patients with recurrent spontaneous abortion is deficient in transforming growth factor β -2-producing "suppressor cells" in uterine tissue near the placental attachment site. *American Journal of Reproductive Immunology*. 1995;34(1):52-64.
138. An HJ, Kim JH, Ahn EH, Kim YR, Kim JO, Park HS, et al. 3'-UTR polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene (VEGF) contribute to susceptibility to recurrent pregnancy loss (RPL). *International journal of molecular sciences*. 2019;20(13):3319.
139. Sun Y, Chen M, Mao B, Cheng X, Zhang X, Xu C. Association between vascular endothelial growth factor polymorphism and recurrent pregnancy loss: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2017;211:169-76.
140. Lash GE, Innes BA, Drury JA, Robson SC, Quenby S, Bulmer JN. Localization of angiogenic growth factors and their receptors in the human endometrium throughout the menstrual cycle and in recurrent miscarriage. *Human Reproduction*. 2012;27(1):183-95.
- recurrent spontaneous abortion. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2013;288:933-7.
125. Check JH, Arwitz M, Gross J, Peymer M, Szekeres-Bartho J. Lymphocyte immunotherapy (LI) increases serum levels of progesterone induced blocking factor (PIBF). *American Journal of Reproductive Immunology*. 1997;37(1):17-20.
126. Pandey MK, Thakur S, Agrawal S. Lymphocyte immunotherapy and its probable mechanism in the maintenance of pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2004;269:161-72.
127. HIGUCHI K, Aoki K, Kimbara T, Hosoi N, Yamamoto T, OKADA H. Suppression of natural killer cell activity by monocytes following immunotherapy for recurrent spontaneous aborters. *American Journal of Reproductive Immunology*. 1995;33(3):221-7.
128. Qiu L, Lin Q, Hong Y. Study on changes of serum T helper cell type 1 and 2 cytokines after active immunotherapy in women with unexplained habitual abortion. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2001;36(7):408-10.
129. Yokoo T, Takakuwa K, Ooki I, Kikuchi A, Tamura M, Tanaka K. Alteration of TH1 and TH2 cells by intracellular cytokine detection in patients with unexplained recurrent abortion before and after immunotherapy with the husband's mononuclear cells. *Fertility and sterility*. 2006;85(5):1452-8.
130. Hua Y-J, Sun Y, Yuan Y, Jiang X-L, Yang F. Lymphocyte immunotherapy for recurrent spontaneous abortion in patients with negative blocking antibody. *Int J Clin Exp Med*. 2016;9(6):9856-67.
131. Kling C, Steinmann J, Westphal E, Magez J, Kabelitz D. Adverse effects of intradermal allogeneic lymphocyte immunotherapy: acute reactions and role of autoimmunity. *Human Reproduction*. 2006;21(2):429-35.
132. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant dentistry*. 2001;10(4):225-8.
133. Mejia HA, Bradley JP. The effects of platelet-rich plasma on muscle: basic science

150. Shreeve N, Sadek K. Intralipid therapy for recurrent implantation failure: new hope or false dawn? *Journal of reproductive immunology*. 2012;93(1):38-40.
151. Ota DM, Jessup JM, Babcock GF, Kirschbaum L, Mountain CF, McMurtrey MJ, et al. Immune function during intravenous administration of a soybean oil emulsion. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 1985;9(1):23-7.
152. Granato D, Blum S, Rössle C, Le Boucher J, Malnoë A, Dutot G. Effects of parenteral lipid emulsions with different fatty acid composition on immune cell functions in vitro. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 2000;24(2):113-8.
153. Calder PC, Yaqoob P, Newsholme EA. Triacylglycerol metabolism by lymphocytes and the effect of triacylglycerols on lymphocyte proliferation. *Biochemical Journal*. 1994;298(3):605-11.
154. Kinsella JE, Lokesh B, Broughton S, Whelan J. Dietary polyunsaturated fatty acids and eicosanoids: potential effects on the modulation of inflammatory and immune cells: an overview. *Nutrition (Burbank)*. 1990;6(1):24-44.
155. Gogos CA, Kalfarentzos F. Total parenteral nutrition and immune system activity: a review. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)*. 1995;11(4):339-44.
156. Kohelet D, Peller S, Arbel E, Goldberg M. Preincubation with intravenous lipid emulsion reduces chemotactic motility of neutrophils in cord blood. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 1990;14(5):472-3.
157. Palmblad J. Intravenous lipid emulsions and host defense—a critical review. *Clinical Nutrition*. 1991;10(6):303-8.
158. Calder P, Sherrington E, Askanazi J, Newsholme E. Inhibition of lymphocyte proliferation in vitro by two lipid emulsions with different fatty acid compositions. *Clinical Nutrition*. 1994;13(2):69-74.
159. Meydani SN, Endres S, Woods MM, Goldin BR, Soo C, Morrill-Labrode A, et al. Oral (n-3) fatty acid supplementation suppresses
141. Bagheri A, Chianeh YR, Rao P. Role of angiogenic factors in recurrent pregnancy loss. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*. 2013;2(4):497-503.
142. Daher S, Denardi KdAG, Blotta MHsSL, Mamoni RL, Reck APM, Camano L, et al. Cytokines in recurrent pregnancy loss. *Journal of Reproductive Immunology*. 2004;62(1-2):151-7.
143. Ferrara N, Keyt B. Vascular endothelial growth factor: basic biology and clinical implications. *Regulation of angiogenesis*. 1997:209-32.
144. Nazari L, Salehpour S, Hosseini S, Hashemi T, Borumandnia N, Azizi E. Effect of autologous platelet-rich plasma for treatment of recurrent pregnancy loss: a randomized controlled trial. *Obstetrics & Gynecology Science*. 2022;65(3):266-72.
145. Alhadlaq A, Mao JJ. Mesenchymal stem cells: isolation and therapeutics. *Stem cells and development*. 2004;13(4):436-48.
146. Pourakbari R, Ahmadi H, Yousefi M, Aghebati-Maleki L. Cell therapy in female infertility-related diseases: Emphasis on recurrent miscarriage and repeated implantation failure. *Life sciences*. 2020;258:118181.
147. Sadighi-Moghaddam B, Salek Farrokhi A, Namdar Ahmadabad H, Barati M, Moazzeni SM. Mesenchymal stem cell therapy prevents abortion in CBA/J× DBA/2 mating. *Reproductive Sciences*. 2018;25(8):1261-9.
148. Nonaka T, Takakuwa K, Ooki I, Akashi M, Yokoo T, Kikuchi A, et al. Results of immunotherapy for patients with unexplained primary recurrent abortions—prospective non-randomized cohort study. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2007;58(6):530-6.
149. Roussev RG, Acacio B, Ng SC, Coulam CB. Duration of intralipid's suppressive effect on NK cell's functional activity. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2008;60(3):258-63.

168. Smith SB, Ravel J. The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. *The Journal of physiology*. 2017;595(2):451-63.
169. Boskey E, Cone R, Whaley K, Moench T. Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source. *Human reproduction*. 2001;16(9):1809-13.
170. Punzón-Jiménez P, Labarta E. The impact of the female genital tract microbiome in women health and reproduction: A review. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2021;38(10):2519-41.
171. Chadchan SB, Singh V, Kommagani R. Female reproductive dysfunctions and the gut microbiota. *Journal of molecular endocrinology*. 2022;69(3):R81-R94.
172. Matos A, Da Silva AP, Medeiros R, Bicho M, Bicho MC. Microenvironment in Vagina as a Key-Player on Cervical Cancer: Interaction of Polymorphic Genetic Variants and Vaginal Microbiome as Co-Factors. *Cerv Cancer Screen Treat Prev Univers Protoc Ultim Control*. 2018.
173. Brotman RM, He X, Gajer P, Fadrosch D, Sharma E, Mongodin EF, et al. Association between cigarette smoking and the vaginal microbiota: a pilot study. *BMC infectious diseases*. 2014;14(1):1-11.
174. Zhou X, Hansmann MA, Davis CC, Suzuki H, Brown CJ, Schütte U, et al. The vaginal bacterial communities of Japanese women resemble those of women in other racial groups. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2010;58(2):169-81.
175. Nicco C, Paule A, Konturek P, Edeas M. From donor to patient: collection, preparation and cryopreservation of fecal samples for fecal microbiota transplantation. *Diseases*. 2020;8(2):9.
176. Chinna Meyyappan A, Forth E, Wallace CJ, Milev R. Effect of fecal microbiota transplant on symptoms of psychiatric disorders: a systematic review. *BMC psychiatry*. 2020;20(1):1-19
- cytokine production and lymphocyte proliferation: comparison between young and older women. *The Journal of nutrition*. 1991;121(4):547-55.
160. Gogos CA, Zoumbos N, Makri M, Kalfarentzos F. Medium-and long-chain triglycerides have different effects on the synthesis of tumor necrosis factor by human mononuclear cells in patients under total parenteral nutrition. *Journal of the American College of Nutrition*. 1994;13(1):40-4.
161. Calder PC, Newsholme EA. Polyunsaturated fatty acids suppress human peripheral blood lymphocyte proliferation and interleukin-2 production. *Clinical Science (London, England: 1979)*. 1992;82(6):695-700.
162. Clark DA. Intralipid as treatment for recurrent unexplained abortion? *American Journal of Reproductive Immunology*. 1994;32(4):290-3.
163. Martini AE, Jasulaitis S, Fogg LF, Uhler ML, Hirshfeld-Cytron JE. Evaluating the utility of intralipid infusion to improve live birth rates in patients with recurrent pregnancy loss or recurrent implantation failure. *Journal of human reproductive sciences*. 2018;11(3):261.
164. Gootenberg DB, Mitchell CM, Kwon DS. Cervicovaginal microbiota and reproductive health: the virtue of simplicity. *Cell host & microbe*. 2018;23(2):159-68.
165. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108(supplement_1):4680-7.
166. Van De Wijgert JH, Borgdorff H, Verhelst R, Crucitti T, Francis S, Verstraelen H, et al. The vaginal microbiota: what have we learned after a decade of molecular characterization? *PloS one*. 2014;9(8):e105998.
167. Donders G. Diagnosis and management of bacterial vaginosis and other types of abnormal vaginal bacterial flora: a review. *Obstetrical & gynecological survey*. 2010;65(7):462-73.

- fecal microbiota transplantation. *Journal of clinical medicine*. 2020;9(6):1650.
185. Ng SC, Kamm MA, Yeoh YK, Chan PK, Zuo T, Tang W, et al. Scientific frontiers in faecal microbiota transplantation: joint document of Asia-Pacific Association of Gastroenterology (APAGE) and Asia-Pacific Society for Digestive Endoscopy (APSDE). *Gut*. 2020;69(1):83-91.
186. Tuniyazi M, Hu X, Fu Y, Zhang N. Canine fecal microbiota transplantation: Current application and possible mechanisms. *Veterinary Sciences*. 2022;9(8):396.
187. Boskey E, Telsch K, Whaley K, Moench T, Cone R. Acid production by vaginal flora in vitro is consistent with the rate and extent of vaginal acidification. *Infection and immunity*. 1999;67(10):5170-5.
188. Rajawat AS, Shrivastava V, Shrivastava A, Singh V. In vitro evaluation of inhibitory activity of Probiotic Lactobacilli against *Candida* species isolated from the vaginal flora of Immunocompromised Patients. *South Asian J Exp Biol*. 2014;3:325-9.
189. Karczewski J, Troost FJ, Konings I, Dekker J, Kleerebezem M, Brummer R-JM, et al. Regulation of human epithelial tight junction proteins by *Lactobacillus plantarum* in vivo and protective effects on the epithelial barrier. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2010;298(6):G851-G9.
190. Phukan N, Parsamand T, Brooks AE, Nguyen TN, Simoes-Barbosa A. The adherence of *Trichomonas vaginalis* to host ectocervical cells is influenced by lactobacilli. *Sexually transmitted infections*. 2013;89(6):455-9.
191. Zárate G, Nader-Macias M. Influence of probiotic vaginal lactobacilli on in vitro adhesion of urogenital pathogens to vaginal epithelial cells. *Letters in Applied Microbiology*. 2006;43(2):174-80.
192. Mastromarino P, Brigidi P, Macchia S, Maggi L, Pirovano F, Trinchieri V, et al. Characterization and selection of vaginal *Lactobacillus* strains for the preparation of vaginal tablets. *Journal of Applied Microbiology*. 2002;93(5):884-93.
177. Petrova MI, Lievens E, Malik S, Imholz N, Lebeer S. *Lactobacillus* species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. *Frontiers in physiology*. 2015;6:81.
178. Haahr T, Zacho J, Bräuner M, Shathmigha K, Skov Jensen J, Humaidan P. Reproductive outcome of patients undergoing in vitro fertilisation treatment and diagnosed with bacterial vaginosis or abnormal vaginal microbiota: a systematic PRISMA review and meta-analysis. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2019;126(2):200-7.
179. Peebles K, Velloza J, Balkus JE, McClelland RS, Barnabas RV. High global burden and costs of bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. *Sexually transmitted diseases*. 2019;46(5):304-11.
180. Fettweis JM, Serrano MG, Brooks JP, Edwards DJ, Girerd PH, Parikh HI, et al. The vaginal microbiome and preterm birth. *Nature medicine*. 2019;25(6):1012-21.
181. Grewal K, Lee YS, Smith A, Brosens JJ, Bourne T, Al-Memar M, et al. Chromosomally normal miscarriage is associated with vaginal dysbiosis and local inflammation. *BMC medicine*. 2022;20(1):38.
182. Juliana NC, Suiters MJ, Al-Nasiry S, Morré SA, Peters RP, Ambrosino E. The association between vaginal microbiota dysbiosis, bacterial vaginosis, and aerobic vaginitis, and adverse pregnancy outcomes of women living in sub-Saharan Africa: a systematic review. *Frontiers in public health*. 2020;8:567885.
183. Koumans EH, Sternberg M, Bruce C, McQuillan G, Kendrick J, Sutton M, et al. The prevalence of bacterial vaginosis in the United States, 2001-2004; associations with symptoms, sexual behaviors, and reproductive health. *Sexually transmitted diseases*. 2007;864-9.
184. Okahara K, Ishikawa D, Nomura K, Ito S, Haga K, Takahashi M, et al. Matching between donors and ulcerative colitis patients is important for long-term maintenance after

193. Osset J, Bartolomé RM, García E, Andreu A. Assessment of the capacity of *Lactobacillus* to inhibit the growth of uropathogens and block their adhesion to vaginal epithelial cells. *The Journal of infectious diseases*. 2001;183(3):485-91.
194. Ralph E, Austin T, Pattison F, Schieven B, Pfeifer T, Forsyth P, et al. Gardner HL, Dukes CD. *Haemophilus vaginalis* vaginitis. A newly defined specific infection previously classified "nonspecific" vaginitis. *Ami Y. British Medical Journal*. 1981;283:747.
195. Tuniyazi M, Zhang N. Possible Therapeutic Mechanisms and Future Perspectives of Vaginal Microbiota Transplantation. *Microorganisms*. 2023;11(6):1427.
196. Byrne EH, Doherty KE, Bowman BA, Yamamoto HS, Soumillon M, Padavattan N, et al. Cervicovaginal bacteria are a major modulator of host inflammatory responses in the female genital tract. *Immunity*. 2015;42(5):965-76.
197. Donders GG, Bosmans E, Dekeersmaeckerb A, Vereecken A, Van Bulck B, Spitz B. Pathogenesis of abnormal vaginal bacterial flora. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2000;182(4):872-8.