

IL SISTEMA IMMUNITARIO IN GRAVIDANZA: MODIFICAZIONI, ADATTAMENTI E RISPOSTE PATOLOGICHE

Marcello Govoni¹, Gabriella Castellino¹, Sara Giacuzzo¹, Roberta Capucci²,
Francesco Trotta¹

¹Sezione di Reumatologia – Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale - Università degli Studi di Ferrara, Ferrara

² Dipartimento di Ostetrica e Ginecologica – Ospedale Sant' Anna, Ferrara

Indirizzo per corrispondenza: Dott. Marcello Govoni

Sezione di Reumatologia Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale Università di Ferrara

Azienda Ospedaliera Universitaria S. Anna

C.so Giovecca 203 - 44100 Ferrara

tel: +39 0532 236678; fax: +39 0532 207221; e-mail: gvl@unife.it

INTRODUZIONE

La gravidanza rappresenta un fenomeno fisiologico unico in natura, consistente nella simbiosi tra individui parzialmente diversi o semi-allogeni; il feto infatti porta un corredo genetico per metà di derivazione paterna (1). Questo tipo di coesistenza richiede una raffinata e complessa regolazione del sistema immunitario, sia materno che fetale, il cui scopo è ad un tempo quello di garantire una efficiente protezione contro eventuali infezioni e di consentire il processo di l'invasione del tessuto embrionale "estraneo" nel contesto di quelli materni evitando che i fisiologici meccanismi di reazione immunitaria, messi in atto dall'organismo della madre, risultino dannosi per l'embrione.

Anni di studi e ricerche hanno solo in parte chiarito le modalità attraverso le quali si realizza questo riassetto immunologico. A tutt'oggi, la tolleranza nei confronti del feto da parte del sistema immunitario materno resta un enigma e, per certi aspetti un vero e proprio paradosso immunologico (2, 3).

MODIFICAZIONI DEL SISTEMA IMMUNITARIO IN GRAVIDANZA

Per molti anni il modello unanimemente riconosciuto per spiegare la coabitazione tra madre e feto si è basato sul concetto di "trapianto fetale" proposto da Medawar nel 1953 (4). I presupposti di questa visione del problema, rivelatasi poi solo parzialmente rispondente alla realtà, si basavano su alcune ipotesi, che di seguito riportiamo: a) la non immunogenicità del feto per immaturità antigenica, b) l'esistenza di uno stato di immunosoppressione materna in virtù del quale il sistema immunitario della madre "ignora" il feto, c) l'utero come sito immunologicamente privilegiato e d) l'esistenza di una barriera immunologica tra madre e feto, elaborata dalla placenta (5).

Alla luce delle più moderne acquisizioni è stato invece dimostrato che: a) il feto ha proprietà immunogene; b) in gravidanza la risposta immunitaria materna non è depressa; c) l'utero non rappresenta un sito "immunoprivilegiato", essendo nota la possibilità di gravidanze extra-uterine (6,7). Per quanto riguarda l'esistenza di una 'barriera immunologica' elaborata dalla placenta all'interfaccia materno-fetale, oggi è acquisito che non si tratta di una 'separazione' meramente passiva o, al più neutra, quanto piuttosto di un sito nel quale operano attivamente fenomeni di tolleranza immunitaria (8).

In ultima analisi le informazioni che nel tempo si sono via via accumulate attestano, contrariamente a quanto originariamente ritenuto, che il sistema immunitario materno è "consapevole" che feto e placenta esistono e che la modulazione della risposta immunitaria della madre in senso tollerogenico nei confronti del concepito è piuttosto il frutto della attivazione di meccanismi immunitari che si realizzano e vengono modulati in modo tale da impedire il rigetto del feto, consentendone lo sviluppo a stretto contatto con i tessuti materni (9).

La gravidanza, nelle sue fasi iniziali, può essere considerata come un processo bifasico: in un primo momento predomina una reazione locale di tipo infiammatorio indispensabile per l'adesione e l'invasione del trofoblasto nei tessuti materni; in una seconda fase si realizza una complessa modulazione in senso anti-infiammatorio che garantisce la preservazione del sistema feto-placentare. Sebbene ogni schematizzazione dei fenomeni biologici che si realizzano durante le prime fasi della gravidanza rischi di essere riduttiva possiamo distinguere i meccanismi di tolleranza che il sistema immunitario materno mette in atto verso il feto e le strategie messe in opera dal feto nei confronti del sistema immunitario materno, in meccanismi locali e sistemici (Tabella I)

MODIFICAZIONI LOCALI ALL'INTERFACCIA MATERNO-FETALE

La placenta è una complessa struttura morfo-funzionale deputata alla regolazione delle fisiologiche interazioni tra il feto e la madre. A questo livello avvengono infatti importanti modificazioni della risposta immunitaria condizionate dalle diverse modalità di contatto tra i costituenti cellulari della madre e del feto, dal clima citochinico ed ormonale e da altri fattori.

La formazione della placenta inizia al momento dell'impianto, quando la blastocisti penetra nell'endometrio materno che progressivamente si trasforma in *decidua* costituita da elementi cellulari stromali endometriali modificati.

Il *trofoblasto* è la controparte fetale, a sua volta composto da tre tipi cellulari diversamente esposti alla circolazione materna: il citotrofoblasto villosi, il sinciziotrofoblasto ed il citotrofoblasto extravilloso.

Il *citotrofoblasto villosi* è separato dai tessuti materni per interposizione del *sinciziotrofoblasto* che invece è in continuo contatto col sangue materno; questa interfaccia si instaura tra l'8^a-9^a settimana (attivazione della circolazione utero-placentare) e persiste fino al termine della gravidanza.

Tabella I - Meccanismi di modulazione del sistema immunitario in gravidanza, a livello materno e fetale**Locali** (cellulari e umorali)

Modificazioni dell'assetto immunologico all'interfaccia materno-fetale :

- espressione di HLA non classici (G ed E) nel trofoblasto
- rimodulazione delle popolazioni di cellule immunocompetenti a livello deciduale (M, NK, T)
- modulazione del clima citochinico locale (switch Th1 – Th2 o *tipo 1-tipo 2*)
- induzione di fenomeni apoptotici nelle cellule immunocompetenti materne
- altri meccanismi (annexina, LIF, IDO, complemento)

Sistemici (cellulari e umorali)

- modificazioni delle popolazioni cellulari immunocompetenti del sangue periferico materno
- Immissione di cellule ed Ag fetali nel circolo materno (microchimerismo)
- Ormoni

LIF : Leucemia inhibitory factor, IDO : indoleamina-de-ossigenasi, M : macrofagi, T : linfociti T, NK: cellule NK

Il *citotrofoblasto extravilloso* è costituito da cellule attivamente proliferanti che invadono la decidua ed il miometrio e formeranno le membrane coriali, rimpiazzando in gran parte l'endotelio delle arterie spirali materne (*trofoblasto endovascolare*). Il citotrofoblasto extra-villoso scompare nel 3° trimestre. Alla 20^a settimana di gravidanza la superficie totale del trofoblasto è pari a circa 15 metri quadrati.

Configurazione del sistema HLA del trofoblasto

Tra i vari meccanismi *locali* attraverso i quali il trofoblasto riesce ad evitare l'attacco da parte del sistema immunitario materno, un posto di rilievo spetta senza dubbio alla particolare configurazione delle molecole HLA espresse sulla sua superficie che sono coinvolte nella presentazione antigenica al sistema immunitario materno.

Il trofoblasto non esprime molecole MHC di classe Ia (HLA-A, HLA-B) (10-12), con l'eccezione delle molecole HLA-C che sono state rinvenute sul citotrofoblasto non-villoso (13-15), dove invece sono presenti molecole MHC – "non classiche" - di classe Ib, HLA-G e HLA-E, identificate per la prima volta 20 anni fa da Ellis et al. (16).

A tutt'oggi le esatte funzioni delle molecole HLA-G sono note solo parzialmente, sebbene varie ipotesi siano state formulate. La più recente ed accreditata sostiene che l'HLA-G giuochi un ruolo nella resistenza del trofoblasto non-villoso alla lisi mediata dalle cellule NK uterine (uNK), presenti in grande numero a questo livello, inibendone la attività citolitica e la migrazione attraverso la placenta (17-23). Per quanto riguarda le molecole HLA-E è stato ipotizzato che possano svolgere un ruolo ancora più rilevante dell'HLA-G nell'inibizione delle cellule uNK a livello dell'interfaccia materno-fetale (24-26).

Riassetto delle cellule immunocompetenti a livello deciduale

L'endometrio può essere considerato un organo linfoide terziario la cui composizione cellulare si modifica nelle varie fasi del ciclo mestruale e durante la

gravidanza (1). All'inizio della gravidanza l'endometrio subisce un *processo di decidualizzazione* caratterizzato dalla proliferazione delle cellule stromali che cominciano a produrre prolattina, a modificare la matrice extracellulare ed il pattern di espressione di molecole di adesione e sostanze immunomodulatrici. Ne deriva una consistente modificazione del traffico cellulare locale e della distribuzione delle popolazioni cellulari a livello deciduale con un afflusso di linfociti T, cellule NK e macrofagi che risultano, a questo livello, le popolazioni cellulari predominanti (Tabella II)

Mentre nella fase proliferativa e secretoria i leucociti ammontano, rispettivamente, a meno del 10 % ed al 20 % circa, nelle fasi precoci della gravidanza il loro numero aumenta fino ad oltre il 40 %. Questo incremento è soprattutto ascrivibile alle cellule uNK, mentre scarsamente rappresentati sono i linfociti B ed i granulociti (27-28).

Le **cellule uNK** rappresentano un subset cellulare specializzato e specifico dell'utero, costituendo circa il 70 % della popolazione leucocitaria nel primo trimestre di gravidanza; hanno funzioni NK-simili, ma fenotipo differente. Esprimono infatti meno recettori di attivazione (CD69, HLA-DR, LFA-1 e CD45RA) rispetto alle cellule NK del sangue periferico e più recettori inibitori tra i quali KIR2D, KIR2DL4 (Ig-like) e CD94/NKG2A (lectin-like) (20, 29-36) (Tabella III). Le cellule uNK esprimono selettivamente CD9, galectina-1 e glicodelina, proteine dotate di attività immunomodulatoria (37, 38). La **galectina-1** inibisce la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule T, riduce la produzione di TNF α , IL-2, IFN γ da parte di cellule T attivate e la produzione di IL-12 da parte dei macrofagi; la **glicodelina** induce una "downregulation" dell'attivazione T cellulare.

Si ritiene, come sopra accennato, che il principale meccanismo che impedisce alle cellule uNK di attaccare il citotrofoblasto non-villoso, sia

Tabella II - Cellule immunocompetenti della mucosa uterina nelle fasi del ciclo mestruale ed in gravidanza

Cellule	ENDOMETRIO		DECIDUA
	Fase proliferativi	Fase secretoria	Gravidanza (fasi iniziali)
Linfociti			
Cellule uNK	+	+++	+++++
cellule T	+	+	++
cellule B	-/+	-/+	-/+
Cellule presentanti l'antigene			
Macrofagi	+	++	+
Cellule dendritiche immature	+	+	+++
Cellule dendritiche mature	-/+	+	-/+
Granulociti			
Polimorfonucleati	-	-/+	-/+

Tabella III - Marcatori antigenici di superficie delle cellule NK e uNK

Antigeni	NK periferici CD56 ^{dim}	uNK CD56 ^{bright}
CD2 (marker T precoce)	+	+
CD7 (marker T precoce)	+	+
CD18 (integrina)	+	+
CD16 (marker NK)	+	-
CD45 marcatore di cellula emopoietica)	+	+
CD56 (marker NK)	+	+
CD57 (marker NK)	+	-
CD62L (molecola di adesione)	+/-	-
CD69 (marker di attivazione)	-	+
KIR (marker NK)	+	+
c-kit (recettore citochinico)	-	+
IL-2R β (recettore citochinico)	+	+

correlato alla interazione tra i recettori inibitori espressi sulla loro superficie con le molecole HLA-G, HLA-E ed HLA-C presenti sul trofoblasto. A seguito di questa interazione l'attività litica delle cellule uNK viene inibita e la produzione di citochine risulta modulata in senso Th2 (vedi oltre) (39-41).

In sintesi, sotto il profilo funzionale, le cellule uNK si caratterizzano per una diminuzione dell'attività citolitica ed una aumentata espressione di recettori inibitori che raggiunge il suo massimo entro il 3° mese di gestazione. L'attività e la produzione citochinica delle cellule uNK è sotto l'influenza regolatoria di fattori ormonali (29).

L'esatta conoscenza delle funzioni delle cellule uNK a livello deciduale è ancora incompleta. Molto probabilmente esse rivestono un ruolo importante nella protezione contro le infezioni e nella modulazione della risposta immunitaria; al tempo stesso intervengono nei complessi meccanismi di regolazione che presiedono alle prime fasi di impianto ed ai fenomeni di placentazione mediante la secrezione di svariate citochine con un profilo diverso rispetto a quello delle cellule NK periferiche (42, 43). Il pannello di citochine prodotte dalle cellule uNK svolge azioni di 'segno' diverso nei confronti del prodotto del concepimento e l'esito finale della gravidanza dipende, in ultima analisi, da una fine regolazione del 'cocktail' citochinico prodotto da queste cellule.

Mentre infatti G-CSF, GM-CSF, M-CSF e LIF stimolano la crescita del trofoblasto ed il LIF stimola anche i processi di impianto (44-46), il TGF- β inibisce la proliferazione e la differenziazione del trofoblasto (47) ed il TNF- α e l'IFN- γ possono avere effetti negativi sull'impianto e l'invasione del trofoblasto (39).

In definitiva, sebbene i dati in vivo sulle funzioni delle cellule uNK siano assai scarsi le informazioni ottenute in vitro suggeriscono tre principali funzioni di questi elementi: 1) regolazione citochino-mediata della crescita placentare e del trofoblasto; 2) immunomodulazione locale (mediata dall'interazione dei recettori inibitori con molecole HLA di classe I "non-classiche" e da proteine immunomodulatorie quali la galectina-1 e la glicodelina); 3) controllo dell'invasione del trofoblasto mediata da fenomeni di citotossicità.

Un altro subset di cellule immunocompetenti presenti nella decidua materna, con un ruolo rilevante nella risposta immunitaria gravidica, è rappresentato dai linfociti T. Anche questi elementi cellulari sono in stretto contatto con il trofoblasto, ma non riconoscendo come estranee le cellule trofoblastiche MHC-(Ia)-negative, non lo attaccano. Come è noto, esistono 2 subsets principali di linfociti T helper CD4⁺: Th1 e Th2, caratterizzati da un diverso profilo secretorio di citochine e da

diverse funzioni nell'ambito della risposta immunitaria.

Le cellule Th1 secernono IFN- γ , TNF- β , IL-2 e TNF- α (pattern di tipo 1). Le citochine di tipo Th1 attivano i macrofagi e sono implicate nelle reazioni cellulose-mediate (immunità cellulare), importanti nella resistenza alle infezioni da patogeni intracellulari e nelle reazioni di citotossicità e di ipersensibilità ritardata. Le cellule Th2 secernono IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 (pattern di tipo 2) e sono maggiormente coinvolte nella produzione anticorpale (immunità umorale) e nella resistenza alle infezioni da patogeni extra-cellulari.

Le cellule Th1 e Th2 svolgono attività mutualmente inibitoria. In particolare l'IL-10, prodotta dalle cellule Th2, inibisce lo sviluppo delle cellule Th1 agendo sulle cellule presentanti l'antigene, mentre l'IFN- γ , prodotto dalle cellule Th1, previene l'attivazione delle cellule Th2. Questa polarizzazione della risposta immunitaria rappresenta in realtà una eccessiva semplificazione, dal momento che esistono altri pattern di secrezione citochinica che non rientrano in questa schematizzazione (48, 49).

A seconda del prevalere dell'uno o dell'altro pattern secretorio (tipo 1 o tipo 2) e della sequenza temporale con cui si realizza questo tipo di polarizzazione, la risposta immunitaria che ne deriva risulta diversamente modulata. Durante la gravidanza risulta potenziata la risposta umorale (tipo 2) mentre è attenuata quella cellulose-mediata (tipo 1) (50-52).

Diverse evidenze hanno dimostrato che le citochine di tipo Th1 hanno un effetto negativo sulla gravidanza. A livello deciduale esse promuovono l'aborto inibendo l'invasione trofoblastica; in particolare il TNF- α stimola l'apoptosi delle cellule umane trofoblastiche e l'IFN- γ aumenta il killing TNF- α -mediato del trofoblasto. Queste citochine stimolano anche l'attività macrofagica a livello deciduale inducendo la produzione di fattori potenzialmente embriotossici (53-55). Il TNF- α e l'IFN- γ sono in grado di influenzare negativamente la crescita fetale anche attraverso l'induzione di fenomeni pro-coagulativi che si traducono nella interruzione del supporto ematico placentare, mediante l'attivazione della protrombinasi, un enzima che converte la protrombina in trombina (56, 57). Al contrario, le citochine di tipo Th2 stimolano la crescita e l'invasione del trofoblasto favorendo lo sviluppo della gravidanza (58-60).

L'ipotesi attualmente più accreditata, pur con qualche eccezione, si basa sul fatto che sia a livello deciduale che nel sangue periferico, durante la gravidanza, predominino le cellule Th2, come risultato di uno shift Th1-Th2 sotto l'influenza prevalente, ma non esclusiva, di fattori ormonali (61-69).

Ai fini del buon esito della gravidanza, ciò che appare maggiormente rilevante sembra essere il rapporto tra i livelli relativi delle diverse citochine, dei loro recettori ed antagonisti piuttosto che le loro concentrazioni assolute (70, 71). La predominanza di un determinato "milieu" citochinico nel microambiente dell'interfaccia materno-fetale, al momento della presentazione dell'antigene al sistema immunitario materno, è probabilmente il fattore principale in grado di orientare la risposta immunitaria verso un clima cellulare ed umorale prevalentemente Th1 o Th2. Appare pertanto intuibile come l'occorrenza di eventi in grado di modificare questo delicato equilibrio, come ad esempio processi infettivi anche sub-clinici, possano determinare il fallimento della gravidanza (50, 72). Una volta indotto, lo shift Th2 si mantiene per tutta la gestazione fino alle fasi finali, allorché si verificano ulteriori modificazioni in prossimità del parto. Tra i fattori che regolano e mantengono la polarizzazione in senso Th2 un ruolo importante è rivestito da citochine, ormoni ed altre molecole.

L'IL-10 è probabilmente una delle citochine di maggiore rilevanza, risultando molto espressa a livello del trofoblasto sia murino che umano; per tale motivo è ritenuta di grande importanza nel controbilanciare i potenziali effetti deleteri delle citochine 'pro-infiammatorie' di tipo 1 (73-75).

Tabella IV - Cellule immunocompetenti a livello deciduale**uNK (60-70 %)**

- attività citolitica inibita dal legame delle molecole **HLA-G**, E e C ai recettori inibitori KIR e lectin-like
- svolgono una importante azione protettiva contro infezioni fetali
- Svolgono un ruolo citochino-mediato nella placentazione (G-CSF, GM-CSF, N-CSF, LIF, TGF β , TNF α , IFN γ)
- scompaiono al termine della gravidanza
- Azione immunomodulante

T linfociti (1-3 %)

- non attaccano il citotrofoblasto extra-villoso
- predominano T linfociti γ/δ di tipo **Th2**

Monociti e Macrofagi (20-30 %)

- Svolgono azione difensiva anti-infettiva ed immunoregolatoria
- Sono importanti per la placentazione (TGF β , TNF α , PGE)
- Fagocitano cellule apoptotiche (ruolo scavenger)
- Perdurano per tutta la gravidanza

Cellule dendritiche immature (20 %)

- svolgono un'importante attività di immunomodulazione mediando tra : difesa contro i patogeni e tolleranza verso il feto

Tra i fattori ormonali il progesterone favorisce lo sviluppo di linfociti T che producono citochine di tipo 2 contribuendo a mantenere la polarizzazione in questa direzione (60). Recentemente è stato dimostrato che in presenza di progesterone i linfociti di donne gravide producono una proteina immunoregolatoria denominata PIBF (progesterone-induced blocking factor) che inibisce diversi tipi di risposta Th1-mediata in vitro e previene l'aborto indotto dal trasferimento di cellule spleniche ad elevata attività NK (76). Durante la gravidanza il priming e la maturazione delle cellule T avviene in un microambiente progressivamente arricchito di progesterone caratterizzato da bassi livelli di IFN- γ e IL-2 ed elevate concentrazioni di IL-4 e IL-10, realizzandosi in tal modo condizioni favorevoli allo sviluppo degli elementi Th2 (50). La relaxina, prodotta dal corpo luteo come il progesterone, ha effetti contrapposti contribuendo a ristabilire, nelle fasi che precedono il parto, una risposta Th1 orientata (60).

Altri fattori concorrono al mantenimento dello switch Th2 come la PGE che inibisce la produzione di IL-2, inattiva le cellule Th1 e l'attività citotossica delle cellule NK (77). I glucocorticoidi riducono la IL-2 ed aumentano la IL-4, contribuendo così al mantenimento del clima Th2 (78). Il β -HCG ha funzioni immunoregatorie inducendo apoptosi nelle cellule endometriali mediante l'espressione del FAS ligand, facilitando così l'invasione delle cellule trofoblastiche (79). Lo switch Th1-Th2 non è prerogativa solo dei linfociti T, ma coinvolge anche, o secondo alcuni prevalentemente, altri subset cellulari come le cellule NK che appartengono all'immunità innata (80).

Che nella gravidanza le modificazioni della risposta immunitaria in senso tollerogenico nei confronti del feto siano un fenomeno prevalentemente a carico dell'immunità innata è nozione relativamente recente (81). Assieme alle cellule NK, i macrofagi sono tra i principali elementi cellulari della risposta immunitaria innata e, a livello dell'interfaccia materno-fetale, sono abbondantemente rappresentati (20-30%). In questa sede, sorprendentemente, i macrofagi coabitano in stretta vicinanza con le cellule trofoblastiche, senza attaccarle, lasciando supporre che svolgano importanti funzioni immunoregatorie associate allo stato gravidico, al di là del loro abituale ruolo "scavenger".

Perché la gravidanza abbia luogo e prosegua, i meccanismi preposti alla regolazione dei fenomeni apoptotici sono di fondamentale importanza.

E' grazie all'apoptosi che durante le fasi di impianto avviene il rimodellamento tessutale della decidua materna e l'invasione dei tessuti embrionali (82). Nel sito di impianto è infatti necessario un costante turnover cellulare per garantire una appropriata crescita e funzione della placenta (83-85). Ne deriva che la clearance dei corpi apoptotici rappresenta un passaggio critico nell'omeostasi tessutale all'interfaccia materno-fetale, prevenendo il rilascio di materiale intracellulare e l'insorgere di una reazione infiammatoria potenzialmente in grado di danneggiare il tessuto fetale. A questo compito - secondo una moderna interpretazione - sono preposti i macrofagi (86)

Come è noto i macrofagi producono citochine e fattori di crescita che governano le interazioni cellulari locali e tessutali; essi rispondono a stimoli ormonali che ne regolano le funzioni e la sopravvivenza (87-89) Il tipo di citochine prodotte dai macrofagi dipende dal loro stato di attivazione e dalla loro attività fagocitica (90). Studi recenti hanno dimostrato che il legame e l'ingestione di cellule apoptotiche da parte dei fagociti si traduce in una modulazione in senso immunosoppressivo ed anti-infiammatorio risultando inibita la produzione di TNF- α ed IFN- γ e stimolato il rilascio di citochine di tipo 2 (86, 91-93). La quantità di elementi apoptotici da rimuovere rappresenta un altro fattore critico, in grado di modulare in senso pro- o anti-infiammatorio l'attività dei macrofagi (93).

E' stato dimostrato che nella pre-eclampsia la distribuzione dei macrofagi si modifica (94, 95). Nella gravidanza normale i macrofagi si localizzano nello stroma circostante le arterie spirali trasformate ed in prossimità del trofoblasto extra-villoso funzionando da cellule di supporto, facilitando così l'invasione trofoblastica attraverso il letto vascolare placentare. Nella pre-eclampsia queste cellule si localizzano invece all'interno ed attorno alle arterie spirali, realizzando una sorta di barriera che separa questi vasi dalle cellule trofoblastiche inducendone l'apoptosi ed ostacolando la trasformazione delle arterie spirali (96).

Altri meccanismi locali coinvolti nella immunoregolazione tollerogenica verso il feto

Oltre alle modificazioni delle popolazioni cellulari immunocompetenti all'interfaccia materno-fetale, nella modulazione della risposta immunitaria materna verso i tessuti trofoblastici entrano in gioco altri fattori locali.

Durante le fasi di impianto, l'endometrio secreta la *leukemia inhibitory factor* (LIF) una molecola idrosolubile che si lega al suo corrispondente recettore (LIF-R) espresso dalla blastocisti, favorendone l'attecchimento (97). Durante la gravidanza il LIF è secreto dalla decidua e dalle cellule Th2. Vi è evidenza che il legame del LIF con il suo recettore espresso sul sinciziotrofoblasto rappresenta un momento fondamentale per la crescita o la differenziazione del trofoblasto (98).

La proteina enzimatica *indoleammina 2,3 di-ossigenasi* (IDO) catabolizza il triptofano ed è sintetizzata e secreta dal sinciziotrofoblasto. L'enzima si è rivelato essenziale per il successo della gravidanza nel topo, tanto che la

sua inibizione tramite la somministrazione di 1-metil-triptofano induce l'aborto di feti allogeni (99, 100). La distruzione del triptofano operata da questo enzima crea, per le cellule immunocompetenti placentari, una condizione di privazione della disponibilità di un aminoacido essenziale, inibendone così l'attivazione.

Una parte rilevante nei fenomeni di immunoregolazione della gravidanza spetta senza alcun dubbio agli ormoni. Il cortisolo, il deidroepianandrosterone (DHEA), il progesterone, gli estrogeni e la noradrenalina aumentano progressivamente nel corso della gestazione e modificano sensibilmente il "milieu" uterino all'interfaccia materno-fetale (101, 102).

Il progesterone è secreto in grandi quantità dalla placenta ed è in grado di determinare una "downregulation" della risposta immunitaria, di promuovere la sintesi di LIF da parte dell'endometrio e di indurre e mantenere lo shift Th1-Th2. (103, 104).

L'estriolo, a concentrazioni elevate, come quelle raggiunte durante la gravidanza, altera il profilo citochinico dei linfociti T verso un fenotipo Th2 aumentando la produzione di IL-10 e inibendo la secrezione di TNF- α (105).

Anche la noradrenalina – la cui produzione è supportata dal cortisolo – stimola la conversione verso il fenotipo Th2 mediata dagli adrenorecettori β_2 (106, 107).

L'annessina II, secreta anche dalla placenta, è una glicoproteina che si lega in modo calcio-dipendente ai fosfolipidi a carica negativa (108). È stato dimostrato che l'annessina II può inibire parzialmente la proliferazione delle cellule linfoidi e la produzione di IgG e IgM da parte delle cellule immunocompetenti materne (109). In tal modo anche questa molecola risulta coinvolta nei meccanismi di protezione del feto nei confronti del sistema immunitario materno.

Come già accennato la regolazione dei fenomeni apoptotici riveste un ruolo importante nelle fasi di placentazione e nella immunoregolazione all'interfaccia materno-fetale. L'espressione di molecole in grado di indurre l'apoptosi di cellule immunocompetenti materne rappresenta un'altra modalità di evasione del feto dai fenomeni di rigetto. Nella placenta umana è stata dimostrata l'espressione di *Fas-ligand*, a livello del trofoblasto e l'espressione di *Fas* è stata riscontrata sui leucociti deciduali (110, 111). Nei meccanismi di regolazione apoptotica sono coinvolti anche altri sistemi come il sistema *TRAIL – TRAIL receptor* (TNF-related apoptosis inducing ligand) la cui presenza è stata documentata sul sinciziotrofoblasto (112).

Ai fini del successo gestazionale, anche l'attivazione del complemento deve essere regolata. Sebbene nella specie umana non sia ancora stato dimostrato che deficit dei fattori di inattivazione della cascata complementare siano coinvolti nella poliabortività ricorrente, studi condotti in topi deficienti per il *Crry* (una molecola che regola negativamente le frazioni C3 e C4, analogamente al DAF, *decay accelerating factor* ed alla MCP, *membrane complement protein*, nell'uomo) hanno dimostrato il verificarsi della morte progressiva degli embrioni nel corso della gravidanza con evidenza di fissazione del C3 a livello del trofoblasto invasivo (113).

MODIFICAZIONI DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA A LIVELLO PERIFERICO

Da quanto fino ad ora detto appare evidente che a livello dell'interfaccia materno-fetale si instaurano complessi meccanismi di modulazione della risposta immunitaria, soprattutto a carico dell'immunità innata rispetto a quella adattativa. Questi processi sono sotto l'influenza ormonale e del clima citochinico locale e, in ultima analisi, inducono uno stato di "tolleranza attiva" della madre nei confronti del feto.

A queste modificazioni locali corrispondono anche modificazioni del sistema immunitario materno a livello periferico.

La rilevanza di tali modificazioni è documentata anche dall'effetto della gravidanza sull'attività di malattia di alcune patologie autoimmuni. I casi più emblematici sono rappresentati dall'artrite reumatoide e dal lupus eritematoso sistemico che rispettivamente, durante la gravidanza, tendono a migliorare e ad aggravarsi (cfr. 114-120).

A livello periferico, il numero totale dei linfociti materni rimane sostanzialmente stabile per tutta la durata della gravidanza sebbene vi sia qualche isolata segnalazione di una riduzione del rapporto CD4/CD8 (121, 122). Analizzando più in dettaglio i vari subsets, il numero dei linfociti T citotossici diminuisce mentre il numero dei linfociti T γ/δ rimane sostanzialmente stabile (123). Studi condotti su questo particolare subset hanno dimostrato che tali cellule sono in uno stato di attivazione ed esprimono recettori per il progesterone; secernono inoltre IL-10, PIBF e TGF- β che sono in grado di sopprimere l'attività delle cellule NK e la risposta T cellulo-mediata agli antigeni fetali (124). I meccanismi attraverso i quali durante la gravidanza si realizza uno stato di tolleranza T cellulare comprendono fenomeni di delezione clonale, di non-responsività clonale, di down regulation del TCR e/o di eventuali co-recettori. Sebbene lo shift Th1-Th2 sia decisamente più consistente a livello dell'interfaccia materno-fetale, esistono evidenze crescenti che tale polarizzazione caratterizzi anche le cellule del sangue periferico della madre come dimostrano i dati ottenuti in condizioni di poliabortività ove tale shift non si realizza (125). Per quanto riguarda le cellule B alcuni Autori ne riportano un lieve decremento, mentre secondo altri il loro numero rimane stabile (121).

In corso di gravidanza normale il numero delle cellule NK nel sangue periferico materno diminuisce (126, 127). Le cellule NK di donne gravide mostrano una ridotta attività citolitica se paragonate a quelle di donne non gravide (128). L'espressione di recettori inibitori è aumentata raggiungendo un massimo entro il terzo mese di gestazione con un successivo declino fino alla fine della gravidanza (31). Anche a livello periferico le modificazioni di numero, fenotipo e attività delle cellule NK sono regolate da ormoni (estrogeni, progesterone, prolattina) e citochine (29).

Gli scarsi studi "in vivo" sui monociti-macrofagi e granulociti hanno in genere dimostrato uno stato di attivazione di questi elementi cellulari a livello periferico (129). Alcune evidenze suggeriscono che la placenta eserciti un ruolo importante nell'attivazione di tali cellule al loro passaggio utero-placentare (130). Un'altra modalità di attivazione degli elementi fagocitanti del sangue materno è rappresentato dal microchimerismo fetale consistente nella immissione nel circolo materno di cellule fetali di origine trofoblastica e sinciziotrofoblastica che vengono fagocitate dai monociti e dai granulociti materni con conseguente attivazione di tali elementi cellulari (131, 132).

Esula dagli scopi di questa sintetica rassegna l'analisi dei dati disponibili relativi alle cause immunologiche di insuccesso gravidico per le quali si rimanda ad alcune esaustive e recenti rassegne (cfr. 133-135). Qui preme solo riaffermare il concetto che ogni perturbazione del delicato equilibrio tra le varie popolazioni cellulari immunocompetenti, sia a livello periferico che deciduale, accanto al difettoso funzionamento di uno o più dei molteplici meccanismi che presiedono alle strategie di protezione del feto nei confronti del sistema immunitario materno a livello placentare, rappresentano altrettante potenziali cause di uno sfavorevole outcome gestazionale. Non v'è dubbio che una più precisa conoscenza di tali alterazioni potrà contribuire ad una migliore conoscenza della fisiologica immunoregolazione della gravidanza normale, oltre a costituire la premessa per un più mirato intervento terapeutico volto a garantire il normale svolgimento di questo straordinario fenomeno di coabitazione tra organismi parzialmente diversi.

BIBLIOGRAFIA

1. Kammerer U, von Wolff M, Markert UR. Immunology of human endometrium. *Immunobiology* 2004; 209: 569-74
2. Thellin O, Coumans B, Zorzi W, et al. Tolerance to the foeto-placental 'graft': ten ways to support a child for nine months. *Curr Opin Immunol* 2000; 12: 731-7
3. Erlebacher A. Why isn't the fetus rejected? *Curr Opin Immunol* 2001; 13: 590-3
4. Medawar PD. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol*, 1953; 7: 320-8
5. Billingham RE, Medawar PB. "Actively acquired tolerance" of foreign cells. *Nature* 1953; 172: 603-6
6. Hoskin DW, Murgita RA. Specific maternal anti-fetal lymphoproliferative responses and their regulation by natural immunosuppressive factors. *Clin Exp Immunol* 1989; 76: 262-7
7. Sacks G, Sargent I, Redman C. An innate view of human pregnancy. *Immunol Today* 1999; 20: 114-8
8. Petraglia F, Florio P, Nappi C, et al. Peptide signalling in human placenta and membranes: autocrine, paracrine, and endocrine mechanisms. *Endocr Rev* 1996; 17: 156-86
9. Bulla R, Fischetti F, Bossi F, et al. Feto-maternal immune reaction at the placental level. *Lupus* 2004; 13: 625-9
10. Coady MA, Mandapati D, Arunachalam B, et al. Dominant negative suppression of major histocompatibility complex genes occurs in trophoblasts. *Transplantation* 1999; 67: 1461-7
11. Van der Elsen PJ, Gobin SJ, van der Stoep G, et al. Transcriptional control of MHC genes in fetal trophoblast cells. *J Reprod Immunol* 2001; 52: 129-45
12. Loke YW, King A, Burrows TD. Decidua in human implantation. *Hum Reprod* 1995; 10 (suppl. 2); 14-21
13. King A, Boocock C, Sharkey AM, et al. Evidence for the expression of HLA-C class I mRNA and protein by human first trimester trophoblast. *J Immunol* 1996; 156: 2068-76
14. King A, Burrows TD, Hiby DE, et al. Surface expression of HLA-C antigen by human extravillous trophoblast. *Placenta* 2000; 21: 376-87
15. Proll J, Blaschitz A, Hutter H, et al. First trimester human endovascular trophoblast cell express both HLA-C and HLA-G. *Am J Reprod Immunol* 1999; 42: 30-6
16. Ellis SA, Sargent IL, Redman CW, et al. Evidence for a novel HLA antigen found on human extravillous trophoblast and a choriocarcinoma cell line. *Immunology* 1986; 59: 595-601
17. Pazmany L, Mandelboim O, Vales-Gomez M, et al. Protection from natural killer cell-mediated lysis by HLA-G expression on target cells. *Science* 1996; 274: 792-5
18. Munz C, Holmes N, King A, et al. Human histocompatibility leucocyte antigen (HLA)-G molecules inhibit NKAT3 expressing natural killer cells. *J Exp Med* 1997; 185: 385-91
19. Rouas-Freiss N, Lockwood CJ, Ma Y, et al. Direct evidence to support the role of HLA-G in protecting the fetus from maternal uterine natural killer cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94: 11520-5
20. Solderstrom K, Corliss B, Lanier LL, et al. CD94/NKG2 is the predominant inhibitory receptor involved in the recognition of HLA-G by decidual and peripheral blood NK cells. *J Immunol* 1997; 159: 1072-5
21. Moreau P, Paul P, Rouas-Freiss N, et al. Molecular and immunologic aspects of the nonclassical HLA class I antigen HLA-G: evidence for an important role in the maternal tolerance of the fetal allograft. *Am J Reprod Immunol* 1998; 40: 136-44
22. Rieger L, Hofmeister V, Probe C, et al. Th1- and Th2-like cytokine production by first trimester decidual large granular lymphocytes is influenced by HLA-G and HLA-E. *Mol Hum Reprod* 2002; 8: 255-61
23. Dorling A, Monk N, Lechler R. HLA-G inhibits the transendothelial cell migration of human NK cells: a strategy for inhibiting xenograft rejection. *Transplan Proc* 2000; 32: 938
24. King A, Allan DS, Bowen M, et al. HLA-E is expressed on trophoblast and interacts with CD94/NKG2 receptors on decidual NK cells. *Eur J Immunol* 2000; 30: 1623-31
25. Braud VM, Allan DS, O'Callaghan CA, et al. HLA-E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C. *Nature* 1998; 391: 795-9
26. Mandelboim O, Pazmany L, Davis DM, et al. Multiple receptors for HLA-G on human natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14666-70
27. Bulmer JN, Morrison L, Longfellow M, et al. Granulated lymphocytes in human endometrium: histochemical and immunohistochemical studies. *Hum Reprod* 1991; 6: 791-8
28. Ozenci CC, Korgun ET, Demir R. Immunohistochemical detection of CD45+, CD56+, and CD14+ cells in human deciduas during early pregnancy. *Early Pregnancy* 2001; 5: 164-75
29. Dosiou C, Giudice LC. Natural killer cells in pregnancy and recurrent pregnancy loss: endocrine and immunologic perspectives. *Endocrine Reviews* 2005; 26: 44-62
30. Kodama T, Hara T, Okamoto E, et al. Characteristic changes of large granular lymphocytes that strongly express CD56 in endometrium during menstrual cycle and early pregnancy. *Hum Reprod* 1998; 13: 1036-43
31. Ponte M, Cantoni C, Biassoni R, et al. Inhibitory receptors sensing HLA-G1 molecules in pregnancy: deciduas-associated natural killer cells express LIR-1 and CD94/NKG2A and acquire p49, an HLA-G1-specific receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 5674-9
32. Hiby SE, King A, Sharkey AM, et al. Human uterine NK cells have a similar repertoire of killer inhibitory and activatory receptors to those found in blood, as demonstrated by RT-PCR and sequencing. *Mol Immunol* 1997; 34: 419-30
33. Verma S, King A, Loke YW. Expression of killer cell inhibitory receptors on human uterine natural killer cells. *Eur J Immunol* 1997; 27: 979-83

34. Davis DM, Mandelboim O, Luque I, et al. The transmembrane sequence of human histocompatibility leucocyte antigen (HLA)-C as a determinant in inhibition of a subset of natural killer cells. *J Exp Med* 1999; 189: 1265-74
35. Rajagopalan S, Long EO. A human histocompatibility leucocyte antigen (HLA)-G-specific receptor expressed on all natural killer cells. *J Exp Med* 1999; 189: 1093-100
36. King A, Allan DS, Bowen M, et al. HLA-E is expressed on trophoblast and interacts with CD94/NKG2 receptors on decidual NK cells. *Eur J Immunol* 2000; 30: 1623-31
37. Saito S. Cytokine network at the feto-maternal interface. *J Reprod Immunol* 2000; 47: 87-103
38. Koopman LA, Kopcow HD, Rybalov B, et al. Human decidual natural killer cells are a unique NK cell subset with immunomodulatory potential. *J Exp Med* 2003; 198: 1201-12
39. Veenstra van Nieuwenhoven AL, Heineman MJ, Faas MM. The immunology of successful pregnancy. *Hum Reprod* 2003; 9: 347-57
40. Leédé-Bataille N. Dialogue materno-foetal et implantation embryonnaire humaine: des concepts qui évoluent. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2004; 33: 564-76
41. Rieger L, Hofmeister V, Probe C, et al. Th1 and Th2-like cytokine production by first trimestre decidual large granular lymphocytes is influenced by HLA-G and HLA-E. *Mol Hum Reprod* 2002; 8: 255-61
42. King A. Uterine lymphocytes and decidualization. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 28-36
43. Guimond M, Wang B, Croy BA. Immune competence involving the natural killer cell lineage promotes placental growth. *Placenta* 1999; 20: 441-50
44. Loke YW, King A, Gardner L, et al. Evidence for the expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptors by human first trimester extravillous trophoblast and its response to this cytokine. *J Reprod Immunol* 1992; 22: 33-45
45. Garcia-Lloret MI, Morrish DW, Wegmann TG, et al. demonstration of functional cytokine-placental interactions: CSF-1 and GM-CSF stimulate human cytotrophoblast differentiation and peptide hormone secretion. *Exp Cell Res* 1994; 214: 46-54
46. Stewart CL, Kaspoar P, Brunet LJ, et al. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. *Nature* 1992; 359: 76-9
47. Karmakar S, Das C. Regulation of trophoblast invasion by IL-1beta and TGF-beta. *Am J Reprod Immunol* 2002; 48: 210-9
48. Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets. *Immunol Today* 1996; 17: 138-46
49. Coffman RL, Romagnani S. *Redirection of Th1 and Th2 responses*. Springer, Berlin, 1999
50. Ragupathy R. Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm. *Sem Immunol* 2001; 13: 219-27
51. Lin H, Mosmann TR, Guilbert L, et al. Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J Immunol* 1993; 151: 4562-73
52. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, et al. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today* 1993; 14: 353-6
53. Baines MG, Duclos AJ, Anteck E, et al. Decidual infiltration and activation of macrophages leads to early embryo loss. *Am J Reprod Immunol* 1997; 37: 471-7
54. Haddad EK, Duclos AJ, Anteck E, et al. Role of interferon-gamma in the priming of decidual macrophages for nitric oxide production and early pregnancy loss. *Cell Immunol* 1997; 181: 68-75
55. Haddad EK, Duclos AJ, Lapp WS, et al. Early embryo loss is associated with the prior expression of macrophage activation markers in the deciduas. *J Immunol* 1997; 158: 4886-92
56. Clark DA, Chaouat G, Arck PC, et al. Cytokine dependent abortion in CBA x DBA/2 mice is mediated by the procoagulant fgl2 prothrombinase. *J Immunol* 1998; 160: 545-9
57. Clark DA, Yu G, Levy GA, et al. Procoagulants in fetus rejection: the role of the OX-2 (CD200) tolerance signal. *Semin Immunol* 2001; 13: 255-63
58. Das C, Kumar VS, Gupta S, et al. Network of cytokines, integrins and hormones in human trophoblast cells. *J Reprod Immunol* 2002; 53: 257-68
59. Piccinni MP. T cell Cytokines in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2002 47: 289-94
60. Piccinni MP, Romagnani S. Regulation of fetal allograft survival by a hormone-controlled Th1-Th2-type cytokines. *Immunol Res* 1996; 15: 141-50
61. Saito S. Cytokine network at the feto-maternal interface. *J Reprod Immunol* 2000; 47: 87-103
62. Ho HN, Chao KH, Chen HF, et al. Distribution of Th1 and Th2 cell populations in human peripheral and decidual T cells from normal and anembryonic pregnancies. *Fertil Steril* 2001; 76: 797-803
63. Reinhard G, Noll A, Schlebusch H, et al. Shift in the Th1/Th2 balance during human pregnancy correlate with apoptotic changes. *Biochem Biophys Res Comm* 1998; 245: 933-8
64. Trautmann MS, Collmer D, Edwin SS, et al. Expression of interleukin-10 in human gestational tissues. *J Soc Gynecol Invest* 1997; 4: 247-53
65. de Moraes-Pinto MI, Vince GS, Flanagan BF, et al. Localization of IL-4 and IL-4 receptors in the human term placenta, decidua, and amniochorionic membranes. *Immunol* 1997; 90: 87-94
66. Dealtry GB, Clark DE, Sharkey A, et al. Expression and localization of the Th2-type cytokine IL-13 and its receptor in the placenta during human pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1989; 40: 283-90
67. Krasnow JS, Tollerud DJH, Naus G, et al. Endometrial Th2 cytokine expression throughout the menstrual cycle and early pregnancy. *Hum Reprod* 1996; 11: 1747-54
68. Lim KJ, Odukoya OA, Ajjan RA, et al. Profile of cytokine mRNA expression in peri-implantation human endometrium. *Mol Hum Reprod* 1998; 4: 77-81
69. Chaouat G, Zourbas S, Ostojic S, et al. A brief review of recent data on some cytokine expression at the maternal-fetal interface which might

- challenge the classical Th1/Th2 dichotomy. *J Reprod Immunol* 2002; 53: 241-56
70. Vince GS, Johnson PM. Is there a Th2 bias in human pregnancy? *J Reprod Immunol* 1996; 32: 101-4
 71. Guilbert LJ. There is a bias against type 1 (inflammatory) cytokine expression and function in pregnancy. *J Reprod Immunol* 1996; 32: 105-10
 72. Clark DA, Arck PC, Chaouat G. Why did your mother reject you? Immunogenetic determinants of the response to environmental selective pressure expressed at the uterine level. *Am J Reprod Immunol* 1999; 41: 5-22
 73. Chaouat G, Cayol V, Mairovitz V, et al. Localization of the Th2 cytokines IL-3, IL-4, IL-10 at the murine fetomaternal interface during pregnancy; in Gupta SK ed. *Reproductive Immunology*. New Delhi, Narosa Publishing House, 1999: 61-70
 74. Chaouat G, Meliani AA, Martal J, et al. IL-10 prevents naturally occurring fetal loss in the CBA x DBA/2 mating combination, and local defect in IL-10 production in this abortion-prone combination is corrected by in vitro injection of IFN-g. *J Immunol* 1995; 154: 4261-70
 75. Rivera DL, Ollister SM, Liu X, et al. Interleukin-10 attenuates experimental fetal growth restriction and demise. *FASEB J* 1998; 12: 189-97
 76. Szekeres-Bartho J, Chaouat G. Lymphocyte-derived, progesterone-induced blocking factor corrects resorption in a murine abortion system. *Am J Reprod Immunol* 1990; 23: 26-8
 77. Kelly RW, Critchley HOD. A T helper-2 bias in deciduas: the prostaglandin contribution of the macrophage and trophoblast. *J Reprod Immunol* 1997; 33: 181-7
 78. Daynes RA, Araneo BA. Contrasting effects of glucocorticoids on the capacity of T cells to produce the growth factors interleukin-2 and interleukin-4. *Eur J Immunol* 1989; 19: 2319-25
 79. Runic R, Lockwood CJ, Ma Y, et al. Expression of Fas ligand by human cytotrophoblasts: implications in placentation and fetal survival. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 81:3119-22
 80. Borzychowski AM, Croy BA, Chan WL, et al. Changes in systemic type 1 and type 2 immunity in normal pregnancy and pre-eclampsia may be mediated by natural killer cells. *Eur J Immunol* 2005; 35: 3054-63
 81. Sacks G, Sargent I, Redman C. An innate view of human pregnancy. *Immunol Today* 1999; 20: 114-8
 82. Uckan D, Steele A, Cherry P, et al. Trophoblast express Fas ligand: a proposed mechanism for immune privilege in placenta and maternal invasion. *Mol Hum Reprod* 1997; 3: 655-62
 83. Levy R, Smith SD, Yusuf K, et al. Trophoblast apoptosis from pregnancies complicated by fetal growth restriction is associated with enhanced p53 expression. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 1056-61
 84. Ratts VS, Tao XJ, Webster CB, et al. Expression of BCL-2, BAX and BAK in the trophoblast layer of the term human placenta: a unique model of apoptosis within syncytium. *Placenta* 2000; 21: 361-6
 85. Smith SC, Baker PN, Symonds EM. Increased placental apoptosis in intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 1395-401
 86. Abrahams VM, Kim YM, Straszewski SL, et al. Macrophage and apoptotic cell clearance during pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2004; 51: 275-82
 87. Hunt J. Cytokine networks in the uteroplacental unit: macrophages as pivotal regulatory cells. *J Reprod Immunol* 1989; 16: 1-17
 88. Garcia-Velasco J, Arici A, Naftolin F, et al. Macrophage-derived growth factors regulate FasL expression in endometrial stromal cells. *Mol Human Reprod* 1998; 5: 642-50
 89. Mor G, Sapi E, Abrahams VM, et al. Interaction of the estrogen receptors with the Fas ligand promoter in human monocytes. *J Immunol* 2003; 170: 114-22
 90. Cavaillon JM. Cytokines and macrophages. *Biomed Pharmacother* 1994; 48: 445-53
 91. Voll RE, Herrmann M, Roth EA, et al. Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature* 1997; 390: 350-1
 92. Huynh ML, Fadok VA, Henson PM. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF- β 1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest* 2002; 109: 41-50
 93. Savill J, Fadok V. Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature* 2000; 407: 784-8
 94. Kim YM, Chaiworapongsa T, Gomez R, et al. Failure of physiologic transformation of the spiral arteries in the placental bed in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 1137-42
 95. Reister F, Frank HG, Kingdom JC, et al. Macrophage-induced apoptosis limits endovascular trophoblast invasion in the uterine wall of preeclamptic women. *Lab Invest* 2001; 81: 1143-52
 96. Mor G, Abrahams VM. Potential role of macrophages as immunoregulators of pregnancy. *Reprod Biol Endocr* 2003; 1: 1-8
 97. Kojima K, Kanzaki H, Iwai M, et al. Expression of leukemia inhibitory factor (LIF) receptor in human placenta: a possible role of LIF in the growth and differentiation of trophoblast. *Human Reprod* 1995; 10: 1907-11
 98. Senturk LM, Arici A. Leukemia inhibitory factor in human reproduction. *Reprod Immunol* 1998; 39: 144-51
 99. Munn DH, Zhou M, Atwood JT, et al. Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. *Science* 1998; 281: 1191-3
 100. Mellor AL, Munn DH. Tryptophan catabolism and T cell tolerance: immunosuppression by starvation? *Immunol Today* 1999; 20: 469-73
 101. Kanik KS, Wilder RL. Hormonal alterations in rheumatoid arthritis, including the effects of pregnancy. *Rheum Dis Clin North Am* 2000; 26: 26: 805-23
 102. Straub RH, Buttgerit F, Cutolo M. Benefit of pregnancy in inflammatory arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 801-3
 103. Siiteri PK, Stites DP. Immunologic and endocrine interrelationships in pregnancy. *Biol Reprod* 1982; 26: 1-14
 104. Thellin O, Coumans B, Zorzi W, et al. Tolerance to the foeto-placental graft: ten ways to support child for nine months. *Curr Op Immunol* 2000; 12: 731-7
 105. Zang YC, Halder JB, Hong J, et al. Regulatory effects of estrion on T cell migration and cytokine profile: inhibition of transcription factor NF- κ B. *J Neuroimmunol* 2002; 124: 106-14
 106. Sanders VM, Straub RH. Norepinephrine, the beta-adrenergic receptor, and immunity. *Brain Behav Immun* 2002; 16: 290-332
 107. Straub RH. *Tables of molecular and functional neuroendocrine immune interactions*. Echting, Germany: Biozol, 2000

108. Aarli A, Kristofferson EK, Jensen TS, et al. Suppressive effect on lymphoproliferation in vitro by soluble annexin II released from isolated placental membranes. *Am J Reprod Immunol* 1997; 38: 313-9
109. Aarli A, Matre R. Suppression of immunoglobulin secretion by soluble annexin II. *Scand J Immunol* 1998; 48: 522-526
110. Kauma SW, Huff TF, Hayes N, et al. Placental Fas ligand expression is a mechanism for maternal immune tolerance to the fetus. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2188-94
111. Hammer A, Blaschitz A, Daxbock C, et al. Fas and Fas ligand are expressed in the uteroplacental unit of first trimestre pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1999; 41: 41-51
112. Phillips TA, Ni J, Pan J, et al. TRAIL (Apo-2L) and TRAIL receptors in human placentas: implications for immune privilege. *J Immunol* 1999; 162: 6053-9
113. Xu C, Mao D, Holers VM, et al. A critical role for murine complement regulator Crry in fetomaternal tolerance. *Science* 2000; 287: 498-501
114. Buyon JP, Nelson JL, Lockshin M. The effects of pregnancy on autoimmune diseases. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 78: 99-104
115. Ostensen M. Rheumatological disorders. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol* 2001; 15: 953-69
116. Mok CC, Wong RWS. Pregnancy in systemic lupus erythematosus. *Postgrad Med J* 2001; 77: 157-65
117. Ostensen M, Villiger PM. Immunology of pregnancy – pregnancy as a remission inducing agent in rheumatoid arthritis. *Transplant Immunol* 2002; 9: 155-60
118. Kaaja RJ, Greer IA. Manifestations of chronic disease during pregnancy. *JAMA* 2005; 294: 2751-7
119. Doria A, Iaccarino L, Ghirardello A, et al. Pregnancy in rare autoimmune rheumatic diseases: UCTD, MCTD, myositis, systemic vasculitis and Behcet disease. *Lupus* 2004; 13: 690-5
120. Tincani A, Biasini-Rebaioli C, Frasi M, et al. Pregnancy and autoimmunity: maternal treatment an maternal disease influence on pregnancy outcome. *Autoimmunity Rev* 2005; 4: 423-5
121. Watanabe M, Iwatani Y, Kaneda T, et al. Changes in T, B and NK lymphocyte subsets during and after normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1997; 37: 472-6
122. Sabahi F, Rola-Plezczyński M, O'Connell S, et al. Qualitative and quantitative analysis of T lymphocytes during normal human pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1995; 33: 381-92
123. Rukavina D, Podack ER, Rubesa G, et al. Down-regulated expression of perforin-positive/CD¹⁶⁺ cells in the peripheral blood lymphocytes in the first trimester of pregnancy and up-regulation at the end of pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1997; 38: 189-96
124. Barakonyi A, Polgar B, Szekeeres-Bartho J. The role of glid T-cell receptor positive cells in pregnancy: Part II. *Am J Reprod Immunol* 1999; 42: 83-7
125. Marzi M, Vigano A, Trabattoni D, et al. Characterization of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic pregnancy. *Clin Exp Immunol* 1996; 106: 127-33
126. Beer AE, Kwak JY, Ruiz JE. Immunophenotypic profiles of peripheral blood lymphocytes in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple failed in vitro fertilization cycles. *Am J Reprod Immunol* 1996; 35: 376-82
127. Gregory CD, Lee H, Rees GB, et al. Natural killer cells in normal pregnancy: analysis using monoclonal antibodies and single-cell cytotoxicity assays. *Clin Exp Immunol* 1985; 62: 121-7
128. Gregory CD, Lee H, Scott IV, et al. Phenotypic heterogeneity and recycling capacity of natural killer cells in normal human pregnancy. *J Reprod Immunol* 1987; 11: 135-45
129. Sacks GP, Studena K, Sargent IL, et al. Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leucocytes akin to those of sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 80-6
130. Mellembakken JR, Aukrust P, Olafsen MK, et al. Activation of leucocytes during the uteroplacental passage in preeclampsia. *Hypertension* 2002; 39: 155-60
131. knight M, Redman CW, Linton EA, et al. Shedding of syncytiotrophoblast microvilli into the maternal circulation in preeclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynecol* 1998; 105: 632-40
132. Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ, et al. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 705-8
133. Clark DA, Coulam CB, Daya S, et al. Unexplained sporadic and recurrent miscarriage in the new millennium: a critical analysis of immune mechanisms and treatments. *Human Reprod Update* 2001; 7: 501-11
134. Li TC, Makris M, Tomsu M, et al. Recurrent miscarriage: aetiology, management and prognosis. *Human Reprod Update* 2002; 8: 463-81
135. Laird SM, Tuckerman EM, Cork BA, et al. A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. *Human Reprod Update* 2003; 9: 163-74