ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის
მედიცინის ფაკულტეტი

სადოქტორო პროგრამა: „კლინიკური და ტრანსლაციური მედიცინა“

**მაია ჭიოკაძე**

# ენდომეტრიუმის ლიმფოციტთა სუბპოპულაციები ქალებში უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგებით

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად წარმოდგენილი დისერტაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

ჯენარა ქრისტესაშვილი - მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი

უდო მარკერტი, იენის საუნივერსიტეტო კლინიკის სამეცნიერო ცენტრის ლაბორატორია „პლაცენტას“ ხელმძღვანელი, პროფესორი (იენა, გერმანია)

თბილისი

2021 წელი

**აბსტრაქტი**

ორსულობის განმეორებითი დანაკარგები (ოგდ) აღენიშნება რეპროდუქციული ასაკის ქალების 2-5%-ს. იგი არა მარტო ღრმა ფსიქოლოგიური ტრავმაა წყვილებისათვის, არამედ ჯერ კიდევ დიდი გამოწვევაა მათი მკურნალი გინეკოლოგებისათვის მსოფლიოს მასშტაბით. ინტენსიური კვლევების მიუხედავად, შემთხვევათა 50% კვლავ აუხსნელია (უოგდ), რომელთა დიდი ნაწილის მიზეზადაც იმუნოლოგიური ცვლილებები მოიაზრება.

იმუნოლოგიურ მიზეზთა შორის ერთ-ერთი ყველაზე წინააღმდეგობრივი რგოლია ენდომეტრიუმის შეცვლილი იმუნორეცეპციულობა, რომელიც ენდომეტრიუმის ლიმფოციტთა სხვადასხვა სუბპოპულაციების რაოდენობისა და ფუნქციების ცვლილებების შედეგად ვითარდება. საშვილოსნოს ნატურალური კილერი უჯრედები (uterine Natural Killer) -uNK წარმოადგენს ენდომეტრიუმის იმუნურ უჯრედთა ძირითად პოპულაციას და მთავარი მონაწილეა იმპლანტაცია/პლაცენტაციის ტოლეროგენული იმუნური მექანიზმებისა. uNK-ს იმუნომარეგულირებელ და ციტოტოქსიურ სუბპოპულაციებს შორის დისბალანსი კი ასოცირდება ორსულობის წარუმატებელ გამოსავალთან, მათ შორის უოგდ-სთან. ენდომეტრიუმის შეცვილილი იმუნორეცეპციის ერთ-ერთ მიზეზად განიხილება აგრეთვე ქრონიკული ენდომეტრიტიც.

ამჟამად, მიმდინარე გამოწვევა მკვლევარებისათვის არის მაღალ-ინფორმაციული იმუნური პარამეტრების მოძიება ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს შეფასებისა და ორსულობის მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკის განსაზღვრისათვის უოგდ ანამნეზის მქონე ქალებში. ამდენად, uNK-ს სუბპოპულაციების რაოდენობისა და მათი ციტოტოქსიურობის პოტენციალის შეფასება მზარდ მნიშვნელობას იძენს როგორც სამეცნიერო, ასევე კლინიკური კვლევების პროტოკოლებში.

**კვლევის მიზანს წარმოადგენდა** უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებით დანაკარგებსა და ენდომეტრიალური ლიმფოციტების სუბპოპულაციათა იმუნოფენოტიპების დისბალანსს შორის კავშირის დადგენა და შესაძლო მაღალ-ინფორმაციული იმუნური პარამეტრების გამოვლენა უოგდ ანამნეზის მქონე ქალებში

შემდგომი ორსულობის მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკის პროგნოზირებისათვის და იმუნოთერაპიის სამიზნე ჯგუფის შერჩევისათვის.

**კვლევის მასალა და მეთოდები:** შრომაში **იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით** გამოკვლეულ იქნა 61 უოგდ ანამნეზის (საკვლევი ჯგუფი) და 10 ჯანმრთელი ფერტილური ქალის (საკონტროლო ჯგუფი) ენდომეტრიუმის ბიოპტატები. ენდომეტრიალურ ლიმფოციტთა სუბპოპულაციების იმუნოფენოტიპების უკეთ დახასიათებისათვის და ციტოტოქსიურობის პოტენციალის შესაფასებლად გამოყენებულ იქნა 5 იმუნური მარკერი და მათი კომბინაციები: $CD45^+$ ლეიკოციტების, $CD56^+$ uNK უჯრედების, $CD16^+$ და $CD57^+$ uNK-ს ციტოტოქსიური სუბპოპულაციების, აგრეთვე $CD138^+$ პლაზმოციტების (ქრონიკული ენდომეტრიტის) მარკერები.

იმუნოპოზიტიური უჯრედები დათვლილ იქნა მანუალურად FIJI/Image J software-ით. მონაცემები შეფასდა როგორც მათი საშუალო რაოდენობა $მმ^2$ -ზე. განისაზღვრა სხვადასხვა მარკერებს შორის შეფარდებები და გამოისახა სიხშირეთა განაწილების პროცენტულობით (%). აღნიშნული სიდიდეები შედარდა ჯგუფების მიხედვით. ჩატარებულ იქნა აგრეთვე კორელაციური ანალიზი სხვადასხვა სუბპოპულაციათა მარკერებს შორის საკვლევ და საკონტროლო ჯგუფებში.

**შედეგები:** ციტოტოქსიური $CD16^+$ uNK-ს რაოდენობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ იყო გაზრდილი უოგდ ჯგუფში საკონტროლო ჯგუფის იგივე მაჩვენებელთან შედარებით ($p<0.001$). ამ ორ ჯგუფს შორის სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება არ იქნა ნანახი ცალკე აღებული $CD45^+$ ($P=0.06$), $CD56^+$ ($P=0.99$) და $CD57^+$ ($P=0.14$) მარკერების საშუალო სიდიდეებს შორის. თუმცა, ჩაღრმავებულმა ანალიზმა ამ მარკერებისა და მათი თანაფარდობების სიხშირეთა განაწილების მიხედვით (uNK-ს რაოდენობრივი რანჟირების საფუძველზე) და საკვლევ მარკერთა კორელაციურმა კვლევებმა აჩვენა მათი განსხვავებული განაწილება უოგდ ჯგუფში ($P<0.001$ CD45, CD56 და CD16-სთვის, $P<0.003$ CD57-სთვის) საკონტროლოსთან შედარებით და წარმოაჩინა ენდომეტრიუმში ამ იმუნურ უჯრედთა განაწილების განსაკუთრებული მახასიათებლები.

საკონტროლო ჯგუფში $CD56^+$ uNK წარმოდგენილი იყო 90-300 უჯრ/$მმ^2$ კონცენტრაციით. უოგდ შემთხვევები კლასიფიცირებულ იქნა როგორც დაბალი

(უოგდ-CD56$^{low}$<90 უჯრ/მმ$^2$), ნორმალური (უოგდ-CD56$^{normal}$ 90-300 უჯრ/მმ$^2$) და მაღალი (უოგდ-CD56$^{high}$ >300 უჯრ/მმ$^2$) კონცენტრაციების ქვეჯგუფებად. უოგდ-CD56$^{low}$ და უოგდ-CD56$^{normal}$ ქვეჯგუფების ზოგიერთ შემთხვევაში ნანახი იქნა ციტოტოქსიური CD16$^+$ და CD57$^+$ გაზრდილი პროპორციები CD56$^+$ uNK-სთან მიმართებაში. უოგდ-CD56$^{high}$ ქვეჯგუფში CD57/ CD56 თანაფარდობა შემცირებული იყო ნიმუშთა უმრავლესობაში, CD16/ CD56 თანაფარდობის სიდიდე კი მსგავსი იყო საკონტროლო ჯგუფის იგივე სიდიდისა.

CD138$^+$-ის იმუნოლოკალიზაციის მიხედვით ჯგუფებს შორის სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება არ იქნა ნანახი, რითაც გამოირიცხა ქრონიკული ენდომეტრიტის ზეგავლენა ენდომეტრიუმის ნიმუშებზე.

**დასკვნები:** ჩვენი კვლევით დადასტურდა კავშირი უოგდ-სა და ენდომეტრიუმის დისფუნქციურ იმუნურ მიკროგარემოს შორის. CD16, CD45, CD56, CD57, CD138 მარკერების კომბინაციების იმუნოჰისტოქიმიურმა გამოკვლევამ აჩვენა, რომ uNK-ს ცალკეული სუბპოპულაციების აბსოლუტური რაოდენობების მიღმა არსებობს უფრო აქტუალური პარამეტრები-ენდომეტრიუმის ლიმფოციტთა სუბპოპულაციების თანაფარდობები, მათი შესაძლო ციტოტოქსიკური ან პრო-ფერტილური იმუნოფენოტიპები, რითაც უფრო უკეთესად შეიძლება ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს შეფსება და შემდგომი ორსულობის მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკის პროგნოზირება ქალებში უოგდ ანამნეზით.

**საკვანძო სიტყვები:** ორსულობის განმეორებითი დანაკარგები; Natural Killer უჯრედები; ქრონიკული ენდომეტრიტი; CD16; CD45; CD56; CD57; CD138

## Abstract

Recurrent pregnancy loss (RPL) affecting 2-5% of women of reproductive age is a profound psychological distress for couples and still big clinical challenge to their gynecologists worldwide. After even a thorough evaluation 50% of cases still remain unexplained (uRPL), a large percentage of which is attributed to immunological causes. One of the controversial pathways among them is disturbed endometrial receptivity due to the changed number and functions of different lymphocyte subpopulations. Uterine Natural Killer cells (uNK) represent predominant endometrial immune cells and are pivotal in tolerogenic immune mechanisms of implantation/placentation. An imbalance between immunomodulatory and cytotoxic uNK phenotypes is associated with unsuccessful outcome of pregnancy, particularily uRPL. Chronic endometritis constitutes another factor promoting unfavourable immune environment in endometrium.

Current challenge for researchers is to find out more informative immune parameters to understand endometrial immune environment and predict the potential risk for subsequent miscarriage in uRPL women. Therefore, measurement of uNK cells acquires more significance in research settings and clinical investigational protocols of uRPL.

**Aim of the study was:** to evaluate the association between uRPL and imbalance of different immunophenotypes of endometrial lymphocyte subpopulations, find out more informative potential immune parametres to predict the risk for subsequent miscarriage in uRPL women and define the target subgroup for immunotherapy.

**Materials and methods:** Endometrial biopsies of 61 uRPL patients and 10 fertile controls were investigated by immunohistochemistry to evaluate immunophenotypes and cytotoxic competence of endometrial lymphocyte subpopulations. The set of 5 immune cell markers and their combinations were applied. The concentrations of leucocytes ($CD45^+$), plasmocytes ($CD138^+$), uNK cells ($CD56^+$) and their $D16^+$ and $CD57^+$ cytotoxic subpopulations were assessed. Immunopositive cells for each marker were calculated manually by FIJI/Image J software and presented as cells/$mm^2$. The ratios between different markers were calculated and expressed by percentages (%). Correlation between markers were performed. Data were compared in groups.

**Results:** the mean number of $CD16^+$ uNK was significantly increased in the endometrium of uRPL patients compared to controls ($p<0,001$). No differences were observed in the mean values of $CD45^+$ ($P=0.06$), $CD56^+$ ($P=0.99$) and $CD57^+$ ($P=0.14$). Nevertheless, further analysis of these markers and their ratios by frequency distributions (dependent on uNK cell count ranges), also correlation between markers showed their different distributions in uRPL group ($p<0.01$ for CD45, CD56 and CD16; $p=0.003$ for CD57) compared to controls.

Control endometria presented 90-300 $CD56^+$ uNK cells/$mm^2$. uRPL cases were classified as low ($CD56^{low}$<90 cells/$mm^2$), normal ($CD56^{normal}$ 90-300 cells/$mm^2$) and high ($CD56^{high}$>300 cells/$mm^2$) subgroups. Some cases from uRPL-$CD56^{low}$ and uRPL-$CD56^{normal}$ subgroups showed elevated proportions of cytotoxic $CD16^+$ and $CD57^+$ cells in relation to $CD56^+$ cells. In uRPL-$CD56^{high}$ subgroup the CD57/CD56 ratio was reduced in most samples, the CD16/CD56 ratio was similar to controls. Difference in immunolocalisation of CD138 marker was not statistically significant between groups, therefore the influence of chronic endometritis on these observations was excluded.

**Conclusions:** our results reinforce the link between uRPL and dysfunctional endometrial environment associated with distinct immune profiles of lymphocyte subpopulations. The immunohistochemical investigation with the combination of CD16, CD45, CD56, CD57, CD138 markers unveiled previously unappreciated possible cytotoxic and pro-fertile immunophenotypes of endometrial lymphocytes, which can serve as more relevant immune parametres for the evaluation of endometrial environment and prediction the risk for subsequent miscarriage in uRPL women.

**Key words:** recurrent pregnancy loss; Natural Killer cells; Chronic endometritis; CD16; CD45; CD56; CD57; CD138.

## სარჩევი

**I. შესავალი-საკვლევი თემის აქტუალობა**.....1

**II.ლიტერატურის მიმოხილვა**.....10

1. ორსულობის განმეორებითი დანაკარგები - განსაზღვრება, ეპიდემიოლოგია.....10

2. ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების ეტიოლოგიური ფაქტორები.....14

3. ნორმალური ორსულობისა და ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების იმუნობიოლოგია. ალო-იმუნური მექანიზმები.....18

4. uNKუჯრედები, მათი სუბპოპულაციები, იმუნური მარკერები, რეცეპტორები.....22

5. uNK უჯრედების წარმოშობა და განაწილება ენდომეტრიუმში მენსტრუალური ციკლის განმავლობაში.....27

6. uNK უჯრედები- ძირითადი „მოთამაშეები“ ფეტო-მატერნალურ ზედაპირზე. მათი კვლევის მნიშვნელობა და სირთულეები.....31

7. uNK უჯრედების კვლევის მეთოდები.....34

8. ქრონიკული ენდომეტრიტი- განსაზღვრება და ცნობილი ფაქტები.....38

9.ინფლამატორული ენდომეტრიუმის შეცვლილი იმუნორეაქტიულობა და ბიოსენსორული თვისებები.....40

10. ქრონიკული ენდომეტრიტის კავშირი რეპროდუქციულ გამოსავალთან და მისი გავრცლების სიხშირე ქალებში ორსულობის განმეორებითი დანაკარგებით.....42

11.ქრონიკული ენდომეტრიტის დიაგნოსტიკა.....44

**III. კვლევის მასალა და მეთოდები**.....47

1.საკვლევი პოპულაცია.....47

2.იმუნურ უჯრედთა მარკერების დეტექცია იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით.....48

3.მხედველობის ველის შერჩევა, იმუნოპოზიტიურ უჯრედთა დათვლის მეთოდი...50

4.სტატისტიკური მეთოდები.....53

**IV. კვლევის შედეგები და განხილვა**.....55

1.CD138- ენდომეტრიალური პლაზმოციტების მარკერი.....55

2.CD45-ლეიკოციტთა ზოგადი მარკერი.....56

3.CD56-uNK უჯრედების ზოგადი მარკერი.....58

4. CD16 -uNK უჯრედების ციტოტოქსიურობის მარკერი.....60

5. CD57- uNK უჯრედების ციტოტოქსიურობის მარკერი.....61

**V. დასკვნები და რეკომენდაციები**.....83

**VI. ბიბლიოგრაფია**.....86

**VII. დისერტაციის თემასთან დაკავშირებული სამეცნიერო პუბლიკაციები**.....103

**VIII. მოხსენებები სადისერტაციო ნაშრომის თემაზე**.....104

## ცხრილები, გრაფიკები, ილუსტრაციები


| N | დასახელება | გვერდი |
|---|---|---|
| ცხრ.1 | ოგდ-ს ტიპები | 12 |
| ცხრ.2 | ორსულობის შეწყვეტის რისკის დამოკიდებულება დედის ასაკზე | 12 |
| ცხრ.3. | ორსულობის შეწყვეტის რისკის დამოკიდებულება წინა შეწყვეტილი ორსულობების რაოდენობაზე | 12 |
| ცხრ.4 | ოოციტებში ანეუპლოიდიის სიხშირის დამოკიდებულება ასაკზე | 13 |
| დიაგრ.1 | ოგდ-ს ეტიოლოგიური ფაქტორები | 15 |
| სურ.1 | იმუნორეგულატორული და ციტოტოქსიური CD56+uNK უჯრედები | 23 |
| სურ.2 | uNK-ს ზოგადი CD56 მარკერი და სპეციფიური KIR რეცეპტორები | 26 |
| სურ.3 | NK-ს რეცეპტორთა მრავალფეროვანი რეპერტუარი | 27 |
| სურ.4 | uNK-ს რეკრუტირება სისხლიდან ენდომეტრიუმში სხვადასხვა ფაქტორთა გავლენით | 28 |
| სურ.5 | uNK-ს რაოდენობის ცვლილება პრეიმპლანტაციურ ენდომეტრიუმში და დეციდუაში | 30 |
| სურ.6 | uNK-ს განაწილება პროლიფერაციულ და პრეიმპლანტაციურ ენდომეტრიუმში | 30 |
| სურ.7 | იმუნოჰისტოქიმიის ძირითადი პრინციპები | 36 |
| სურ.8 | ქრონიკული ენდომეტრიტის ტიპიური ჰისტეროსკოპიული სურათი | 39 |
| სურ.9 | ენდომეტრიუმის იმუნური უჯრედები | 41 |
| სურ.10 | პლაზმოციტების აღმოჩენა ქრ. ენდომეტრიტის დროს ჰ&ე და იჰქ მეთოდებით | 45 |
| ცხრ.5. | იჰქ ანალიზის დროს გამოყენებული ანტისხეულები | 49 |

| | | |
|---|---|---|
| სურ.11 | ენდომეტრიუმის ბიოპტატების პარაფინირებული ნიმუშები | 52 |
| სქემა 1. | იმუნოჰისტოქიმიური პროტოკოლის სქემატური გამოსახულება | 52 |
| სურ. 12. | CD138+ ლოკალიზაცია უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში | 55 |
| ცხრ. 6. | CD16+ ის სიხშირული განაწილება უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში | 54 |
| ცხრ. 7. | uNK-სუბპოპულაციათა და ლეიკოციტების რაოდენობრ. რანჟირება | 56 |
| სურ.13. | CD45+ იჰქ-ლოკალიზაცია უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში | 57 |
| გრაფ.1. | CD45+ ის საშუალო სიდიდისა და ფარდობითი სიხშირის განაწილება | 58 |
| სურ.14. | CD56+ uNK-ს იჰქ-ლოკალიზაცია უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში | 59 |
| გრაფ.2. | CD56-ის საშუალო სიდიდისა და ფარდობითი სიხშირის განაწილება | 59 |
| სურ.15. | CD16+ uNK-ს იჰქ-ლოკალიზაცია უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში | 60 |
| სურ.16. | CD57+ uNK-ს იჰქ-ლოკალიზაცია უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში | 61 |
| გრაფ.3. | CD16+ და CD57+ საშუალო სიდიდეებისა და მათი ფარდობითი სიხშირეების განაწილება უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში | 61,62 |
| გრაფ.4. | CD56/ CD45 და CD16/ CD56 მარკერებს შორის კორელაციები და თანაფარდობები | 64,66 |
| გრაფ.5. | CD57/ CD56 და CD16/ CD57 მარკერებს შორის კორელაციები და თანაფარდობები | 68,70 |


**აბრევიატურები**

**უოგდ**- უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგები

**HLA**-ადამიანის ლეიკოციტარულ ანტიგენთა სისტემა

**uNK**-საშვილოსნოს ნატურალური კილერი უჯრედები

**pNK**-პერიფერიული სისხლის კილერი უჯრედები

**TPO**-თიროპეროქსიდაზა

**KIR**-კილერების იმუნოგლობულინის მსგავსი რეცეპტორი

**Th**-T helper ლიმფოციტები

**Treg**-რეგულატორული T ლიმფოციტი

**hCG**-ადამიანის ქორიონული გონადოტროპინი

**aPLa**-ანტიფოსფოლიპიდური ანტისხეული

**ACA**-ანტიკარდიოლიპინები

**LAC**-ლუპუს ანტი-კოაგულანტი

**PIBF-**პროგესტერონ-ინდუცირებული მაბლოკირებელი ფაქტორი

**GR**-გლუკოკორტიკოიდის რეცეპტორი

**IFNγ-**ინტერფერონი γ

**TNFα-**-სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი

**MIP-1β**-მაკროფაგების ანთებითი პროტეინი1β

**LIF**-ლეიკემიის მაინჰიბირებ. ფაქტორი

**CD**-დიფერენცირების კლასტერი

**ANG-**ანგიოპოეტინი

**VEGF-A**-ვასკულარული ენდოთელიუმის ზრდის ფაქტორი-A

**PLGF**-პლაცენტარული ზრდის ფაქტორი

**TGF-β**-მატრანსფორმირებელი ზრდის  ფაქტორი β

**GM-CSF**-გრანულოციტ-მაკროფაგების კოლონიის მასტიმულირებელი ფაქტორი

**M-CSF**-მაკროფაგების კოლონიის  მასტიმულირებელი ფაქტორი

**DAB**-დიამინობენზიდინი

**H&E-**ჰემატოქსილინ-ეოზინი

**RIF (**Repeated implantation failure)- განმეორებითი წარუმატებელი იმპლანტაციები In Vitro განაყოფიერების შემდეგ

**uRPL** (unexplained recurrent pregnancy loss)-უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგები.

**ASRM-** The American Society for Reproductive Medicine

**ESHRE**- The European Society of Human Reproduction and Embriology

**ESHRE** Early Pregnancy GDG- Early Pregnancy Guideline Divelopment Group

**RCOG**-The Royal College of Obstetricians and Gynaecologists

## შესავალი

### საკვლევი თემის აქტუალურობა

ორსულობის თვითნებითი შეწყვეტა-ორსულობის დანაკარგი დიდი ფსიქოლოგიური სტრესი და პირადი ტრაგედიაა წყვილებისათვის, მით უფრო თუ ამ დანაკარგებს განმეორებითი ხასიათი აქვს. რეპროდუქციული ფუნქციის დაზიანებისა და დიდი ფინანსური ხარჯების გარდა მრავალჯერადი იმედგაცრუება ძალიან ნეგატიურად აისახება ქალის ფსიქოლოგიურ და ფიზიკურ ჯანმრთელობაზე. ქალთა უმრავლესობისათვის და მათი პარტნიორებისათვის ორსულობის განმეორებითი შეწყვეტა ნიშნავს არა მხოლოდ ნაყოფის, არამედ მომავლის იმედებისა და გეგმების დაკარგვასაც, რაც უკავშირდებოდა ამ ორსულობას. მათ უჩნდებათ დანაშაულის, დეპრესიულობისა და აგრესიულობის განცდა საკუთარი თავის, პარტნიორისა და მკურნალი ექიმების მიმართ. ეს მნიშვნელოვნად აუარესებს მათ პირად და პროფესიული ცხოვრების ხარისხს (Kolte et al. 2015; ESHRE Early pregnancy GDG, 2017; Koert et al. 2019; Christiansen et al. 2005; El Hachem et al. 2017). ამ შემთხვევაში საკითხი სცილდება მხოლოდ რეპროდუქციული დარღვევების ფარგლებს და მოიცავს სოციალურ და დემოგრაფიულ ასპექტებსაც, რაც განსაკუთრებით აქტუალურია და დიდ მნიშვნელობას იძენს ისეთი მცირერიცხოვანი პოპულაციის მქონე ქვეყნისათვის, როგორიც საქართველოა.

ორსულობის თვითნებითი შეწყვეტა-სპონტანური აბორტი ორსულობის ყველაზე ხშირი გართულებაა. კონცეპტუსების 70% საერთოდ ვერ აღწევს სიცოცხლისუნარიანობას, კლინიკური ორსულობის (ულტრაბგერითი გამოკვლევით ან ჰისტოლოგიურად დადასტურებული) 12-15% კი მთავრდება სპონტანური აბორტით, რომელთა უმრავლესობა (90%-მდე) ძირითადად პირველ ტრიმესტრში ხდება (RCOG Green-top Guideline no.17. 2011; Jeve, Yavada, and Davies 2014; El Hachem et al. 2017; Practice Committee ASRM 2012; Homer et al. 2019).

ორსულობის განმეორებითი დანაკარგები (ოგდ) რეპროდუქციული ასაკის ქალების 2-5%-ში გვხვდება და არა მარტო ღრმა ფსიქო-ემოციური ტრავმაა წყვილებისათვის, არამედ ჯერ კიდევ დიდი გამოწვევაა მათი მკურნალი გინეკოლოგებისათვის მსოფლიო მასშტაბით: როგორც განვითარებად ასევე

განვითარებულ ქვეყნებშიც. გარდა ამისა, ბოლო მონაცემებითა და მტკიცებულებებით, ოგდ ასოცირდება სამეანო გართულებების მომატებულ ალბათობასთან და შემდგომი ორსულობის არასასურველ პერინატალურ გამოსავალთან (El Hachem et al. 2017; Jeve, Yavada, and Davies 2014; Toth et al. 2018; Atik et al. 2018. ESHRE Guideline on RPL). ბევრი მკვლევარის მონაცემებით, ქალებში, რომელთაც ანამნეზში აქვთ ოგდ, ხშირია „დიდი სამეანო სინდრომები"-ისეთი სამეანო პათოლოგიები, როგორიცაა ნაყოფის საშვილოსნოსშიდა განვითარების შეფერხება, პრეეკლამფსია, ნაადრევი მშობიარობა, და ნაყოფის მკვდრადშობადობა (Brosens et al. 2011; Kutteh 2015; Diejomaoh 2015). ეს კიდევ უფრო ცხადყოფს, რამდენად რთული და აქტუალურია პრობლემა.

ჯერ კიდევ ბევრი საკითხი ოგდ-ს გარშემო გაურკვეველი და წინააღმდეგობრივია. ბოლომდე არაა დადგენილი პათოფიზიოლოგიური მექანიზმები, დიაგნოსტიკური კრიტერიუმები და მკურნალობის სტრატეგიები. არ არის შეთანხმება თვით განსაზღვრებაზე, ორსულობის დანაკარგთა რიცხვზე და ორსულობის კვირეების რაოდენობაზე, რომელიც დააკმაყოფილებდა დაავადების განსაზღვრების კრიტერიუმს (RCOG Green-top Guideline no.17, 2011; Practice Committee ASRM 2012; Atik et al. 2018.ESHRE Guideline on RPL; Toth et al. 2018).

ორსულობის განმეორებითი დანაკარგები პოლიეტიოლოგიური პათოლოგიაა და აერთიანებს სრულიად განსხვავებულ დაავადებათა ჰეტეროგენულ ჯგუფს. **ნაყოფისეული მიზეზებით-კონცეპტუსის ქრომოსომული ანომალიებით** განპირობებული ოგდ შეადგენს მთელი პათოლოგიის 50-60%-ს, დანარჩენი ნაწილი კი გამოწვეულია **დედისეული მიზეზებით** (ESHRE Early pregnancy GDG, 2017; Christiansen et al. 2005; Diejomaoh 2015; Homer 2019; El Hachem et al. 2017; Kutteh 2015; Grande et al. 2012).

ოგდ-ს მულტიფაქტორულ ჯგუფში მეცნიერულად დამტკიცებული და დასაბუთებულია ისეთი **ეტიოლოგიური ფაქტორები,** როგორიცაა მშობელთა **ქრომოსომული ანომალიები, საშვილოსნოს განვითარების დეფექტები, ენდოკრინული, მეტაბოლური, აუტოიმუნური დაავადებები** (ანტიფოსფოლიპიდური სინდრომი-შეძენილი თრომბოფილია). ხოლო ზოგიერთი ეტიოლოგიური ფაქტორი-**მემკვიდრული თრომბოფილიები, ინფექციები, ქრონიკული ენდომეტრიტი,**

**ალოიმუნური მიზეზები** კი კვლავ საკამათოა და **შემდგომ დასაბუთებას საჭიროებს** (Atik et al. 2018.ESHRE Guideline on RPL; El Hachem et al. 2017; Kutteh 2015; Dimitriadis et al. 2020).

თანამედროვე მოლეკულური ბიოტექნოლოგიების მიღწევების მიუხედავად, სრულყოფილი გამოკვლევების შედეგადაც კი ოგდ-ს შემთხვევათა 50% აუხსნელი რჩება, რომელთა ძირითად მიზეზად, სავარაუდოდ, ორსულობის დროს განვითარებული იმუნური მექანიზმების დარღვევები მოიაზრება. კერძოდ, იმ ნატიფი ტოლეროგენული იმუნური რეაქციების დარღვევა, რითაც დედის იმუნური სისტემა ერთი მხრივ შემწყნარებელია სემი-ალოგენური ნაყოფის მიმართ, ხოლო მეორე მხრივ აქტიურად იცავს მას სხვადასხვა პათოგენისაგან (Arck, P.C, and Hecher 2013; Bulmer et al. 2009; Ford, Holly B., and Schust. 2009; Erlebacher 2013; Kuon et al. 2013; Gu et al. 2015). ორსულობის ამ **„იმუნოლოგიური პარადოქსის“** უნიკალურობის, სირთულისა და მრავალფეროვნების გამო, იმუნოლოგიური რგოლი ოგდ-ს პათოგენეზში ყველაზე წინააღმდეგობრივი და აუხსნელია.

განსაკუთრებით მწვავე დისკუსიებს იწვევს „ენდომეტრიალური ფაქტორი“- ენდომეტრიუმის იმუნური უჯრედების-ლიმფოციტთა სხვადასხვა სუბპოპულაციების შეცვლილი რაოდენობა და ფუნქციები (Quenby et al. 1999; Dosiou et al. 2005; Nakashima et al. 2012; Khalife et al. 2019; Kuon et al. 2013; Erlebacher 2013; Hyde et al. 2014; El-Azzamy et al. 2018). მათ შორის, ბოლო ათწლეულების განმავლობაში, მეცნიერთა ყურადღების ცენტრში მოექცა საშვილოსნოს ნატურალური კილერი უჯრედები-uNK (uterine Natural Killer) და მათი სხვადასხვა სუბპოპულაციები, როგორც დედა-ნაყოფს შორის მიმდინარე „იმუნოლოგიური დიალოგის“ ცენტრალური, საკვანძო უჯრედები. ეს უკანასკნელნი უაღრესად მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ იმპლანტაცია/პლაცენტაციის პროცესების სწორად წარმართვაში, ენდომეტრიუმის ჰომეოსტაზის შენარჩუნებასა და ორსულობის წარმატებულად დასრულებისათვის (Dosiou et al. 2005; Bulmer, J.N., and Lash 2005; El-Azzamy et al. 2018; Beytamouni, T. S., and Ghanem 2016; Chong, H.P., and Quenby 2016; RCOG Scientific impact paper No 53. 2016).

დღეისათვის მსოფლიოში შეინიშნება მზარდი ინტერესი ენდომეტრიუმში uNK უჯრედთა სხვადასხვა სუბპოპულაციების დისბალანსის შესაძლო როლის შესახებ

უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების (უოგდ) პათოგენეზში და საერთოდ, რეპროდუქციული გამოსავალის მიმართ. ბევრი მკვლევარის აზრით, uNK-ს იმუნომარეგულირებელი და ციტოტოქსიური სუბპოპულაციების არაადექვატური რაოდენობა, მათ შორის თანაფარდობის დარღვევა იწვევს ენდომეტრიუმის იმუნორეაქტიულობის/რეცეპციულობისა და მთლიანად იმუნური მიკროგარემოს შეცვლას, რაც საბოლოოდ იწვევს ორსულობის შეწყვეტას (Jacob 2006; Jabrane-Ferrat, Nabila, and Siewiera 2014; El-Azzamy et al. 2018; Kuon et al. 2017).

დღემდე კვლავ აქტუალური რჩება ქრონიკული ენდომეტრიტის პრობლემა, რომელიც მიიჩნევა ენდომეტრიუმის არაადექვატური იმუნორეაქტიულობის ერთ-ერთ სახედ და რომელიც ასევე იწვევს ენდომეტრიუმის რეცეპტულობის შეცვლას და ორსულობის შეწყვეტას (Disep et al. 2004; Benner et al. 2018; Bouet et al. 2016; Cicinelli et al. 2005; Cicinelli et al. 2014; D'Ippolito et al. 2016). მრავალი მკვლევარისა და ექსპერტის მიერ ოგდ ჯგუფში ნანახი იქნა ქრონიკული ენდომეტრიტის გავრცელების მაღალი სიხშირე, თუმცა მონაცემები აქაც საკმაოდ ურთიერთსაწინააღმდეგოა (Johnston-MacAnanny et al. 2010; Kitaya 2011; Cicinelli et al. 2015; Kitaya, Kotaro, and Yasuo. 2011; Kitaya et al. 2016; Kitaya et al. 2018).

ამჟამად მიმდინარე გამოწვევა მეცნიერებისათვის არის საიმედო, მაღალ-ინფორმაციული ენდომეტრიალური იმუნური პარამეტრებისა მოძიება, რითაც შესაძლებელი იქნება უოგდ ანამნეზის მქონე ქალებში შემდგომი ორსულობის მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკის პროგნოზირება. ამ მიმართულებით ინტენსიური კვლევები ტარდება მსოფლიოს მრავალ მაღალგანვითარებულ კვლევით ცენტრში. სამწუხაროდ, შრომების რაოდენობა მცირეა და ჰეტეროგენული, ისინი სუბსტანდარტული დიზაინისაა, მათი შედეგები კი - წინააღმდეგობრივი, ხშირად ურთიერთგამომრიცხავიც, რადგან დღემდე არ არსებობს ენდომეტრიუმის იმუნოლოგიური სტატუსის კვლევის ერთიანი, სტანდარტიზირებული მეთოდი და არ არის დადგენილი იმუნურ უჯრედთა ზღვრული რეფერენტული ნორმები, რის გამოც ვერ ხერხდება სხვადასხვა კვლევით ცენტრებში წარმოებული გამოკვლევებისა და მათი შედეგების შედარება. ხელის შემშლელი ფაქტორებია ასევე საკვლევი პოპულაციების ჰეტეროგენულობა და ჯანმრთელი, ფერტილური საკონტროლო ჯგუფის ორგანიზებაც (მასალის აღების ინვაზიურობისა და მტკივნეულობის გამო).

ყოველივე ამის გათვალისწინებით, uNK უჯრედების განსაზღვრა ენდომეტრიუმში ძალიან აქტუალურია და მზარდ მნიშვნელობას იძენს როგორც სამეცნიერო-კვლევით ცენტრებში, ასევე რეპროდუქციული დარღვევების კვლევისა და მკურნალობის კლინიკურ პროტოკოლებშიც. გარდა ამისა, უოგდ-ს მქონე სასოწარკვეთილი წყვილების მხრიდანაც შეინიშნება გაზრდილი მოთხოვნილება „იმუნური უჯრედების“ ტესტირებაზე და იმუნურ თერაპიაზე მაღალი დონის მტკიცებულებების არარსებობის მიუხედავად.

უცნობი გენეზის ოგდ დღემდე რჩება რეპროდუქციულ იმუნოლოგიაში ერთ-ერთ უდიდეს გამოწვევად, რადგან გამომწვევი მიზეზის დადგენის გარეშე შეუძლებელია იმუნური თერაპიის სამიზნე ჯგუფის შერჩევა და ეფექტური მკურნალობის შემუშავება. საკითხის წინააღმდეგობრივი ხასიათის გამო ბევრი კითხვა დღემდე კვლავ პასუხგაუცემელია. მხოლოდ მეცნიერთა და კლინიცისტთა ურთიერთშეთანხმებული, კოორდინირებული თანამშრომლობით (მეთოდების სტანდარტიზაცია, პროტოკოლების დახვეწა, კონტროლების მოძიება), და მულტიდისციპლინარული, ინტეგრირებული მიდგომით სხვადასხვა დარგის სპეციალისტების მხრიდან იქნება შესაძლებელი ამ დიდი გამოწვევის გადალახვა.

უოგდ-სა და ენდომეტრიუმის იმუნურ უჯრედთა დისბალანს შორის ასოციაციის დადგენა თავისთავად ძალიან აქტუალურია საერთაშორისო სამეცნიერო ასპარეზზე, მაგრამ უაღრესად დიდი მნიშვნელობა აქვს ამ საკითხის შესწავლას და წარდგენას ქართველი მეცნიერებისა და პრაქტიკოსი მეან-გინეკოლოგებისათვის, ვინაიდან რეპროდუქციული იმუნოლოგია ჩვენს ქვეყანაში არ არის განვითარებული და ყოველი მაღალი ხარისხის ნაშრომი ხელს შეუწყობს სამომავლოდ მეცნიერული კვლევის შედეგების ტრანსლაციას პრაქტიკაში და ინოვაციური კვლევების დანერგვას საქართველოში უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგებისა და სხვა რეპროდუქციული პრობლემების გადასაჭრელად.

აღნიშნულის გათვალისწინებით, **ჩვენი კვლევის ჰიპოთეზაა:** ქალებში, უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგებით, ჯანმრთელი ფერტილური ქალებისაგან განსხვავებით, აღინიშნება დისფუნქციური ენდომეტრიუმი-ენდომეტრიუმის იმუნურ უჯრედთა -ლიმფოციტების სხვადასხვა სუბპოპულაციათა იმუნოფენოტიპების დისბალანსი, რაც ცვლის ენდომეტრიუმის

იმუნორეაქტიულობასა და რეცეპციულობას და საბოლოოდ იწვევს ორსულობის შეწყვეტას.

**<u>კვლევის მიზანი:</u>**

უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებით დანაკარგებსა და ენდომეტრიალური ლიმფოციტების სხვადასხვა სუბპოპულაციათა იმუნოფენოტიპების დისბალანსს შორის კავშირის დადგენა და შესაძლო, მაღალ-ინფორმაციული იმუნური პარამეტრების გამოვლენა უოგდ-ს ანამნეზის მქონე ქალებში შემდგომი ორსულობის მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკის პროგნოზირებისათვის და იმუნური თერაპიის სამიზნე ჯგუფის შერჩევისათვის.

**<u>კვლევის ამოცანები:</u>**

1. საკვლევ (უოგდ) და საკონტროლო ჯგუფის ქალთა ენდომეტრიუმის ბიოპტატებში იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით uNK უჯრედების $CD16^+$, $CD56^+$, $CD57^+$ სუბპოპულაციებისა და $CD45^+$ ლეიკოციტთა კონცენტრაციების (უჯრედი/$მმ^2$) განსაზღვრა და მათი შედარება ჯგუფებში.
2. uNK-ს იმუნომარეგულირებელ ($CD56^+$) და ციტოტოქსიურ ($CD16^+$, $CD57^+$) სუბპოპულაციებს შორისა და მათი ლეიკოციტების ($CD45^+$) საერთო რაოდენობასთან თანაფარდობების განსაზღვრა სიხშირეთა განაწილების მიხედვით უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში, მათი სხვადასხვა ფენოტიპებისა და ინფორმაციული პარამეტრების გამოვლენის მიზნით.
3. uNK უჯრედების ორ ციტოტოქსიურ სუბპოპულაციას ($CD16^+$, $CD57^+$) შორის თანაფარდობისა და კორელაციის განსაზღვრა საკვლევ და საკონტროლო ჯგუფებში უფრო მეტი ციტოტოქსიურობის პოტენციალის მქონე მარკერის გამოსავლენად.
4. უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში uNK უჯრედების სხვადასხვა სუბპოპულაციებსა და ლეიკოციტებს შორის კორელაციების დადგენა.
5. უოგდ და საკონტროლო ჯგუფის ქალთა ენდომეტრიუმში $CD138^+$ პლაზმოციტების მარკერის განსაზღვრა ენდომეტრიუმის იმუნურ მიკროგარემოზე ქრონიკული ენდომეტრიტის ზეგავლენის გამორიცხვის მიზნით.

<u>ნაშრომის მეცნიერული სიახლე:</u>

- პირველად ჩვენს კვლევაში, მკაცრი კრიტერიუმებით შერჩეულ უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების მქონე ქალებში, იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით პრე-იმპლანტაციური ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს გამოსაკვლევად გამოყენებულ იქნა ერთდროულად 5 იმუნური მარკერი და მათი სხვადასხვა კომბინაცია, ადრე გამოყენებულ ცალკეულ მარკერთა ნაცვლად. კერძოდ, განისაზღვრა uNK უჯრედების სხვადასხვა სუბპოპულაციების ($CD56^+$, $CD16^+$, $CD57^+$), ლეიკოციტებისა ($CD45^+$) და პლაზმოციტების ($CD138^+$) კონცენტრაციები. მიღებული შედეგები შედარდა ჯანმრთელი ფერტილური ქალების იგივე მაჩვენებელს.
- ენდომეტრიუმის რთულ, დინამიურ ქსოვილში ლიმფოციტთა სუბპოპულაციების დისბალანსის კომპლექსურობის უკეთ წარმოჩენის მიზნით, პირველად ჩვენს მიერ უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში გამოყენებულ იქნა ინოვაციური იმუნური პარამეტრები-თანაფარდობები uNK-ს იმუნომარეგულირებელ და ციტოტოქსიურ სუბპოპულაციებს შორის და მათი თანაფარდობები ენდომეტრიალური ლეიკოციტების საერთო რაოდენობასთან, რამაც საშუალება მოგვცა გამოგვეყო უფრო მეტად ინფორმაციული პარამეტრები და ლიმფოციტთა შესაძლო ციტოტოქსიური და პრო-ფერტილური ფენოტიპები, რაც ადრინდელ ნაშრომებში არ ყოფილა აღწერილი უოგდ ჯგუფში.
- ენდომეტრიუმის საკვლევი ველების შერჩევა, მათი მიკროფოტოგრაფირება და uNK უჯრედების განსაზღვრა მოხდა ახალი სტანდარტიზირებული პროტოკოლის თანახმად (Lash et al. 2016).
- ჩვენი კვლევით უოგდ ჯგუფის პაციენტთა ენდომეტრიუმში აღმოჩენილი $CD56^+$ uNK-ს შემცველობის ფართო დიაპაზონის ჩაღრმავებული ანალიზის მიზნით, გამოიყო 3 ქვეჯგუფი (uNK-ს რაოდენობების რანჟირებაზე დაყრდნობით): დაბალი ($CD56^{low}$<90 უჯრ/მმ$^2$), ნორმალური ($CD56^{normal}$ 90-300 უჯრ/მმ$^2$) და მაღალი ($CD56^{high}$ >300 უჯრ/მმ$^2$) კონცენტრაციების. აღნიშნულ ქვეჯგუფებში განხორციელდა uNK-ს

სუბპოპულაციებსა და მათ  თანაფარდობებს შორის ანალიზი, რითაც გამოვლინდა უოგდ-ს სხვადასხვა ქვეჯგუფში პაციენტთა განსხვავებული იმუნური მახასიათებლები და  პათოგენეზური მექანიზმები. ეს სიახლეა ადრინდელ კვლევებთან შედარებით, სადაც ყურადღება ექცეოდა მხოლოდ uNK-ს მომატებულ რაოდენობას და არ იყო გათვალისწინებული მათი დაქვეითებული რაოდენობით გამოწვეული მავნე ზემოქმედება ენდომეტრიუმზე.

- უოგდ ანამნეზის მქონე ქალების ენდომეტრიუმში ციტოტოქსიური სტატუსის უკეთ შესწავლის მიზნით, პირველად ჩვენს კვლევაში გამოყენებულ იქნა ერთდროულად ციტოტოქსიურობის ორი მარკერი- CD16 და CD57. შესწავლილ იქნა მათი კონცენტრაციები, თანაფარდობები და ჩატარდა კორელაციური ანალიზი მათ შორის. აღნიშნული მონაცემები შედარდა ფერტილური ქალების იგივე მაჩვენებლებს საკონტროლო ჯგუფში.

<u>ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება</u>:

- უოგდ ანამნეზის მქონე ქალებში ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს შესაფასების მიზნით $CD56^+$ uNK-ს საერთო რაოდენობის კლასიფიცირება ქვეჯგუფებად, მათი რაოდენობრივი რანჟირების საფუძველზე, პრაქტიკული თვალსაზრისით ძალზე მნიშვნელოვანია. საკვლევ უოგდ ჯგუფში ჩვენს მიერ გამოყოფილმა სამმა ქვეჯგუფმა- $CD56^+$ uNK უჯრედების დაბალი, ნორმალური და მაღალი შემცველობით, გამოავლინა მათში განაწილებულ პაციენტთა განსხვავებული იმუნური მახასიათებლები და აქედან გამომდინარე განსხვავებული პათოგენეზური მექანიზმები, რის გამოც მათ მსგავსი ანამნეზისა და კლინიკური სიმპტომების მიუხედავად სრულიად საპირისპირო თერაპიული სტრატეგიები ესაჭიროებათ.
- ჩვენი კვლევის საფუძველზე, ენდომეტრიუმის რთულ, დინამიურ ქსოვილში იმუნური დისბალანსის კომპლექსურობის უკეთ დახასიათების მიზნით, პრაქტიკული თვალსაზრისით უფრო მნიშვნელოვანია გამოყენებულ იქნას არა uNK-ს ცალკეულ სუბპოპულაციათა კონცენტრაციები, არამედ

თანაფარდობები მათ იმუნომარეგულირებელ და ციტოტოქსიურ სუბპოპულაციებს შორის, ასევე მათი თანაფარდობები ენდომეტრიალური ლეიკოციტების საერთო რაოდენობასთან. ეს საშუალებას იძლევა ამ უფრო მეტად ინფორმაციული პარამეტრებით შეფასდეს ენდომეტრიალურ ლიმფოციტთა სუბპოპულაციების შესაძლო ციტოტოქსიური და პრო-ფერტილური ფენოტიპები და მოხდეს პაციენტთა სელექცია უოგდ-ს ქვეჯგუფების მიხედვით, რათა შეირჩეს მათთვის ინდივიდუალურად მისადაგებული იმუნომაკორეგირებელი მკურნალობა, რომელიც შესაძლოა მოიცავდეს როგორც იმუნოსუპრესიულ ასევე მისგან რადიკალურად განსხვავებულ თერაპიულ ღონისძიებებს.

- უოგდ ანამეზის მქონე ქალთა ენდომეტრიუმის ციტოტოქსიური სტატუსის შესაფასებლად მეტი პრაქტიკული ღირებულება აღმოაჩნდა CD16-ს ($P<0.001$) CD57-თან შედარებით. ამდენად, CD16 მარკერი შესაძლოა განვიხილოთ, როგორც პოტენციური მარკერი უოგდ ანამნეზის მქონე ქალებში შემდგომი ორსულობის მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკის შესაფასებლად.
- CD138 მარკერის იმუნოლოკალიზაციის განსაზღვრა იმუნოჰისტოქიმიური მაღალსენსიტიური მეთოდით უოგდ ანამნეზის ქალებში პრაქტიკული თვალსაზრისით ძალზე მნიშვნელოვანია ქრონიკული ენდომეტრიტის ზეგავლენის გამოსარიცხად ენდომეტრიუმის იმუნურ მიკროგარემოზე.
- ჩვენი კვლევის შედეგებზე დაყრდნობით მიღებული ინოვაციური იმუნური პარამეტრებით ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს შეფასებას დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობა აქვს სამომავლო კვლევების სწორი მიმართულებების დასახვისათვის (ახალი ინფორმაციული მარკერების მოძიებისა და შემდგომი ორსულობის მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკის პროგნოზირების მხრივ). ეს ხელს შეუწყობს უოგდ ჯგუფში გაუმართლებელ, საეჭვო ღირებულების, საკმაოდ ძვირი "იმუნური ტესტირებების" და ემპირიული მკურნალობების პრაქტიკის დასრულებას და მტკიცებულებებზე დაფუძნებული დიაგნოსტიკური კრიტერიუმებისა და ინდივიდუალურად მისადაგებული თერაპიული სტრატეგიების შემუშავებას.

## ლიტერატურის მიმოხილვა

### 1.ორსულობის განმეორებითი დანაკარგები-განსაზღვრება და ეპიდემიოლოგია

მრავალწლიანი დებატების შემდეგაც კი ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების (ოგდ) განსაზღვრა კვლავ საკამათოა. მაგრამ უდავოა, რომ ამ პათოლოგიის ჰეტეროგენულობიდან და წინააღმდეგობრივი ხასიათიდან გამომდინარე მისი დეფინიცია უნდა იყოს მკაფიო, თანმიმდევრული და პაციენტ-სენსიტიური. ასევე მნიშვნელოვანია თავად **„ორსულობის დანაკარგის“** ცნების სწორად განსაზღვრა, რათა თავიდან იქნას აცილებული სხვადასხვა მკვლევარებსა და ცენტრებს შორის ტერმინთა არაერთგვაროვნება, რაც ხელს უშლის ნაშრომთა შედარებას ამ უაღრესად მნიშვნელოვან საკითხზე (Kutteh 2015; ESHRE Early pregnancy GDG 2017; RCOG Green-top Guideline no.17. 2011; Kolte et al. 2015; El Hachem et al. 2017; Practice Committee ASRM 2012; Homer et al. 2019). სხვადასხვა განსაზღვრებათა არაპრაქტიკულობის გამო, ბევრი მათგანი ამოღებულ იქნა ხმარებიდან. ამჟამად, RCOG Green-top Guideline no.17, 2011 და ESHRE Early pregnancy GDG 2017, მიერ აღიარებულ იქნა, რომ **„ორსულობის დანაკარგად“ ითვლება ორსულობის სპონტანური შეწყვეტა ნაყოფის სიცოცხლისუნარიანობის მიღწევამდე და იგი მოიცავს ორსულობის ყველა დანაკარგს ჩასახვის მომენტიდან გესტაციის 24-ე კვირამდე.**

ორსულობის თვითნებითი შეწყვეტა-სპონტანური აბორტი ორსულობის ყველაზე ხშირი გართულებაა. კონცეპტუსების 70% საერთოდ ვერ აღწევს სიცოცხლისუნარიანობას, კლინიკური ორსულობის (ულტრაბგერითი გამოკვლევით ან ჰისტოლოგიურად დადასტურებული) 12-15% კი მთავრდება სპონტანური აბორტით, რომელთა უმრავლესობა (90%-მდე) ძირითადად პირველ ტრიმესტრში ხდება ხდება (RCOG Green-top Guideline no.17. 2011; Jeve, Yavada, and Davies 2014; El Hachem et al. 2017; Practice Committee ASRM 2012; Larsen et al. 2013; Kolte et al. 2015). მათი უმრავლესობა (50-60%) ძირითადად გამოწვეულია ნაყოფის ქრომოსომული ანომალიებით (Larsen et al. 2013; Boots et al. 2014; Christiansen et al. 2005; Ford, Holly B., and Schust. 2009; Grande et al. 2012; Khalife et al. 2019; Kutteh 2015).

ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების განსაზღვრება დღემდე წინააღმდეგობრივია. არ არის შეთანხმება ავტორიტეტულ რეპროდუქციულ საზოგადოებებს შორის ორსულობების წინა დანაკარგების რიცხვზე და გესტაციის ვადებზე, რომელიც დააკმაყოფილებდა ამ დაავადების განსაზღვრების კრიტერიუმს. სწორედ ამიტომ, ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების ზუსტი დეფინიცია და გავრცელება ძნელი შესაფასებელია. ტრადიციული განსაზღვრებით ოგდ განიხილებოდა როგორც ≥3 თანმიმდევრული შეწყვეტილი ორსულობა 22 კვირის ვადამდე (RCOG Green-top Guideline no.17, 2011). 2012 **წელს American Society for Reproductive Medicine (ASRM)**-ის მიერ გამოშვებულ იქნა **Practice Committee Opinion**, რომელმაც **ოგდ განმარტა როგორც ≥2 შეწყვეტილი კლინიკური ორსულობა.** სხვაობა ამ განსაზღვრებებს შორის გამოიწვია იმ უმნიშვნელო ცვლილებებმა დიაგნოსტიკური გამოკვლევების პათოლოგიურ შედეგებში, რომელიც აღინიშნებოდა ამ ორ ჯგუფს შორის (Popescu et al. 2018; Jeve, Yadava B., and Davies 2014; Khalife et al. 2019; Kutteh 2015). ≥2 შეწყვეტილი ორსულობის მქონე 1020 ქალის დიაგნოსტიკური ტესტების სრული პანელის რეტროსპექტულმა ანალიზმა აჩვენა, რომ პათოლოგიური შედეგების სიხშირე თითქმის ერთნაირი იყო: 41%, 40% და 42%- შესაბამისად 2, 3 და ≥4 შეწყვეტილი ორსულობის შემდეგ (Jaslow et al. 2010).

ამჟამად, ბევრი ექსპერტისა და ავტორიტეტული რეპროდუქციული საზოგადოებების შეთანხმებით (Practice Committee ASRM 2012; Atik et al.2018. ESHRE Guideline on RPL; Kutteh 2015; Khalife et al. 2019; Kolte et al. 2015) 12 წლიანი დებატების შემდეგ ოგდ განისაზღვრება როგორც ≥2 შეწყვეტილი კლინიკური ორსულობა. შესაბამისად, გამოკვლევების ინიცირება საჭიროა უკვე მე-2 შეწყვეტილი ორსულობის შემდეგ, მით უფრო, თუ წყვილს აღენიშნება სუბფერტილობა და ქალის ასაკი ≥35წ (Kutteh 2015; Marquard et al. 2010; Khalife et al. 2019).

ზოგიერთი კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ არ არსებობს პათოფიზიოლოგიური მტკიცებულება, რომ ოგდ-ს სხვადასხვა ფორმები (ცხრ.1), ორსულობების შეწყვეტის თანმიდევრულობა ან არათანმიმდევრულობა ახდენს ზეგავლენას ოგდ-ს დეფინიციაზე და მართვაზე, თუმცა, მკვლევართა აზრით, ეს ფაქტი გავლენას ახდენს უცნობი გენეზის ოგდ-ს პროგნოზზე (Egerup et al. 2016;

| | |
|---|---|
| **პირველადი ოგდ** | ცოცხლადმშობიარობით დასრულებული არცერთი ორსულობა |
| **მეორეული ოგდ** | ოგდ-ს სერიას წინ უძღვის 1 ან რამდენიმე ცოცხალმშობიარობა |
| **მესამეული ოგდ** | ოგდ-ს ეპიზოდები განაწილებულია რამდენიმე ნორმალურ ორსულობას შორის |

*ცხრ.1. ოგდ-ს სხვადასხვა ტიპები.*

Jaslow et al. 2010; van den Boogaard et al. 2010). ამ და სხვა მტკიცებულებების გათვალისწინებით, ESHRE-ს ექსპერტები თავის უახლეს გაიდლაინში (Atik et al. 2018) ხაზგასმით მიუთითებენ, რომ საჭიროა ჩაღრმავებული მეცნიერული კვლევები (მათ შორის ეპიდემიოლოგიურიც), რომ დადგინდეს ოგდ-ს სხვადასხვა დეფინიციის ეფექტი ამ პათოლოგიის დიაგნოზზე, პროგნოზსა და მკურნალობაზე.

აღსანიშნავია, რომ მრავალი კვლევის შედეგად მიღებული მტკიცებულებებით, დედის მზარდი ასაკი და ორსულობების წინა დანაკარგების რიცხვი მყარადაა დაკავშირებული  როგორც ორსულობის სპონტანური შეწყვეტის რისკთან, ასევე ოგდ-ს გავრცელებასთან (Kutteh 2015; Egerup et al. 2016; Homer et al. 2019; Youssef et al 2019; van den Boogaard et al. 2013). Andersen et al., 2000, მონაცემებით 25-29 წლის ასაკის ქალებში სპონტანური აბორტის სიხშირე არის 10-15%, 35-39 წლისთვის ეს მაჩვენებელი მატულობს 25-30%-მდე, 40-44 წლისათვის კი სიხშირე იზრდება 50-55%-მდე. მკვლევართა დასკვნით, დედის ასაკი და წინა შეწყვეტილი ორსულობების რიცხვი დამოუკიდებლად განსაზღვრავენ შემდგომი ორსულობის მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკს (იხ, ცხრილი 2,3).

*ცხრ.2*

| **დედის ასაკი (წლ)** | **ორსულობის შეწყვეტის რისკი (%)** |
|---|---|
| 19-მდე | 13 |
| 20-24 | 11 |
| 25-29 | 12 |
| 30-34 | 15 |
| 35-39 | 25 |
| 40-44 | 51 |
| >45 | 93 |

*ცხრ.3.*

| წინა აბორტების რიცხვი | მოსალოდნელი აბორტის რისკი (%) |
|---|---|
| 1 | 14-21 |
| 2 | 25-29 |
| 3 | 30-40 |

*ცხრ.2,3. ორსულობის მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკის დამოკიდებულება დედის ასაკსა და წინა შეწყვეტილი ორსულობების რაოდენობაზე (Andersen et al., 2000).*

ერთ-ერთი რეტროსპექტული, კოჰორტული კვლევის დასკვნაში მითითებულია, რომ დედის ასაკი ≥35წ. არის ერთადერთი სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი პრედიქტორი ქრომოსომული ანომალიების რისკისა როგორც სპონტანური, აგრეთვე განმეორებითი ორსულობის დანაკარგების დროს (Grande et al. 2012). დედის ასაკის დამოკიდებულება ორსულობის შეწყვეტის სიხშირესთან კორელირებს როგორც ოოციტების რაოდენობასთან, ასევე ოოციტებში ანეუპლოიდიის სიხშირესთან (RCOG Green-top Guideline no.17, 2011; Popescu et al. 2018; Atik et al. 2018; Kutteh 2015). ≤35 წლის ასკის ქალების ოოციტებში ანეუპლოიდიის სიხშირე დაახლოებით 10%-ია, 43 წლისთვის ეს მაჩვენებელი იზრდება 50%-მდე, ≥45 წლის ზევით კი პრაქტიკულად ყველა ოოციტში არის ანეუპლოიდია გარკვეული ხარისხით (Kutteh 2015) (ცხრ.4).

ყოველივე ზემოთქმულიდან გამომდინარე, ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების გავრცელების ზუსტი სიხშირე ძნელი დასადგენია, რადგან იგი დამოკიდებულია ამ დაავადების დეფინიციაზე, მის კრიტერიუმებზე, საკვლევ პოპულაციაზე (ქალთა სხვადასხვა ასაკი) და წინა შეწყვეტილი ორსულობების რაოდენობაზე. თუ ოგდ განისაზღვრება ≥3 დანაკარგით, მაშინ მისი გავრცელების სიხშირე 1-2% (Ford, H.B.,and Schust 2009; ESHRE Early pregnancy GDG 2017). ხოლო ≥2 დანაკარგის შემთხვევაში კი ეს სიდიდე მატულობს 2-5%-მდე (Marquard et al. 2010; El Hachem et al. 2017; Li, Y.H., and Marren 2018; Toth et al. 2018). ამჟამად, დღევანდელი მონაცემებით მიღებულია, რომ ორსულობის განმეორებითი დანაკარგები აღენიშნება რეპროდუქციული ასაკის ქალთა 2-5%-ს, თუმცა საჭიროა უფრო მეტი ჩაღრმავებული ეპიდემიოლოგიური კვლევები მკაცრად განსაზღვრულ პოპულაციებში ოგდ-ს ზუსტი გავრცელების დასადგენად.

| დედის ასაკი (წლ) | ანეუპლოიდიის რისკი(%) |
|---|---|
| <35 | 10 |
| 40 | 30 |
| 43 | 50 |
| 45 | 100 |

*ცხრ.4. ოოციტებში ანეუპლოიდიის სიხშირის დამოკიდებულება დედის ასაკზე (Kutteh 2015).*

## 2.ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების ეტიოლოგიური ფაქტორები

ორსულობის განმეორებითი დანაკარგები პოლიეტიოლოგიური პათოლოგიაა და აერთიანებს სრულიად განსხვავებულ დაავადებათა ჰეტეროგენულ ჯგუფს. I.**ნაყოფისეული მიზეზებით**-კონცეპტუსის ქრომოსომული ანომალიებით განპირობებული ოგდ შეადგენს მთელი პათოლოგიის 50-60%-ს, დანარჩენი ნაწილი კი გამოწვეულია II.**დედისეული მიზეზებით** (Atik et al. 2018.ESHRE Guideline on RPL; Christiansen et al. 2005; Diejomaoh 2015; Homer 2019; El Hachem et al. 2017; Kutteh 2015; Toth et al. 2018).

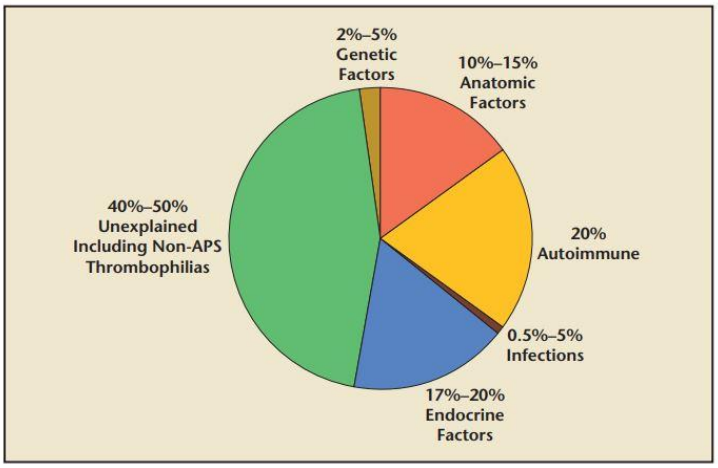
ოგდ-ს მულტიფაქტორულ ჯგუფში მეცნიერულად დამტკიცებული და დასაბუთებულია ისეთი **ეტიოლოგიური ფაქტორები,** როგორიცაა:

- **მშობელთა ქრომოსომული ანომალიები:** რეციპროკალური და რობერტსონული ტრანსლოკაციები, ინვერსიები, სასქესო ქრომოსომების ანეუპლოიდიები.
- **საშვილოსნოს განვითარების თანდაყოლილი და შეძენილი ანატომიური დეფექტები:** მიულერის ანომალიები, მიომები, საშვილოსნოსშიდა სინექიები- აშერმანის სინდრომი, პოლიპები, საშვილოსნოს ყელის უკმარისობა.
- **ენდოკრინული/მეტაბოლური დარღვევები**: ფარისებრი ჯირკვლის დისფუნქციები, პოლიცისტური საკვერცხეების სინდრომი, არაკონტროლირებული დიაბეტი, ჰიპერპროლაქტინემია, ლუთეინური ფაზის დეფექტი.
- **აუტოიმუნური დაავადებები**: ანტიფოსფოლიპიდური სინდრომი- შეძენილი თრომბოფილია

ხოლო ზოგიერთი ეტიოლოგიური ფაქტორი-**ინფექციები** (ბაქტერიული ვაგინოზი, Chlamydia, Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealiticum, Toxoplasmosis, Cytomegalovirus, Herpes), **მემკვიდრული თრომბოფილიები** (ლეიდენის V ფაქტორის, პროთრომბინისა და MTHFR გენების მუტაცია, Protein C, Protein S -ის დეფიციტი), **ქრონიკული ენდომეტრიტი, ალო-იმუნური მიზეზები** (ადამიანის ლეიკოციტარული ანტიგენების-HLA სისტემის მსგავსება მშობლებში, ემბრიოტოქსიური ფაქტორები, Th1 და Th2 ტიპის ლიმფოციტთა დისბალანსი, მათი ციტოკინების პოლიმორფიზმი

და თანაფარდობის დარღვევა, uNK უჯრედთა სუბპოპულაციების დისბალანსი) **კვლავ საკამათოა** და მათი მიზეზობრივი კავშირი ორსულობის განმეორებით დანაკარგებთან შემდგომ ჩაღრმავებულ კვლევებსა და დასაბუთებას საჭიროებს (Lachapelle et al. 1996; Bulmer et al. 2009; Kwak-Kim et al. 2014; Nakashima et al. 2012; Homer 2019; Khalife et al. 2019).

ცალკე გამოჰყოფენ **გარემოსა და ცხოვრების სტილის მავნე ფაქტორებს.** თამბაქოსა და ნარკოტიკული საშუალებების მოხმარება დაკავშირებულია ორსულობის დანაკარგების გაზრდილ რისკთან ტროფობლასტის დისფუნქციის გამო, კოფეინისა და ალკოჰოლის ჭარბ მოხმარებასთან დაკავშირებული რისკის გაზრდა კი დოზა-დამოკიდებულია (Atik et al. 2018.ESHRE Guideline on RPL; El Hachem et al.2017; RCOG Green-top Guideline no.17, 2011). ქალის **ჭარბი წონა** (სხეულის მასის ინდექსი ≥30კგ/მ$^2$) ასოცირდება არა მარტო ორსულობის დანაკარგების მომატებულ სიხშირესთან და სამეანო გართულებებთან, არამედ წარმოადგენს დამოუკიდებელ რისკ ფაქტორსაც (Boots et al. 2014). **სტრესი, გარემოს მაიონიზებელი რადიაცია და ტოქსიკური ნივთიერებები** დაკავშირებულია ოგდ-სთან, მაგრამ არ არიან დამოუკიდებელი რისკ ფაქტორები (Kwak-Kim et al. 2014). არცთუ იშვიათად ქალებს, რომელთაც ანამნეზში აღენიშნებათ ოგდ, აქვთ ერთდროულად მრავალი გამომწვევი მიზეზი, რაც სამწუხაროდ არ არის ასახული ოგდ-ს ეტიოლოგიური სტრუქტურის ამსახველ გრაფიკებზე. ეტიოლოგიურ ფაქტორთა ერთ-ერთი ასეთი სტრუქტურული განაწილება ასახულია დიაგრამა 1.ზე.




*დიაგრამა 1. ოგდ-ს ეტიოლოგიური ფაქტორების განაწილება (Ford&Schust 2009).*

ოგდ-ს ეტიოლოგიური ფაქტორებიდან ბოლო წლებში განსაკუთრებით აქტუალური გახდა **იმუნოლოგიური მიზეზები.** ეს უკანასკნელნი ორი ტიპისაა: 1.**აუტოიმუნური** (იმუნური რეაქციები საკუთარი ქსოვილების წინააღმდეგ) და 2.**ალოიმუნური** (იმუნური რეაქციები, მიმართული სხვა, უცხო ქსოვილის წინააღმდეგ).

**აუტოიმუნურ ფაქტორებს** შორის ყველაზე კარგად შესწავლილია **ანტი-ფოსფოლიპიდური ანტისხეულები (aPLa).** მათი ეტიოლოგური როლი ოგდ-ს პათოგენეზში ყველაზე სარწმუნოდაა დადასტურებული (RCOG Green-top Guideline no.17. 2011; Atik et al.2018. ESHRE Guideline on RPL; Kutteh 2014; Salmon, Jane E., and Girardi 2004). aPLa მიეკუთვნება აუტო-ანტისხეულების ჰეტეროგენულ ჯგუფს. იგი ძირითადად წარმოდგენილია ლუპუს ანტიკოაგულანტით (LAC), ანტი-კარდიოლიპინური ანტისხეულებით (ACA, IgG, IgM) და ანტი-β2 Glycoprotein I (ანტი-β2GPI, IgG, IgM) ანტისხეულებით. aPLa-ს პერსისტენციასთან არის დაკავშირებული **შეძენილი თრომბოფილია-ანტიფოსფოლიპიდური სინდრომი (APS),** რომლის გავრცელების სიხშირე ოგდ-ს ანამნეზის მქონე ქალებში სხვადასხვა შრომებში 5%-20%-ია (Kutteh 2014; Salmon, Jane E., and Girardi 2004; Jeve, Yadava B., and Davies 2014).

**Sapporo**-ს განახლებული კრიტერიუმებით (Miyakis 2006, კრიტერიუმებით), **APS** არის ერთადერთი მტკიცებულებაზე დაფუძნებული აუტოიმუნური დაავადება, რომელშიც **ორსულობის დანაკარგი არის დიაგნოსტიკური კრიტერიუმის ნაწილი** და იგი განისაზღვრება 3 ან მეტი უცნობი გენეზის ორსულობის თანმიმდევრული სპონტანური დანაკარგით გესტაციის 10 კვირის ვადამდე. ჰიპერკოაგულაციურ პროცესებში მონაწილეობის გარდა (პროსტაციკლინ/თრომბოქსანის მეტაბოლიზმის დარღვევები), aPLa იწვევენ პლაცენტის ექსპლანტების მიერ ქორიონალური გონადოტროპინის გამოყოფის ინჰიბირებას, აბლოკირებენ ტროფობლასტის მიგრაციას, სინციტიოტროფობლასტის ფორმირებასა და ტროფობლასტის უჯრედების ადჰეზიურ მოლეკულებს- α1 და α5 ინტეგრინებს (Kutteh 2014; Salmon, Jane E., and Girardi 2004; Miyakis 2006; van den Boogaard et al. 2013). დაზიანების ხარისხის მიხედვით ადგილი აქვს ნაყოფის საშვილოსნოსშიდა განვითარების შეფერხებას, პრეეკლამფსიას ან ორსულობის შეწყვეტას.

**ანტი-თირეოიდული ანტისხეულებიდან (ATA)** ყველაზე მეტად ოგდ-ს პათოგენეზში შესწავლილია აუტო-ანტისხეულები თირეოიდული პეროქსიდაზას მიმართ **(ანტი-TPO)**. კვლევების შედეგები წინააღმდეგობრივია, თუმცა 2011 წელს 12126 ქალზე ჩატარებულ მეტა-ანალიზში (Thangaratinam et al. 2011), აგრეთვე ESHRE-ს ახალ გაიდლაინში (Atik et al. 2018. ESHRE on Guideline RPL) ნაჩვენებია, რომ ანტი-TPO-ს მომატებული დონე მყარად არის დაკავშირებული ოგდ-სთან და ნაადრევ მშობიარობასთან. ვარაუდობენ, რომ ეს შესაძლოა გამოწვეული იყოს პრო-ინფლამატორული Th1-ით განპირობებული აუტო-იმუნური რეაქციებითა და ენდომეტრიუმში T ლიმფოციტთა იმუნური პროფილის დარღვევით ((Thangaratinam et al. 2011). კვლევები **ანტი-ნუკლეარული აუტო-ანტისხეულების (ANA)** შესახებ აგრეთვე წინააღმდეგობრივია. ნაშრომთა უმრავლესობაში მათი ტიტრი უმნიშვნელოდ არის მომატებული და არასპეციფიკურია. ამდენად პათოფიზიოლოგიური კავშირი ამ უკანასკნელსა და ორსულობის განმეორებით დანაკარგებს შორის ჯერჯერობით არაა დადგენილი (Kwak-Kim et al. 2014; RCOG Green-top Guideline no.17. 2011; ESRE Early pregnancy GDG 2017).

სრულყოფილი გამოკვლევების შედეგადაც კი ოგდ-ს შემთხვევათა 50% აუხსნელი რჩება. ბოლო 25 წლის განმავლობაში თანამედროვე რეპროდუქტოლოგიური იმუნოლოგიის დარგის მიღწევების საფუძველზე დაგროვდა მონაცემები, რომ **უცნობი გენეზის ოგდ-ს** (უოგდ) დიდ ნაწილს, სავარაუდოდ, ორსულობის დროს ფეტო-მატერნალურ ზედაპირზე განვითარებული **ალო-იმუნური მექანიზმების** დარღვევები განაპირობებს. კერძოდ, იმ ნატიფი ტოლეროგენული იმუნური რეაქციების დარღვევა, რითაც დედის იმუნური სისტემა ერთი მხრივ შემწყნარებელია სემიალოგენური ნაყოფის მიმართ, ხოლო მეორე მხრივ აქტიურად იცავს მას სხვადასხვა პათოგენისაგან (Bulmer et al. 2009; Moffett, Ashley, and Colucci 2014; Hyde et al. 2014; Erlebacher 2013; El-Azzamy et al. 2018; Yang et al. 2019).

პირველად 1953 წელს, პეტერ მედავარის მიერ მოწოდებულ იქნა **იმუნური ტოლერანტობის კონცეფცია**, რომელიც ნაყოფს განიხილავდა როგორც ფეტალურ ალო-ტრანსპლანტატს (Billingham et al. 1953; Wegmann 1987). მას შემდეგ ბევრი შრომა მიეძღვნა ამ საკითხს, თუმცა მათი უმეტესობა იყო სუბსტანდარტული დიზაინის,

არასაკმარისად კონტროლირებული, საკვლევი პოპულაციები იყო მცირე და ჰეტეროგენული, კვლევის შედეგები კი-ურთიერთწინააღმდეგობრივი. მთავარი მეთოდოლოგიური სისუსტეები იყო კოჰორტების არათანაბარი კონტროლი, მნიშვნელოვანი ფაქტორების მიხედვით სტრატიფიკაციის ნაკლებობა (მაგ. წინა დანაკარგების რიცხვი), ანეუპლოიდური ნაყოფების გაუთვალისწინებლობა (Andersen et al. 2000; Christiansen et al. 2005; Diejomaoh 2015; Kutteh 2015).

არასრულყოფილი იყო ადრეული ორსულობის იმუნოლოგიური კვლევებიც. მრავალფეროვან, განსხვავებული მიმართულებებით შეცვლილ იმუნურ ფაქტორებს ცალ-ცალკე ან  სხვა იმუნურ ან არაიმუნურ ფაქტორებთან კომბინაციაში შეეძლოთ გამოეწვიათ ორსულობის სპონტანური შეწყვეტა ან განმეორებითი დანაკარგები (von Rango et al. 2001; Bulmer et al. 2009; Kuon et al. 2013; Arck, Petra C., and Hecher 2013; Saito et al. 2011; Hyde et al. 2014). ვერ ხდებოდა „მიზეზი Vs შედეგი“ ფენომენის შეფასებაც. კერძოდ, გაურკვევლი იყო, აღნიშნული იმუნური ცვლილებები ვითარდებოდა ორსულობის შეწყვეტისა და ნაყოფის დაღუპვის შემდეგ, თუ ეს მოვლენები მას მანამდე უძღვოდა წინ.

თანამედროვე მოლეკულური ბიოტექნოლოგიების დარგში ინტენსიური კვლევებისა და მიღწევების შედეგად გაირკვა დედასა და ნაყოფს შორის მიმდინარე „იმუნოლოგიური დიალოგის“  ბევრი პარამეტრი, მაგრამ ბევრი კითხვა ისევ პასუხგაუცემელია და საჭიროებს ჩაღრმავებულ გამოკვლევებს. იმ პათოლოგიური იმუნური მექანიზმების ასახსნელად, რაც განაპირობებს ორსულობის შეწყვეტას, მეტად საჭირო და მნიშვნელოვანია კარგად იქნას გაგებული და შესწავლილი ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემო და ის ნატიფი, უნიკალური იმუნოლოგიური მექანიზმები ფეტო-მატერნალურ ზედაპირზე, რაც საფუძვლად უდევს ნორმალურ ორსულობას.

## 3. ნორმალური ორსულობისა და ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების იმუნობიოლოგია. ალო-იმუნური მექანიზმები.

სემიალოგენური ტროფობლასტის ზედაპირზე ექსპრესირებულმა პატერნალურმა ალო-ანტიგენებმა, თეორიულად, უნდა მოახდინონ ორსულის იმუნური პასუხის პროვოცირება და ნაყოფის მოშორება, მაგრამ ამის ნაცვლად, დედის იმუნიტეტის მხრიდან  ხდება ამ ალო-ანტიგენების ამოცნობა და **უნიკალური,**

**ტოლეროგენული იმუნური პასუხის წარმოშობა** (Moffett et al. 2017; Larsen et al. 2013; Moffett, Ashley, and Shreeve 2015; Wang et al. 2016; Varla-lefterioti 2014). ერთის მხრივ, ვითარდება იმუნური ტოლერანტობა სემიალოგენური ნაყოფის მიმართ, მეორე მხრივ კი ორსულის იმუნური უჯრედები კვლავ აქტიურად „უტევენ“ სხვადასხვა პათოგენს და ეფექტურად იცავენ ნაყოფს უცხო ანტიგენებისაგან (Jabrane-Ferrat 2019). ეს მოვლენა ცნობილია **„ორსულობის იმუნოლოგიური პარადოქსი“-ს** სახელით, რომელიც თანამედროვე რეპროდუქტოლოგიური იმუნოლოგიის მთავარ პარადიგმას წარმოადგენს. იგი რადიკალურად განსხვავდება ორსულობის ძველი იმუნოლოგიური პარადიგმისაგან და გულისხმობს არა იმუნოსუპრესიას ნაყოფის ალო-ანტიგენების მიმართ, არამედ აქტიური, კომპლექსური, კოორდინირებული და უნიკალური იმუნური პასუხის განვითარებას დედის თანდაყოლილი და ადაპტაციური (შეძენილი) იმუნიტეტის მონაწილეობით. ამ ახალი ხედვით, **ორსულობის იმუნოლოგიური მექანიზმი არის უფრო მეტად „აქტიური ძალისხმევა“, ვიდრე „პასიური გაქცევა“** (Gu et al. 2015).

დედის მხრიდან ორსულობის იმუნოლოგიურ „ამოცნობას“ უაღრესად დიდი მნიშვნელობა აქვს ნორმალური გესტაციის შენარჩუნებისათვის. ფეტალური ანტიგენების არაადექვატურმა ამოცნობამ კი შეიძლება ნაყოფის დაღუპვა გამოიწვიოს (Kwak-Kim et al. 2014; Kuon et al. 2013; Moffet et al. 2017; Hyde et al. 2015). როგორც მკვლევარები მიუთითებენ, ფეტო-მატერნალურ ზედაპირზე ვითარდება მრავალი სპეციფიკური იმუნოლოგიური მექანიზმი ნაყოფის დასაცავად, ორსულობა კი წყდება მაშინ, როდესაც ხდება ერთი ან რამდენიმე მექანიზმის „ჩავარდნა“ (Diejomaoh 2015; Hyde et al. 2015; Larsen et al. 2013). ეს იმუნური ურთიერთობა ბიპოლარულია. ის შეიძლება იყოს ნაყოფისათვის საზიანო და განპირობებული იყოს ციტოტოქსიური უჯრედებითა და ანტისხეულებით („მოშორების რეაქცია“), ან წარიმართოს ორსულობის ტოლერანტული („ხელშემწყობი“) რეაქციის სახით, ჰუმორალური იმუნური პასუხის დომინირებით (Saito et al. 2010; Varla-lefterioti 2014).

1987 წელს ტ.ვეგმანის მიერ (Wegman et al. 1987) გამოთქმული იყო მოსაზრება, რომ ორსულობის დროს ადგილი აქვს დისბალანსს Th1 და Th2 იმუნურ პასუხებს შორის, ისე რომ ორსულობის ხელშემწყობი Th2 ტიპის ციტოკინები- ინტერლეიკინები- (Interleekin-IL) IL-4, IL-5 და IL-10 დომინირებენ Th1 ტიპის პრო-

ინფლამატორულ ციტოკინებზე-IL-2, Interferon-γ (IFN-γ), Tumor Necrosis Factor α (TNFα) და არახელსაყრელი, ანტი-ტროფობლასტული ციტოტოქსიური რეაქციების დათრგუნვითა და პლაცენტის ზრდისა და ფუნქციების გაუმჯობესებით ხელს უწყობენ ნაყოფის განვითარებას (Saito et al. 2010; Larsen et al. 2013; Michimata et al. 2002; Nakashima et al. 2012; Varla-lefterioti 2014; El Hachem et al. 2017).

ამჟამად დადგენილია, რომ ორსულობის ნორმალური განვითარებისათვის არსებითი მნიშვნელობა აქვს როგორც პრო-ინფლამატორულ Th1 ტიპის, ასევე ანტი-ინფლამატორულ Th2 ტიპის ციტოკინებს და განსაკუთრებით მათ სწორ ბალანსს. ორსულობის დასაწყისში, წარმატებული იმპლანტაციის პროცესებისთვის საჭიროა Th1 ტიპის ციტოკინებისა და პრო-ინფლამატორული მიკროგარემოს არსებობა. ორსულობის შემდგომ ეტაპზე კი ხდება იმუნური პასუხის გადანაცვლება Th2 ტიპის სასარგებლოდ (Varla-lefterioti 2014; Erlebacher 2013; Dosiou, Chrysoula, and Giudice 2005; Kuon et al. 2013; Jeve, Y.B., and Davies 2014). ეს გადანაცვლება ხდება სხვადასხვა რეგულატორული ფაქტორების, მაგ. მარეგულირებელი T ლიმფოციტებისა (Treg) და სხვადასხვა ჰორმონების კონტროლით (პროგესტერონი, PIBF, hCG, რელაქსინი, პროლაქტინი), ასევე სხვა ფაქტორებით, რომლებიც ბოლომდე არ არის შესწავლილი (Dosiou, Chrysoula, and Giudice 2005; Varla-lefterioti 2014; Nakashima et al. 2012; Larsen et al. 2013; Li, Ying Hong, and Marren. 2018).

უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებით დანაკარგებს, სავარაუდოდ, **ალო-იმუნური მექანიზმები** უდევს საფუძვლად. აუტო-იმუნური პასუხისგან განსხვავებით, დედის იმუნური სისტემა ტროფობლასტის პატერნალური ალო-ანტიგენების მიმართ ანვითარებს **„მოშორების ტიპის“ იმუნურ პასუხს.** იგი წარმოადგენს ფართო სპექტრის იმუნოლოგიურ დისბალანსს, რომელიც განპირობებულია მრავალი იმუნური ფაქტორითა და მათ შორის თანაფარდობის დარღვევით (Lachapelle et al. 1996; Michimata et al.2002; Miyakis 2006; Nakashima et al. 2012; Erlebacher 2013; Toth et al. 2018; Moffett et al. 2017), რაც საბოლოოდ იწვევს ტროფობლასტის დაზიანებასა და ორსულობის შეწყვეტას. კლინიკურად ეს მდგომარეობები არ განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან, მაგრამ კლასიფიკაცია გვეხმარება გამომწვევი მექანიზმების უკეთ გაგებაში, იმუნური ტესტირებისთვის საჭირო კანდიდატების სელექციაში და შესაბამისი თერაპიული ტაქტიკის შერჩევაში.

სამწუხაროდ, სპეციფიკური ალო-იმუნური მექანიზმი, რომელიც საფუძვლად უდევს ნაყოფის დაღუპვას, არ არის დადგენილი, რადგან ასევე უცნობია ნორმალური ორსულობის რაიმე ერთი, ყველაზე არსებითი, აღიარებული მექანიზმი. ორსულობის მრავალფეროვანი ტოლეროგენული იმუნური რეაქციებიდან ერთის ან რამდენიმეს შეფერხებამ შესაძლოა გამოიწვიოს ნატიფი იმუნური ბალანსის დარღვევა და ნაყოფის დაღუპვა. ეს მექნიზმები შეიძლება იყოს:

- ✓ ტროფობლასტური და სხვა იმუნორეგულატორული მოლეკულების არასათანადო ექსპრესია და დეციდუალური უჯრედების მიერ მათი არაადექვატური ამოცნობა.
- ✓ საშვილოსნოს ნატურალური კილერების-uNK უჯრედების რაოდენობის, ფუნქციისა და მათი სუბპოპულაციების პროფილის შეცვლა.
- ✓ დედისეული მაბლოკირებელი ანტისხეულების დეფიციტი.
- ✓ HLA სისტემის მსგავსება მშობლებში
- ✓ Th1 და Th2 ტიპის ციტოკინთა დარღვეული ბალანსი.

ეს ფაქტორები სათითაოდ ან ერთმანეთთან კომბინაციაში იწვევენ ფეტო-მატერნალურ ზედაპირზე უნიკალური, სენსიტიური იმუნური ბალანსის დარღვევას და ორსულობის შეწყვეტას (Moffet et al. 2017; Diejomaoh 2015; Hyde et al. 2015; Ticconi et al. 2019). ნორმალური ორსულობისაგან განსხვავებით, ოგდ-ს დროს დომინირებს **Th1 ტიპის პრო-ინფლამატორული ციტოკინებით (IL-2, IFN-γ, TNFα)** გამოწვეული იმუნური პასუხი ან ადგილი აქვს **Th2 ტიპის იმუნორეგულატორული ციტოკინების (IL-4, IL-5 და IL-10)** დეფექტურ სეკრეციას (Nakashima et al. 2012; Saito et al. 2010; Varla-lefterioti 2014; Moffett, Ashley, and Shreeve 2015), რაც იწვევს:

- ტროფობლასტის ლიმფოციტებით ინფილტრაციას და იმუნურად განპირობებულ ანთებას (დაყოვნებული ტიპის ჰიპერმგრძნობელობის რეაქციები).
- ციტოტოქსიურ რეაქციებს, რის შედეგადაც ზიანდება ტროფობლასტი და ხდება NK უჯრედების მიერ მისი ქსოვილის დეგრადაცია.
- ჰიპერკოაგულაციით გამოწვეულ ვასკულიტებს.

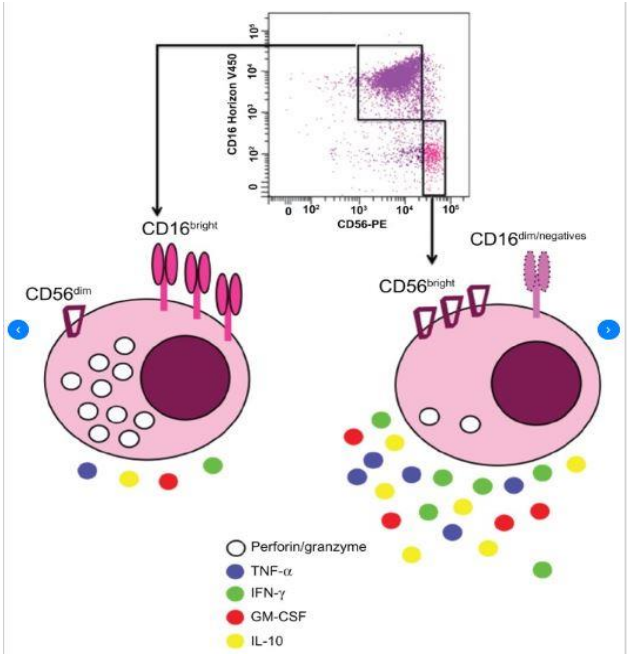
## 4. uNK უჯრედების სუბპოპულაციები, იმუნური მარკერები და რეცეპტორები.

უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების ალო-იმუნურ მიზეზთა შორის ერთ-ერთი ყველაზე წინააღმდეგობრივი და ნაკლებად შესწავლილი პათოგენეზური რგოლია **ენდომეტრიალური ფაქტორი**-ენდომეტრიუმის შეცვლილი იმუნორეაქტიულობა/იმუნორეცეპციულობა, რომელიც ენდომეტრიუმის იმუნურ უჯრედთა დისბალანსითაა განპირობებული. წარუმატებელი იმპლანტაციების 2/3-ის მიზეზად სწორედ ენდომეტრიუმის არაადექვატური რეცეპციულობა მოიაზრება. ბევრ შრომაში იქნა ნაჩვენები ენდომეტრიუმის იმუნოკომპეტენტურ უჯრედთა ვარიაბელობა, კომპლექსურობა, ფუნქციებისა და თანაფარდობის დარღვევა სხვადასხვა ტიპის იმუნურ უჯრედების, კერძოდ, NK უჯრედების იმუნორეგულატორულ და ციტოტოქსიურ სუბპოპულაციებს შორის (Arck, P.C., and Hecher 2013; Bulmer, J.N., and Lash 2005; Chong, H.P., and Quenby 2016; Dimitriadis et al. 2020; El-Azzamy et al. 2018; Giuliani et al. 2014; Homer 2019).

დღესდღეობით უკვე დადგენილია, რომ **ენდომეტრიუმში იმუნოკომპეტენტურ უჯრედთა ნორმალური ბალანსი** განსაზღვრავს იმპლანტაცია/პლაცენტაციის პროცესების სწორად წარმართვას ორსულობის პირველ ტრიმესტრტში და არსებითი წინაპირობაა ორსულობის წარმატებით დასრულებისათვის. ენდომეტრიუმის უჯრედთა საერთო რაოდენობის 40%-ს შეადგენს **$CD45^+$ ლეიკოციტთა სხვადასხვა სუბპოპულაციები: მაკროფაგები, მონოციტები, დენდრიტული უჯრედები, გრანულოციტები, ნატურალური კილერები და T ლიმფოციტები.** მათ შორის კი იმუნურ უჯრედთა ყველაზე დიდი ნაწილი წარმოდგენილია საშვილოსნოს **ნატურალური კილერი უჯრედებით-uNK** (King et al. 2003; Jacob et al. 2006; Jabrane-Ferrat, Nabila, and Siewiera 2014; Russell et al. 2013; Khalife et al. 2019; Kuon et al. 2017). ეს დიდი გრანულარული ლიმფოციტები, რომლებიც ჩვენი თანდაყოლილი იმუნიტეტის საკვანძო უჯრედებია და „დაცვის პირველ ხაზს“ წარმოადგენენ უცხო პათოგენებთან ბრძოლაში, ექსპრესირებენ **NK-ს ზოგად ზედაპირულ მოლეკულურ მარკერს-CD56**-ს (ნერვული უჯრედის ადჰეზიური მოლეკულის იზოფორმა) საკმაოდ დიდი რაოდენობით, სამაგიეროდ მოკლებულნი არიან **ციტოტოქსიურობის მარკერს-CD16** და იწოდებიან როგორც $CD56^+$ ან **$CD56^{bright}$ $CD16^-$** უჯრედები. ისინი შეადგენენ საშვილოსნოს იმუნურ უჯრედთა ყველაზე დიდ პოპულაციას-70-90%-ს (Bulmer, J.N.,

and Lash 2005; Dosiou, Chrysoula, and Giudice 2005; Del Zotto et al. 2017; Chong, H.P., and Quenby 2016; Giuliani et al. 2014; Jabrane-Ferrat 2019). მსგავსი უჯრედების მცირერიცხოვანი პოპულაცია (10%-მდე) გვხვდება პერიფერიულ სისხლშიც, თუმცა მათი ფენოტიპი არ არის იდენტური $CD56^{bright}$ $CD16^{-}$ uNK უჯრედებისა. ისინი ნაკლებ გრანულებს შეიცავენ და ნაკლები ლიზისური აქტივობა გააჩნიათ (Kalkunte et al. 2008; Kuon et al. 2017; Kwak-Kim et al. 2014; Moffett, Ashley, and Shreeve 2015; RCOG Scientific impact paper No 53. 2016; Sacks 2014, 29-37).

მეორე სუბპოპულაცია ფენოტიპურად და ფუნქციურად განსხვავებულია, შეადგენს პერიფერიული სისხლის NK-ს ≈90% (pNK). ისინი ექსპრესირებენ CD56-ს დაბალი სიმკვრივით და CD16-ს (NK-ს კლასიკურ ციტოტოქსიურობის მარკერს) საკმაოდ მაღალი სიმკვრივით და არიან **$CD56^{dim}$ $CD16^{+}$.** მათი რაოდენობა მატულობს სტრესისა და ფიზიკური დატვირთვის დროს (Kwak-Kim et al. 2014; Nakashima et al. 2012; Sacks 2015; Moffett, Ashley, and Shreeve 2015; Seshadri, Srividya, and Sunkara 2014). ისინი პროდუცირებენ მცირე რაოდენობით ციტოკინებს, მაგრამ შეიცავენ დიდი რაოდენობით **ციტოტოქსიკურ გრანულებს (პერფორინები, გრანზიმები)** და ძირითადად პასუხისმგებელნი არიან NK-ს ლიზისურ უნარზე და ციტოტოქსიურობაზე (Fukui et al. 2017; Sacks 2015; Ticconi et al. 2019). (სურ.1).




*სურათი. 1. იმუნორეგულატორული $CD56^{bright}$ და ციტოტოქსიკური $CD56^{dim}$ NK უჯრედები*

**CD56$^{dim}$CD16$^{+}$** NK უჯრედები წარმოადგენენ საშვილოსნოს uNK-ს ≈10%-ს. მრავალი მკვლევარის აზრით, ძირითადად NK-ს სწორედ ეს სუბპოპულაცია არის ჩართული ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების პათოგენეზში (Kuon et al. 2017; Sacks 2014, 29-37; Fukui et al. 2017; Ticconi et al. 2019). ამის საპირისპიროდ, CD56$^{bright}$uNK უჯრედებს აქვთ ძალიან დაბალი ციტოტოქსიურობა, სამაგიეროდ წარმოადგენენ სხვადასხვა ციტოკინების, ანგიოგენეზური და ზრდის ფაქტორების მდიდარ წყაროს. კერძოდ, ისინი პროდუცირებენ: VEGF-A (ვასკულარული ენდოთელიუმის ზრდის ფაქტორი-A), PLGF (პლაცენტის ზრდის ფაქტორი), TGF-β (მატრანსფორმირებელი ზრდის ფაქტორი β), GM-CSF (გრანულოციტ-მაკროფაგების კოლონიის მასტიმულირებელი ფაქტორი), ანგიოპოეტინებს-Ang1, Ang2 და სხვა იმუნოაქტიურ ქემოკინებსა და მოლეკულებს (Jacob et al. 2006; Jabrane-Ferrat, Nabila, and Siewiera 2014; Moffett, Ashley, and Colucci 2014; Ticconi et al. 2019; Yang et al. 2019).

NK უჯრედებს CD16-ის გარდა გამოხატული აქვთ აგრეთვე **ციტოტოქსიკურობის სხვა კლასიკური მარკერი-CD57** (გლუკურონ მჟავა-3 სულფატი), რომელიც რუტინულად გამოიყენებოდა ტერმინალურად დიფერენცირებული, „დაბერებული“ CD8$^{+}$ T ლიმფოციტების იდენტიფიცირებისათვის. შედარებით ახალი კვლვებით (Nielsen et al. 2013; Lopez-Vergès et al. 2010; Jiang et al. 2017) ნანახი იქნა, რომ CD57 მარკერი განსაზღვრავს აგრეთვე **დაბალი პროლიფერაციული აქტივობისა და მომწიფების ყველაზე მაღალი ხარისხის მქონე, ტერმინალურად დიფერენცირებულ NK უჯრედების სუბპოპულაციას,** რომელიც გვხვდება როგორც პერიფერიულ ცირკულაციაში, ასევე ენდომეტრიუმშიც, თუმცა ამ უჯრედთა ცვლილებების რაიმე განსაკუთრებული თავისებურება მენსტრუალური ციკლის განმავლობაში არ იქნა ნანახი (Vassiliadou, N., and Bulmer 1996; Quenby et al. 1999; Winger 2007; Russell et al. 2013).

CD57-ის ექსპრესიის ხარისხი იზრდება ასაკთან ერთად და ასოცირდება ქრონიკულ ინფექციებთან. ამასთან, ხდება მისი ფუნქციის „გადართვა“ უფრო მეტად ციტოლიზური აქტივობისაკენ (Nielsen et al. 2013; Kared et al. 2016). ნაჩვენები იქნა, რომ CD57$^{+}$ NK უჯრედთა სუბპოპულაციას აქვს უნარი პრო-ანთებითი IFN-γ-ის წარმოქმნისა, რომელიც აქტიურდება CD16-თან ჯვარედინი ურთიერთკავშირის შედეგად. ამგვარად, NK უჯრედის მიერ **CD57-ის შეძენა ასოცირდება** უფრო

**მომატებულ ციტოტოქსიურ პოტენციალთან** და გაზრდილ საპასუხო რეაქციასთან CD16-ისა და ნატურალური ციტოტოქსიურობის რეცეპტორების სიგნალირების მიმართ და დაქვეითებულ მგრძნობელობასთან ციტოკინების მიმართ (Nielsen et al. 2013; Lopez-Vergès et al. 2010; Kared et al. 2016).

NK-ს სხვადასხვა სუბპოპულაციები სხვადასხვა ვარიაციითა და ხარისხით ექსპრესირებენ CD57 მარკერს. იგი წარმოდგენილია CD56$^{dim}$და CD16$^{+}$ NK უჯრედთა სუბპოპულაციაზე, რომელსაც გააჩნია მაღალი ციტოტოქსიკური პოტენციალი, მაშინ როდესაც CD56$^{bright}$ CD16$^{-}$ uNK უჯრედები არ ექსპრესირებენ ამ იმუნურ მარკერს (Vassiliadou, N., and Bulmer 1996; Quenby et al. 1999; Nielsen et al. 2013; Jiang et al. 2017).

ერთ-ერთი შრომის მიხედვით, CD57-ის მაღალ ციტოტოქსიურობაზე მეტყველებს აგრეთვე ამ მარკერის ექსპრესიის ხარისხის კორელაცია Granzyme A, Granzyme B და პერფორინების ექსპრესიის ხარისხთან (Jiang et al. 2017). სხვა ნაშრომის მიხედვით CD57$^{+}$NK უჯრედები აქტიურდებიან ლოკალური ციტოკინებისა და ინტერლეიკინების, განსაკუთრებით IL-2 ზემოქმედებით და „უტევენ“ ტროფობლასტს (Lopez-Vergès et al. 2010). ბოლო ათწლეულების განმავლობაში სხვადასხვა მეცნიერთა კვლევებით დემონსტრირებული იქნა CD57$^{+}$ NK-ის მომატებული რაოდენობა ორსულობის როგორც სპონტანური, ასევე განმეორებითი დანაკარგების ჯგუფებში ფერტილურ კონტროლებთან შედარებით (Vassiliadou, N., and Bulmer 1996; Lachapelle et al. 1996; Bulmer, J.N., and Lash 2005; Seshadri, Srividya, and Sunkara 2014; Del Zotto et al. 2017; Fukui et al. 2017), თუმცა CD57$^{+}$ NK უჯრედების ზუსტი ფუნქცია და მათი განაწილება უოგდ-ს მქონე ქალების ენდომეტრიუმში ჯერჯერობით გაურკვეველია (Jiang et al. 2017).

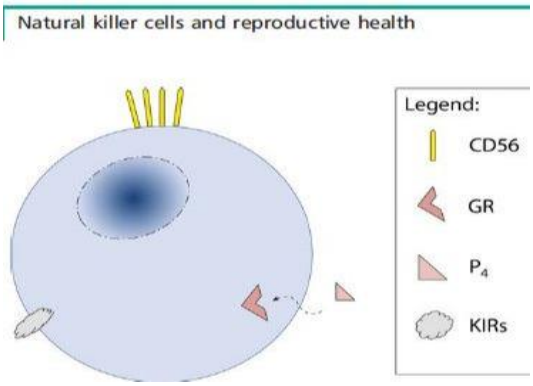
**<u>uNK უჯრედების რეცეპტორები.</u>**

uNK უჯრედებს გააჩნიათ მათთვის სპეციფიკური კილერების იმუნოგლობულინის-მსგავსი რეცეპტორები (Killer cell immunoglobulin like receptor-KIR), რომლებიც უპირატესად უკავშირდებიან ტროფობლასტის ზედაპირზე არსებულ HLA კომპლექსის კლასი I-ის HLA-C,E, G მოლეკულებს, რაც მიგვანიშნებს uNK-ს როლზე ფეტალური ალო-ანტიგენების ამოცნობაში და ორსულობის ტოლეროგენულ რეაქციებში მონაწილეობაზე (Chazara et al. 2011; Ticconi et al. 2019;

Nakashima et al. 2012; Moffett et al. 2017; Chong, H.P., and Quenby 2016; Beytamouni, T. S., and Ghanem 2016; Alecsandru, Diana, and García-Velasco 2017).

გარდა ზედაპირული რეცეპტორებისა, uNK უჯრედები ექსპრესირებენ ასევე β ესტროგენულ, პროლაქტინისა და ინტრა-ცელულარულ გლუკოკორტიკოიდების რეცეპტორს (GR), რომელსაც გლუკოკორტიკოიდის გარდა უკავშირდება ასევე პროგესტერონიც. ამ უკანასკნელს საკუთარი რეცეპტორი საშვილოსნოს ნატურალურ კილერებზე (სისხლის pNK უჯრედებისგან განსხვავებით) არ გააჩნია და თავის ზემოქმედებას ენდომეტრიუმზე ახდენს GR-ს საშუალებით (RCOG Scientific impact paper no. 53, 2016; Kuroda et al. 2013; Chong, H.P., and Quenby 2016). (სურ.2). კერძოდ, მისი ზეგავლენით ენდომეტრიუმის სტრომის უჯრედებში ხდება კორტიზონის გარდაქმნა უფრო აქტიურ კორტიზოლად, რომელსაც პირდაპირი ეფექტი აქვს ენდომეტრიუმის ეპითელიუმის უჯრედების მოსამზადებლად იმპლანტაციისთვის და დეციდუალიზაციის პროცესების სწორად წარმართვისათვის (Kuroda et al. 2013).

აღნიშნული რეცეპტორების გარდა uNK უჯრედებზე აღმოჩენილია გამააქტივებელ და მაინჰიბირებელ რეცეპტორთა და იმუნოაქტიურ მოლეკულათა მრავალფეროვანი რეპერტუარი, რომლის საშუალებითაც რეგულირდება მათი ციტოტოქსიური ან იმუნომარეგულირებელი, მოქნილი ფუნქციები (სურ.3). (Fukui et al. 2017; Del Zotto et al. 2017; Ticconi et al. 2019; Varla-Leftherioti, M., and Keramitsoglou 2016).

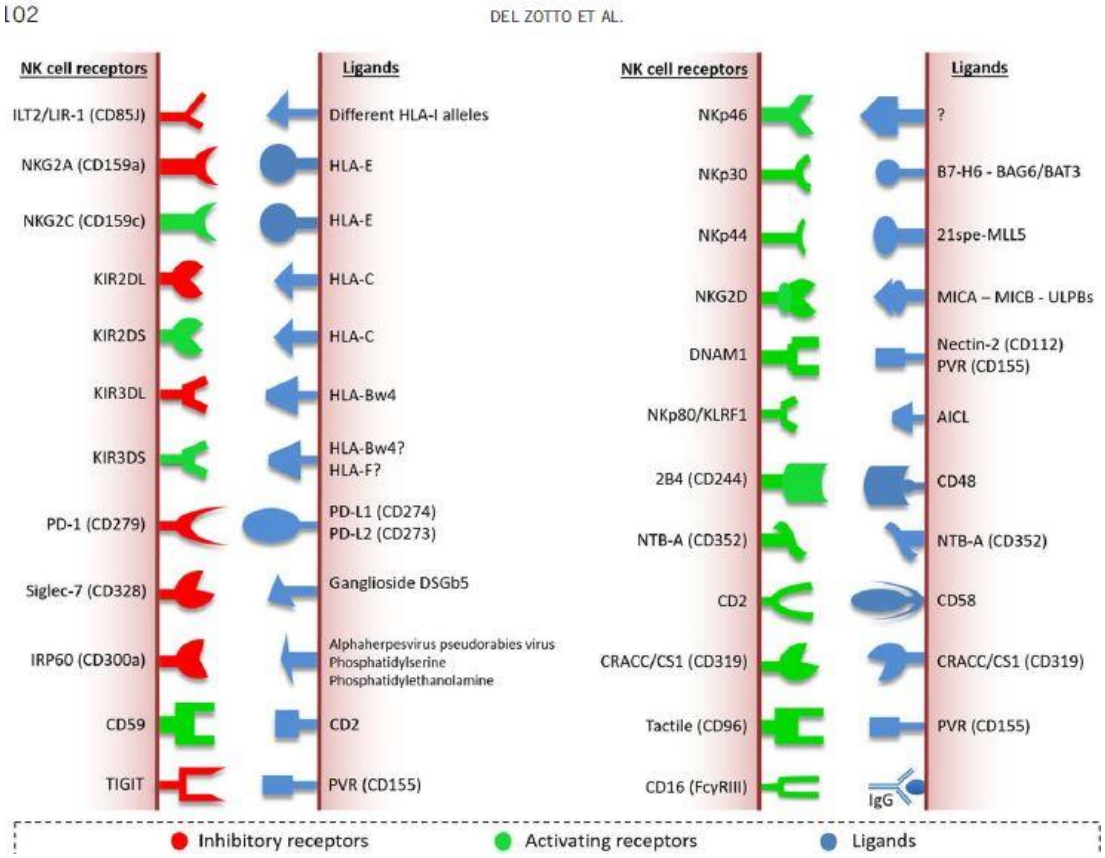



*სურ.2.uNK-ს ზოგადი CD56 იმუნური მარკერი, სპეციფიკური KIR და სხვა რეცეპტორები(Chong&Quenby, 2016)*

ამ ფუნქციების ალტერნატიული ურთიერთცვლილება არის თუ არა რაიმე კავშირში **uNK უჯრედების** ახლადაღმოჩენილ **„მეხსიერების-მაგვარ“ უნართან,** ჯერ კიდევ დასამტკიცებელია. თუმცა არის მოსაზრება, რომ ასეთი „განათლებული“ uNK

სუბპოპულაციის არსებობით შეიძლება აიხსნას შემდგომი ორსულობებისას დეფექტური პლაცენტაციების ნაკლები სიხშირე (Jabrane-Ferrat 2019).

uNK-ს კვლევის სფეროში მიღწეული წარმატებებისა და მათი „მეხსიერების-მაგვარი“ უნარის აღმოჩენის საფუძველზე, მეცნიერების ვარაუდით, არსებობს NK-ს კიდევ სხვა სუბპოპულაციებიც. ამასთან, საერთო თვისებების გარდა თითოეულს გააჩნია საკუთარი, უნიკალური „ხელწერა“, რომელიც დამოკიდებულია მათ ქსოვილ-სპეციფიკურ ლოკალიზაციაზე (Manaster, Irit, and Mandelboim 2010; Beytamouni, T.S., and Ghanem 2016; Moffett et al. 2017; Jabrane-Ferrat 2019).

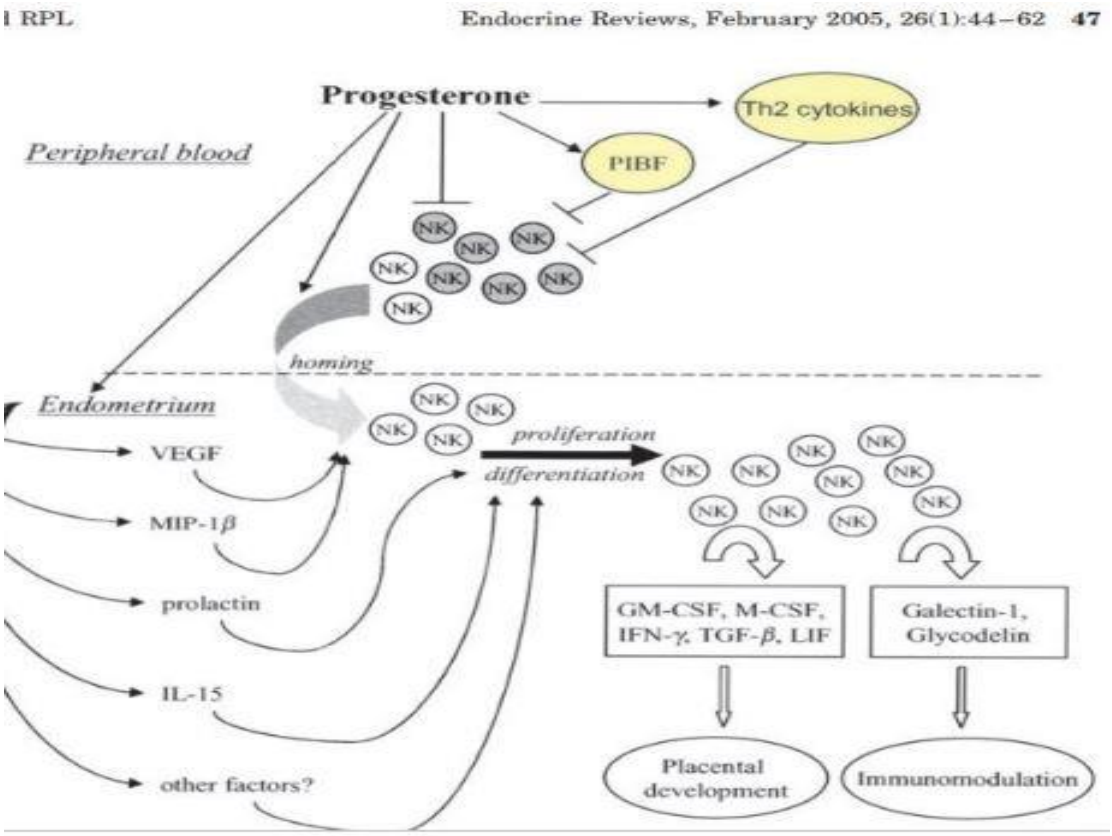



*სურ. 3. uNK უჯრედების რეცეპტორთა მრავალფეროვანი რეპერტუარი (Zotto et al.2017).*

## 5. uNK უჯრედების წარმოშობა და განაწილება ენდომეტრიუმში მენსტრუალური ციკლის განმავლობაში

uNK წარმოადგენს NK უჯრედების ფენოტიპურად და ფუნქციურად განსხვავებულ პოპულაციას. ისინი გვხვდებიან ენდომეტრიუმის ფუნქციონალურ შრეში, როგორც პრე-იმპლანტაციურ ენდომეტრიუმში, ასევე ადრეულ

დეციდუალურ გარსში. დღემდე გრძელდება დებატები მათი წარმოშობის შესახებ. ამჟამად არსებობს მტკიცებულებები, რომლებიც ეყრდნობიან სხვადასხვა თეორიებს: **I. ერთ-ერთი თეორიის** მიხედვით, **პერიფერიული ცირკულაციიდან** ხდება **დიფერენცირებული uNK უჯრედების რეკრუტირება** ენდომეტრიუმში სხვადასხვა ციტოკინების, ქემოკინების, ჰორმონალური და არა-ჰორმონალური ფაქტორების ზეგავლენით. (Bulmer, J.N., and Lash 2005; Manaster, Irit, and Mandelboim 2010; Moffett, Ashley, and Shreeve 2015; Di Vito et al. 2019). (სურ.4).



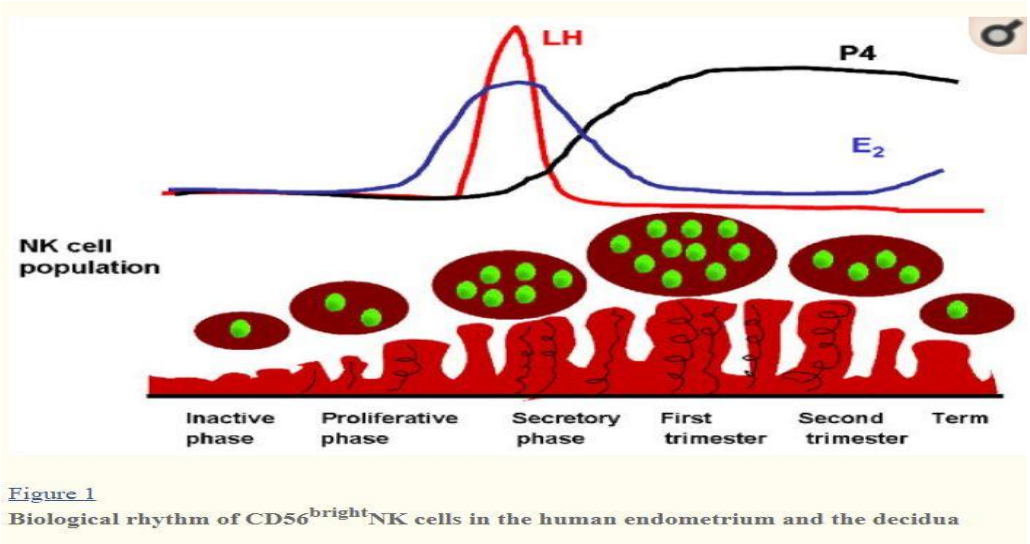

*სურ.4. uNK-ს რეკრუტირება სისხლიდან ენდომეტრიუმში სხვადასხვა ფაქტორების ზეგავლენით (Dosiou&Giudice, 2005).*

სხვადასხვა ჰორმონებს შორის (Progesteron, Estradiol, Prolactin, HCG) პროგესტერონს მიაწერენ კრიტიკულ როლს აღნიშნულ რეკრუტირების პროცესში (Nakashima et al. 2012; Dosiou, Chrysoula, and Giudice 2005; Kwak-Kim et al. 2014; Jabrane-Ferrat 2019), თუმცა, ამ ციკლური რეკრუტირებისა და ენდომეტრიუმის

სტრომაში მათი შემდგომი პროლიფერცია-დიფერენციაციის პროცესების ზუსტი მექანიზმები ბოლომდე არაა გარკვეული. ეს თეორია შესაძლოა ასახავდეს uNK-ს განლაგებას ენდომეტრიუმში პერივასკულარული აგრეგატების სახით. მისი მომხრენი მიუთითებენ სწორედ ტროფობლასტის მიერ ინდუცირებული პროგესტერონის როლზე uNK უჯრედებისა და მათი პრეკურსორების რეკრუტირების პროცესში. თუმცა, მოწინააღმდეგეებს არგუმენტად მოჰყავთ ის ფაქტი, რომ uNK უჯრედები მრავლადაა ენდომეტრიუმში პრემენსტრუალურ პერიოდში ან ექტოპიური ორსულობისას საშვილოსნოს ღრუში ტროფობლასტის არარსებობის შემთხვევაშიც (von Rango et al. 2001). **II. სხვა თეორიის** მიხედვით, uNK წარმოიშვება **CD34+ ჰემატოპოეტური პროგენიტორებისაგან** იმპლანტაციის ადგილას (Manaster, Irit, and Mandelboim 2010; Di Vito et al. 2019; Beytamouni, T. S., and Ghanem. 2016).

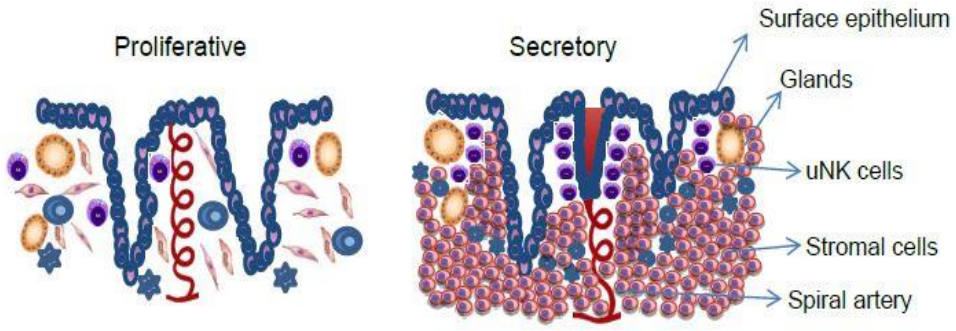
**III. ახალი მონაცემებით**, uNK-ს წარმოშობა შეიძლება მოხდეს **თვით ენდომეტრიუმში in situ ლოკალური პროგენიტორი უჯრედების პროლიფერაციითა და დიფერენცირებით** (Chiossone et al. 2014). ზოგიერთ ნაშრომში კი მყარადაა მითითებული, რომ მომწიფებული uNK უჯრედების დიდი წილი წარმოიშვება ექსტრა-უტერინული პროგენიტორებისაგან მეორად ლიმფოიდურ ქსოვილებში და თიმუსში (Jabrane-Ferrat 2019). ყოველივე ზემოთქმულით შეიძლება აიხსნას ის ფაქტი, რომ გარკვეული კორელაციების მიუხედავად, pNK უჯრედების განსაზღვრა უფრო ნაკლებ სენსიტიურია, ვიდრე uNK-სი (RCOG Scientific impact paper no. 53. 2016; Seshadri, Srividya, and Sunkara 2014; Sacks 2014, 29-37).

ენდომეტრიუმში uNK უჯრედები გვხვდებიან მთელი მენსტრუალური ციკლის განმავლობაში, მაგრამ მათი რაოდენობა დრამატულად იზრდება დღითი-დღე შუა ლუთეინურ ფაზაში, LH-ის პიკის მე-6-7 დღიდან, იმპლანტაციის სავარაუდო პერიოდში (სურ.5). მენსტრუაციამდე რამდენიმე დღით ადრე ისინი განიცდიან აპოპტოზს, მაგრამ თუ დგება ორსულობა, ქორიონალური გონადოტროპინის ზეგავლენით შენარჩუნდებიან. მათი რაოდენობა რჩება მაღალი ადრეული ორსულობის პერიოდში და შეადგენს ფეტო-მატერნალურ ზედაპირზე არსებული ლიმფოციტების 70%-მდე (Jacob et al. 2006; Kalkunte et al. 2008; Bulmer et al. 2009; Chong, H.P., and Quenby 2016; Moffet, Ashley, and Colucci 2014; Jabrane-Ferrat 2019).




*სურ.5. uNK-ს რაოდენობის ცვლილება პრე-იმპლანტაციურ ენდომეტრიუმში და დეციდუაში (Kalkunte et al.2008).*

ორსულობის მე≈14 კვირიდან იწყება uNK-ს რაოდენობის შემცირება და ორსულობის ბოლოს იგი თითქმის ნულს უტოლდება. პერი-იმპლანტაციურ პერიოდში შეინიშნება uNK-ს თავმოყრა საშვილოსნოს სპირალური არტერიებისა და ენდომეტრიული ჯირკვლების გარშემო აგრეგატების სახით (სურ.6) და აგრეთვე ინვაზიური ტროფობლასტის სიახლოვეს, რაც ბადებს მოსაზრებას ამ უჯრედების მნიშვნელოვან როლზე ტროფობლასტის მიგრაციისა და პლაცენტაციის პროცესების სწორად წარმართვაში (Bulmer et al. 2009; Moffett et al. 2017; Liu et al. 2014; Di Vito et al.2019; Chen et al. 2017). ამდენად, **მათი ფენოტიპის, ფუნქციებისა და ენდომეტრიუმში განაწილების, მიხედვით uNK უჯრედები სრულიად უნიკალურნი არიან.**




*სურ.6. uNK-ს განაწილება პროლიფერაციულ და პრე-იმპლანტაციურ ენდომეტრიუმში.*

## 6. uNK უჯრედები - ძირითადი „მოთამაშეები“ ფეტო-მატერნალურ ზედაპირზე. მათი კვლევის მნიშვნელობა და სირთულეები.

თავდაპირველად მიაჩნდათ, რომ uNK უჯრედები მათი „ქილერული“ თვისებების გამო აზიანებდნენ ნაყოფს და იწვევდნენ მის დაღუპვას. მოგვიანებით ჩატარებულმა კვლევებმა კი აჩვენა მათი დადებითი როლი ორსულობის შენარჩუნებაში და წარმატებით დასრულებაში. uNK უჯრედების ზუსტი ფუნქციები ბოლომდე არ არის გარკვეული, თუმცა მათი სიუხვე იმპლანტაციის პერიოდისათვის და სიახლოვე ინვაზიურ ტროფობლასტთან მიგვანიშნებს, რომ ისინი **ორსულობის ტოლეროგენული იმუნოლოგიური მექანიზმების საკვანძო უჯრედები არიან** (Bulmer et al. 2009; Quenby et al. 2009; Liu et al. 2014; Moffett, Ashley, and Shreeve 2015; Jabrane-Ferrat 2019; Alecsandru, Diana, and García-Velasco 2017; Homer 2019). ისინი არა მარტო ღებულობენ მონაწილეობას იმუნური პასუხის რეგულაციაში, არამედ სხვა იმუნური უჯრედების მართვით **განაპირობებენ ენდომეტრიუმის იმუნურ ჰომეოსტაზს.**

uNK უჯრედები სხვადასხვა რეცეპტორებისა და ქემოკინების კონტროლირებული ექსპრესიით არეგულირებენ ტროფობლასტის ინვაზია/მიგრაციისა და პლაცენტაციის პროცესების სწორად მიმდინარეობას ენდომეტრიუმში და სხვადასხვა ანგიოგენეზური ფაქტორების (VEGF, PLGF) სეკრეციით ზრდიან საშვილოსნოს ვასკულარიზაციას და ხელს უწყობენ ნაყოფის სისხლით მომარაგებას (Jacob et al. 2006; Moffett, Ashley, and Shreeve 2015; Jabrane-Ferrat, Nabila, and Siewiera 2014; El Hachem et al. 2017; El-Azzamy et al. 2018). **uNK უჯრედების არაადექვატური რაოდენობითა და აქტივობით გამოწვეული გადაჭარბებული ანგიოგენეზი კი, რასაც აგრეთვე შესაძლოა ადგილი ჰქონდეს იმპლანტაციის დროს, იწვევს ჭარბი სისხლის ნაკადის მიდინებას, ოქსიდაციურ სტრესსა და საბოლოოდ, ორსულობის შეწყვეტას** (Brosens et al. 2011; Kwak-Kim et al. 2014).

ერთ-ერთი უახლესი მულტიცენტრული კვლევის თანახმად, uNK უჯრედები არეგულირებენ დეციდუალიზაციის ნორმალურ პროცესებს. ლუთეინურ ფაზაში **IL-15**-ის ზეგავლენით ისინი **სელექტიურად ახდენენ „დაბერებული“ დეციდუალური უჯრედების კლირენსს** გრანულების ეგზოციტოზის გზით და მართავენ ენდომეტრიუმის რემოდელირებისა და განახლების პროცესებს (Brighton et al. 2017).

ავტორთა სხვა ჯგუფის მიერ გამოქვეყნებულ იქნა მონაცემები, რომ ენდომეტრიუმის სტრომის სუბლუმინარულ ნაწილში **uNK უჯრედთა გაზრდილი რაოდენობა** ასოცირდება დეციდუალური უჯრედების მიერ **კორტიზოლის არაადექვატურ ბიოსინთეზთან** და მინერალოკორტიკოიდ-დამოკიდებული საკვანძო ფერმენტების სუბოპტიმალურ ინდუქციასთან, რომლებიც ჩართულნი არიან ლიპიდების ბიოგენეზში და რეტინოიდების სატრანსპორტო რგოლში (Kuroda et al. 2013; Kwak-Kim et al. 2014). აღნიშნული ავტორები, მიიჩნევენ, რომ ასეთ შემთხვევებში **ენდომეტრიუმში კორტიზოლის შედარებითი დეფიციტის გამო, uNK** უჯრედების **ტესტირებით** შესაძლოა მოხდეს რეპროდუქცული წარუმატებლობის რისკის მქონე ქალების იდენტიფიცირება.

მკვლევარების სხვა ჯგუფის მონაცემებით, არსებობს მზარდი მტკიცებულებები, რომ **ენდომეტრიუმის სტრომის უჯრედების აბერანტული დიფერენციაცია დეციდუალურ უჯრედებად, uNK უჯრედების არაადექვატური რაოდენობისა და ფუნქციის გამო, არის უოგდ-ს ძირითადი დამახასიათებელი, პათოგნომური ნიშანი** (Salker et al. 2010). ასევე, უფრო მეტად პათოგნომურად მიიჩნევენ uNK-ს გადაჭარბებულ მიგრაციას მათი ძირითადი ლოკალიზაციის ადგილიდან (ენდომეტრიუმის ბაზალური შრე, პერივასკულარული არეები) და **კონცენტრირებას ენდომეტრიუმის სტრომის სუბლუმინარულ ნაწილში,** ვიდრე მათი რაოდენობის ტოტალურ მატებას დიფუზურად მთელ სტრომაში (Kuroda et al. 2013).

ნორმალური დეციდუალიზირებული სტრომის უჯრედები მოქმედებენ როგორც ბიოსენსორები ემბრიონული სიგნალების მიმართ და ახდენენ მათ სელექციას იმპლანტაციისათვის ემბრიონების ხარისხის მიხედვით (Larsen et al. 2013; Salker et al. 2010; Khalife et al. 2019). უოგდ-ს შემთხვევაში, uNK-დისბალანსის გამო ენდომეტრიუმის ნორმალური ბიოსენსორული თვისებები და რეცეპტიულობა დარღვეულია. ასეთი ენდომეტრიუმი ადვილად ახდენს დაბალი ხარისხის ემბრიონების არასათანადო იმპლანტაციას, რის გამოც ორსულობა წყდება ადრეულ ვადებზე (Quenby et al. 2009; Larsen et al. 2013; Salker et al. 2010; Brosens et al. 2011).

მსოფლიო მასშტაბით შეინიშნება მზარდი ინტერესი uNK უჯრედების რაოდენობისა და ფუნქციის ცვლილებების პოტენციური გავლენის შესახებ რეპროდუქციულ დანაკარგებზე. კერძოდ, უცნობი გენეზის ორსულობის

განმეორებითი დანაკარგების, წარუმატებელი In Vitro განაყოფიერების მცდელობებისა და „დიდი სამეანო სინდრომების“- პრეეკლამფსიის, ნაყოფის საშვილოსნოსშიდა განვითარების შეფერხების, ნაადრევი მშობიარობის შემთხვევებში (Arck, P.C., and Hecher 2013; Brosens et al. 2011; Chong, H.P., and Quenby. 2016; Brighton et al. 2017; Ali et al. 2018). ინტენსიური კვლევები ტარდება ენდომეტრიუმის იმუნოლოგიური მიკროგარემოს შესწავლისათვის, დედა-ნაყოფს შორის „იმუნოლოგიური საუბრის“ მექანიზმების უკეთესად გაგებისათვის და საიმედო იმუნური მარკერების აღმოსაჩენად ორსულობის მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკის პროგნოზირებისათვის (Alecsandru, Diana, and García-Velasco 2017; Ali et al. 2018; Kwak-Kim et al. 2014; Kofod et al. 2017).

**აღნიშნული მეცნიერული სიახლეების ტრანსლაცია კლინიკურ პრაქტიკაში ხელს** შეუწყობს უცნობი გენეზის რეპროდუქციული დარღვევების შესაძლო იმუნური მიზეზების დადგენას, იმუნოთერაპიის სამიზნე პაციენტთა ქვეჯგუფის შერჩევასა და პრობლემური ორსულობების სწორად მართვას (Ali et al. 2018; Alecsandru, Diana, and García-Velasco 2017; Santillán et al. 2015). ამიტომ uNK უჯრედების რაოდენობის განსაზღვრა და მათი ფუნქციური სტატუსის შეფასება სულ უფრო მეტ მნიშვნელობას იძენს როგორც სამეცნიერო შრომებში, ასევე კლინიკური კვლევის პროტოკოლებში. გარდა ამისა, განმეორებითი რეპროდუქციული დანაკარგების მქონე სასოწარკვეთილი წყვილების მხრიდანაც შეინიშნება გაზრდილი მოთხოვნილება „იმუნური უჯრედების ტესტირებაზე“ და იმუნურ თერაპიაზე (Koert et al. 2019; Seshadri, Srividya, and Sunkara 2014; Tang, Ai-Wei et al. 2011; RCOG Scientific impact paper no.53. 2016), მიუხედავად იმისა, რომ ჯერჯერობით არ არსებობს მტკიცებულებებზე დაფუძნებული იმუნოლოგიური ტესტირება და მკურნალობის მეთოდები.

ლიტერატურა უცნობი გენეზის ოგდ-ს შესაძლო კავშირის შესახებ uNK უჯრედების შეცვლილ რაოდენობასა და ფუნქციებთან მცირე და წინააღმდეგობრივია. ნაშრომები ჰეტეროგენული და სუბსტანდარტული დიზაინისაა, საკვლევი პოპულაციები ასევე ჰეტეროგენული და მცირერიცხოვანია. მეთოდოლოგიები განსხვავებულია, შრომათა შედეგები-წინააღმდეგობრივი. არ არის მიღწეული შეთანხმება uNK-ს რაოდენობის რეფერენტულ ზღვრებზე, „გაზრდილი

რაოდენობის“ ცნებაზე და მის რელევანტურობაზე. აღსანიშნავია აგრეთვე გამოყენებული ლაბორატორიული მეთოდების სირთულე და შედეგების გაზვიადებული ინტერპრეტაცია (Sacks 2015).

ცალკე აღნიშვნის ღირსია ის ფაქტი, რომ ენდომეტრიუმი რთული სტრუქტურის დინამიური ქსოვილია, რომლის მორფოლოგიური სტრუქტურა და uNK უჯრედების რაოდენობა ძლიერაა დამოკიდებული მენსტრუალური ციკლის დღეზე. მათი რაოდენობა დრამატულად იზრდება იმპლანტაციის სავარაუდო პერიოდში. შესაბამისად, ენდომეტრიუმის ნიმუშის აღების დროს 1-2 დღის სხვაობაც კი იძლევა დიდ განსხვავებას წარმოდგენილ uNK-ს რაოდენობაში. ამის გამო, მრავალი მკვლევარის მოსაზრებით (Bulmer, J.N., and Lash 2005; Liu et al. 2014; Tuckerman et al. 2007; Chen et al. 2017; Lash et al. 2016) უდიდესი მნიშვნელობა აქვს ენდომეტრიუმის ბიოფსიის დროის ზუსტად დაგეგმვას და სჯობს აღებულ იქნას LH-პიკიდან მე-7 დღეზე. uNK უჯრედების რაოდენობის განსაზღვრაზე ასევე ახდენს გავლენას ენდომეტრიუმის შეშუპება, სიღრმე ლუმინალური ეპითელიუმიდან და ენდომეტრიუმის იმ ნაწილის ლოკალიზაცია, საიდანაც ხდება ბიოფსიის აღება (Kuroda et al. 2013; Moffett, Ashley, and Shreeve 2015). დაბოლოს, კიდევ ერთი დაბრკოლება ამ სფეროში კვლევების წარმოებაზე საერთაშორისო მასშტაბით არის ჯანმრთელი, ფერტილური ქალების საკონტროლო ჯგუფის ორგანიზება, ენდომეტრიუმის ბიოფსიის ინვაზიურობისა და მტკივნეულობის გამო .

## 7. uNK უჯრედების კვლევის მეთოდები

uNK უჯრედების შესასწავლად მაღალი დონის კვლევების ჩატარებისათვის საჭიროა მათი რაოდენობის შეფასების ზუსტი და საიმედო მეთოდები. **კვლევის ორი მეთოდი არსებობს:** 1. **გამდინარე ციტომეტრია** და 2. **იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდი.**

1.**გამდინარე ციტომეტრია** ტრადიციული მეთოდია **სისხლში pNK უჯრედების** გამოსაკვლევად. მისი უპირატესობა იმაში მდგომარეობს, რომ იგი ერთდროულად გვაწვდის დეტალურ ინფორმაციას NK უჯრედებისა და ლიმფოციტთა სხვადასხვა სუბპოპულაციების რაოდენობასა და მათი აქტივაციის სტატუსის შესახებ. ე.ი.ხდება იმუნურ უჯრედთა ფენოტიპირება (RCOG Scientific impact paper no.53. 2016; Sacks 2014, 29-37; Kwak-Kim et al. 2014; Seshadri, Srividya, and Sunkara 2014; Ali et al. 2018).

აღნიშნული მეთოდი შეიძლება იქნეს გამოყენებული uNK უჯრედების გამოსაკვლევადაც, მაგრამ ამ შემთხვევაში საჭიროა ენდომეტრიუმის გაცილებით დიდი ზომის ქსოვილი ბიოფსიისათვის და მისი დაუყოვნებლი დამუშავება აღებისთანავე. გარდა ამისა, უჯრედთა გადარჩევა არ არის 100%-ით სუფთა, რადგან ხდება სხვა ტიპის უჯრედთა შერევა. ამასთან, მეთოდიდან გამომდინარე, **ქსოვილის მექანიკური და ფერმენტული დამუშავების პროცესში იკარგება მნიშვნელოვანი ინფორმაცია იმუნურ უჯრედთა ანტიგენური სტრუქტურისა და ქსოვილში მათი ლოკალიზაციის შესახებ,** რაც ძალზე დიდ გავლენას ახდენს საბოლოო შედეგზე. ასე რომ, uNK უჯრედების იზოლაცია ამ პროცედურისათვის ტექნიკურად ძალიან ძნელია და ამ სიძნელეებიდან გამომდინარე, არაზუსტიც (Laird et al. 2011; RCOG Scientific impact paper no.53. 2016; Sacks 2014, 29-37).

2.**იმუნოჰისტოქიმიური (იჰქ)** მეთოდი uNK უჯრედების შესაფასებლად იყენებს ქსოვილის შეღებვის ტექნიკას **მონოკლონური ანტისხეულებით.** ამ მეთოდსაც გააჩნია გარკვეული ლიმიტაციები. ბიოფსიური მასალის აღება არის ინვაზიური და მტკივნეული პროცესი. გარდა ამისა, ენდომეტრიუმს აქვს რთული, კომპლექსური, ჯირკვლოვანი სტრუქტურა და იმუნოპოზიტიურ უჯრედთა დათვლა მის სხვადასხვა ნაწილში იძლევა განსხვავებულ შედეგებს (Tuckerman et al. 2007; Tang et al. 2011; Drury et al. 2011; Mariee et al. 2012; Santillán et al. 2015; Lash et al. 2016).

**იჰქ** მეთოდით შეიძლება აღმოვაჩინოთ მხოლოდ $CD56^{+}$ uNK უჯრედების საერთო პოპულაცია, მაგრამ იმავდროულად ვერ შევაფასოთ მათი აქტივაციის ხარისხი ან ვერ აღმოვაჩინოთ მისი რომელიმე სუბპოპულაცია, მაგ. $CD56^{dim}CD16^{+}$ უჯრედები, რომლებიც სავარაუდოდ, მონაწილეობენ რეპროდუქციულ დარღვევებში (Kuon et al. 2017; Junovich et al. 2013; Beytamouni, T.S., and Ghanem 2016; Chen et al. 2017). თუმცა, გამდინარე ციტომეტრიისაგან განსხვავებით, **იჰქ მეთოდის უპირატესობაა** ის, რომ იგი საშუალებას გვაძლევს მოვახდინოთ **იმუნოპოზიტიური უჯრედების ვიზუალიზაცია, ლოკალიზაცია და განაწილება ენდომეტრიუმის მთელ სტრომაში და შევაფასოთ მათი დამოკიდებულება ეპითელურ ჯირკვლებთან მიმართებაში,** რასაც გადამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების დროს. ამ შემთხვევაში, როგორც ცნობილია ხდება **uNK უჯრედების გადაჭარბებული მიგრაცია და თავმოყრა სუბლუმინალური ეპითელიუმის**

**მიმდებარედ,** რაც ზოგიერთი მკვლევარის აზრით, აღნიშნული პათოლოგიის ძირითად ჰისტოლოგიურ დამახასიათებელ ნიშანს წარმოადგენს (Kuroda et al. 2013; Moffett, Ashley, and Shreeve 2015; Mariee, Najat, T.C. Li, and Laird 2012; Santillán et al. 2015).

**იჰქ მეთოდის** კიდევ ერთი **ტექნიკური უპირატესობაა** ის, რომ იგი საჭიროებს ენდომეტრიუმის შედარებით მცირე ზომის ბიოფსიურ ნიმუშებს (≥3 მმ), რომლებიც მას შემდეგ რაც მოხდება მათი ფიქსაცია და პარაფინში ჩაყალიბება, შეიძლება გამოვიყენოთ შემდგომი დამუშავებისა და ქსოვილის ანათლების დამზადებისათვის მრავალჯერადად, ჩვენთვის ხელსაყრელ დროსა და ლაბორატორიულ პირობებში (Sacks 2014, 29-37).

ყოველივე ზემოთქმულის გათვალისწინებით, uNK უჯრედების გამოკვლევა ძირითადად ხდება სწორედ **იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით, რომელიც ოქროს სტანდარტს წარმოადგენს იმუნური უჯრედების სხვადასხვა სუბპოპულაციების აღმოჩენის, მათი რაოდენობის, ლოკალიზაციისა და ქსოვილში განაწილების ტიპის დასადგენად და ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს შესაფასებლად** (სურ.7). (Russell et al. 2013; Sacks 2015; Ali et al. 2018; El Hachem et al. 2017).

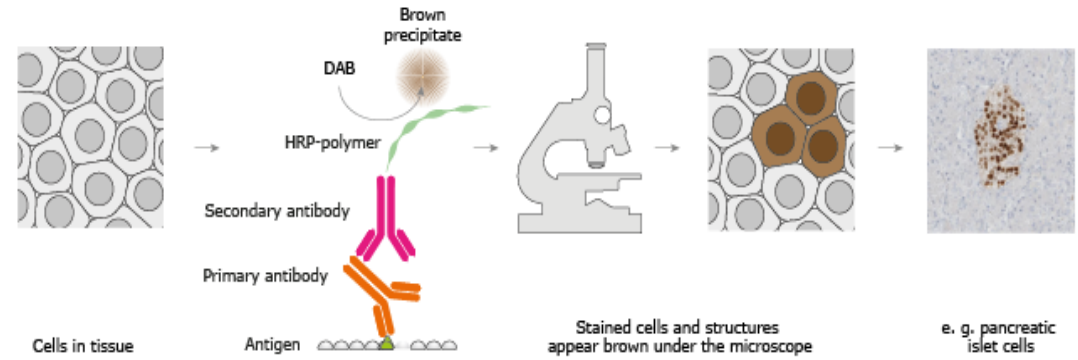



Figure 1. The basic principle of immunohistochemistry.

*სურ.7. იმუნოჰისტოქიმიის ძირითადი პრინციპები*

მიუხედავად იჰქ მეთოდის სიზუსტისა და საიმედოობისა, წლების განმავლობაში არ არსებობდა კვლევის ერთიანი, სტანდარტიზირებული მეთოდი, რაც განაპირობებდა სხვადასხვა ტიპის შეცდომათა წარმოშობას კვლევების დროს. განსხვავებული იყო აღებული ბიოფსიური მასალის დამუშავების ლაბორატორიული პროტოკოლები, მიღებული სლაიდების მიკროსკოპული ფოტოგრაფირებისას

მხედველობის არეების შერჩევა და ენდომეტრიუმის რთულ, კომპლექსურ ქსოვილში uNK უჯრედების დათვლის წესებიც. ზოგიერთი მკვლევარი ითვლიდა მათ საშუალო რაოდენობას ან პროცენტულ შემცველობას სტრომალური უჯრედების საერთო რაოდენობასთან მიმართებაში (Tuckerman et al. 2007; Drury et al. 2011; Mariee et al. 2012; Laird et al. 2013; RCOG Scientific impact paper no.53. 2016). ზოგი კი უპირატესობას ანიჭებდა CD45$^{+}$ლეიკოციტთა საერთო პოპულაციაში მათი პროცენტულობის დათვლას (Michimata et al. 2002).

იჰქ მეთოდით uNK უჯრედების დათვლისას მიღებული შედეგების ვარიაბელობის პოტენციური წყაროს გამოსავლენად და კვლევის ერთიანი, სტანდარტული მეთოდის შემუშავებისათვის, ჩატარდა მნიშვნელოვანი მულტიცენტრული კვლევა (Mariee et al. 2012), რის საფუძველზეც დადგენილ იქნა, რომ სხვადასხვა ცენტრების კვლევის შედეგთა შორის განსხვავება გამოწვეული იყო ბიოპტატების ფორმალინში ფიქსაციის ხარისხით, ანათლების სისქით, იჰქ შეღებვის დროს გამოყენებული პირველადი და მეორადი ანტისხეულების კონცენტრაციით, მიკროსკოპული ფოტოგრაფირებისას გადასაღები არეების შერჩევით, იმუნოპოზიტიური უჯრედების დათვლის განსხვავებული მეთოდოლოგიითა და თვით იმუნოპოზიტიური უჯრედის დეფინიციით. ინტენსიური დებატების შედეგად შემუშავებულ იქნა uNK უჯრედების იჰქ კვლევის სტანდარტიზირებული პროტოკოლი (Lash et al. 2016).

აღნიშნული სტანდარტიზირებული პროტოკოლის საფუძველზე, 2017 წელს X.Chen და თანაავტორების მიერ ჩატარდა მეორე მულტიცენტრული კვლევა (Chen et al. 2017), სადაც განსაზღვრულ იქნა uNK უჯრედების პროცენტული შემცველობა და ზღვრული რეფერენტული ნორმები ჯანმრთელი, ფერტილური ქალებისთვის ზუსტად დაგეგმილ ვადებში (LH+7) აღებულ ბიოპტატებში. მიღებული შედეგი შედარდა იგივე მაჩვენებელს განმეორებითი რეპროდუქციული დანაკარგების მქონე ქალების ჯგუფში, რომელიც შედგებოდა ოგდ-სა და RIF (განმეორებითი წარუმატებელი In Vitro განაყოფიერებები) ქვეჯგუფებისაგან. აღმოჩნდა, რომ uNK უჯრედების პროცენტული შემცველობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ იყო მომატებული როგორც ოგდ, ასევე RIF ქვეჯგუფებში. მკვლევარები იმედოვნებენ, რომ აღნიშნული იჰქ სტანდარტიზირებული მეთოდის გამოყენება ხელს შეუწყობს

სამომავლოდ uNK უჯრედების კვლევის შედეგებს შორის სხვაობათა მინიმუმამდე დაყვანას და მეცნიერული კვლევების შედეგების ტრანსლაციას კლინიკურ პრაქტიკაში.

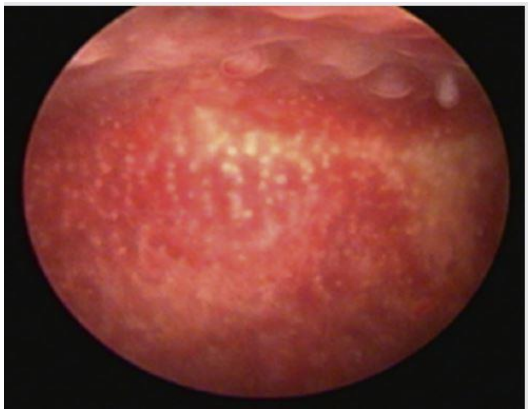
## 8. ქრონიკული ენდომეტრიტი- განსაზღვრება და ცნობილი ფაქტები

ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოსა და მისი რეცეპციულობის შეცვლის ერთ-ერთ სახედ მიიჩნევენ ქრონიკულ ენდომეტრიტს (ქე). რეპროდუქციული ჯანმრთელობის დარღვევებთან ასოცირებული ქრონიკული ენდომეტრიტის კონცეფცია ჯერ კიდევ მე-19 საუკუნეში გაჩნდა (Groth 2018). აქედან მოყოლებული, მისი დიგნოსტიკის სხვადასხვა მეთოდების განვითარებასთან ერთად იცვლებოდა მისი დეფინიციებიც. დღემდე არ არსებობს მისი უნივერსალური, საბოლოოდ აღიარებული განსაზღვრება, ლაბორატორიული კრიტერიუმები კი ჯერ კიდევ საკამათოა.

ზოგიერთი მკვლევარის აზრით, ქრონიკული ენდომეტრიტის დიაგნოზი „ხელიდან უსხლტებათ“ როგორც გინეკოლოგებს, მსუბუქი და არასპეციფიკური კლინიკური მანიფესტაციის გამო (მენსტრუალური ციკლის დარღვევები, დისფუნქციონალური სისხლდენები, დისკომფორტი/ტკივილი მცირე მენჯის ღრუში, დისპარეუნია, ლეიკორეა), ასევე მორფოლოგებსაც (პლაზმოციტების მსგავსების გამო ენდომეტრიალური სტრომის ფიბრობლასტებთან და მონონუკლეარულ ლეიკოციტებთან (Johnston-MacAnanny et al. 2010; Bouet et al. 2016; Kitaya et al. 2016; Vitagliano et al. 2018; Park et al. 2016). ენდომეტრიუმის ბიოპტატების მხოლოდ კლასიკური მეთოდით-ჰემატოქსილინ-ეოზინით (ჰ&ე) შეღებვის შემთხვევებში, ქე-ს ნაცვლად ხშირია შეცდომითი დიაგნოზები-მონონუკლეარული უჯრედებით ინფილტრაცია, გვიანი სეკრეტორული ან ადრეული პროლიფერატიული ენდომეტრიუმი, სტრომის პროლიფერაცია პლაზმოციტოიდური ფენოტიპით, ენდომეტრიუმის პოლიპი ეგზოგენური ჰორმონის ეფექტით და სხვა. ამას ემატება მკვლევარი მორფოლოგის სუბიექტურობა, ზოგჯერ არასათანადო გამოცდილება და შრომატევადი მიკროსკოპული გამოკვლევა (Bouet et al. 2016; McQueen et al. 2015; Kitaya, Kotaro, and Yasuo 2011; Park et al. 2016; Cicinelli et al. 2015). ამდენად, წლების განმავლობაში ეს პათოლოგია არადიაგნოსტირებული

რჩებოდა. თუმცა ქე-ს გავრცელების სიხშირე და მისი შესაძლო კავშირი უოგდ-სა და RIF-თან, ბოლო წლების ინტენსიური კვლევების საგანი გახდა.

გამოყენებული მეთოდის მიხედვით **ქე-ს განმარტება** შესაძლოა სხვადასხვა იყოს. **ჰისტეროსკოპიული მეთოდით** შეფასებისას ქე განისაზღვრება როგორც სტრომის შეშუპებისა და ლორწოვანი გარსის ფოკალური ან დიფუზური ჰიპერემიის მყარი ასოციაცია(„მარწყვისებრი"ენდომეტრიუმი)( Johnston-MacAnanny et al. 2010; Park et al. 2016; Bouet et al. 2016). (სურ.8) ზოგჯერ, ამას ემატება ენდომეტრიუმის მიკროპოლიპების (<1მმ) არსებობაც. ქე-სა და მიკროპოლიპების არცთუ იშვიათი თანხვედრა დემონსტრირებული იყო რამდენიმე შრომაში (Cicinelli et al. 2005; Kitaya, Kotaro, and Yasuo 2011).



*სურ.8. ქრ. ენდომეტრიტის ტიპიური ჰისტეროსკოპიული „მარწყვისებრი" სურთი (Bouet et al. 2016).*

**ჰისტომორფოლოგიურად** ქე-სთან ასოცირებული მახასიათებლებია: სტრომის ზედაპირული შეშუპება, მისი ანთებითი ინფილტრაცია მაკროფაგებითა და პლაზმური უჯრედებით, სტრომის გაზრდილი სიმკვრივე, უჯრედების თითისტარისებრი ფორმა, სტრომისა და ეპითელიუმის მომწიფების განსხვავებული ხარისხი, ენდომეტრიუმის ფსევდოსტრატიფიკაცია და დაყოვნებული დიფერენციაცია შუა სეკრეტორულ ფაზაში(„out-of-phase" morphology) (Kitaya, Kotaro, and Yasuo 2011; McQueen et al. 2015; Park et al. 2016). მიუთითებენ აგრეთვე ანტი-აპოპტოზური გენებისა და ესტროგენ-პროგესტერონული რეცეპტორების მომატებულ ექსპრესიაზე (Kitaya et al. 2018). ავტორთა განმარტებით, ეს მახასიათებლები უნდა იქნას ჩართული ქე-ს განმარტებაში. აღნიშნულ ექსპერტთა შეთანხმებით:

**პლაზმური უჯრედების მასიური იდენტიფიკაცია ენდომეტრიუმის სტრომაში არის ყველაზე სპეციფიური და სენსიტიური კრიტერიუმი მის დეფინიციაში**, ამასთან კლასიკური ჰ&ე-ით შეღებვისგან განსხვავებით, **იჰქ მეთოდით** მათი აღმოჩენის სიზუსტე საკმაოდ იზრდება.

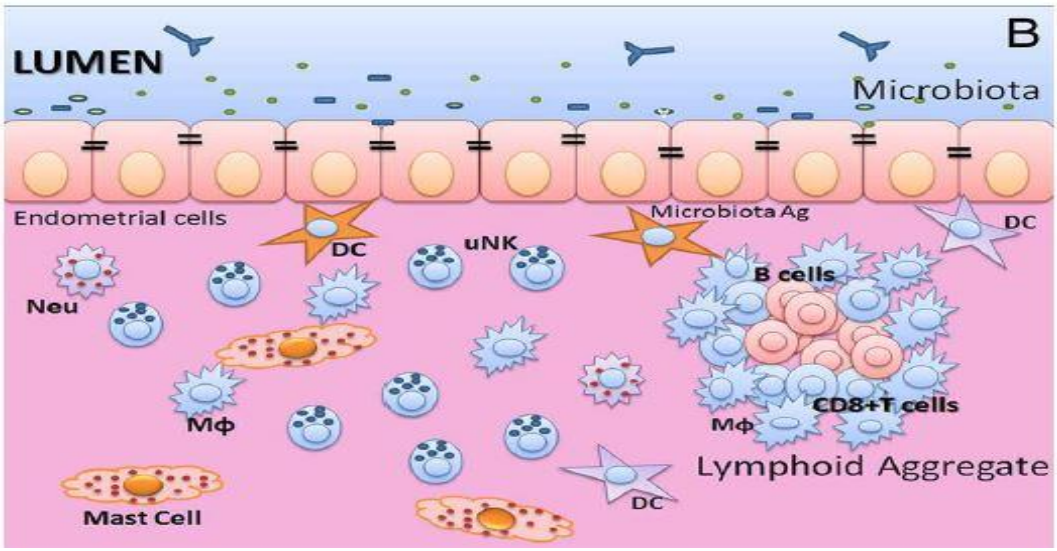
ზოგიერთ ნაშრომში მითითებულია, რომ ქე-ს დროს სტრომის პლაზმოციტებით ინფილტრაციის გარდა, აღინიშნება აგრეთვე B ლიმფოციტთა მასიური ინვაზია ენდომეტრიუმის ფუნქციონალურ შრეში (Kitaya, Kotaro, and Yasuo 2010). ეს უკანასკნელი ლეიკოციტთა იშვიათი სუბპოპულაციაა ენდომეტრიუმში (საერთო ლეიკოციტთა <1%), რომელიც ძირითადად გვხვდება მის ბაზალურ შრეში. ქე-ს დროს შეინიშნება B ლიმფოციტთა არა მარტო აკუმულირება სტრომაში, არამედ მათი შეჭრა ეპითელიალურ უჯრედებს შორის და ჯირკვლების ლუმინალურ ეპითელიუმში (Disep et al. 2004; Kitaya, Kotaro, and Yasuo 2010). ავტორთა აზრით, აბერანტული ლოკალური მიკროგარემო (რომლის ტრიგერ-ფაქტორი შესაძლოა ბაქტერიული ინფექციები იყოს) განაპირობებს სისხლში მოცირკულირე B ლიმფოციტთა ექსტრავაზაციას და მათ in situ პროლიფერაცია/დიფერენციაციას პლაზმოციტებად. ავტორთა დასკვნით,B ლიმფოციტთა განსხვავებული რიცხობრივი და ტოპოგრაფიული მახასიათებლების გამო, მათი იდენტიფიკაცია შესაძლოა კარგი კრიტერიუმი იყოს ქე-ს დიაგნოსტიკისათვის. რამდენიმე ნაშრომში ნაჩვენები იქნა ენდომეტრიუმის ფუნქციონალურ შრეში B ლიმფოციტთა მომატებულ რაოდენობასა და უცნობი გენეზის ოგდ-ს შორის პოტენციური კავშირი (Quenby et al. 1999; Kitaya 2011).

## 9. <u>ანთებადი ენდომეტრიუმის შეცვლილი იმუნორეაქტიულობა და ბიოსენსორული თვისებები</u>.

მრავალი მკვლევარის აზრით, ქე უარყოფით ზეგავლენას ახდენს ორსულობის გამოსავალზე, რადგან ამ დროს ენდომეტრიუმის რეცეპციულობა იცვლება: **1)** მასში პლაზმოციტების მასიური ინფილტრაციისა და IgG, M, A ანტისხეულების სეკრეციის გამო (Park et al. 2016; Kitaya et al. 2018). **2)** იმ ენდომეტრიალური გენების ექსპრესიის შეცვლის გამო, რომლებიც აკოდირებენ ანთებითი პასუხის, პროლიფერაციისა და აპოპტოზის მაკონტროლებელ ცილებს (Bouet et al. 2016; Kitaya et al. 2018). **3)** ანთებითი ენდომეტრიუმის იმუნურ-უჯრედოვანი გარემოს შეცვლის გამო ფეტო-

მატერნალურ ზედაპირზე. უახლესი კვლევების შედეგად, დაგროვდა მტკიცებულებები საშვილოსნოს მიკრობული ასოციაციების-მიკრობიოტას ზეგავლენის შესახებ ენდომეტრიუმის ლოკალურ იმუნურ პასუხსა და რეცეპციულობაზე (Benner et al. 2018; Simon 2018; Mor et al. 2017; Kyono et al. 2018).

ენდომეტრიუმში ფიზიოლოგიურად აღინიშნება იმუნოკომპეტენტურ უჯრედთა პლეიოტროპული პოპულაციებით კოლონიზაცია (Disep et al. 2004; Matteo et al.2009; Agostinis et al. 2019; Chen et al. 2020; Cicinelli et al.2014), რომელთა შემადგენლობა და კონცენტრაცია იცვლება მენსტრუალური ციკლის განმავლობაში. მათ მიეკუთვნება მაკროფაგები, ნეიტროფილები, საშვილოსნოს ნატურალური კილერი უჯრედები (uNK), T ლიმფოციტები და აგრეთვე სტრომალური უჯრედები (სურ.9).




*სურ.9. ენდომეტრიუმის იმუნური უჯრედები: uNK უჯრედები, DC-დენდრიტული უჯრედები, Mф-მაკროფაგები, Neu-ნეიტროფილები, Mast cell-ბოხიერი უჯრედები, CD8+ T ლიმფოციტები, B ლიმფოციტები ლიმფოიდურ აგრეგატებში. (Agostinis et al. 2019).*

ენდომეტრიუმის ლეიკოციტთა სუბპოპულაციების (განსაკუთრებით uNK უჯრედების), ციკლური ფლუქტუაცია, უზრუნველყოფს ენდომეტრიუმის რემოდელირებას მისი ნორმალური რეცეპციულობისთვის (Moffett et al. 2017; Mor et al. 2017; Moreno et al. 2016; Saito et al. 2010; Ticconi et al. 2019; Wang et al. 2016; Yang et al. 2019; Wu et al. 2017). მათ შორის დელიკატური ბალანსის ნებისმიერი დარღვევა იწვევს ენდომეტრიუმის რეცეპციულობის შეცვლას.

**ქე-ს როლი ენდომეტრიუმის ლიმფოციტთა სუბპოპულაციებზე** არ არის ბოლომდე შესწავლილი. ბევრი მკვლევარის აზრით, ქე-ს დროს მატულობს uNK-ს პროცენტული რაოდენობა ენდომეტრიუმის სტრომაში (Kitaya, Kotaro, and Yasuo 2010; Matteo et al. 2009; Park et al. 2016; Ticconi et al. 2019). სხვა მკვლევარები კი მიუთითებენ, რომ ქე-ს შემთხვევაში ენდომეტრიუმის იმუნორეცეპციულობის შეცვლის მიზეზია იმუნურ უჯრედთა იმუნომარეგულირებელ/ციტოტოქსიურ სუბპოპულაციათა დარღვეული თანაფარდობები ამ უკანასკნელთა სასარგებლოდ (Kitaya 2011; Cicinelli et al. 2015; Bouet et al. 2016). ზოგიერთ შრომაში, ქე-ს დროს აღმოჩენილ იქნა $CD56^+$ $CD16^-$ uNK-ს მნიშვნელოვნად დაბალი დონე, ვიდრე შემთხვევებში ქე-ს გარეშე: 47,8% vs. 30,1% ($p<0,01$) (Matteo et al. 2009). გარდა ამისა, ენდომეტრიუმის მიკროპოლიპოიდურ ნიმუშებში ქე-ს დროს uNK უჯრედების დაბალი დონე განაპრობებს რეზიდუალური ენდომეტრიალური უჯრედების გადარჩენას, რომლებიც, შესაძლოა იწვევენ პოლიპების წარმოქმნას (Cicinelli et al. 2005; Kitaya, Kotaro, and Yasuo 2011).

ყოველივე ამის შედეგად ვღებულობთ შეცვლილი იმუნორეაქტიულობის დეფექტურ ენდომეტრიუმს, რაც საბოლოოდ ცვლის მის ბიოსენსორულ თვისებებს ემბრიონის მიმართ. ასეთი ენდომეტრიუმი შესაძლოა იყოს უფრო მეტად რეცეპციული, მაგრამ ნაკლებად სელექტიური არასრულფასოვანი ემბრიონების მიმართ და ვერ ახდენდეს დიფერენცირებას ნორმალურ და პათოლოგიურ ემბრიონებს შორის (Salker et al. 2010) ასეთი ქალები „სუპერფერტილურებიც“ კი არიან: ხდება ბევრი ემბრიონის იმპლანტაცია, მაგრამ არასწორი პლაცენტაციის გამო მთავრდება ბევრი „ადრეული დანაკარგით“ (Kutteh 2015; Khalife et al. 2019).

## 10. ქრონიკული ენდომეტრიტის კავშირი რეპროდუქციულ გამოსავალთან და მისი გავრცელების სიხშირე ქალებში ორსულობის განმეორებითი დანაკარგებით.

უკანასკნელ წლებში დაგროვდა მონაცემები ქრონიკული ენდომეტრიტის შესაძლო კავშირის შესახებ არაკეთილსაიმედო რეპროდუქციულ გამოსავალთან, კერძოდ, ორსულობის განმეორებით დანაკარგებთან, წარუმატებელ IVF მცდელობებთან (RIF), ნაადრევ მშობიარობასთან, პრეეკლამფსიასთან. თუმცა, მაღალი ხარისხის მტკიცებულებების ნაკლებობის გამო, ამ პოტენციური ასოციაციისა

და ქე-ს მიზეზობრივი როლის დადასტურება აღნიშნული დაავადებების პათოგენეზში, სამწუხაროდ ჯერ კიდევ ვერ ხერხდება და დღემდე მწვავე მეცნიერული დისკუსიების საგანია.

ქე-ს გავრცელების სიხშირე საერთო პოპულაციაში მისი ოლიგო-, ასიმპტომატურობის გამო არაზუსტია და სხვადასხვა კვლევებით საკმაოდ დიდ ფარგლებში მერყეობს: 0.5-42% ან 3-60%-მდე (Liu et al. 2018; Kitaya 2011; Park et al. 2016; Zolghadri et al. 2011; Cicinelli et al. 2015; Moreno et al. 2018). ავტორთა ვარაუდით, ამ მერყეობის მიზეზები შეიძლება იყოს საკვლევ პოპულაციათა ჰეტეროგენულობა და მცირე ზომები, პლაზმოციტების დეტექციის სხვადასხვა მეთოდები, განსხვავებები ეთნიკურ ჯგუფებს შორის, ოგდ-სა და ქე-ს სხვადასხვა კრიტერიუმები და დეფინიციები.

როგორც ლიტერატურიდან ირკვევა ქე გვხვდება იმ ქალთა 10%-11%-ში, რომელთაც ჩაუტარდათ ჰისტერექტომიები კეთილთვისებიანი გინეკოლოგიური დაავადების გამო (Kitaya, Kotaro, and Yasuo 2011; Park et al. 2016). სხვა კვლევებით (Romero et al. 2004) ქე აღმოჩნდა უშვილო ქალთა 15%-ში, რომელთაც ჩაუტარდათ IVF ციკლები, ხოლო RIF-ის შემთხვევაში-42%-ში. ოგდ ჯგუფში (≥3 ორსულობის დანაკარგი) ჰისტეროსკოპიულად ქე დიაგნოსტირებული იყო 57,8%-ში (Zolghadri et al. 2011).

ქე-ს გავრცელების სიხშირე გამოყენებული სადიაგნოსტიკო მეთოდების მიხედვით განსხვავებულია. ჰისტოლოგიური კვლევები მიუთითებენ ქე-ს გავრცელების დაბალ მაჩვენებლებზე ოგდ ჯგუფში (9%-13%) (McQueen et al. 2015). იმუნოჰისტოქიმიური კვლევებით კი ქე-ს გავრცელების სიხშირე საკმაოდ მაღალია (Bouet et al. 2016). ამ უახლეს პროსპექტულ კვლევაში, ქე-ს გავრცელების სიხშირემ RIF ჯგუფში შეადგინა 14%, ხოლო ოგდ ჯგუფში-27%. იმავდროულად, ერთ-ერთი შრომის თანახმად (Kitaya, Kotaro, and Yasuo 2011) იჰქ მეთოდით დადგენილი ქე-ს შემთხვევებში ქალთა 23% კლინიკურად იყო სრულიად ასიმპტომური.

ყოველივე ზემოთქმულის გათვალისწინებით, ქრონიკული ენდომეტრიტი არის გინეკოლოგიური დაავადება, რომელიც არ უნდა იქნეს იგნორირებული უსიმპტომო, განმეორებითი რეპროდუქციული დანაკარგების მქონე ქალთა პოპულაციაში და სამომავლოდ მიზანშეწონილია სათანადო დიზაინის, მეტი რანდომიზირებული,

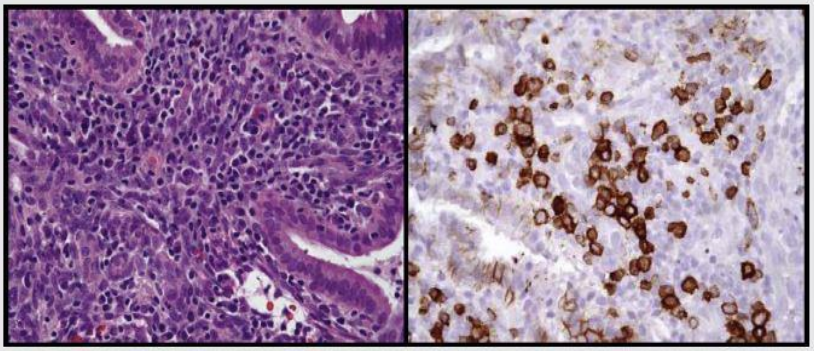
კონტროლირებული იმუნოჰისტოქიმიური კვლევების ჩატარება უფრო ფართო, ზუსტად შერჩეულ პოპულაციაში.

## 11. ქრონიკული ენდომეტრიტის დიაგნოსტიკა

ქრონიკული ენდომეტრიტის დიაგნოსტირებისათვის ჰისტეროსკოპიული მეთოდის მაღალი სენსიტიურობის მიუხედავად, უპირატესობა ენიჭება ჰისტოლოგიურ კვლევას. ენდომეტრიუმის სტრომაში პლაზმოციტების მასიური იდენტიფიკაცია აღიარებულია ქე-ს ჰისტოლოგიურ დიაგნოსტიკურ კრიტერიუმად (Johnston-MacAnanny et al. 2010; Kitaya, Kotaro, and Yasuo 2013; Bouet et al. 2016; Park et al. 2016). თუმცა, იგი შესაძლოა კომპრომეტირებული იყოს სხვადასხვა ფაქტორებით: სტრომალური უჯრედებისა და ფიბრობლასტების პლაზმოციტოიდური ფენოტიპით, მონონუკლეარული ანთებითი ინფილტრატებით, ხშირი სტრომალური მიტოზებით, პრე-დეციდუალური რეაქციით. გარდა ამისა, მეთოდი მოითხოვს ხანგრძლივ მიკროსკოპულ გამოკვლევას და მისი სუბიექტურობის გამო დიდი მნიშვნელობა ენიჭება პათომორფოლოგის სათანადო გამოცდილებას (Moreno et al. 2018; Cicinelli et al. 2015; Bouet et al. 2016). ამასთან, ბიოპტატების მხოლოდ კლასიკური ჰ&ე-ით შეღებვის შემთხვევაში, საკმაოდ ძნელია პლაზმოციტების ტიპიური მორფოლოგიური მახასიათებლების (დიდი ზომის უჯრედები, მაღალი ბირთვულ/ციტოპლაზმური ინდექსი, ბირთვებში ჰეტროქრომატინის „საათის ციფერბლატისებრი“ განაწილება) გამოვლენა.

ამჟამად უპირატესობა ენიჭება პლაზმოციტების იდენტიფიკაციას იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით, პლაზმოციტების იმუნური მარკერის-CD138-ის, იგივე Syndecan-1-ის (ტრანსმემბრანული ჰეპარან სულფატის პროტეოგლიკანი) გამოყენებით. რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს უჯრედის ზრდაში, პროლიფერაციაში და ციტოსკელეტურ ორგანიზებაში (Bayer-Garner, I.B., and Korourian 2001; Bouet et al. 2016; Kitaya et al. 2018; Park et al. 2016). იგი მიჩნეულია ქე-ს ყველაზე სანდო და დროის დამზოგველ სადიაგნოსტიკო მეთოდად. ქსოვილის შეღებვის კლასიკურ მეთოდებთან შედარებით მისი სენსიტიურობა და სპეციფიურობა გაცილებით მაღალია: 100% vs. 75% და 100% vs.65% შესაბამისად. ხოლო მკვლევართაშორისი ცდომილება კი-საკმაოდ დაბალი: 68% vs. 96% (Kitaya,

Kotaro, and Yasuo 2013). ოგდ ჯგუფში CD138-ით იჰქ მეთოდის გამოყენებამ აჩვენა ძალზე მაღალი სენსიტიურობა ქე-ს დიაგნოზისათვის: 56% vs. 13%-კლასიკურ ჰ&ე-სთან შედარებით (McQueen et al. 2015). (სურ.10).



Chronic endometritis on endometrial biopsy. (*Left*) Plasma cells identified by morphology using hematoxylin and eosin (H&E) staining. (*Right*) Plasma cells identified in brown by immunohistochemical CD138 staining.

*McQueen. Chronic endometritis and RPL. Fertil Steril 2015.*

*სურ.10. პლაზმური უჯრედები აღმოჩენილი ქრონიკული ენდომეტრიტის დროს: მარცხნივ, HE&E მეთოდით. მარჯვნივ, იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით: (McQueen et al. 2015).*

ქე-ს დიაგნოსტირებისათვის იჰქ მეთოდის საიმედოობისა და ეფექტურობის მიუხედავად, გარკვეული სიფრთხილე მაინც არის საჭირო მისი პრაქტიკული შესრულებისა და შედეგების ინტერპრეტაციის დროს. აღნიშნული იმუნური მარკერით ენდომეტრიუმის სტრომის უჯრედების გარდა შეიძლება შეიღებოს ეპითელური უჯრედებიც, თუმცა მისი ინტენსივობა გაცილებით სუსტია (Bayer-Garner, I.B., and Korourian 2001).

დიდი მნიშვნელობა აქვს სტანდარტიზირებული ლაბორატორიული მეთოდის შერჩევას და მისი ყოველი ეტაპის ხარისხის კონტროლს: ანტისხეულის შერჩევას, მისი განზავების ხარისხს, ინკუბაციის დროს, ენდომეტრიალური ანათლების ზომასა და სისქეს (Kitaya et al. 2018; Park et al. 2016; Bouet et al. 2016).

სამწუხაროდ, არ არსებობს მკაცრად დადგენილი CD138+ პოზიტიური იმუნური უჯრედების რაოდენობაც, რომელიც დააკმაყოფილებდა ქე-ს დიაგნოზის კრიტერიუმს. ზოგიერთი ავტორი მიიჩნევს, რომ 1 დადებითი უჯრედი მხედველობის ერთ მიკროსკოპულ ველში საკმარისია სადიაგნოსტიკოდ (Johnston-MacAnanny et al. 2010). ხოლო სხვა მკვლევარები მიუთითებენ, რომ ქე-ს დიაგნოზისთვის საჭიროა 5 CD138+ იმუნოპოზიტიური უჯრედის აღმოჩენა ენდომეტრიუმის 3-დან ერთ ანათალში (Bayer-Garner, I.B., and Korourian 2001).

უახლესი კრიტერიუმით კი ქრონიკული ენდომეტრიტი დიაგნოსტირდება ≥5.15 $CD138^+$ პლაზმური უჯრედი/10მმ$^2$-ზე შემთხვევაში (Liu et al. 2018).

ყოველივე ზემოთქმულიდან გამომდინარე, დიდი ალბათობით შეგვიძლია ვთქვათ, რომ:

**1.** ქრონიკული ენდომეტრიტი ასოცირდება რეპროდუქციული ფუნქციის სხვადასხვა დარღვევებთან, მათ შორის უცნობი ეტიოლოგიის ორსულობის განმეორებით დანაკარგებთან.

**2.** ქრონიკული ენდომეტრიტის დროს ირღვევა დედის იმუნური სისტემის კომპონენტებსა და მიკროორგანიზმებს შორის მშვიდობიანი თანაარსებობა (Yarbrough et al. 2015).

**3.** იცვლება იმპლანტაციაში მონაწილე ლიმფოციტთა სუბპოპულაციების თანაფარდობა და განაწილება ენდომეტრიუმში, ყალიბდება მათ მიერ პროდუცირებული ციტოკინების პათოლოგიური პროფილი.

ყოველივე ეს საბოლოო ჯამში იწვევს **ენდომეტრიუმის რეცეპციულობის შეცვლასა** და ორსულობის შეწყვეტას. $CD138^+$ პლაზმური უჯრედების იდენტიფიკაცია მაღალსენსიტიური იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით საშუალებას იძლევა მოვახდინოთ მონონუკლეარული უჯრედებითა და პლაზმოციტოიდური უჯრედებით გამოწვეული ანთებითი ინფილტრაციების დიფერენცირება და ამის საფუძველზე, დროულად მოვახდინოთ ქრონიკული ენდომეტრიტის დიაგნოსტირება.

## კვლევის მასალა და მეთოდები

**კვლევის დიზაინი:** ჩანერგილი შემთხვევა-კონტროლის კვლევა.

**კვლევის შესრულების ადგილი:** იენის ფრიდრიხ შილერის საუნივერსიტეტო კლინიკის სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრის ლაბორატორია „პლაცენტა“, იენა, გერმანია.

### 1.საკვლევი პოპულაცია

ლაბორატორია „პლაცენტას“ ენდომეტრიუმის ბიობანკიდან და მონაცემთა ბაზიდან, რომელიც მოიცავდა ≈8000 პაციენტს ორსულობის განმეორებითი დანაკარგებით, შერჩეულ იქნა 63 ენდომეტრიუმის ბიოპტატის პარაფინიზირებული ნიმუში (2015-2018წწ.) ქალებისაგან, რომელთაც ანამნეზში აღენიშნებოდათ უცნობი გენზის ოგდ. მათ შეადგინეს საკვლევი ჯგუფი.

***კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმი:*** ქალები, რომელთაც ანამნეზში აღენიშნებოდათ უცნობი გენზის ოგდ. ეს უკანასკნელი განსაზღვრული იყო, როგორც ≥2 ორსულობის განმეორებითი დანაკარგი (ჩასახვის მომენტიდან 24 კვირის გესტაციამდე, RCOG-ისა და ESHRE-ის უახლესი გაიდლაინით განსაზღვრული (RCOG Green-top Guideline no.17. 2011; ESHRE Early pregnancy GDG, Version 2, 2017).

***კვლევაში არჩართვის კრიტერიუმები:*** ქალები, რომელთაც ანამნეზში ჰქონდათ ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების გამომწვევი ცნობილი თანმხლები დაავადებები:

- პოლიცისტური საკვერცხეების სინდრომი
- ჰიპერპროლაქტინემიის სინდრომი
- ჰიპერ/ჰიპოთირეოიდიზმი
- აუტოიმუნური თირეოიდიტი
- ჰიპერანდროგენემია
- თანდაყოლილი და შეძენილი თრომბოფილიები (ანტიფოსოლიპიდური სინდრომი)
- ლუთეიმური ფუნქციის უკმარისობა
- მეტაბოლური დარღვევები (შაქრიანი დიაბეტი, დისლიპიდემიები)
- ინფექციები (Chlamydia trachomatis, Gardnerella vaginalis, Mycoplasma/Ureaplasma).

10 ენდომეტრიალური პარაფინიზირებული ნიმუში მიღებულ იქნა ჯანმრთელი, ფერტილური ქალებისაგან-კვერცხუჯრედის დონორებისაგან, რომლებიც რეკრუტირებულნი იყვნენ უკრაინის ეროვნული მედიცინის აკადემიის პედიატრიისა და მეანობა-გინეკოლოგიის იმუნოლოგიის ლაბორატორიაში (კიევი, უკრაინა). ენდომეტრიუმის ბიოპტატების აღება მოხდა ოოციტების სტიმულაციისა და დონაციის პროტოკოლის დაწყებამდე. მათ შეადგინეს საკონტროლო ჯგუფი.

***<u>საკონტროლო ჯგუფში ჩართვის კრიტერიუმები:</u>*** პრაქტიკულად ჯანმრთელი ქალები, რომელთაც ანამნეზში ჰქონდათ ერთი წარმატებული ორსულობა მაინც და არ აღენიშნებოდათ ორსულობის დანაკარგები (თვითნებითი ან ხელოვნური).

***<u>საკონტროლო ჯგუფში არჩართვის კრიტერიუმები:</u>*** 1.რაიმე აუტოიმუნური დაავადება. 2.ინფექციური დაავადებები. 3. ანტიბიოტიკოთერაპია ან ვაქცინაცია ენდომეტრიუმის ბიოფსიის აღებამდე 3 თვით ადრე.

მონაწილეთა ასაკი მერყეობდა 20-42წწ. ფარგლებში. ფერტილური კონტროლებისა და უოგდ პაციენტების საშუალო ასაკი შეადგენდა 27წ. და 33,5წ. შესაბამისად. ენდომეტრიუმის ბიოფსიები, როგორც უოგდ ასევე საკონტროლო ჯგუფიდან, აღებულ იქნა შუა ლუთეინურ ფაზაში (მენსტრუალური ციკლის 19-22-ე დღეებში). კვლევაში ჩართული ყველა მონაწილისგან მიღებულ იქნა წერილობთი ინფორმირებული თანხმობა. კვლევის ჩატარებაზე გაცემულ იქნა ნებართვა იენის ფრიდრიხ შილერის საუნივერსიტეტო კლინიკის მედიცინის ფაკულტეტის ლოკალური ეთიკური კომისიის მიერ (რეგისტრაციის N 2019-1305). ყველა პროცედურა ჩატარებულ იქნა იმ ეთიკური სტანდარტების შესაბამისად, რომელიც შემუშავებულ იქნა 1964 წ. ჰელსინკის დეკლარაციისა და მოგვიანებით მიღებული შესწორებების საფუძველზე.

<u>კვლევის მეთოდოლოგია</u>

<u>2. იმუნურ უჯრედთა მარკერების დეტექცია იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით</u>

ჩვენს შრომაში გამოვიყენეთ **იმუნოჰისტოქიმიის მეთოდი** (იჰქ) uNK უჯრედთა სუბპოპულაციების იმუნური მარკერების- $CD16^+$, $CD56^+$, $CD57^+$ , ენდომეტრიალური პლაზმოციტების $CD138^+$ (ქრონიკული ენდომეტრიტის მარკერი) და $CD45^+$ (ლეიკოციტთა, როგორც ანთების ზოგადი მარკერის) მარკერების დეტექციისათვის.

პარაფინიზირებული ენდომეტრიუმის ბიოპტატები როგორც საკვლევი უოგდ ასევე საკონტროლო ჯგუფიდან დაიჭრა მიკროტომის საშუალებით 4 μm სისქის ანათლებად და მოხდა მათი დატანება ადჰეზიურ SuperFrost/Plus მინებზე (Menzel, Germany).

შემდეგ ეტაპზე ხდებოდა მიღებული სლაიდების დეპარაფინირება ქსილოლში და დეჰიდრატაცია დაღმავალი კონცენტრაციის ეთანოლში. ანტისხეულების განზავებისათვის გამოყენებული იყო Background Reducing Components (Dako, Germany) ხსნარი. ანტიგენის გამოყოფა (Retrieval) ხორციელდებოდა ციტრატული ბუფერით მაღალ ტემპერატურაზე (>95$^0$C) 15 წთ. განმავლობაში. სლაიდები ირეცხებოდა TBS-Tween 20-0,05% ის ხსნარით (TBST). ენდოგენური პეროქსიდაზას აქტივობის ინჰიბირებისათვის ნიმუშების ინკუბაცია ხდებოდა Peroxidase Block-ხსნარით (Dako, Germany) 10 წუთის განმავლობაში და შემდეგ ირეცხებოდა უხვი რაოდენობის TBST-ის ხსნარით. შემდეგ ეტაპზე სრულდებოდა ნიმუშების ინკუბაცია პირველადი ანტისხეულებით 1 საათის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე CD16, CD56, CD57, CD45, CD138 მარკერებისათვის. აღნიშნული ანტისხეულების სპეციფიკურობა და განზავებები წარმოდგენილია ცხრილში (ცხრ.5).

შემდეგ ეტაპზე მიმდინარეობდა სლაიდების ინკუბირება 30 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე მეორადი ანტისხეულებით- labelled polymer-HRP anti-mouse, clone: DAK-GO1, isotype: IgG1, Dako, Germany.

ეტაპებს შორის სლაიდები ირეცხებოდა TBS-Tween20 0,05%-ით. პეროქსიდაზული რეაქცია მიღწეულ იქნა DAB (3.3'-Diaminobenzidine; Dako, Germany), რის შემდეგადაც სლაიდები ირეცხებოდა წყლით და დამატებით იღებებოდა H&E-ით. საბოლოოდ, სლაიდები იფარებოდა histofluid-ით და სასაგნე მინით.

*ცხრ. 5. იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზის დროს გამოყენებული ანტისხეულების მახასიათებლები*

| ანტისხეულის დასახელება | ტიპი/კლონი | მწარმოებელი | განზავება |
|---|---|---|---|
| CD16 | Mouse Monoclonal-DJ130c | Santa Cruz, USA | 1:200 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| CD45 | Mouse Monoclonal 2B11+PD7/26 | Dako, Germany | 1:200 |
| CD56 | Mouse Monoclonal-123C3 | Dako, Germany | 1:100 |
| CD57 | Mouse Monoclonal-TB01 | Dako, Germany | 1:100 |
| CD138 | Mouse Monoclonal-MI15 | Dako, Germany | 1:100 |

**3. მხედველობის ველის შერჩევა და იმუნოპოზიტიურ უჯრედთა დათვლის მეთოდოლოგია**

ყველა სლაიდი გამოკვლეულ იქნა Zeiss Axio Imager A2 მიკროსკოპით და დოკუმენტირებული იქნა Zen Blue software (Zeiss, გერმანია) პროგრამის საშუალებით. ახალი პროტოკოლის მიხედვით (Lash et al. 2016), პირველი საკვლევი მხედველობის ველის შერჩევა ხდებოდა რანდომულად, ლუმინალური ეპითელიუმის მოსაზღვრე სტრომაში. შემდეგი ველების არჩევა ხდებოდა რიგრიგობით მარცხნივ და მარჯვნივ, ისე რომ ლუმინალური ეპითელიუმი შეძლებისდაგვარად დარჩენილიყო მხედველობის არეში. შერჩეულ იქნა 5 არა-გადამფარავი (20x ობიექტივი) hpf (high power field) მიკროსკოპული ველი და მოხდა მათი მიკროფოტოგრაფირება და დოკუმენტირება უოგდ-სა და საკონტროლო ჯგუფის თითოეული მონაწილისათვის.

იმუნოპოზიტიური უჯრედი განსაზღვრული იყო როგორც ჰემატოქსილინ-ეოზინით შეღებილ ბირთვთან ასოცირებული იმუნოპოზიტიური მემბრანული სტრუქტურა. უჯრედთაშორის სივრცეებში არსებული იმუნოპოზიტიური მემბრანის ცალკეული ფრაგმენტები არ იქნა დათვლილი.

ის უჯრედები, რომლებიც მდებარეობდა სისხლძარღვებში, ლუმინალურ და ჯირკვლოვან ეპითელიუმში, ასევე ჭარბი ლორწოთი და ერითროციტებით მოცულ არეებში არ იქნა ჩათვლილი. მონაცემები შეფასდა როგორც იმუნოპოზიტიურ უჯრედთა საშუალო რაოდენობა მმ$^{2}$ -ზე. სხვადასხვა მარკერებს შორის შეფარდებები დათვლილ იქნა და გამოისახა პროცენტულობით (%).

*<u>სირთულეები საკვლევი უბნების შერჩევისას</u>*

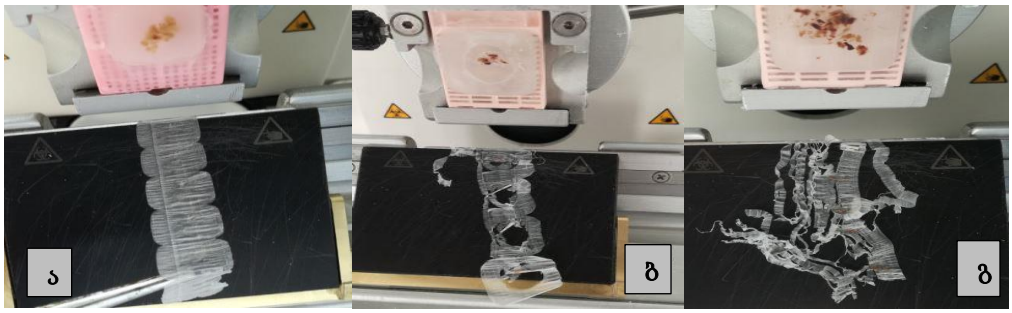
ჩვენი კვლევის წარმოების განმავლობაში, რომელიც 2 ეტაპად მიმდინარეობდა (2017 და 2018 წწ.), uNK უჯრედთა გამოკვლევისა და დათვლის მეთოდი რამდენადმე შეიცვალა. კერძოდ, უახლესი მულტიცენტრული კვლევის შედეგებზე დაყრდნობით (Lash et al. 2016) შეტანილ იქნა რამდენიმე შესწორება ძველ პროტოკოლში და მოხდა მისი სტანდარტიზაცია. რის გამოც განმეორებით მოგვიხდა მიღებულ სლაიდებში საკვლევი უბნების ხელახლა არჩევა, მიკროსკოპული ფოტოგრაფირება და იმუნოპოზიტიური უჯრედების ხელახლა დათვლა.

უოგდ ჯგუფიდან მოხდა 2 სლაიდის გამორიცხვა კვლევიდან, რადგან აღნიშნულ სლაიდებზე წარმოდგენილი ენდომეტრიუმის მწირი ქსოვილი შეიცავდა დიდი რაოდენობის ლორწოს და ერითროციტებს. საბოლოოდ, იმუნოპოზიტიური უჯრედების დათვლა შესრულდა უოგდ-ს ჯგუფიდნ 61 პაციენტისა და 10 ფერტილური კონტროლისათვის.

აღსანიშნავია, რომ მეორე ეტაპზე კვლევაში დამატებით ჩავრთეთ ქართული პოპულაციიდან შერჩეული 18 უცნობი გენეზის ოგდ-ს მქონე ქალის ენდომეტრიუმის ბიოპტატი. მათი მიკროტომით დაჭრის პროცესში, აშკარად გამოვლინდა ის ხარვეზები, რომლებიც დაშვებულ იქნა თავდაპირველადვე ბიოფსიური მასალის აღებისთანავე და შემდგომში მათი ფორმალინში ფიქსაციისა და პარაფინიზაციის პირობების დარღვევების გამო. ამის შედეგად „ქართული ბლოკების“ დაჭრა მიკროტომით და მათგან შესაბამისი ხარისხის სლაიდების დამზადება საკმაოდ პრობლემური აღმოჩნდა (სურ.11). გარდა ამისა, ბიოპტატების უმრავლესობა წარმოდგენილი იყო პატარ-პატარა ფრაგმენტებით და შეიცავდა ერითროციტების დიდ რაოდენობას (სავარაუდოდ, ბიოფსიური მასალის აღების აგრესიული ტექნიკის გამო), რაც მოცემულ ენდომეტრიუმის ნიმუშში uNK უჯრედების შემცველობის რეალურ სურათს ცვლიდა (ჰემატოგენური პროგენიტორებიდან წარმოშობის ერთ-ერთი თეორიის თანახმად).

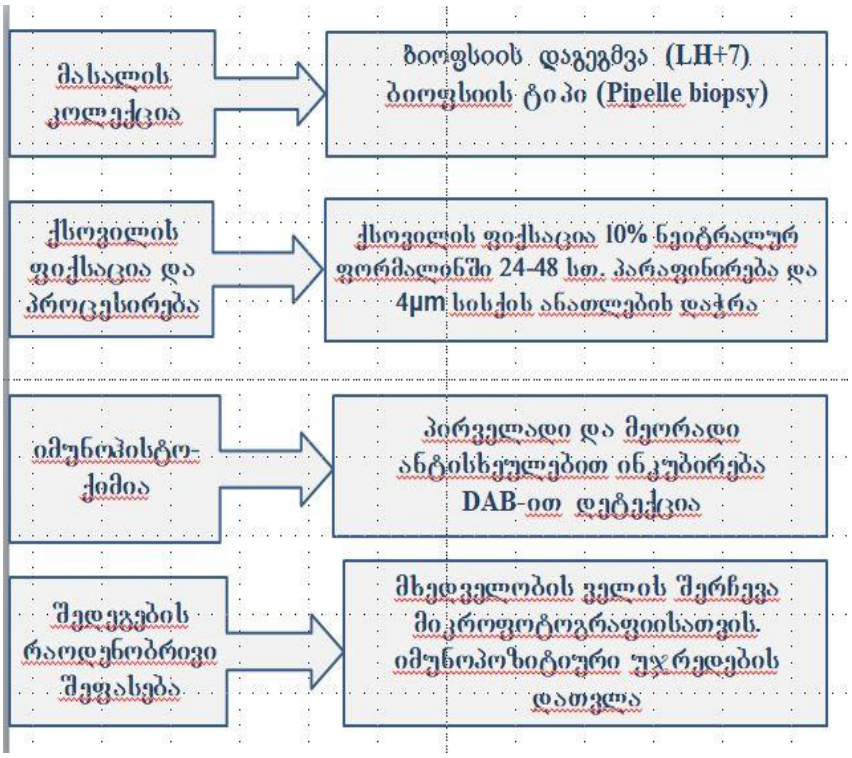
„ქართული ბლოკების“ კვლევისას წარმოქმნილმა აღნიშნულმა სიძნელეებმა ნათლად დაგვანახა ენდომეტრიუმის ქსოვილის იმუნოჰისტოქიმიური კვლევისას ყოველი ეტაპის შესრულების ხარისხის უაღრესად დიდი მნიშვნელობა- ბიოფსიური

მასალის აღების ტექნიკიდან  და ფორმალინში მოთავსებიდან იმუნოპოზიტიური უჯრედების დათვლამდე (სქემა 1).




*სურ.11. ენდომეტრიუმის ბიოპტატების პარაფინიზირებული ნიმუშები.  ა)ნორმალური ანათლები ბ) და გ)ფრაგმენტირებული, დაზიანებული ნიმუშები, რომელთა მიკროტომიზირება ვერ მოხერხდა.*

მიუხედავად აღნიშნული სიძნელეებისა, მაინც მოხერხდა 18 პაციენტიდან 15-ის ენდომეტრიუმის ბიოპტატიდან რამდენიმე სლაიდის დამზადება (თითოეულისთვის) და მათი სხვადასხვა იმუნურ მარკერებზე შეღებვა. ამან გარკვეული წარმოდგენა შეგვიქმნა ქართული პოპულაციის უოგდ ჯგუფში ენდომეტრიუმის ზოგიერთი იმუნური მარკერის  გავრცელებასა და მათ დამახასიათებელ თავისებურებებზე (მაგ. ქრონიკული ენდომეტრიტის შემთხვევაში).




*სქემა 1. იმუნოჰისტოქიმიური პროტოკოლის სქემატური გამოსახულება*

ასევე დამახასიათებელი თავისებურებები აღინიშნა უკრაინელი ფერტილური ქალების საკონტროლო ჯგუფის ენდომეტრიუმის ბიოპტატების ნიმუშებში. რამდენიმე მათგანში დაფიქსირებულ იქნა ქრონიკული ენდომეტრიტის შემთხვევები, აქედან ზოგ შემთხვევაში, გამოხატული იყო საკმაოდ მძიმე ფორმის ქრ. ენდომეტრიტი (30-60-მდე $CD138^+$ იმუნოპოზიტიური უჯრედი/10მმ$^2$-ზე), სავარაუდოდ, არახელსაყრელი სოციალურ-ეკონომიკური მდგომარეობისა და დიაგნოსტიკა/მკურნალობის არასათანადო პირობების გამო. აღნიშნული პირები გამორიცხულ იქნენ საკონტროლო ჯგუფიდან.

## 4. სტატისტიკური მეთოდები

კვლევის შედეგების ანალიზი განხორციელდა GraphPad Prism software (GraphPad software, Inc., San Diego, Ca, USA) საშუალებით. მონაცემები არ ექვემდებარებოდა ნორმალურ განაწილებას, ამიტომ მათი ანალიზისათვის გამოვიყენეთ არაპარამეტრული მეთოდები.

$CD45^+$, $CD56^+$, $CD16^+$, $CD57^+$ იმუნოპოზიტიური უჯრედები თითოეულ მიკროფოტოგრაფიულ ველში დათვლილი იყო მანუალურად FIJI/Image J software (National Institutes of Health)-ს საშუალებით და გამოთვლილ იქნა მათი კონცენტრაციების საშუალო სიდიდეები (უჯრედი/მმ$^2$).

ქრონიკული ენდომეტრიტის მარკერი -$CD138^+$ პოზიტიური პლაზმური უჯრედები დათვლილი იქნა ხელახლა უახლესი კრიტერიუმის თანახმად (Liu et al. 2018) და გამოისახა საშუალო კონცენტრაციებით -უჯრედი/10მმ$^2$-ით.

გამოთვლილ იქნა თანაფარდობები მარკერებს შორის, გამოხატულ იქნა პროცენტებში (%) და მოხდა მათი კლასიფიცირება დაბალი, საშუალო და მაღალი სიდიდეების მიხედვით.

Mann-Whitney-ს არაპარამეტრული ტესტის საშუალებით განხორციელდა: თითოეული მარკერის კონცენტრაციის საშუალო სიდიდეებს შორის შედარება უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში. გრაფიკი1(a), გრაფიკი2(c), გრაფიკი3(e,g).

სპირმანის კოეფიციენტის არაპარამეტრული კორელაციური ტესტი (Spearman (r)) გამოყენებულ იქნა  უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებს შორის:  CD45+, CD56+, CD16+, CD57+ და CD138+ მარკერთა ურთიერთკორელაციის შესაფასებლად და ამ კორელაციის სტატისტიკური მნიშვნელობის შესამოწმებლად უოგდ ჯგუფის CD56$^{low}$, CD56$^{normal}$ და  CD56$^{high}$  ქვეჯგუფების მიხედვით (uNK უჯრედების რაოდენობრივი რანჟირების საფუძველზე). (გრაფიკი 4 (a,c), გრაფიკი 5 (e,g)).

Chi-square test გამოყენებულ იქნა  სიხშირეების განაწილების შესადარებლად უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში.  კერძოდ, შედარებულ იქნა CD45+ ლეიკოციტებისა და uNK უჯრედების სუბპოპულაციების- CD56+, CD16+, CD57+ მარკერების სიხშირეების განაწილება. განსხვავების სარწმუნოობის კრიტერიუმად გამოყენებულ იქნა P სიდიდე (P value).  P ≤0.05 ჩათვლილ იქნა სტატისტიკურად სარწმუნოდ.

ჩვენს კვლევაში ყველაზე სარწმუნო განსხვავება აღმოჩნდა CD16+ მარკერის სიხშირულ განაწილებაში (Chi$^2$ ტესტი=9,64; P<0.001) უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში, <30 უჯრ. და >30 უჯრ. შემცველი ქვეჯგუფების მიხედვით (ცხრ.6).

*ცხრ. 6. CD16+ მარკერის სიხშირულ განაწილება უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში.*

| **CD16+** | **<30** უჯრ/მმ$^2$. | **>30** უჯრ/მმ$^2$ | საერთო რაოდენობა |
|---|---|---|---|
| საკონტროლო ჯგუფი | 8 (89%) | 2 (11%) | 10 (100%) |
| უოგდ ჯგუფი | 15 (15% | 46 (85%) | 61 (100%) |
| საერთო რაოდენობა | 23 | 48 | 71 (100%) |

## კვლევის შედეგები და მათი განხილვა

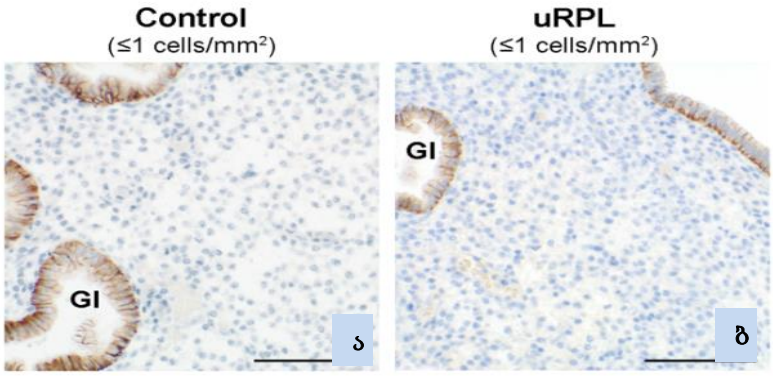
### *კვლევის შედეგები*

საკვლევი უოგდ და საკონტროლო ჯგუფის ენდომეტრიუმის ნიმუშების CD16, CD45, CD56, CD57 და CD138 მარკერების იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით შესწავლის შედეგები წარმოდგენილია სურათებსა (სურ.12-14) და გრაფიკებზე (გრაფ.1-5).

### *1. CD138-ენდომეტრიალური პლაზმოციტების მარკერი*

$CD138^+$ პლაზმური უჯრედების იმუნოლოკალიზაცია საკონტროლო და საკვლევი ჯგუფების ენდომეტრიუმების ნიმუშებში ჩატარებულ იქნა ქრონიკული ენდომეტრიტის გამოსავლენად. საკონტროლო ჯგუფში შემთხვევათა 20% წარმოდგენილი იყო <3 $CD138^+$ პლაზმური უჯრედი/10მმ$^2$-ზე, შემთხვევათა 80%-ში კი ეს უჯრედები არ იქნა ნანახი. ამის მსგავსად, უოგდ ჯგუფის ენდომეტრიუმის ნიმუშების 22%-ში აღმოჩნდა <3 $CD138^+$ პლაზმური უჯრედი/10მმ$^2$-ზე, 78% კი ნეგატიური იყო აღნიშნული უჯრედების შემცველობის მიხედვით.

Liu და თანაავტორების მიერ (Liu et al. 2018), წარმოდგენილი უახლესი კრიტერიუმით (რომლის თანახმად ქრონიკული ენდომეტრიტი დიაგნოსტირდება ≥5.15 $CD138^+$ პლაზმური უჯრედი/10მმ$^2$-ზე შემთხვევაში), ჩვენს საკვლევ და საკონტროლო ჯგუფებს შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი განსხვავება არ იქნა ნანახი. ამდენად, აღნიშნული ჯგუფების ენდომეტრიუმის ნიმუშებში ქრონიკული ენდომეტრიუმის პოტენციური ზეგავლენა იქნა გამორიცხული (სურ.12).




*სურ.12. ა),ბ) $CD138^+$ პლაზმოციტების იმუნოჰისტოქიმიური ლოკალიზაცია უოგდ(uRPL) და საკონტროლო ჯგუფის ენდომეტრიუმში. ენდომეტრიუმის სტრომაში პლაზმოციტები≤1/მმ$^2$, ენდომეტრიუმის ჯირკვლები (GI) პოზიტიურია $CD138^+$ ის მიმართ. სკალის მასშტაბი=100μm.*

ციტოტოქსიური CD16+ uNK უჯრედთა საშუალო რაოდენობა სტატისტიკურად მნიშვნელოვნად იყო გაზრდილი (გრაფიკი 3,e) უოგდ ჯგუფის პაციენტთა ენდომეტრიუმში საკონტროლო ჯგუფის ქალთა იგივე მაჩვენებელთან შედარებით ($p<0.001$).

საკონტროლო და საკვლევ ჯგუფებს შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი განსხვავება არ იქნა ნანახი ცალკე აღებული **CD45+** (P=0.06), **CD56+** (P=0.99) და **CD57+** (P=0.14) მარკერების საშუალო სიდიდეებს შორის: გრაფ.1(a); გრაფ.2.(c); გრაფ.3.(g ) შესაბამისად. თუმცა, ამ მარკერების თანაფარდობების შემდეგმა ჩაღრმავებულმა ანალიზმა **სიხშირეთა განაწილების მიხედვით** (frequency distributions) აჩვენა მათი განსხვავებული განაწილება (P<0.001 CD45, CD56 და CD16-სთვის, P<0.003 CD57-სთვის) უოგდ ჯგუფის პაციენტთა ნიმუშებში კონტროლებთან შედარებით: გრაფ.1(b); გრაფ.2(d); გრაფ.3(f) და გრაფ.3(h) შესაბამისად.

საკვლევი მარკერებისა და მათი თანაფარდობების კორელაციურმა კვლევებმა წარმოაჩინა ენდომეტრიუმში ამ იმუნურ უჯრედთა განაწილების განსაკუთრებული მახასიათებლები, რომლებიც ემყარებოდა uNK უჯრედთა რაოდენობრივ რანჟირებას (ცხრ.7). მიღებული შედეგების დეტალური აღწერა მოყვანილია ქვემოთ სურათებსა და გრაფიკებზე.

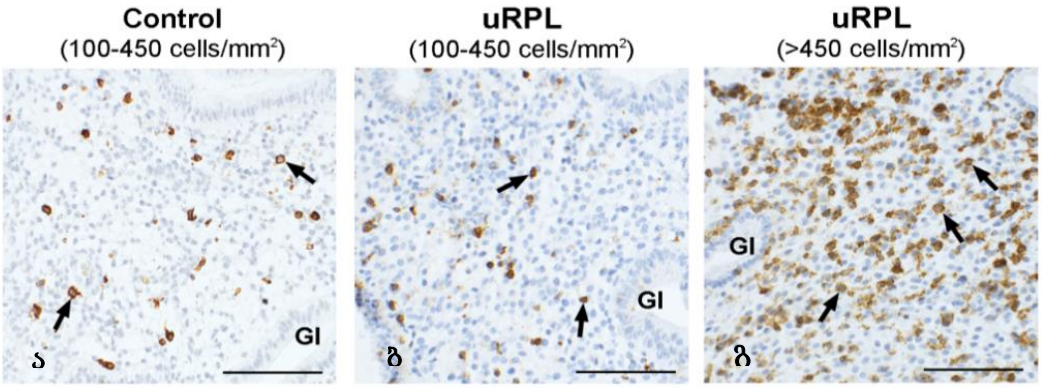
*ცხრ.7. uNK-ს სუბპოპულაციათა და ლეიკოციტების რაოდენობრივი რანჟირება უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში.*

| | | CD16 უჯრ/მმ². N (%) | | CD57 უჯრ/მმ². N (%) | | CD45 უჯრ/მმ². N (%) | | CD56 უჯრ/მმ². N (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0-30 | >30 | 0-30 | >30 | 100-450 | >450 | 0-90 (დაბალი) | 90-300 (ნორმალ - ური) | >300 (მაღალი) |
| ჯგუ ფები | უოგდ | 9 (14,8%) | 52 (85,2%) | 21 (34,4%) | 40 (65,6%) | 37 (60,7%) | 24 (39,3%) | 18 ( 29,5%) | 27 (44,3%) | 16 (26,2%) |
| | საკონ ტრო ლო | 8 (80%) | 2 (20%) | 6 (60%) | 4 (40%) | 9 (100%) | 0 (0%) | 0 (0%) | 9 (100%) | 0 (0%) |

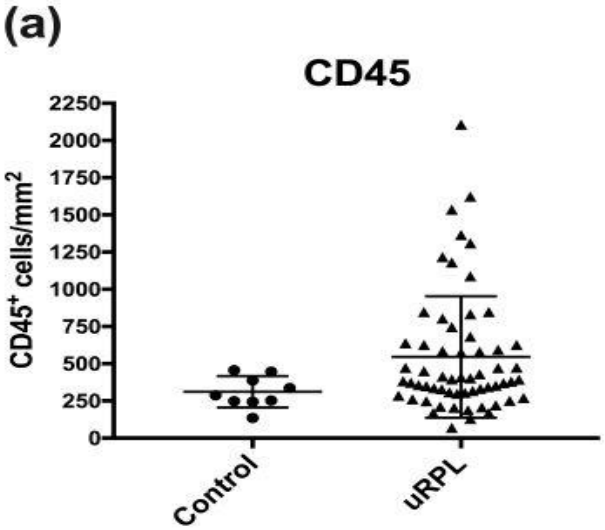
## *2. CD45-პან-ლეიკოციტარული მარკერი*

საკონტროლო ჯგუფის ქალთა ენდომეტრიუმის ნიმუშებში CD45+ ლეიკოციტთა კონცენტრაცია იყო 100-450 უჯრ/მმ²-ის ფარგლებში. მხოლოდ ერთ ნიმუშში აღინიშნა

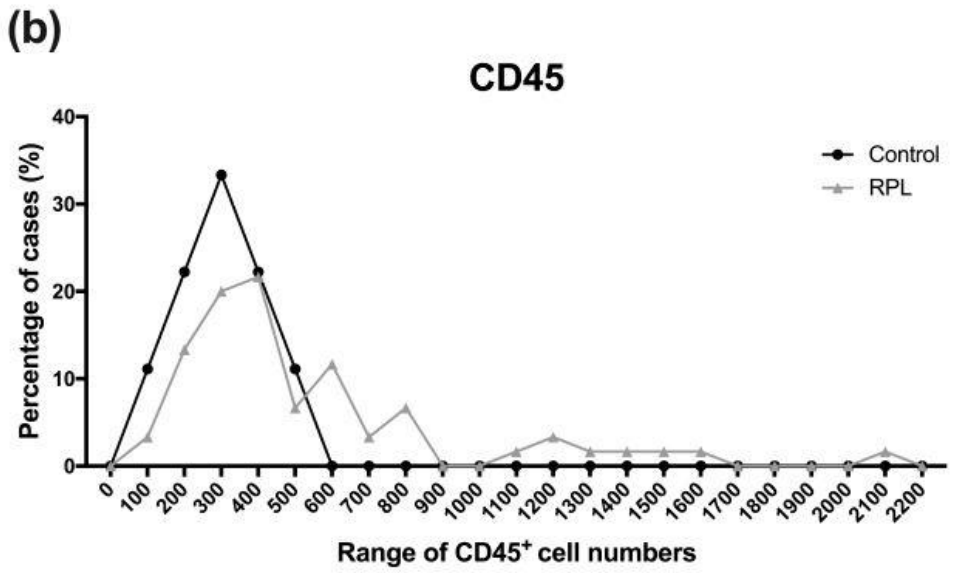
ამ უჯრედთა ძლიერ დიდი რაოდენობა-2160 უჯრ/მმ$^2$. იგი კვალიფიცირდა როგორც ინფლამატორული, რადგან ლეიკოციტთა დიდი რაოდენობა მიუთითებს მწვავე ანთებით პროცესზე. მიუხედავად ამ შემთხვევის გამოხატულებისა კორელაციურ გრაფიკებზე, მისი სიდიდე არ იქნა ჩათვლილი საკონტროლო ჯგუფის მონაცემთა დათვლისას. უოგდ პაციენტებში შემთხვევათა 65%-ში CD45$^+$ რაოდენობა იყო საკონტროლო ჯგუფის მონაცემთა ფარგლებში (100-450 უჯრ/მმ$^2$), მაშინ როცა 35%-ში აღინიშნა >450 უჯრ/მმ$^2$ (P<0.001; სურ.13 და გრაფიკი 1.a,b).




*სურ. 13. CD45$^+$ ლეიკოციტთა იმუნოლოკალიზაცია საკონტროლო(ა) და უოგდ (uRPL) ჯგუფებში:ბ)100-450 გ)>450 უჯრ/მმ$^2$ ქვეჯგუფებში. Gl ენდომეტრიუმის ჯირკვლები. სკალის მასშტაბი=100 μm*




*გრაფიკი 1,a. CD45 კონცენტრაციის საშუალო სიდიდეები (უჯრ/მმ$^2$) უოგდ (uRPL) და საკონტროლო ჯგუფების ქალთა ენდომეტრიუმში.*

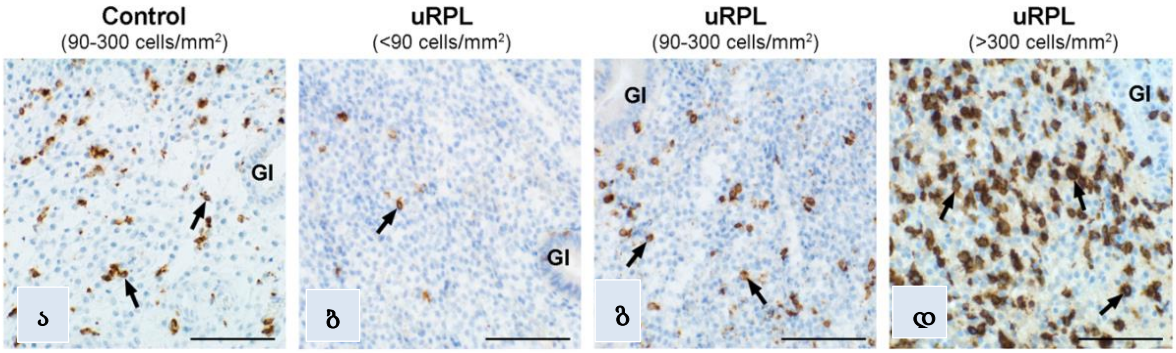



*გრაფიკი 1,b. CD45 მარკერის ფარდობითი სიხშირის განაწილება ლეიკოციტთა რაოდენობრივი რანჟირების საფუძველზე უოგდ (uRPL) და საკონტროლო ჯგუფებში. მარკერის სიდიდეები კლასიფიცირებულია 100 უჯრ/მმ² რანგებად. ფარდობითი სიხშირე უჩვენებს მოცემული უჯრედული რანგის შემცველ ნიმუშთა პროცენტულობას.*

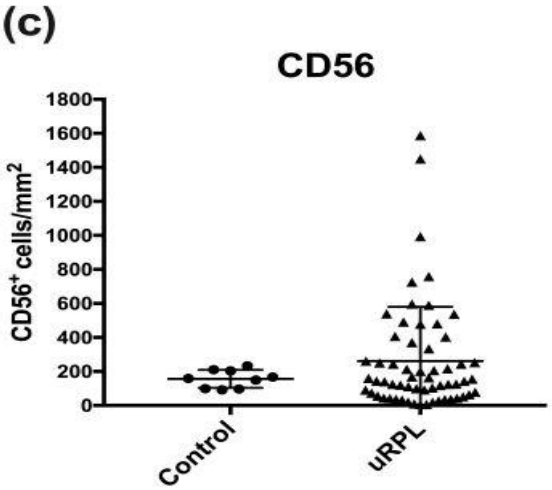
### *3. CD56-uNK-ს ზოგადი მარკერი*

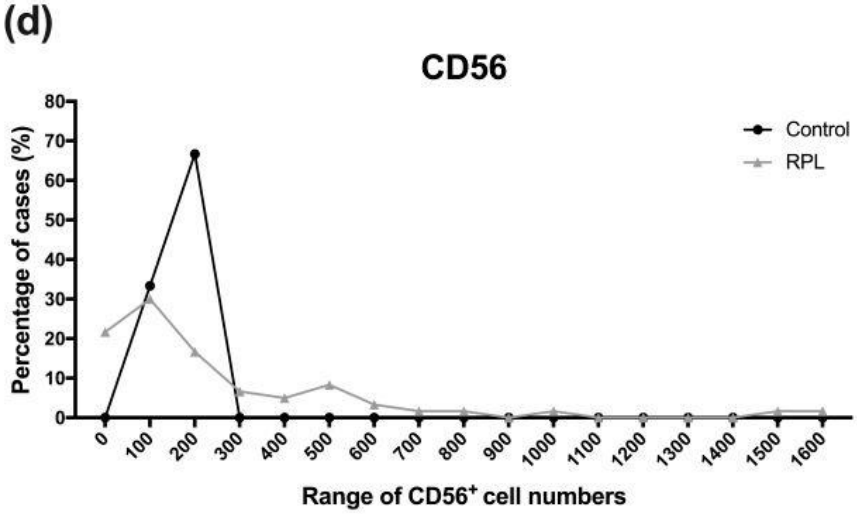
საკონტროლო ჯგუფის ყველა მონაწილის ენდომეტრიუმის ნიმუშებში CD56⁺ უჯრედთა კონცენტრაცია წარმოდგენილი იყო 90-300 უჯრ/მმ² ფარგლებში. ზემოთაღნიშნულ მწვავე ინფლამატორულ ნიმუშში აღინიშნა CD56⁺ uNK უჯრედების მომატებული რაოდენობა (877 უჯრ/მმ²). უოგდ ჯგუფში შემთხვევათა მხოლოდ 47%-ში აღნიშნული მარკერის გავრცელება მსგავსი იყო საკონტროლო ჯგუფის შესაბამისი სიდიდისა. 22%-ს აღენიშნებოდა CD56⁺ uNK უჯრედების დაქვეითებული რაოდენობა, 32% კი წარმოდგენილი იყო უჯრედთა მომატებული რაოდენობით (>300 უჯრ/მმ², P<0.001).

მონაცემთა შემდგომი დამუშავების მიზნით, CD56⁺ uNK უჯრედების მიღებული კონცენტრაციების რანჟირების საფუძველზე უოგდ ჯგუფის პაციენტები დაიყო 3 ქვეჯგუფად: დაბალი (uRPL-CD56$^{low}$<90 უჯრ/მმ²), ნორმალური (uRPL-CD56$^{normal}$ 90-300 უჯრ/მმ²) და მაღალი კონცენტრაციებით (uRPL-CD56$^{high}$ >300 უჯრ/მმ²) წარმოდგენილ ქვეჯგუფებად (სურ.14 და გრაფიკი 2.c,d). ამგვარად, ნანახი იქნა, რომ უოგდ პაციენტთა ენდომეტრიუმი, ფერტილური ქალებისაგან განსხვავებით, ხასიათდება CD56⁺ uNK-ს შემცველობის უფრო ფართო დიაპაზონით.




*სურ.14. CD56⁺ uNK უჯრედების იმუნოჰისტოქიმიური ლოკალიზაცია (წაჩვენებია ისრებით) საკონტროლო (ა) და უოგდ(uRPL) ჯგუფის სამივე ქვეჯგუფში: ბ)დაბალი, გ)ნორმალური და დ)მაღალი კონცენტრაციების მქონე ნიმუშებში. სკალის მასშტაბი=100 μm*

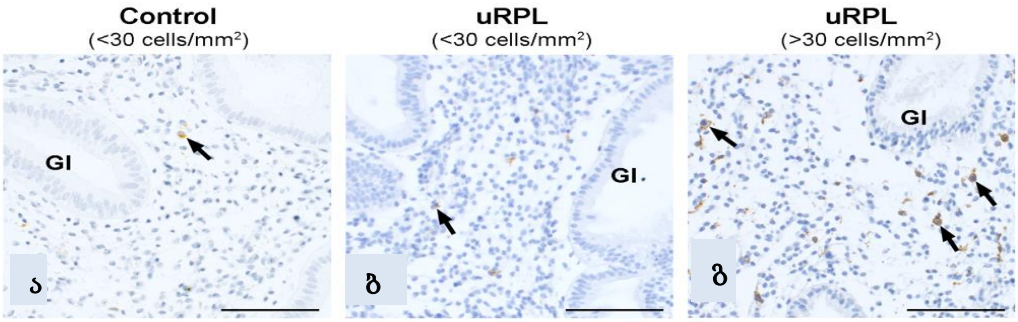


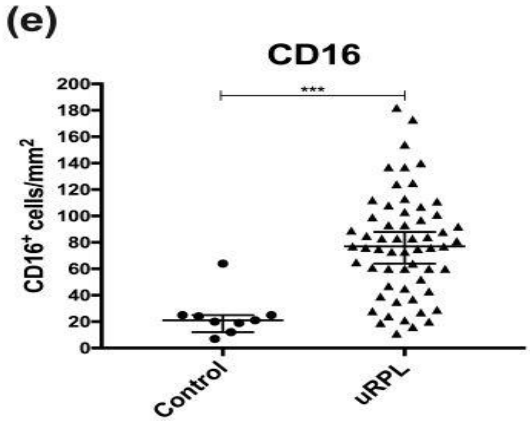

*გრაფიკი 2. CD56 კონცენტრაციის საშუალო სიდიდისა (c) და მისი ფარდობითი სიხშირის განაწილება uNK-ს უჯრედული რანჟირების საფუძველზე(d) უოგდ(uRPL) და საკონტროლო ჯგუფების ქალთა ენდომეტრიუმში. მარკერთა სიდიდეები კლასიფიცირებულია 100უჯრ/მმ² რანგებად (d). ფარდობითი სიხშირე უჩვენებს მოცემული უჯრედული რანგის შემცველ ნიმუშთა პროცენტულობას.*

*4. CD16- uNK უჯრედების ციტოტოქსიურობის მარკერი*

საკონტროლო ჯგუფის ქალთა 89%-ის ენდომეტრიუმში აღინიშნა CD16+ ციტოტოქსიური uNK უჯრედების შედარებით დაბალი მაჩვენებელი (<30 უჯრ/მმ$^2$). ერთ ნიმუშში (11%) ეს სიდიდე აღწევდა 64 უჯრ/მმ$^2$-ს, ხოლო ზემოთაღნიშნულ ინფლამატორულ ნიმუშში ციტოტოქსიური CD16+ uNK უჯრედების კონცენტრაციამ შეადგინა 178 უჯრ/მმ$^2$. უოგდ ჯგუფში, საკონტროლო ჯგუფისაგან განსხვავებით, შემთხვევათა მხოლოდ 15%-ში იქნა დადგენილი ციტოტოქსიური CD16+ uNK უჯრედების დაბალი მაჩვენებელი (<30 უჯრ/მმ$^2$), დანარჩენ 85%-ს კი აღენიშნა ამ უჯრედების მაღალი კონცენტრაცია (P<0.001; სურ.15 და გრაფიკი 3. e,f).

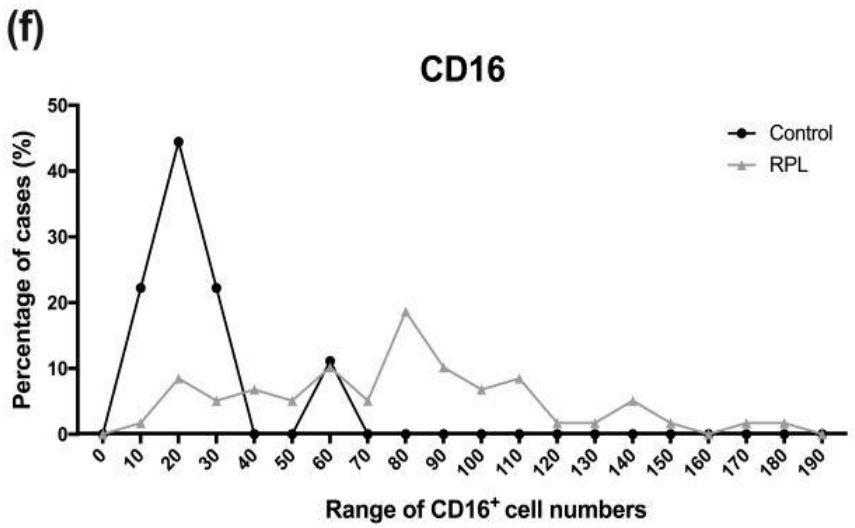



*სურ.15. CD16+ uNK-ს იმუნოჰისტოქიმიური ლოკალიზაცია საკონტროლო(ა) და უოგდ (uRPL) ჯგუფებში: ბ) <30უჯრ/მმ$^2$ და გ)>30 უჯრ/მმ$^2$. სკალის მასშტაბი= 100 μm.*




*გრაფიკი 3, e. CD16 მარკერის კონცენტრაციის საშუალო სიდიდეები (უჯრ/მმ$^2$) უოგდ(uRPL) და საკონტროლო ჯგუფებში. *** P<0.001.*

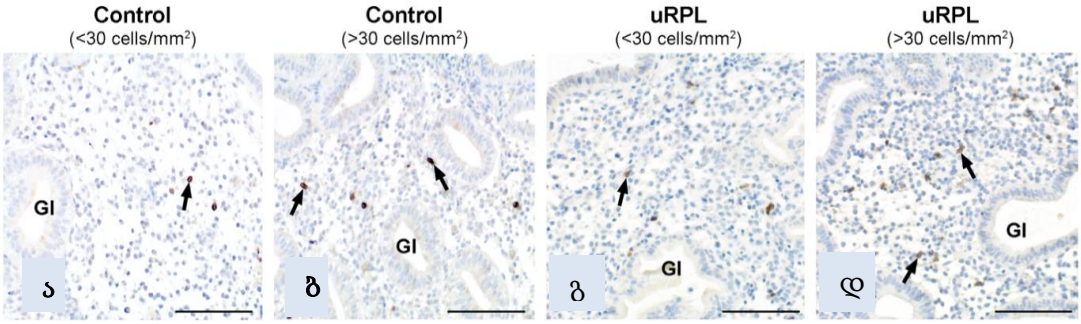
აღსანიშნავია, რომ უოგდ-CD56$^{normal}$ ქვეჯგუფში, CD16+ ციტოტოქსიურობის მარკერი იყო მომატებული, ხოლო უოგდ-CD56$^{low}$ ქვეჯგუფში კი აღნიშნული მარკერის გაზრდილი დონე აღმოაჩნდათ პაციენტთა თითქმის 40%-ს.




*გრაფიკი 3,f. CD16 მარკერის ფარდობითი სიხშირის განაწილება uNK-ს რანჟირების საფუძველზე უოგდ(uRPL) და საკონტროლო ჯგუფებში. CD16 კლასიფიცირებულია 10უჯრ/მმ² რანგებად. ფარდობითი სიხშირე უჩვენებს მოცემული უჯრედული რანგის შემცველ ნიმუშთა პროცენტულობას შესაბამის ჯგუფში. P<0.001.*

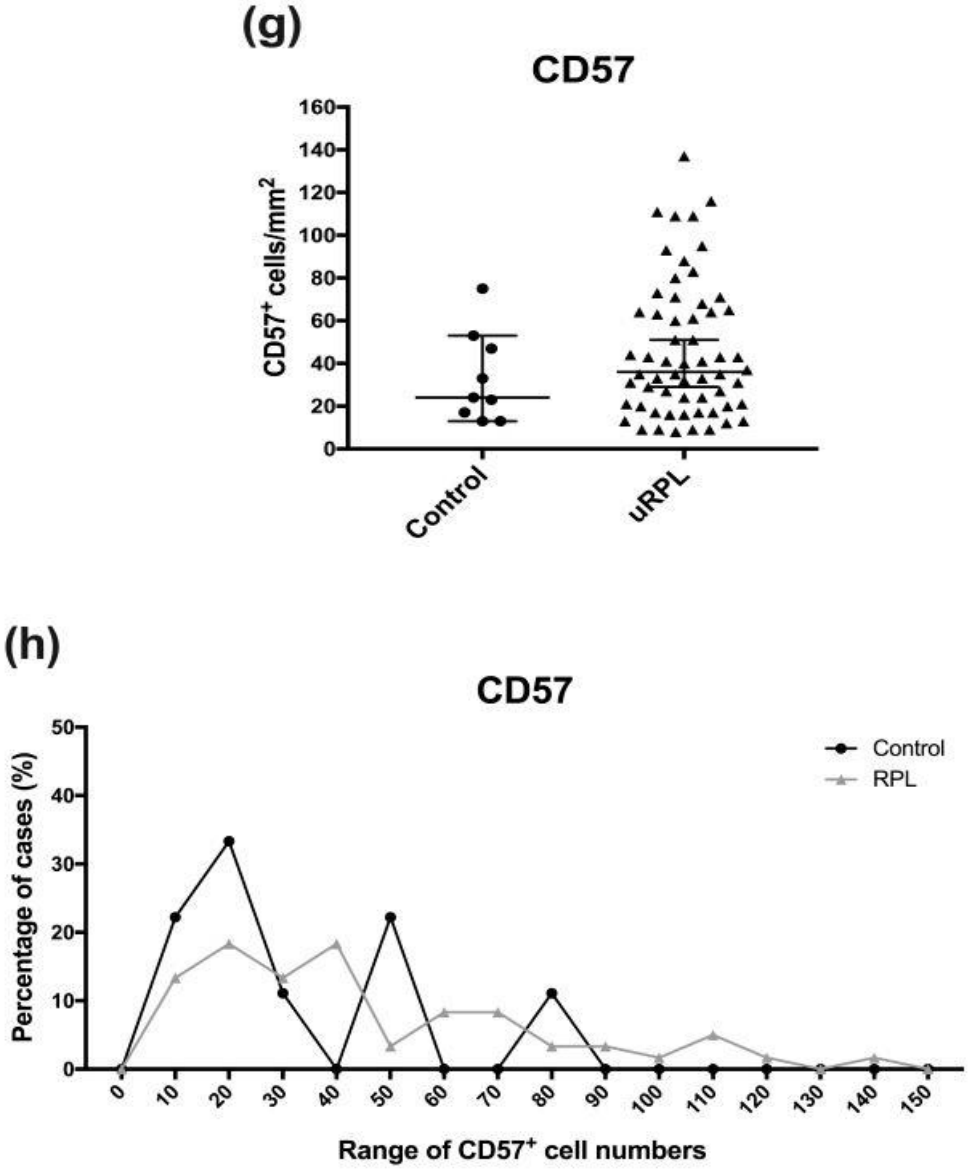
## *5.CD57- uNK უჯრედების ციტოტოქსიურობის მარკერი*

საკონტროლო ჯგუფის ქალთა 56%-ის ენდომეტრიუმში ციტოტოქსიურობისა და ტერმინალური მომწიფების მაჩვენებელი CD57⁺ uNK უჯრედების კონცენტრაცია განისაზღვრა <30 უჯრ/მმ²-ით, 44%-ში კი ამ მაჩვენებელმა შეადგინა >30 უჯრ/მმ². ამის საპირისპიროდ, უოგდ ჯგუფში აღნიშნული მარკერის შედარებით დაბალი კონცენტრაცია (<30 უჯრ/მმ²) აღინიშნა შემთხვევათა 32%-ში, მაშინ როცა ეს მარკერი უფრო მაღალი კონცენტრაციით (>30 უჯრ/მმ²) იქნა დადგენილი შემთხვევათა 68%-ში (P<0.001; სურ.16 და გრაფიკი 3.g,h)




*სურ.16. CD57⁺ uNK უჯრედების იმუნოჰისტოლოკალიზაცია საკონტროლო: ა)<30უჯრ/მმ²), ბ)>30 უჯრ/მმ² და უოგდ (uRPL) ჯგუფებში: გ)<30უჯრ/მმ²), დ )>30 უჯრ/მმ²). მასშტაბი=100 μm.*

ჩვენს საკვლევ უოგდ-CD56$^{high}$ ქვეჯგუფში, დანარჩენი ქვეჯგუფებისაგან განსხვავებით, CD57$^{+}$ წარმოდგენილი იყო CD56-სთან შედარებით დაბალი პროპორციით. იმის გათვალისწინებით, რომ CD57 ექსპრესირებულია ტერმინალურად დიფერენცირებულ NK უჯრედებზე, ეს შედეგი შესაძლოა მიუთითებდეს ამ ტიპის უჯრედების დაყოვნებულ დიფერენციაციაზე უოგდ-ს ზოგიერთ შემთხვევაში.




*გრაფიკი 3. CD57 მარკერის კონცენტრაციის საშუალო სიდიდისა (უჯრ/მმ$^{2}$) (g) და მისი ფარდობითი სიხშირის განაწილება uNK-ს რანჟირების საფუძველზე (h) უოგდ (uRPL) და საკონტროლო ჯგუფებში. CD57 მარკერის სიდიდეები კლასიფიცირებულია 10 უჯრ/მმ$^{2}$ რანგებად. ფარდობითი სიხშირე უჩვენებს მოცემული უჯრედული რანგის შემცველ ნიმუშთა პროცენტულობას შესაბამის ჯგუფში.*

*CD56/CD45 კორელაცია და თანაფარდობა*

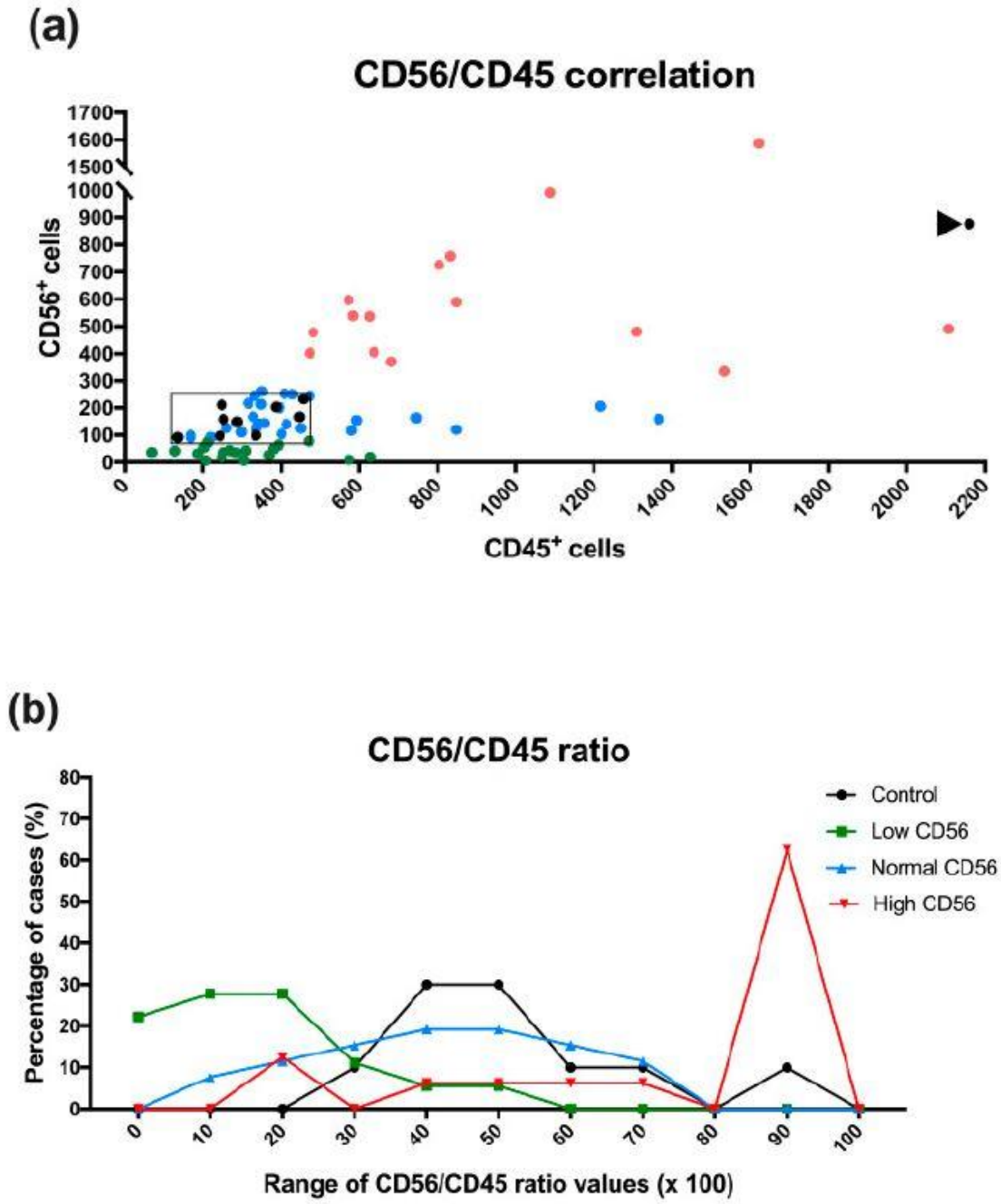
$CD45^+$ ლეიკოციტების კონცენტრაცია საკონტროლო ჯგუფში დადებითად კორელირებდა $CD56^+$ uNK უჯრედების რაოდენობასთან (r=0.683; P<0.01). ამის საპირისპიროდ, ამ მარკერებს შორის კორელაცია არ გამოვლინდა უოგდ-ს არცერთ ქვეჯგუფში: $CD56^{low}$ (r=0.004; P=0.99), $CD56^{normal}$ (r=0.3; P=0.14) და $CD56^{high}$ (r=-0,239; P=0.39).

CD56/CD45 თანაფარდობის ანალიზის შედეგად გამოვლინდა, რომ საკონტროლო ჯგუფის მონაწილეთა ენდომეტრიუმში uNK უჯრედები შეადგენდნენ ლეიკოციტთა საერთო რაოდენობის 30-70%-ს. ერთ ნიმუშში ამ მაჩვენებელმა მიაღწია 85%-ს. უოგდ ჯგუფის $CD56^{normal}$ ქვეჯგუფში შემთხვევათა 81%-ში აღინიშნა CD56/CD45 თანაფარდობის მსგავსი მაჩვენებელი, როგორიც იყო საკონტროლო ჯგუფში. მაშინ როცა ამავე ქვეჯგუფის მცირე ფრაქციაში (19%-ში) აღმოჩენილ იქნა $CD45^+$ ლეიკოციტების მაღალი კონცენტრაცია, რის გამოც CD56/CD45 თანაფარდობა იყო ძალიან დაბალი (P=0.5 vs. საკონტროლო ჯგუფი).

უოგდ ჯგუფის $CD56^{low}$ ქვეჯგუფში ($CD56^{normal}$-სგან განსხვავებით) შემთხვევათა მხოლოდ 22%-ში CD56/CD45 თანაფარდობის მაჩვენებელი იყო მსგავსი საკონტროლო ჯგუფის იგივე სიდიდისგან. ამ შემთხვევთა დიდ უმრავლესობაში (78%-ში) CD56/CD45 თანაფარდობის მაჩვენებელი იყო დაბალი, რაც იმას მიუთითებს, რომ $CD56^+$ uNK უჯრედების რაოდენობას ბევრად აჭარბებდა $CD45^+$ ლეიკოციტების ტოტალური რაოდენობა (P<0.001 vs. საკონტროლო ჯგუფი).

უოგდ ჯგუფის $CD56^{high}$ ქვეჯგუფში შემთხვევათა 25%-ში CD56/CD45 თანაფარდობის სიდიდე იმყოფებოდა სკონტროლო ჯგუფის იგივე მაჩვენებლის ფარგლებში. შემთხვევათა 12%-ს აღენიშნა $CD45^+$ ლეიკოციტების უკიდურესად დიდი რაოდენობა, და აქედან გამომდინარე CD56/CD45 თანაფარდობის დაქვეითებული მაჩვენებელი. თუმცა, $CD56^{high}$ ქვეჯგუფის ენდომეტრიუმის ნიმუშების უმრავლესობას (63%-ს) ჰქონდა CD56/CD45 თანაფარდობის მაღალი მაჩვენებელი (P=0.05; vs. საკონტროლო ჯგუფი), რაც მიუთითებს, რომ $CD45^+$ უჯრედების სიჭარბე გამოწვეული იყო $CD56^+$ uNK უჯრედების მომატებული რაოდენობით, რამაც შეადგინა ლეიკოციტთა 95%-მდე.

CD56/CD45 თანაფარდობის მაჩვენებელი განსხვავებული იყო თვით ქვეჯგუფებს შორის: CD56$^{low}$ vs. CD56$^{normal}$ P=0.005; CD56$^{low}$ vs. CD56$^{high}$ P<0.001; CD56$^{normal}$ vs. CD56$^{high}$ P<0.002. გრაფიკი 4. a,b).




*გრაფიკი 4. CD56/CD45 მარკერებს შორის კორელაცია (a) და თანაფარდობა (b). CD56/CD45 თანაფარდობის განაწილება (%) uNK-ს რაოდენობრივი რანჟირების საფუძველზე უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში. თითოეული ნიმუში წარმოდგენილია წერტილით (შავი: საკონტროლო ჯგუფი; მწვანე: უოგდ -CD56$^{low}$; ცისფერი: CD56$^{normal}$; წითელი: CD56$^{high}$). საკონტროლო ჯგუფის მონაცემები შემოსაზღვრულია ჩარჩოთი. ისრით მითითებულია outlier-ერთადერთი საკონტროლო ნიმუში ანთების ნიშნებით. ნიმუშები კლასიფიცირებულია საფეხურებრივი რანჟირებით, რომელიც ემყარება ჰორიზონტალურ ღერძზე მითითებულ შესაბამის სიდიდეებს.*

*CD16/CD56 კორელაცია და თანაფარდობა*

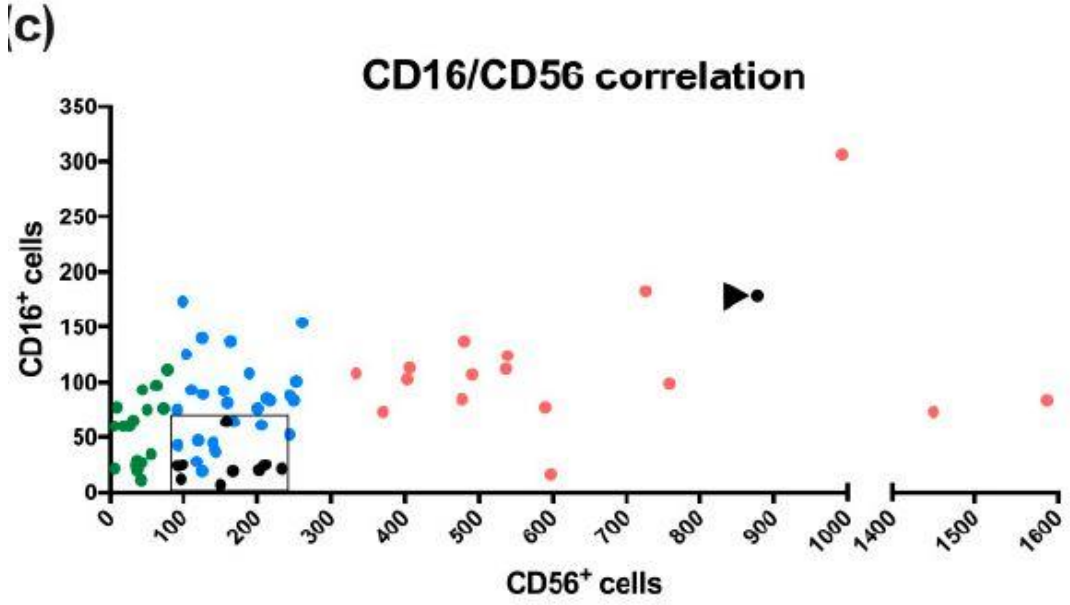
CD16$^{+}$ უჯრედების რაოდენობის კორელაცია CD56$^{+}$-ის რაოდენობასთან არ აღმოჩნდა სტატისტიკურად სარწმუნო, როგორც საკონტროლო, ასევე საკვლევი უოგდ ჯგუფის არცერთ ქვეჯგუფში: CD56$^{low}$, r=0,361; P=0.14; CD56$^{normal}$, r=0.172, P=0.40; CD56$^{high}$, r=-0.211, P=0.45; საკონტროლო ჯგუფში: r=0.126; P=0.75.

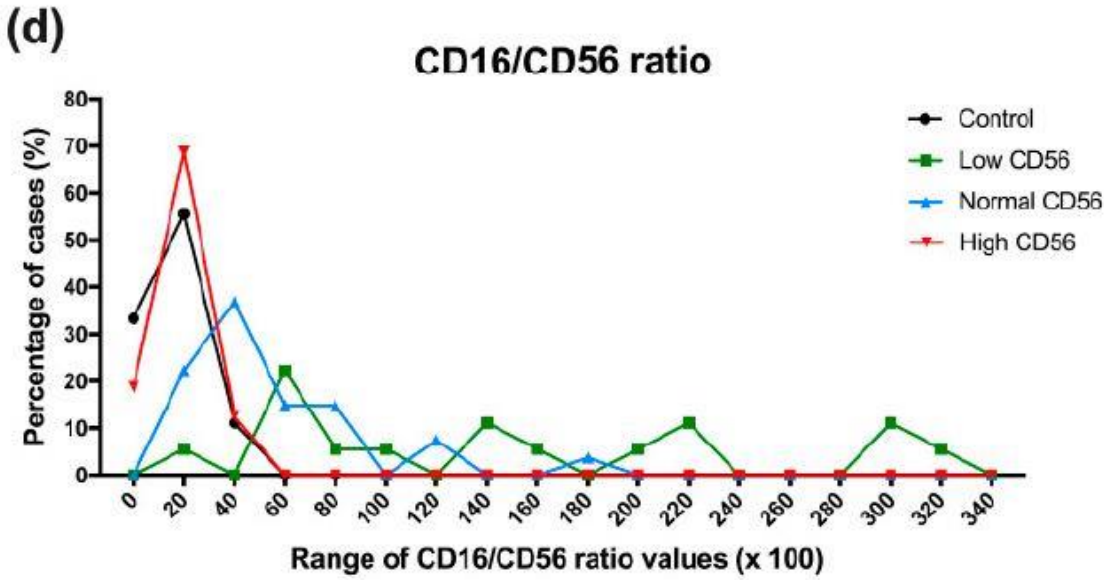
CD16/CD56 თანაფარდობის ანალიზმა აჩვენა, რომ CD16$^{+}$ უჯრედების კონცენტრაცია შეადგენდა CD56$^{+}$ უჯრედების რაოდენობის 5-25%-ს სკონტროლო ჯგუფის მონაწილეთა ენდომეტრიუმში. CD56$^{normal}$ ქვეჯგუფში შემთხვევათა 59%-ს CD16/CD56 თანაფარდობის მაჩვენებელი ჰქონდათ საკონტროლო ჯგუფის იგივე მაჩვენებლის ფარგლებში. ამავე ქვეჯგუფში შემთხვევათა 30%-ში CD16$^{+}$ უჯრედების კონცენტრაცია იყო გაზრდილი, ხოლო 11%-ში კი მათი რაოდენობა აჭარბებდა CD56$^{+}$ უჯრედების რაოდენობას (P<0.001 vs. საკონტროლო ჯგუფი).

CD56$^{low}$ ქვეჯგუფში შემთხვევათა 28%-ში CD16$^{+}$ უჯრედების რაოდენობა იყო მომატებული, 56%-ში კი მათი რიცხვი აჭარბებდა CD56$^{+}$ უჯრედების რაოდენობას. ამ ქვეჯგუფის შემთხვევათა მხოლოდ 6%-ში CD16/CD56 თანაფარდობის მაჩვენებელი შეესაბამებოდა საკონტროლო ჯგუფის იგივე მაჩვენებელს (P<0.001 vs. საკონტროლო ჯგუფი).

CD56$^{high}$ ქვეჯგუფში განსაზღვრული CD16/CD56 თანაფარდობის სიდიდე შეესაბამებოდა სკონტროლო ჯგუფის იგივე თანაფარდობის მაჩვენებელს (P=0.92 vs. საკონტროლო ჯგუფი). აღნიშნული თანაფარდობის მაჩვენებელი განსხვავდებოდა თვით ქვეჯგუფებს შორისაც: CD56$^{low}$ vs. CD56$^{normal}$, P=0.002; CD56$^{low}$ vs. CD56$^{high}$, P=0.001; CD56$^{normal}$ vs. CD56$^{high}$, P<0.001 გრაფ.4. c,d).

ამრიგად, ჩვენი კვლევით დადგინდა, რომ CD16$^{+}$ uNK უჯრედებს ჰქონდათ განსხვავებული შეფარდებითი დონე უოგდ ჯგუფის მონაწილეთა ენდომეტრიუმში და ამდენად, განსხვავებული ციტოტოქსიური ფუნქცია, რაც დამოკიდებული იყო CD56$^{+}$ uNK უჯრედების რაოდენობრივ რანჟირებაზე. ამ უკანასკნელთა დაბალი და ნორმალური კონცენტრაციების ქვეჯგუფების პაციენტთა ენდომეტრიუმებში გამოვლინდა მომატებული ციტოტოქსიურობის პოტენციალი, რაც ადასტურებს ჩვენს მიერ გამოყენებული ინოვაციური პარამეტრის- CD16/CD56 თანაფარდობის მნიშვნელობას ცალკე აღებულ CD16 მარკერთან შედარებით.




*გრაფიკი 4. CD16/CD56 მარკერებს შორის კორელაცია (c) და თანაფარდობა (d). CD16/CD56 თანაფარდობის განაწილება (%) uNK-ს რაოდენობრივი რანჟირების საფუძველზე უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში. თითოეული ნიმუში წარმოდგენილია წერტილით (შავი: საკონტროლო ჯგუფი; მწვანე: უოგდ -CD56$^{low}$; ცისფერი: CD56$^{normal}$; წითელი: CD56$^{high}$). საკონტროლო ჯგუფის მონაცემები შემოსაზღვრულია ჩარჩოთი. ისრით მითითებულია outlier-ერთადერთი საკონტროლო ნიმუში ანთების ნიშნებით. ნიმუშები კლასიფიცირებულია საფეხურებრივი რანჟირებით, რომელიც ემყარება ჰორიზონტალურ ღერძზე მითითებულ შესაბამის სიდიდეებს.*

*CD57/CD56 კორელაცია და თანაფარდობა*

CD57+ უჯრედების რაოდენობა საკონტროლო ჯგუფის მონაწილეთა ენდომეტრიუმში არ კორელირებდა სტატისტიკურად მნიშვნელოვნად CD56+ უჯრედების კონცენტრაციასთან (r=0.066, P=0.87). ასევე, არ იქნა კორელაცია ნანახი CD56$^{low}$ (r=0.070; P=0.78) და CD56$^{normal}$ ქვეჯგუფებში (r=0.112; P=0.59). CD56$^{high}$ ქვეჯგუფში კი გამოვლენილ იქნა სტატისტიკურად სარწმუნო უარყოფითი კორელაცია CD57+ და CD56+ უჯრედების რაოდენობებს შორის (r=-0.514; P=0.04).

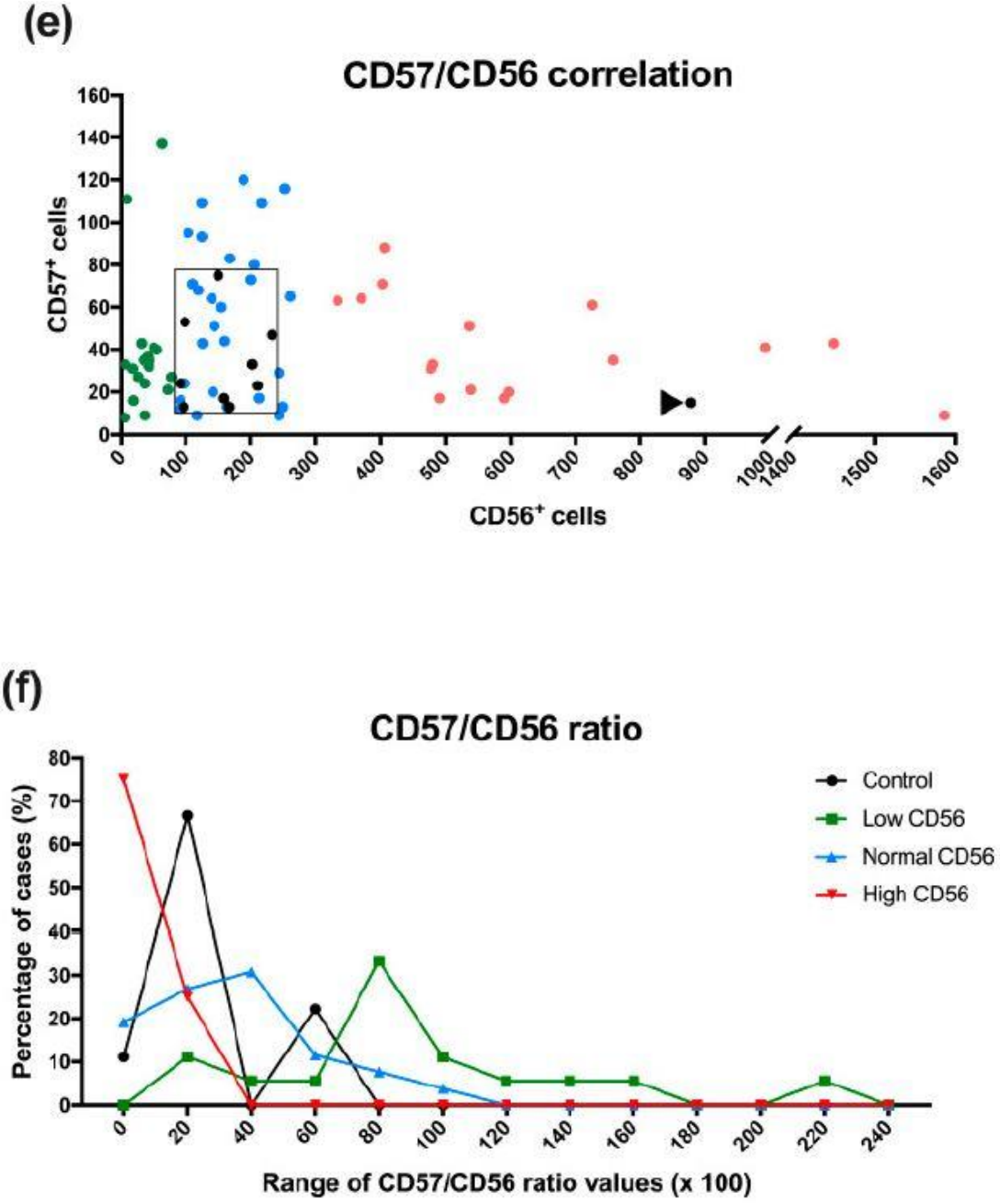
იმისათვის, რომ მოგვეხდინა განსხვავებათა იდენტიფიცირება საკონტროლო და უოგდ ჯგუფის ქვეჯგუფებს შორის CD57/CD56 თანაფარდობასთან მიმართებაში, აღნიშნული თანაფარდობის მაჩვენებელი იქნა კლასიფიცირებული შემდეგნაირად: <20% შეფასდა როგორც დაბალი, 21-60%- საშუალო და >60% მაღალი.

საკონტროლო ჯგუფის მონაწილეთა 11%-ს CD57/CD56 თანაფარდობის მაჩვენებელი ჰქონდა დაბალი, 67%-ს ჰქონდა საშუალო, 22%-ს კი აღენიშნა ამ თანაფარდობის მაღალი მაჩვენებელი. ამის საპირისპიროდ, უოგდ-ს CD56$^{low}$ ქვეჯგუფში შემთხვევათა 17%-ში CD57/CD56 თანაფარდობის სიდიდე განისაზღვრა როგორც საშუალო, ხოლო 63%-ში კი ეს მაჩვენებელი იყო სტატისტიკურად სარწმუნოდ მაღალი საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (P=0.03 vs. control).

უოგდ-ს CD56$^{normal}$ ქვეჯგუფში CD57/CD56 თანაფარდობის სიდიდე მსგავსი იყო საკონტროლო ჯგუფის იგივე მაჩვენებლისა (P=0.84 vs. control). CD56$^{high}$ ქვეჯგუფში 75% აღნიშნული თანაფარდობა იყო დაქვეითებული, მაშინ როცა 25%-ს აღენიშნა საშუალო მაჩვენებელი საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (P=0.02 vs.control). უოგდ-ს ქვეჯგუფებს შორისაც ასევე აღინიშნა CD57/CD56 თანაფარდობის განსხვავებული მაჩვენებელი: CD56$^{low}$ vs. CD56$^{normal}$ P=0.003; CD56$^{low}$ vs. CD56$^{high}$ P<0.001; CD56$^{normal}$ vs CD56$^{high}$ P=0.003. (გრაფ.5. e,f).

ამგვარად, ჩვენი კვლევის შედეგებით გამოიკვეთა, რომ CD57+ სუბპოპულაციის შეფარდებითი წილი uNK-ს საერთო რაოდენობასთან მიმართებაში, კერძოდ, CD57+/CD56+ თანაფარდობა, ისევე როგორც ერთ-ერთი უახლესი შრომის თანახმად, (Jiang, 2017), უფრო ინფორმაციული აღმოჩნდა ენდომეტრიუმის მომატებული ციტოტოქსიურობის შესაფასებლად, ვიდრე ცალკე აღებული ეს ორი მარკერი (განსაკუთრებით CD56$^{low}$ ქვეჯგუფში). ამდენად, იგი შეიძლება განვიხილოთ

სასარგებლო იმუნურ პარამეტრად ენდომეტრიუმში uNK-ს გავრცელებისა და ფუნქციის შესასწავლად.




*გრაფიკი 5. CD57/CD56 მარკერებს შორის კორელაცია (e) და თანაფარდობა (f). CD57/CD56 თანაფარდობის განაწილება (%) uNK-ს რაოდენობრივი რანჟირების საფუძველზე უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში. თითოეული ნიმუში წარმოდგენილია წერტილით (შავი: საკონტროლო ჯგუფი; მწვანე: უოგდ-CD56$^{low}$; ცისფერი: CD56$^{normal}$; წითელი: CD56$^{high}$). საკონტროლო ჯგუფის მონაცემები შემოსაზღვრულია ჩარჩოთი. ისრით მითითებულია outlier-ერთადერთი საკონტროლო ნიმუში ანთების ნიშნებით. ნიმუშები კლასიფიცირებულია საფეხურებრივი რანჟირებით, რომელიც ემყარება ჰორიზონტალურ ღერძზე მითითებულ შესაბამის სიდიდეებს.*

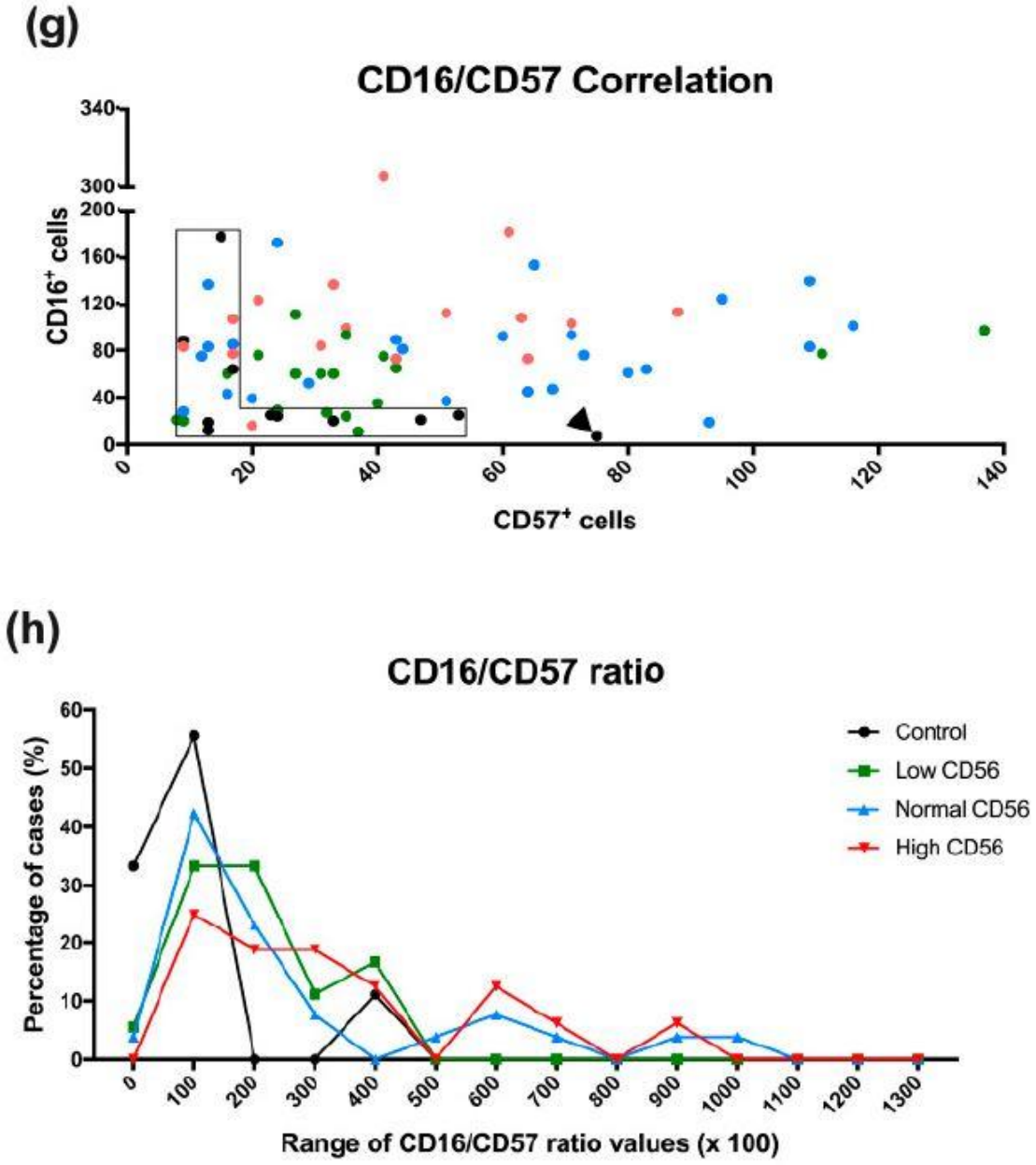
*CD16/CD57 კორელაცია და თანაფარდობა*

საკონტროლო ჯგუფისა და უოგდ ჯგუფის არცერთი ქვეჯგუფის მონაწილეთა ენდომეტრიუმში CD16+ და CD57+ უჯრედების რაოდენობებს შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი კორელაციები არ იქნა დადგენილი. საკონტროლო ჯგუფში: r=-0.042; P=0.92. უოგდ ჯგუფის CD56$^{low}$ ქვეჯგუფში: r=0.384, P=0.12; CD56$^{normal}$ ქვეჯგუფში: r=0.166, P=0.42; CD56$^{high}$ ქვეჯგუფში: r=0.258, P=0.33).

CD16/CD57 თანაფარდობის ანალიზმა აჩვენა, რომ საკონტროლო ჯგუფის მონაწილეთა ენდომეტრიუმში 33%-ში პრევალირებდა CD57+ უჯრედები, რის გამოც აღნიშნული თანაფარდობის მაჩვენებელი იყო დაქვეითებული. 56%-ში კი CD16/CD57 თანაფარდობის მაჩვენებელი მსუბუქად იყო მომატებული CD16+ უჯრედების რაოდენობის მომატების ხარჯზე. მხოლოდ ერთ ნიმუშში (11%) აღნიშნული თანაფარდობის მაჩვენებელი იყო უფრო მაღალი CD16+ უჯრედების საკმაოდ ჭარბი რაოდენობის გამო.

უოგდ ჯგუფის CD56$^{low}$ (P=0.14 vs. control), CD56$^{normal}$ (P=0.05 vs.control) და CD56$^{high}$ (P=0.01 vs.control) ქვეჯგუფებში გამოვლინდა შესაბამისად იმ შემთხვევათა 6%,4% და 0%, სადაც CD57+ უჯრედების რაოდენობა სჭარბობდა CD16+ უჯრედების რაოდენობას. იგივე ქვეჯგუფებიდან შემთხვევათა 33%, 42% და 25% წარმოდგენილი იყო ენდომეტრიუმის ისეთი ნიმუშებით, სადაც CD16+ მსუბუქად აღემატებოდა CD57+ უჯრედების რაოდენობას, ხოლო CD56$^{low}$-ის 61%, CD56$^{normal}$-ის 54% და CD56$^{high}$-ის 75% შემთხვევებში კი CD16+ უჯრედების რაოდენობა მკვეთრად აჭარბებდა CD57+ უჯრედების რაოდენობას საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით. იგივე ქვეჯგუფებს შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი განსხვავება არ იქნა აღმოჩენილი CD16/CD57 თანაფარდობის სიდიდის მიხედვით: CD56$^{low}$ vs. CD56$^{normal}$ P=0.95; CD56$^{low}$ vs. CD56$^{high}$ P<0.30; CD56$^{normal}$ vs. CD56$^{high}$ P=0.29 (გრაფიკი.5. g,h).

ჩვენი კვლევის შედეგების მიხედვით, CD16+ და CD57+ უჯრედებს ჰქონდათ განსხვავებული შეფარდებითი დონე უოგდ ჯგუფის ენდომეტრიუმში, რაც დამოკიდებული იყო CD56+ uNK უჯრედების რაოდენობრივ რანჟირებაზე. ამით ჩვენი კვლევის შედეგები ავსებს და ამყარებს წინა შრომების შედეგებს. გარდა ამისა, ამ ორ ციტოტოქსიურ მარკერს შორის, ჩვენს საკვლევ უოგდ პოპულაციაში, ნანახი იქნა CD16+ -ის პრედომინანტურობა CD57+ -თან შედარებით.




*გრაფიკი 5. CD16/CD57 მარკერებს შორის კორელაცია (g) და თანაფარდობა (h). CD16/CD57 თანაფარდობის განაწილება (%) uNK-ს რაოდენობრივი რანჟირების საფუძველზე უოგდ და საკონტროლო ჯგუფებში. თითოეული ნიმუში წარმოდგენილია წერტილით (შავი: საკონტროლო ჯგუფი; მწვანე: უოგდ-CD56$^{low}$; ცისფერი: CD56$^{normal}$; წითელი: CD56$^{high}$). საკონტროლო ჯგუფის მონაცემები შემოსაზღვრულია ჩარჩოთი. ისრით მითითებულია outlier-ერთადერთი საკონტროლო ნიმუში ანთების ნიშნებით. ნიმუშები კლასიფიცირებულია საფეხურებრივი რანჟირებით, რომელიც ემყარება ჰორიზონტალურ ღერძზე მითითებულ შესაბამის სიდიდეებს.*

## შედეგების განხილვა

ნორმალური ორსულობისა და მისი წარმატებული გამოსავალისთვის ენდომეტრიალური uNK უჯრედების კრიტიკული მნიშვნელობის მიუხედავად, მათი სუბპოპულაციების იმუნოფენოტიპები, ზუსტი ფუნქციები და ზღვრული კონცენტრაციები დღემდე არ არის საბოლოოდ დადგენილი (Quenby et al. 2009; Liu et al. 2014; Moffett, Ashley, and Shreeve 2015; Chen et al. 2017; Jabrane-Ferrat 2019), რაც აძნელებს ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს შესწავლას როგორც ნორმალური, ასევე თვითნებურად შეწყვეტილი ორსულობების დროს, მათ შორის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების შემთხვევაში.

ჩვენს შრომაში ნათლად გამოჩნდა, რომ უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების ანამნეზის მქონე ქალთა ენდომეტრიუმში ჯანმრთელი, ფერტილური ქალებისაგან განსხვავებით, აღინიშნება იმუნურ უჯრედთა დისბალანსი, რომელიც ასოცირდება ენდომეტრიალურ ლიმფოციტთა სხვადასხვა სუბპოპულაციების შეცვლილ რაოდენობასა და ფუნქციებთან. ამასთან, წინა შრომებისაგან განსხვავებით, ჩვენს კვლევაში ჩავრთეთ მკაცრი კრიტერიუმებით შერჩეული ქალები ოგდ ჯგუფიდან, რომელთაც არ აღენიშნებოდათ ორსულობის თვითნებური შეწყვეტის არცერთი ცნობილი ეტიოლოგიური ფაქტორი, რითაც გამოვრიცხეთ სხვადასხვა იმუნოლოგიური და არაიმუნოლოგიური კომბინირებული ფაქტორების ზემოქმედება ენდომეტრიუმის იმუნურ მიკროგარემოზე.

გარდა ამისა, ჩვენს საკონტროლო ჯგუფში რეკრუტირებული ჯანმრთელი, ფერტილური ქალებისგან ენდომეტრიუმის ბიოპტატების აღება მოხდა In Vitro განაყოფიერების წინა ციკლში (დონაციის პროტოკოლის დაწყებამდე), რაც უფრო მეტად სარწმუნოს ხდის მათი პრე-იმპლანტაციური ენდომეტრიუმების ნორმალურ იმუნორეცეპციულ სტატუსს, განსხვავებით ზოგიერთი წინა ნაშრომისაგან, სადაც შესწავლილი იყო მხოლოდ ოგდ და RIF ჯგუფის ქალთა ენდომეტრიუმების იმუნური სტატუსი ფერტილურ ქალთა საკონტროლო ჯგუფის გარეშე (Russell et al. 2013) ან საკონტროლო ჯგუფის ორგანიზების კრიტერიუმი იყო მხოლოდ ერთი ცოცხალმშობიარობა ანამნეზში (Tuckerman et al. 2010).

ბოლო ათწლეულების განმავლობაში რეპროდუქციული იმუნოლოგიის სფეროში მოლეკულური ტექნოლოგიების განვითარების შედეგად მიღწეული წარმატებების საფუძველზე ცხადი გახდა ენდომეტრიუმის იმუნურ უჯრედთა სენსიტიური ბალანსის უდიდესი როლი მის ადექვატურ იმუნორეცეპციულობაში (Beytamouni, T.S., and Ghanem 2016; Chong, H.P., and Quenby 2016; Dimitriadis et al. 2020; El Hachem et al. 2017; Homer 2019). ადამიანის ენდომეტრიუმი არის მეტად რთული, კომპლექსური და დინამიური ქსოვილი, რომელიც შეიცავს იმუნურ უჯრედთა მრავალფეროვან, პლეიოტროპულ პოპულაციებს. მათგან, ერთ-ერთი საკვანძო პოპულაციის- CD56⁺ uNK უჯრედების იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით დეტექცია ენდომეტრიუმში ბოლო ათწლეულების განმავლობაში ითვლებოდა ენდომეტრიუმის იმუნური სტატუსის განმსაზღვრელ ძირითად მარკერად, თუმცა ძალზე წინააღმდეგობრივი დასკვნებით (Moffett, Ashley, and Colucci 2014; Yang et al. 2019; Jabrane-Ferrat 2019; Kofod et al. 2017; Khalife et al. 2019; Sacks 2015).

ჩვენი შრომისაგან განსხვავებით, წინა იმუნოჰისტოქიმიურ ნაშრომებში დემონსტრირებული იყო ოგდ და RIF ჯგუფებში მხოლოდ ცალკე აღებული ენდომეტრიალური CD56⁺ uNK უჯრედების მომატებული კონცენტრაცია საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (Tuckerman et al. 2007; Laird et al. 2011; Mariee et al. 2012; Chen et al. 2017) და ყურადღება არ ექცეოდა მათ დაბალ მაჩვენებელს, რომელიც ასევე მავნე ზეგავლენას ახდენს ენდომეტრიუმის იმუნორეცეპციულობაზე. ერთ-ერთი ასეთი შრომის შედეგად ვერ იქნა ნაპოვნი განსხვავება ქვეჯგუფებს შორისაც: ქალებში, რომელთაც ჰქონდათ ცოცხალმშობიარობა ოგდ-ს ეპიზოდის შემდეგ, განსხვავებით იმ ქალებისაგან, რომელთაც კვლავ აღენიშნათ მომდევნო ორსულობის დანაკარგი (Tuckerman et al. 2007). ამდენად, მიუხედავად CD56⁺ uNK უჯრედების მომატებული კონცენტრაციისა ოგდ ჯგუფში საკონტროლოსთან შედარებით, ცალკე აღებულ ამ მარკერს არ აღმოაჩნდა პროგნოზული ღირებულება მომდევნო ორსულობის შესაძლო შეწყვეტის რისკის განსაზღვრისათვის და გაურკვეველი დარჩა მისი „მაღალი მაჩვენებლის“ რელევანტობა ოგდ-ს ანამნეზის მქონე ქალებში.

დღესდღეობით ყველაზე დიდი გამოწვევა ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს შეფასებისათვის არის საიმედო, მაღალ-ინფორმაციული იმუნური

მარკერებისა და პარამეტრების მოძიება, რომლებიც ზუსტად ასახავენ ფეტო-პლაცენტარულ ზედაპირზე განვითარებული მოვლენების ალო-იმუნურ მექანიზმებს, როგორც ნორმალური, ასევე პათოლოგიური ორსულობის შემთხვევებში.

სამწუხაროდ, ერთი რომელიმე სპეციფიკური ალო-იმუნური მექანიზმი, რომელიც საფუძვლად უდევს პათოლოგიურ ორსულობას, ისევე როგორც ნორმალური ორსულობის  იმუნობიოლოგიის რაიმე ერთი, ყველაზე არსებითი, აღიარებული  მექანიზმი, არ არის დადგენილი. შესაძლოა, ორსულობის მრავალფეროვანი ტოლეროგენული იმუნური რეაქციებიდან ერთის ან რამდენიმეს კომბინირებული შეფერხება იწვევს ფეტო-მატერნალურ ზედაპირზე უნიკალური, სენსიტიური იმუნური ბალანსის დარღვევას და ორსულობის შეწყვეტას (Beytamouni, T.S., and Ghanem 2016; Ticconi et al. 2019; Mor et al. 2017; El-Azzamy et al. 2018). ამდენად, შეუძლებელია ერთი რომელიმე ენდომეტრიალური იმუნური მარკერის გამოკვლევით დადგინდეს მიზეზ-შედეგობრივი კავშირი ორსულობის შეწყვეტასა და ენდომეტრიუმის იმუნურ უჯრედთა დისბალანსს შორის.

აქედან გამომდინარე, ჩვენი აზრით, უოგდ-ს დროს ენდომეტრიუმში აღინიშნება თანმხლებ იმუნოლოგიურ დისბალანსთა უფრო ფართო სპექტრი, ვიდრე ამის იდენტიფიცირება ხდება სხვადასხვა კლინიკურ და ექსპერიმენტულ გარემოში. ამ იმუნოლოგიურ დისბალანსთა კომპლექსურობის უკეთ წარმოჩენისა და გარკვევის მიზნით, ჩვენს შრომაში uNK უჯრედების სხვადასხვა სუბპოპულაციების იმუნოჰისტოქიმიური გამოკვლევისათვის პრე-იმპლანტაციური ენდომეტრიუმის ბიოპტატებში  გამოვიყენეთ დამატებითი იმუნური მარკერები, რათა მოგვეხდინა მათი ფუნქციებისა და ციტოტოქსიური სტატუსის უფრო ზუსტი შეფასება და გამოგვეყო უფრო მეტად ინფორმაციული იმუნური პარამეტრები ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს შესაფასებლად უოგდ ანამნეზის მქონე ქალებში.

ჩვენს მიერ უოგდ და საკონტროლო ჯგუფის ქალთა ენდომეტრიუმის ბიოპტატების იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით გამოკვლევისათვის, წინა შრომებისაგან განსხვავებით, გამოყენებულ იქნა ერთდროულად  5 იმუნური მარკერი და მათი კომბინაცია. კერძოდ, CD45 (ლეიკოციტთა ზოგადი მარკერი), CD56 (uNK უჯრედების ზოგადი მარკერი), CD16 და CD57 (uNK უჯრედების ციტოტოქსიურობის

მარკერები) და CD138-პლაზმოციტების (ქრონიკული ენდომეტრიტის) იმუნური მარკერები. ამან საშუალება მოგვცა გვეჩვენებინა პრე-იმპლანტაციურ ენდომეტრიუმში ლიმფოციტთა სხვადასხვა სუბპოპულაციების მრავალფეროვანი, კომპლექსური შემადგენლობა, გაგვემიჯნა განსხვავებული იმუნოლოგიური პათოგენეზის რამდენიმე ქვეჯგუფი ძირითადი საკვლევი ჯგუფიდან და გამოგვეყო ენდომეტრიალურ ლიმფოციტთა უფრო მეტად პრო-ფერტილური და ციტოტოქსიური იმუნოფენოტიპები.

ჩვენი საკვლევი ენდომეტრიუმის ნიმუშებში ციტოტოქსიურობის განმსაზღვრელი მარკერის შერჩევისას ვიხელმძღვანელეთ ბოლო რამდენიმე წლის განმავლობაში გავრცელებული ფართოდ აღიარებული მონაცემებით უოგდ-ს პათოგენეზში ენდომეტრიალურ ლიმფოციტთა სპეციფიური სუბპოპულაციის, კერძოდ, $CD56^{dim}CD16^{+}$ uNK-ს სუბპოპულაციის უფრო მეტი ჩართულობის შესახებ, რომელიც ხასიათდება ციტოტოქსიურობის მაღალი პოტენციალის მქონე მოლეკულური მარკერის-CD16-ის ექსპრესიით uNK უჯრედის ზედაპირზე (Bulmer et al. 2009; Beytamouni, T.S., and Ghanem 2016; Kofod et al. 2017; Junovich et al. 2013; Del Zotto et al. 2017; Jabrane-Ferrat 2019). მხედველობაში მივიღეთ ასევე, უფრო უახლესი კვლევების შედეგები, რომელთა მიხედვითაც ციტოტოქსიურობის სხვა კლასიკური მარკერი-CD57 უფრო მეტად ასოცირდება არასასურველ რეპროდუქციულ გამოსავალთან (Kared et al. 2016; Lopez-Vergès et al. 2010; Russell et al. 2013; Nielsen et al. 2013; Jiang et al. 2017). ავტორთა აზრით, CD57 ექსპრესირებულია აგრეთვე ტერმინალურად მომწიფებულ uNK უჯრედებზე და მისი მომატებული რაოდენობა აღენიშნება ქალთა 50%-ს ორსულობის სპონტანური დანაკარგებით. ყველა ადრინდელი შრომებისაგან განსხვავებით, ჩვენს საკვლევ ენდომეტრიუმის ნიმუშებში ლიმფოციტთა სუბპოპულაციების ციტოტოქსიური ფუნქციის შესასწავლად გამოვიკვლიეთ ორივე მარკერი და განვახორციელეთ მათი შედარება საკვლევ და საკონტროლო ჯგუფებში.

ჩვენ შრომაში CD45, CD56, CD16 და CD57 იმუნური მარკერების კონცენტრაციების (უჯრ/მმ$^2$) გამოკვლევით მხოლოდ ციტოტოქსიური $CD16^{+}$ uNK-ს სუბპოპულაცია იყო სტატისტიკურად სარწმუნოდ მომატებული უოგდ ჯგუფში საკონტროლო ჯგუფის ქალთა იგივე მაჩვენებელთან შედარებით ($p<0.001$), რაც

ეთანხმება ბევრი საერთაშორისო კვლევის შედეგებს (Kofod et al. 2017; Junovich et al. 2013; Giuliani et al. 2014; El-Azzamy et al. 2018).

ჩვენს საკონტროლო და საკვლევ ჯგუფებს შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი განსხვავება არ იქნა ნანახი ცალკე აღებული $CD45^+$ $CD56^+$ და $CD57^+$ მარკერების საშუალო სიდიდეებს შორის. იმისათვის, რომ უკეთ გამოგვეხატა ლიმფოციტთა სხვადასხვა სუბპოპულაციებს შორის ურთიერთდამოკიდებულება, გამოვიყენეთ ახალი ინოვაციური პარამეტრები: ცალკეულ მარკერთა კონცენტრაციების გარდა განვსაზღვრეთ მათი შეფარდებითი წილი ენდომეტრიალური ლეიკოციტების საერთო პოპულაციაში. ასევე, $CD16^+$ და $CD57^+$ სუბპოპულაციების შეფარდებითი წილი uNK-ს საერთო რაოდენობასთან მიმართებაში. ერთ-ერთი უახლესი შრომის თანახმადაც (Jiang et al. 2017), RIF ჯგუფში განსაზღვრული იყო მხოლოდ $CD57^+/CD56^+$ თანაფარდობა და იგი აღიარებულ იქნა უფრო სასარგებლო კლინიკურ პარამეტრად ენდომეტრიუმში uNK-ს გავრცელებისა და ფუნქციის შესასწავლად, ვიდრე მხოლოდ $CD56^+$ კონცენტრაცია. ავტორთა ვარაუდით, მომავალში შესაძლებელი იქნება ამ თანაფარდობის გამოყენება In Vitro განაყოფიერების ციკლებში წარმატებული იმპლანტაციის პროგნოზირებისათვის, თუმცა მას შემდეგ რაც ზუსტად შეფასდება $CD57^+/CD56^+$ თანაფარდობის სენსიტიურობა და სპეციფიურობა ამ მარკერთა ორმაგი იმუნოჰისტოქიმიური შეღებვის შემდეგ.

ჩვენი საკვლევი მარკერების თანაფარდობების  შემდეგმა ჩაღრმავებულმა ანალიზმა სიხშირეთა განაწილების მიხედვით (frequency distributions) აჩვენა მათი განსხვავებული განაწილება ($P<0.001$ CD45, CD56 და CD16-სთვის, $P<0.003$ CD57-სთვის) უოგდ ჯგუფის პაციენტთა ნიმუშებში კონტროლებთან შედარებით. კერძოდ, მათი თანაფარდობების შესწავლით დადგინდა უოგდ პაციენტების ენდომეტრიუმში uNK უჯრედების კონცენტრაციის (უჯრ/მმ$^2$) ფართო დიაპაზონისა და იმუნოფენოტიპთა მრავალფეროვნების არსებობა. uNK უჯრედების თანაფარდობები ლეიკოციტების საერთო რაოდენობასთან (CD56/CD45) და მაღალტოქსიურ სუბპოპულაციებთან (CD16/CD56 და CD57/CD56) განსხვავებულად იყო გამოხატული და დამოკიდებული იყო ენდომეტრიუმში uNK უჯრედების კონცენტრაციაზე.

ჩვენს შრომაში, ისევე როგორც სხვადასხვა უახლეს კვლევებში (Kuon et al. 2017; Chen et al. 2017), ნანახი იქნა, რომ უოგდ პაციენტთა ენდომეტრიუმი ხასიათდება CD56+ uNK უჯრედების შემცველობის უფრო ფართო დიაპაზონით, ჯანმრთელი ფერტილური ქალებისაგან განსხვავებით, და შესაძლოა დაყოფილ იქნას დაბალი, ნორმალური და მაღალი შემცველობის შემთხვევებად (CD56low uNK, CD56normal uNK და CD56high uNK ქვეჯგუფები შესაბამისად). ეს უფრო მეტად ამყარებს იმ მოსაზრებას, რომ ჯანმრთელი ქალების ენდომეტრიუმში არსებობს uNK უჯრედების განსაკუთრებული, პრო-ფერტილური კონცენტრაცია (Kofod et al. 2017; Chen et al. 2017). გარდა ამისა, დაბალი, ნორმალური და მაღალი შემცველობის ქვეჯგუფებში მათი განსხვავებული ფენოტიპების არსებობა მიუთითებს განსხვავებული პათოლოგიური მექანიზმების არსებობაზე უოგდ პაციენტთა აღნიშნულ ქვეჯგუფებში. ეს განსხვავებები და ცვლილებები განპირობებულია ენდოგენური იმუნური დისფუნქციებით თუ ეგზოგენური ფაქტორებით (მაგ. შეცვლილი მიკრობიომები და პათოგენების რაოდენობა ენდომეტრიუმში) ჯერ კიდევ გამოსაკვლევია და ჩაღრმავებულ შესწავლას მოითხოვს (Agostinis et al. 2019; Ali et al. 2018; Cicinelli et al. 2015; Benner et al. 2018; Dimitriadis et al. 2020).

რიგი ავტორები CD56+ uNK უჯრედების ექსპანსიას ენდომეტრიუმში ხსნიან ანთებითი მდგომარეობითა და ბაქტერიული კომპონენტების მიმართ იმუნური რეაქციებით (Kitaya et al. 2007; Disep et al. 2004; Matteo et al. 2009; Cicinelli et al. 2015; Yarbrough et al. 2015; Moreno et al. 2016), რასაც ადგილი აქვს ქრონიკული ენდომეტრიტის დროს. რეპროდუქციული დარღვევების მქონე ქალთა ენდომეტრიუმში პრო-ინფლამატორული ციტოკინებისა და ანთების მედიატორების- IL-12, IL-17, IL-18, IL-27 მომატებულ დონეს გააჩნია პოტენციალი, რომ ზეგავლენა იქონიოს uNK უჯრედების საპასუხო რეაქციაზე და გამოიწვიოს პერიფერიული NK უჯრედების ქემოატრაქცია სისხლიდან (Mariee et al. 2012; Kitaya et al. 2007; Wu et al. 2017; D'Ippolito et al. 2016). ზოგიერთ შრომაში პოზიტიური კორელაცია იქნა ნანახი uNK უჯრედების რიცხვსა და IL-15-ის ექსპრესიას შორის RIF ჯგუფის პაციენტთა ენდომეტრიუმში (Mariee et al. 2012).

ქრონიკული ენდომეტრიტის (ქე) როლი ენდომეტრიუმის ლიმფოციტთა სხვადასხვა სუბპოპულაციებზე არ არის ბოლომდე გარკვეული და შესწავლილი.

ბევრი მკვლევარის აზრით, ქე-ს დროს აღინიშნება მათი რაოდენობისა და ფუნქციების ცვლილებები, კერძოდ მატულობს uNK უჯრედების პროცენტული რაოდენობა ენდომეტრიუმის სტრომაში (Disep et al. 2004; Cicinelli et al. 2014; D'Ippolito et al. 2016; Park et al. 2016; Kitaya et al. 2018). სხვა მკვლევარები კი მიუთითებენ, რომ ქე-ს შემთხვევაში ენდომეტრიუმის იმუნორეაქტიულობის შეცვლა ხდება უფრო სხვა მექანიზმით, ვიდრე ეს uNK უჯრედთა გაზრდილი პროცენტულობაა. კერძოდ, ირღვევა თანაფარდობები იმუნურ უჯრედთა იმუნომარეგულირებელ და ციტოტოქსიურ სუბპოპულაციებს შორის ამ უკანასკნელთა სასარგებლოდ (Kitaya 2011; Cicinelli et al. 2015; Bouet et al. 2016). ამის საპირისპროდ, ზოგიერთი კვლევის მიხედვით, ქე-ს დროს აღმოჩენილ იქნა $CD56^+$ $CD16^-$ uNK უჯრედთა მნიშვნელოვნად დაბალი დონე, ვიდრე შემთხვევებში ქე-ს გარეშე: 47,8% vs. 30,1%, $p<0,01$ (Matteo et al. 2009). ამასვე მოწმობს ჩვენი საკვლევი უოგდ ჯგუფის რამდენიმე შემთხვევა $CD56^{low}$ uNK ქვეჯგუფიდან, სადაც დადასტურდა ქრონიკული ენდომეტრიტის არსებობა. ეს შესაძლოა აიხსნას ანთებითი ენდომეტრიუმის დეფექტური და შენელებული რემოდელირებით uNK-ს რაოდენობის შემცირების გამო, რომლებიც საკვანძო უჯრედებს წარმოადგენენ ენდომეტრიუმის რეიუვენაციისა და ნორმალური რეცეპციულობის მისაღწევად (Brighton et al. 2017; Kitaya et al. 2018; Agostinis et al. 2019).

ჩვენს საკონტროლო ჯგუფში შემთხვევათა 20% წარმოდგენილი იყო <3 $CD138^+$ პლაზმური უჯრედი/10მმ$^2$-ზე, შემთხვევათა 80%-ში კი ეს უჯრედები არ იქნა ნანახი. ამის მსგავსად, უოგდ ჯგუფის ენდომეტრიუმის ნიმუშების 22%-ში აღმოჩნდა <3 $CD138^+$ პლაზმური უჯრედი/10მმ$^2$-ზე, 78% კი ნეგატიური იყო აღნიშნული უჯრედების შემცველობის მიხედვით. Liu და თანაავტორების მიერ (Liu et al. 2018), წარმოდგენილი უახლესი კრიტერიუმით (რომლის თანახმად ქრონიკული ენდომეტრიტი დიაგნოსტირდება ≥5.15 $CD138^+$ პლაზმური უჯრედი/10მმ$^2$ შემთხვევაში), ჩვენს საკვლევ და საკონტროლო ჯგუფებს შორის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი განსხვავება არ იქნა ნანახი. ამდენად, აღნიშნული ჯგუფების ენდომეტრიუმის ნიმუშებში ქრონიკული ენდომეტრიუმის პოტენციური ზეგავლენა იქნა გამორიცხული. ამის ერთ-ერთი მიზეზი შესაძლოა იყოს საკვლევი პოპულაციის მცირერიცხოვნება და ასევე ქე-ს სადიაგნოსტიკო სხვა კრიტერიუმებიც, რომელთა

შესახებ დავა დღემდე გრძელდება (Park et al. 2016; Kitaya et al. 2018; Bouet et al. 2016). მეცნიერთა ვარაუდით, სამომავლოდ ციტოკინების დონის განსაზღვრამ uNK უჯრედების რანჟირების მიხედვით შესაძლოა ნათელი მოჰფინოს ენდომეტრიტის მიკროგარემოს ზეგავლენას uNK უჯრედების სუბპოპულაციების პროფილზე.

ზოგიერთ ადრეულ პუბლიკაციაში (Kuon et al. 2017) უოგდ ჯგუფის პაციენტების ენდომეტრიუმში <40 CD56$^+$ უჯრ/მმ$^2$ ნიმუშები განხილული იყო როგორც uNK უჯრედების დაბალი შემცველობის შემთხვევები. ჩვენს კვლევაში, რომელიც მოიცავდა ჯანმრთელი, ფერტილური ქალების საკონტროლო ჯგუფის მცირე კოჰორტას, ჩვენ ვერ აღმოვაჩინეთ <90 უჯრ/მმ$^2$ -ზე ნაკლები შემცველობის ვერცერთი ნიმუში. გარდა ამისა, უოგდ ჯგუფის CD56$^{low}$uNK ქვეჯგუფის ქალთა ენდომეტრიუმებში აღინიშნებოდა საკონტროლო ჯგუფისგან განსხვავებული CD56/CD45, CD16/CD56, CD57/CD56 თანაფარდობები. ამ მონაცემებმა გვაფიქრებინა, რომ დაგვესახა უფრო მკაცრი cut-off სიდიდე (90 უჯრ/მმ$^2$), იმისათვის რათა მოგვეხდინა uNK უჯრედების დაბალი შემცველობის შემთხვევების იდენტიფიცირება, რომელთა ვალიდაციაც უნდა მოხდეს შემთხვევათა უფრო დიდი ნიმუშების კვლევისას. Cut-off სიდიდე სხვადასხვა ლაბორატორიებში განსხვავებულია და ამის მიზეზი შეიძლება იყოს განსხვავებული იმუნოჰისტოქიმიური პროტოკოლები (ანტისხეულები, მათი განზავების სხვადასხვა კონცენტრაციები, ამპლიფიკაციის მეთოდები), იმუნოპოზიტიური უჯრედების დათვლის ტექნიკა (მანუალური vs. სხვადასხვა software პროგრამებით დათვლილი) და ა.შ. (Wu et al. 2017; Lash et al. 2016; Chen et al. 2017).

მრავალ კვლევაში იქნა ნაჩვენები, რომ uNK უჯრედების მომატებული ციტოტოქსიურობა ენდომეტრიუმში ქმნის არახელსაყრელ, „მტრულ“ იმუნურ გარემოს ემბრიონის იმპლანტაციისა და ნორმალური პლაცენტაციისათვის. ენდომეტრიალური CD16$^+$ და CD57$^+$ უჯრედების გაზრდილი რაოდენობა, რომელიც ბევრ იმუნოჰისტოქიმიურ შრომაში იქნა დემონსტრირებული ოგდ და RIF ჯგუფების პაციენტებში, მიუთითებს uNK უჯრედთა აღნიშნული სუბპოპულაციების ციტოტოქსიურობის გაზრდილ პოტენციალზე ამ რეპროდუქციული დარღვევების დროს (Kofod et al. 2017; Junovich et al. 2013; El-Azzamy et al. 2018; Kared et al. 2016; Lopez-Vergès et al. 2010; Nielsen et al. 2013; Jiang et al. 2017), თუმცა, დღემდე საკამათოა,

რომელი უფრო ციტოტოქსურია მათ შორის. CD16$^{+}$ uNK უჯრედების ციტოტოქსიურობის კლასიკური მარკერია. CD57$^{+}$ ძირითადად წარმოადგენს CD8$^{+}$ T ლიმფოციტთა უჯრედულ მარკერს, მაგრამ ახალი კვლევებით დადგინდა, რომ იგი განსაზღვრავს აგრეთვე ტერმინალურად მომწიფებული, „დაბერებული“ uNK უჯრედების ერთ-ერთ სუბპოპულაციას (Nielsen et al. 2013; Kared et al. 2016). ამასთან, CD57$^{+}$-ის ექსპრესიის დადებითი კორელაცია ციტოტოქსიური გრანულების შემადგენელ Granzym A, B და Perforin-თან გვაფიქრებინებს, რომ იგი შეიძლება იყოს მაღალი ციტოტოქსიურობის მარკერი (Jiang et al. 2017).

ჩვენს საკვლევ უოგდ ჯგუფში ენდომეტრიუმის ციტოტოქსიურობის სტატუსის უკეთესად შესასწავლად და აღნიშნულ ორ მარკერს შორის მეტი ციტოტოქსიურობის პოტენციალის გამოსავლენად, ენდომეტრიუმის ბიოპტატები გამოვიკვლიეთ ერთდროულად ციტოტოქსიურობის ორივე მარკერზე.

როგორც ჩვენი კვლევით დადგინდა, CD16$^{+}$ და CD57$^{+}$ უჯრედებს ჰქონდათ განსხვავებული შეფარდებითი დონე უოგდ ჯგუფის ენდომეტრიუმში, რაც დამოკიდებული იყო CD56$^{+}$ uNK უჯრედების რაოდენობრივ რანჟირებაზე. ამით ჩვენი კვლევის შედეგები ავსებს და ამყარებს წინა შრომების შედეგებს. გარდა ამისა, ამ ორ ციტოტოქსიურ მარკერს შორის, ჩვენს საკვლევ უოგდ პოპულაციაში, იქნა ნანახი CD16$^{+}$ -ის პრედომინანტურობა CD57$^{+}$ -თან შედარებით.

აღსანიშნავია ისიც, რომ ზოგიერთ ენდომეტრიუმის ნიმუშში, რომლებიც კლასიფიცირებული იყო როგორც uNK უჯრედების ნორმალური შემცველობის უოგდ-CD56$^{normal}$ ქვეჯგუფი, CD16$^{+}$ და CD57$^{+}$ ციტოტოქსიურობის მარკერები იყო მომატებული, ხოლო უოგდ-CD56$^{low}$ ქვეჯგუფში კი აღნიშნული მარკერების გაზრდლი დონე აღმოაჩნდათ პაციენტთა თითქმის 40%-ს. საყურადღებო იყო ერთ-ერთი შემთხვევა ჩვენი საკვლევი უოგდ-CD56$^{low}$ ქვეჯგუფიდან, სადაც uNK უჯრედების დაბალი შემცველობისა და ქრონიკული ენდომეტრიტის არარსებობის ფონზე, მხოლოდ CD16$^{+}$ და CD57$^{+}$ ციტოტოქსიურ სუბპოპულაციათა გამოხატული დისბალანსის გამო პაციენტს აღენიშნებოდა ორსულობის 14 თვითნებითი შეწყვეტა.

ჩვენი კვლევის შედეგები აჩვენებს, რომ უოგდ-ს იმ შემთხვევებშიც კი, სადაც აღინიშნება uNK უჯრედების ნორმალური და დაბალი შემცველობა, შესაძლოა მათი ციტოტოქსიურობის პოტენციალი იყოს გაზრდილი. უოგდ-CD56$^{low}$ ქვეჯგუფის

დანარჩენ 60%-ში CD16$^{+}$ უჯრედების რაოდენობა აჭარბებდა კიდეც CD56$^{+}$ უჯრედთა რიცხვს, რაც მიუთითებს CD56$^{+}$ uNK უჯრედების დაქვეითებულ რაოდენობაზე ან CD56$^{dim}$ uNK უჯრედების ან სხვა იმუნური უჯრედების (მაგ. მაკროფაგების) მიერ CD16$^{+}$ -ის გამოხატულ ექსპრესიაზე.

ზოგიერთ უახლეს კვლევაში მეცნიერები მიუთითებენ uNK უჯრედების „მეხსიერების-მაგვარ“ უნარზე და მათი ასეთი „განათლებული“ სუბპოპულაციებით ხსნიან ოგდ-ს შემდგომი ორსულობებისას დეფექტური პლაცენტაციების ნაკლებ სიხშირეს (Jabrane-Ferrat 2019), ჩვენს კვლევაში CD56$^{low}$ ქვეჯგუფში სწორედ uNK უჯრედების დაბალი კონცენტრაციით შესაძლოა აიხსნას დეფექტური პლაცენტაციები და ორსულობების განმეორებითი დანაკარგები.

აღსანიშნავია, რომ uNK უჯრედების შემცირებული რაოდენობა, CD56$^{dim}$ CD16$^{+}$ uNK უჯრედების ექსპანსია და მათი ფუნქციური ცვლილებები გაზრდილი ციტოტოქსიურობისკენ ტენდენციით შესაძლოა პროვოცირებული იყოს სხვადასხვა პათოგენებით, მათ შორის ვირუსებითაც-Hepatitis C, ადამიანის Herpesvirus 6 (HHV6), ციტომეგალოვირუსით (CMV) და სხვა (Kitaya et al. 2007; Matteo et al. 2009; Cicinelli et al. 2015; Yarbrough et al. 2015; Moreno et al. 2016; Jabrane-Ferrat 2019).

ჩვენს საკვლევ უოგდ-CD56$^{high}$ ქვეჯგუფში, დანარჩენი ქვეჯგუფებისაგან განსხვავებით, CD57$^{+}$ წარმოდგენილი იყო CD56-სთან შედარებით დაბალი პროპორციით. იმის გათვალისწინებით, რომ CD57 ექსპრესირებულია ტერმინალურად დიფერენცირებულ NK უჯრედებზე, ეს შედეგი შესაძლოა მიუთითებდეს ამ ტიპის უჯრედების დაყოვნებულ დიფერენციაციაზე უოგდ-ს ზოგიერთ შემთხვევაში.

თუმცა CD16$^{+}$ და CD57$^{+}$ მარკერების ექსპრესია uNK უჯრედების მიერ მიუთითებს ამ უჯრედების ციტოტოქსიურ პოტენციალზე, მათი რთული, დახვეწილი ეფექტორული ფუნქციები საბოლოოდ მაინც დიდად არის განპირობებული ამ უჯრედების ზედაპირზე არსებული გამააქტიურებელი და მაინჰიბირებელი რეცეპტორების მრავალფეროვანი რეპერტუარით, ისეთები როგორიცაა NKG2D, Killer cell Ig-like receptors (KIR), natural cytotoxicity receptors (NCR) და სხვა (Ticconi et al. 2019; Nakashima et al. 2012; Moffett et al. 2017; Chong, H.P., and Quenby 2016; Beytamouni, T. S., and Ghanem 2016; Del Zotto et al. 2017). აქედან

გამომდინარე, ამ უჯრედების ფუნქცია, ასევე მათი კოორდინირებული, კომპლექსური ურთიერთმოქმედება ფეტო-მატერნალურ ზედაპირზე, მათი როლი დედა-ნაყოფს შორის არსებულ უნიკალურ იმუნურ დიალოგში, ნორმალური და პათოლოგიური ორსულობის დროს, არ არის ცალსახა და ერთგვაროვანი. ეს საკმაოდ აძნელებს უოგდ ანამნეზის მქონე პაციენტების სწორ მართვას და მათთვის ინდივიდუალურად მორგებული ეფექტური იმუნური მკურნალობის დანიშვნას.

ჩვენს შრომაში uNK უჯრედები წარმოადგენდა ენდომეტრიალური ლეიკოციტების საერთო რაოდენობის 30-70%-მდე ფერტილური კონტროლების უმეტესობაში. უოგდ ჯგუფის ზოგიერთ შემთხვევაში CD45⁺ ლეიკოციტების მაღალი დონე განპირობებული იყო CD56⁺ uNK უჯრედების მომატებული რაოდენობით. მიუხედავად ამისა, ზოგიერთ ნიმუშში, CD45⁺ ლეიკოციტების მაღალი შემცველობით, CD56⁺ uNK უჯრედების რაოდენობა აღმოჩნდა დაბალი. ეს შესაძლოა გამოწვეული ყოფილიყო ლეიკოციტების ნაადრევი, ჭარბი მოდინებითა და მწვავე იმუნური რეაქციით, რაც თან ახლავს ლუთეინურიდან პრე-მენსტრუალური ფაზისკენ მიმართულ ტრანზიტორულ პროცესს, როგორც აღწერილია ზოგიერთ შრომაში (Kitaya et al. 2007).

მსოფლიო ლიტერატურაში უოგდ-ს სამკურნალო იმუნოთერაპიულ სქემებში მოწოდებულია იმუნომოდულატორთა სხვადასხვა ჯგუფი-ინტრავენური იმუნოგლობულინი (IVIg), ინტრალიპიდები, გლუკოკორტიკოიდები, ლიმფოციტებით იმუნიზაცია (Achilli et al. 2018; de Jong et al. 2014; Tang et al. 2011; Wang et al. 2016; Saccone et al. 2017; Atik et al. 2018.ESHRE guideline on RPL). თუმცა მათი ეფექტურობა საკმაოდ მკვეთრად ცვალებადობს სხვადასხვა შრომის შედეგების მიხედვით, ზოგჯერ ურთიერთგამომრიცხავიც კი არის. ამ ცვალებადობის ერთ-ერთი მიზეზი შესაძლოა იყოს ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს ზუსტი მახასიათებლების შესახებ ცოდნის დეფიციტი. ისიც აღსანიშნავია, რომ აღნიშნულ საკითხზე მაღალი დონის ნაშრომები ძლიერ მწირია. ეს ყოველივე აძნელებს მეცნიერული კვლევის შედეგების ტრანსლაციას კლინიკურ პრაქტიკაში და შეთანხმების მიღწევას მეცნიერებსა და პრაქტიკოს მეან-გინეკოლოგებს შორის.

ბოლო ათწლეულების განმავლობაში მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყნის მკვლევართა მიერ uNK უჯრედების მომატებული რაოდენობა უოგდ ანამნეზის მქონე

პაციენტების ენდომეტრიალურ ბიოპტატებში წარმოადგენდა იმუნურ პარამეტრს, რომლის საფუძველზეც შესაძლოა რეკომენდირებული ყოფილიყო იმუნომოდულატორთა გამოყენება სამკურნალო და პრევენციული მიზნით აღნიშნული პაციენტების ჯგუფში. ჩვენი კვლევის შედეგებით გამოიკვეთა, რომ მნიშვნელოვანია არა მარტო ცალკე აღებული uNK უჯრედების მომატებული რაოდენობა, არამედ მათი ციტოტოქსიურობა/იმუნომოდულატორობის თანაფარდობის ხარისხიც უნდა იქნას გათვალისწინებული უოგდ პაციენტების ენდომეტრიუმის იმუნური გარემოს შეფასებისას.

ჩვენი კვლევის შედეგები ამყარებს არსებულ ჰიპოთეზას, რომ უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების მქონე ქალებისა და ჯანმრთელი, ფერტილური ქალების ენდომეტრიუმში განსხვავებული იმუნური გარემოა. უფრო მეტიც, ჩვენი კვლევით გამოიკვეთა, რომ თვით უოგდ ჯგუფის სხვადასხვა ქვეჯგუფებშიც კი (uNK უჯრედების დაბალი, ნორმალური და მაღალი შემცველობით) განსხვავებული იმუნური მახასიათებლებია. ამდენად, მიგვაჩნია რომ, უოგდ ანამნეზის მქონე პაციენტებში და მათ მკაცრად განსაზღვრულ ქვეჯგუფებში ენდომეტრიალური uNK უჯრედების ფენოტიპური და ფუნქციური მახასიათებლების ზუსტი კლასიფიკაცია და სიღრმისეული შესწავლა უფრო დიდ პოპულაციაში შესაძლებელს გახდის უფრო მეტად მაღალ-ინფორმაციული იმუნური პარამეტრების გამოვლენას შემდგომი ორსულობის მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკის პროგნოზირებისათვის და იმუნომაკორეგირებელი თერაპიის სამიზნე ჯგუფის შერჩევისათვის, რითაც ბოლო მოეღება დაუსაბუთებელი, ემპირიული იმუნოთერაპიების გამოყენებას ორსულობების განმეორებითი დანაკარგების შემთხვევებში.

## დასკვნები და რეკომენდაციები

### *დასკვნები*

1. ჩვენი კვლევის შედეგებით, გამყარდა კავშირი უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებით დანაკარგებსა და ენდომეტრიუმის იმუნურ უჯრედთა დისბალანსს შორის. ამასთან, დადგინდა uNK უჯრედების იმუნოფენოტიპთა მრავალფეროვნება.
2. CD16, CD45, CD56, CD57 მარკერების კომბინაციების გამოკვლევით ნათლად გამოჩნდა, რომ uNK უჯრედების ცალკე აღებული აბსოლუტური რაოდენობების მიღმა არსებობს უფრო ინფორმაციული იმუნური პარამეტრები, კერძოდ, თანაფარდობები იმუნომარეგულირებელ და ციტოტოქსიურ uNK-ს სუბპოპულაციებს შორის და მათი შეფარდებები ენდომეტრიალური ლეიკოციტების საერთო რაოდენობასთან, რაც იძლევა ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს შეფასების და ციტოტოქსიკური ან პრო-ფერტილური იმუნოფენოტიპების იდენტიფიკაციის შესაძლებლობას.
3. უოგდ ჯგუფში ჩვენს მიერ დადგენილი $CD16^+$ და $CD57^+$ uNK-ს მომატებული რაოდენობა საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით, მიუთითებს აღნიშნული სუბპოპულაციების გაზრდილ ციტოტოქსიურ პოტენციალზე. ამ ორ ციტოტოქსიურ მარკერს შორის საკვლევ პოპულაციაში უფრო მეტად პრევალირებდა $CD16^+$ uNK, რომელიც სტატისტიკურად სარწმუნოდ ($P<0.001$) იყო მომატებული საკონტროლო ჯგუფის იგივე მაჩვენებელთან შედარებით. ამდენად, $CD16^+$ მარკერი შესაძლოა განხილულ იქნას ციტოტოქსიურობის ერთ-ერთ პოტენციურ მარკერად ორსულობის მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკის პროგნოზირებისათვის უოგდ ჯგუფში.
4. უოგდ ჯგუფის პაციენტთა ენდომეტრიუმი ხასიათდებოდა $CD56^+$ uNK-ს შემცველობის ფართო დიაპაზონით: გამოიყო 3 ქვეჯგუფი: დაბალი ($CD56^{low}$<90 უჯრ/მმ$^2$), ნორმალური ($CD56^{normal}$ 90-300 უჯრ/მმ$^2$) და მაღალი ($CD56^{high}$ >300 უჯრ/მმ$^2$) კონცენტრაციების.
5. უოგდ-$CD56^{low}$ და უოგდ-$CD56^{normal}$ ქვეჯგუფებში მიუხედავად $CD56^+$ uNK-ს დაბალი შემცველობისა, დადგინდა ციტოტოქსიურ $CD16^+$ და $CD57^+$ სუბპოპულაციათა გაზრდილი თანაფარდობები $CD56^+$ uNK უჯრედებთან

მიმართებაში. ამასთან, CD57/CD56 თანაფარდობის (პრო-ციტოტოქსიური) მაჩვენებელი უოგდ-CD56$^{low}$ -ქვეჯგუფში სტატისტიკურად სარწმუნოდ 3-ჯერ აღემატებოდა საკონტროლო ჯგუფის იგივე სიდიდეს.

6. CD56$^{+}$ uNK-ს რაოდენობა საკონტროლო ჯგუფში სტატისტიკურად სარწმუნოდ დადებითად კორელირებდა CD45$^{+}$ ლეიკოციტების კონცენტრაციასთან. ამის საპირისპიროდ, მათ შორის კორელაცია უოგდ ჯგუფში არ გამოვლინდა. უოგდ-ს ქვეჯგუფებში გამოვლინდა CD56/CD45 მაჩვენებლის განსხვავებული განაწილება (CD56$^{+}$ uNK-ს კონცენტრაციაზე დაყრდნობით). განსხვავებული ფენოტიპების არსებობა მიუთითებს განსხვავებული პათოგენეზური მექანიზმების არსებობაზე უოგდ-ს ამ ქვეჯგუფებში.
7. ჩვენს მიერ გამოკვლეული CD138$^{+}$ მარკერის იმუნოლოკალიზაციის მიხედვით საკვლევ და საკონტროლო ჯგუფებს შორის (22% და 20% შესაბამისად) სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება არ იქნა ნანახი, რითაც გამორიცხულ იქნა ქრონიკული ენდომეტრიტის ზეგავლენა ჩვენს მიერ შესწავლილ ენდომეტრიუმის ნიმუშებში.

***<u>პრაქტიკული რეკომენდაციები:</u>***

- უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების მქონე ქალებში ენდომეტრიალურ ლიმფოციტთა სუბპოპულაციების, კერძოდ, uNK უჯრედთა სხვადასხვა სუბპოპულაციების იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით კვლევისას, მიზანშეწონილია გაიმიჯნოს უოგდ პაციენტების 2 ქვეჯგუფი, რომელთაც მსგავსი გინეკოლოგიური ანამნეზი და კლინიკური სიმპტომები აქვთ, მაგრამ რადიკალურად განსხვავებული იმუნური სტატუსით არიან წარმოდგენილნი (ძალიან დაბალი ან ძალიან მაღალი uNK უჯრედთა რაოდენობა) და აქედან გამომდინარე სრულიად განსხვავებულ მიდგომასა და იმუნომაკორეგირებელ მკურნალობას საჭიროებენ.
- უოგდ ანამნეზის მქონე ქალებში ენდომეტრიუმის იმუნური მიკროგარემოს შეფასებისას იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით, მიზანშეწონილია არა მარტო ლიმფოციტთა ცალკეული სუბპოპულაციების აბსოლუტური

რაოდენობების/კონცენტრაციების განსაზღვრა, არამედ მათი გარკვეული თანაფარდობებისა და იმუნოფენოტიპების (ციტოტოქსიური ან პრო-ფერტილური ფენოტიპები) დადგენა, რაც ხელს შეუწყობს უოგდ ანამნეზის მქონე ქალებში მომდევნო ორსულობების მოსალოდნელი შეწყვეტის რისკის შეფასებას, გართულებების პრევენციას, ინდივიდუალური იმუნომაკორეგირებელი თერაპიის კანდიდატ-პაციენტთა შერჩევას და პრობლემური ორსულობების ეფექტურ მიზნობრივ მართვას.

- CD138+ პლაზმოციტების დეტექცია იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით ენდომეტრიუმის ბიოპტატებში სარწმუნო მეთოდი აღმოჩნდა ქრონიკული ენდომეტრიტის დიაგნოსტიკისათვის. აღნიშნული პათოლოგიის დროული დადგენა და მკურნალობა ხელს შეუწყობს არასაჭირო ჰისტერექტომიების პრევენციას იმ გინეკოლოგიურ დაავადებათა ჯგუფში, რომლებიც მიმდინარეობენ სისხლდენებით, მცირე მენჯის ღრუს ორგანოთა ტკივილითა და სხვა არასპეციფიკური სიმპტომებით არადიაგნოსტირებული ქრონიკული ენდომეტრიტის ფონზე.

## ბიბლიოგრაფია


Achilli, Chiara, Montserrat Duran-Retamal, Wael Saab, Paul Serhal, and Srividya Seshadri. 2018. “The role of immunotherapy in in vitro fertilization and recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis”. Fertility and Sterility 110, no. 6 :1089-1099.

Agostinis, Chiara, Alessandro Mangogna, Fleur Bossi, Giuseppe Ricci, Uday Kishore, and Roberta Bulla. 2019. "Uterine immunity and microbiota: A shifting paradigm." *Frontiers in* Immunology 10 : 2387.

Alecsandru, Diana, and Juan A. García-Velasco. 2017. "Why natural killer cells are not enough: a further understanding of killer immunoglobulin-like receptor and human leukocyte antigen." Fertility and Sterility 107, no. 6 : 1273-1278.

Ali, Syed B., Yogesh Jeelall, Craig E. Pennell, Roger Hart, Andrew McLean-Tooke, and Michaela Lucas. 2018. "The role of immunological testing and intervention in reproductive medicine: A fertile collaboration?." *American Journal of Reproductive Immunology* 79, no. 3 : e12784.

Andersen, Anne-Marie Nybo, Jan Wohlfahrt, Peter Christens, Jørn Olsen, and Mads Melbye. 2000. "Maternal age and fetal loss: population based register linkage study." British Medical Journal 320, no. 7251 : 1708-1712.

Arck, Petra C., and Kurt Hecher. 2013. "Fetomaternal immune cross-talk and its consequences for maternal and offspring's health." *Nature Medicine* 19, no. 5 : 548-556.

Atik, Ruth Bender, Ole Bjarne Christiansen, Janine Elson, Astrid Marie Kolte, Sheena Lewis, Saskia Middeldorp et al. 2018. "ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss". *Human Reproduction Open* no. 2 : hoy004.

Bayer-Garner, Ilene B., and Soheila Korourian. 2001."Plasma cells in chronic endometritis are easily identified when stained with syndecan-1." *Modern Pathology* 14, no. 9 : 877-879.

Benner, Marilen, Gerben Ferwerda, Irma Joosten, and Renate G. Van der Molen. 2018. "How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium." *Human Reproduction Update* 24, no. 4 : 393-415.

Beytamouni, T. S., and E. Ghanem. 2016. "Properties of Uterine Natural Killer Cells in Human Pregnancy, Major Receptors Involved, and Routes of Trophoblast Invasion". *Single Cell Biology* 5, no. 133 : 2.

Billingham, Rupert E., Leslie Brent, and Peter B. Medawar. 1953. "'Actively acquired tolerance'of foreign cells." *Nature* 172, no. 4379 : 603-606.

Boots, Christina E., Lia A. Bernardi, and Mary D. Stephenson. 2014. "Frequency of euploid miscarriage is increased in obese women with recurrent early pregnancy loss." Fertility and Sterility 102, no.2 : 455-459.

Bouet, Pierre-Emmanuel, Hady El Hachem, Elise Monceau, Gilles Gariépy, Isaac-Jacques Kadoch, and Camille Sylvestre. 2016. "Chronic endometritis in women with recurrent pregnancy loss and recurrent implantation failure: prevalence and role of office hysteroscopy and immunohistochemistry in diagnosis." *Fertility and Sterility* 105, no.1 : 106-110.

Brighton, Paul J., Yojiro Maruyama, Katherine Fishwick, Pavle Vrljicak, Shreeya Tewary, Risa Fujihara, Joanne Muter et al. 2017. "Clearance of senescent decidual cells by uterine natural killer cells in cycling human endometrium." *Elife* 6 : e31274.

Brosens, Ivo, Robert Pijnenborg, Lisbeth Vercruysse, and Roberto Romero. 2011. "The "Great Obstetrical Syndromes" are associated with disorders of deep placentation." *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 204, no. 3 : 193-201.

Bulmer, Judith N., and Gendie E. Lash. 2005. "Human uterine natural killer cells: a reappraisal." *Molecular Immunology* 42, no. 4 : 511-521.

Bulmer, Judith N., Paula J. Williams, and Gendie E. Lash. 2009. "Immune cells in the placental bed." *International Journal of Developmental Biology* 54, no. 2-3 : 281-294.

Chazara, Olympe, Shiqiu Xiong, and Ashley Moffett. 2011. "Maternal KIR and fetal HLA-C: a fine balance." *Journal of Leukocyte Biology* 90, no. 4 : 703-716.

Chen, Xiaoyan, Najat Mariee, Lingming Jiang, Yingyu Liu, Chi Chiu Wang, Tin Chiu Li, and Susan Laird. 2017. "Measurement of uterine natural killer cell percentage in the periimplantation endometrium from fertile women and women with recurrent reproductive failure: establishment of a reference range." *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 217, no. 6 : 680-e1.

Chen, Xiaoyan, Yingyu Liu, Yiwei Zhao, Wing Ching Cheung, Tao Zhang, Ruofan Qi, Jacqueline Pui Wah Chung et al. 2020. "Association between chronic endometritis and uterine natural killer cell density in women with recurrent miscarriage: clinical implications." *The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 46, no. 6 : 858-863.

Chiossone, Laura, Paola Vacca, Paola Orecchia, Daniele Croxatto, Patrizia Damonte, Simonetta Astigiano, Ottavia Barbieri et al. 2014. "In vivo generation of decidual natural killer cells from resident hematopoietic progenitors." *Haematologica* 99, no.3 : 448-457.

Chong, Hsu Phern, and Siobhan M. Quenby. 2016. "Natural killer cells and reproductive health." *The Obstetrician & Gynaecologist* 18, no. 2 : 91-97.

Christiansen, Ole B., Anne-Marie Nybo Andersen, Ernesto Bosch, Salim Daya, Peter J. Delves, Thomas V. Hviid, William H. Kutteh, Susan M. Laird et al. 2005. "Evidence-based investigations and treatments of recurrent pregnancy loss." *Fertility and Sterility* 83, no. 4 : 821-839.

Cicinelli, Ettore, Leonardo Resta, Roberto Nicoletti, Valeria Zappimbulso, Massimo Tartagni, and Nicola Saliani. 2005. "Endometrial micropolyps at fluid hysteroscopy suggest the existence of chronic endometritis." *Human Reproduction* 20, no. 5 : 1386-1389

Cicinelli, Ettore, Maria Matteo, Raffaele Tinelli, Achiropita Lepera, Raffaello Alfonso, Ugo Indraccolo, Sonia Marrocchella et al. 2015. "Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy." *Human Reproduction* 30, no. 2 : 323-330.

Cicinelli, Ettore, Maria Matteo, Raffaele Tinelli, Vincenzo Pinto, Marco Marinaccio, Ugo Indraccolo, Dominique De Ziegler, and Leonardo Resta. 2014. "Chronic endometritis due to common bacteria is prevalent in women with recurrent miscarriage as

confirmed by improved pregnancy outcome after antibiotic treatment." *Reproductive Sciences* 21, no. 5 : 640-647.

de Jong, Paulien G, Stef Kaandorp, Marcello Di Nisio, Mariette Goddijn, Saskia Middeldorp. 2014. "Aspirin and/or heparin for women with unexplained recurrent miscarriage with or without inherited thrombophilia." *The Cochrane database of systematic reviews*, 7, CD004734.

Del Zotto, Genny, Emanuela Marcenaro, Paola Vacca, Simona Sivori, Daniela Pende, Mariella Della Chiesa, Francesca Moretta et al. 2017. "Markers and function of human NK cells in normal and pathological conditions." *Cytometry Part B: Clinical Cytometry* 92, no. 2 : 100-114.

Diejomaoh, Michael FE. 2015. "Recurrent spontaneous miscarriage is still a challenging diagnostic and therapeutic quagmire." *Medical Principles and Practice* 24, no. 1 : 38-55.

Dimitriadis, Evdokia, Ellen Menkhorst, Shigeru Saito, William H. Kutteh and Jan J. Brosens. 2020. "Recurrent pregnancy loss". Nature Reviews Disease Primers. 6, no .98.

D'Ippolito, Silvia, Chiara Tersigni, Riccardo Marana, Fiorella Di Nicuolo, Raffaele Gaglione, Esther Diana Rossi, Roberta Castellani et al. 2016. "Inflammosome in the human endometrium: further step in the evaluation of the "maternal side". *Fertility and Sterility* 105, No. 1 : 111-118.e4.

Disep, B., B. A. Innes, H. R. Cochrane, S. Tijani, and J. N. Bulmer. 2004. "Immunohistochemical characterization of endometrial leucocytes in endometritis." *Histopathology* 45, no. 6 : 625-632.

Di Vito, Clara, Joanna Mikulak, and Domenico Mavilio. 2019. "On the way to become a natural killer cell." *Frontiers in* Immunology 10.

Dosiou, Chrysoula, and Linda C. Giudice. 2005. "Natural killer cells in pregnancy and recurrent pregnancy loss: endocrine and immunologic perspectives." *Endocrine Reviews* 26, no.1 : 44-62.

Drury, Josephine A., Helena Nik, Robbert HF van Oppenraaij, Ai-Wei Tang, Mark A. Turner, and Siobhan Quenby. 2011. "Endometrial cell counts in recurrent miscarriage: a comparison of counting methods." *Histopathology* 59, no. 6 : 1156-1162.

Egerup, Pia, A. M. Kolte, E. C. Larsen, M. Krog, H. S. Nielsen, and O. B. Christiansen. 2016. "Recurrent pregnancy loss: what is the impact of consecutive versus non-consecutive losses?." *Human Reproduction* 31, no.11 : 2428-2434.

El-Azzamy, Haidy, Svetlana V. Dambaeva, Dimantha Katukurundage, Maria D. Salazar Garcia, Annie Skariah, Youssef Hussein, Alfredo Germain et al. 2018. "Dysregulated uterine natural killer cells and vascular remodeling in women with recurrent pregnancy losses." American Journal of Reproductive *Im*m*u*nology 80, no. 4 : e13024.

El Hachem, Hady, Vincent Crepaux, Pascale May-Panloup, Philippe Descamps, Guillaume Legendre, and Pierre-Emmanuel Bouet. 2017. "Recurrent pregnancy loss: current perspectives." International Journal of Women's Health 9 : 331

Erlebacher, Adrian. "Immunology of the maternal-fetal interface." 2013. *Annual Review of Immunology* 31 : 387-411.

European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). 2017. "Early pregnancy Guideline Development Group". Version 2.

Ford, Holly B., and Danny J. Schust. 2009. "Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy." *Reviews in Obstetrics and Gynecology* 2, no. 2 : 76.

Fukui, Atsushi, Ayano Funamizu, Rie Fukuhara, and Hiroaki Shibahara. 2017. "Expression of natural cytotoxicity receptors and cytokine production on endometrial natural killer cells in women with recurrent pregnancy loss or implantation failure, and the expression of natural cytotoxicity receptors on peripheral blood natural killer cells in pregnant women with a history of recurrent pregnancy loss." *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 43, no. 11 : 1678-1686.

Giuliani, Emma, Kirstin L. Parkin, Bruce A. Lessey, Steven L. Young, and Asgerally T. Fazleabas. 2014. "Characterization of uterine NK cells in women with infertility or

recurrent pregnancy loss and associated endometriosis." *American Journal of Reproductive Immunology* 72, no. 3 : 262-269.

Grande, Maribel, Antoni Borrell, Raul Garcia-Posada, Virginia Borobio, Miriam Munoz, Montserrat Creus, Anna Soler, Aurora Sanchez, and Juan Balasch. 2012. "The effect of maternal age on chromosomal anomaly rate and spectrum in recurrent miscarriage." *Human Reproduction* 27, no. 10 : 3109-3117.

Groth, John V. 2018. "Chronic endometritis and the plasma cell, fact versus fiction." *Fertility and Sterility* 109, no. 5 : 788.

Gu, Jiang, Yu Lei, Yuanping Huang, Yingying Zhao, Jing Li, Tao Huang, Junjun Zhang et al. 2015. "Fab fragment glycosylated IgG may play a central role in placental immune evasion." *Human Reproduction* 30, no. 2 : 380-391.

Homer, Hayden Anthony. 2019. "Modern management of recurrent miscarriage." *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* 59, no. 1 : 36-44.

Hyde, Kassie J, Clark O. Andelin, et al. 2014. „Immunology of isolated and recurrent spontaneous pregnancy loss". The Global Library of Women's Medicine. (ISSN:1756-2228) DOI: 10.3843/GLOWM.10320.

Jabrane-Ferrat, Nabila. 2019. "Features of human decidual NK cells in healthy pregnancy and during viral infection." *Frontiers in Immunology* 10 : 1397.

Jabrane-Ferrat, Nabila, and Johan Siewiera. 2014. "The up side of decidual natural killer cells: new developments in immunology of pregnancy." *Immunology* 141, no. 4 : 490-497.

Jacob, Hanna, Debra Goldman-Wohl, Yaron Hamani, Inbal Avraham, Caryn Greenfield, Shira Natanson-Yaron, Diana Prus et al. 2006. "Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface". Nature Medicine 12, no. 9 : 1065-1074

Jaslow, Carolyn R., Judi L. Carney, and William H. Kutteh. 2010. "Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses". *Fertility and Sterility* 93, no. 4 : 1234-1243.

Jeve, Yadava B., and William Davies. 2014. "Evidence-based management of recurrent miscarriages." *Journal of Human Reproductive Sciences* 7, no. 3 : 159.

Jiang, Ruiwei, Guijun Yan, Jun Xing, Zhilong Wang, Yong Liu, Hongyan Wu, Xiangshan Fan et al. 2017. "Abnormal ratio of CD 57+ cells to CD 56+ cells in women with recurrent implantation failure." *American Journal of Reproductive Immunology* 78, no.5: e12708.

Johnston-MacAnanny, Erika B., Janice Hartnett, Lawrence L. Engmann, John C. Nulsen, M. Melinda Sanders, and Claudio A. Benadiva. 2010. "Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization." *Fertility and Sterility* 93, no. 2 : 437-441.

Junovich, Gisela, Agustina Azpiroz, Eugenia Incera, Constanza Ferrer, Agustin Pasqualini, and Gabriela Gutierrez. 2013. "Endometrial CD 16+ and CD 16– NK Cell Count in Fertility and Unexplained Infertility." *American Journal of Reproductive Immunology* 70, no. 3 : 182-189.

Kalkunte, Satyan, Clinton O. Chichester, Francesca Gotsch, Charles L. Sentman, Roberto Romero, and Surendra Sharma. 2008. "Evolution of non-cytotoxic uterine natural killer cells." *American Journal of Reproductive Immunology* 59, no. 5 : 425-432.

Kared, Hassen, Serena Martelli, Tze Pin Ng, Sylvia LF Pender, and Anis Larbi. 2016. "CD57 in human natural killer cells and T-lymphocytes." *Cancer Immunology, Immunotherapy* 65, no. 4 : 441-452.

Khalife, Dalia, Ghina Ghazeeri, and William Kutteh. 2019. "Review of current guidelines for recurrent pregnancy loss: new strategies for optimal evaluation of women who may be superfertile". *Seminars in Perinatology* 43, no. 2 : 105-115.

King, Anne E., Hilary OD Critchley, and Rodney W. Kelly. 2003. "Innate immune defences in the human endometrium." *Reproductive Biology and Endocrinology* 1, no.1 : 1-8.

Kitaya, Kotaro. 2011."Prevalence of chronic endometritis in recurrent miscarriages." *Fertility and Sterility* 95, no. 3 : 1156-1158.

Kitaya, Kotaro, Hidehiko Matsubayashi, Kohei Yamaguchi, Rie Nishiyama, Yukiko Takaya, Tomomoto Ishikawa, Tadahiro Yasuo, and Hisao Yamada. 2016. "Chronic endometritis:

potential cause of infertility and obstetric and neonatal complications." *American Journal of Reproductive Immunology* 75, no. 1 : 13-22.

Kitaya, Kotaro, and Tadahiro Yasuo. 2010. "Aberrant expression of selectin E, CXCL1, and CXCL13 in chronic endometritis." *Modern Pathology* 23, no. 8 : 1136-1146.

Kitaya, Kotaro, and Tadahiro Yasuo. 2011. "Immunohistochemistrical and clinicopathological characterization of chronic endometritis." *American Journal of Reproductive Immunology* 66, no. 5 : 410-415.

Kitaya, Kotaro, and Tadahiro Yasuo. 2013. "Inter-observer and intra-observer variability in immunohistochemical detection of endometrial stromal plasmacytes in chronic endometritis." *Experimental and Therapeutic Medicine* 5, no. 2 : 485-488.

Kitaya, Kotaro, Takumi Takeuchi, Shimpei Mizuta, Hidehiko Matsubayashi, and Tomomoto Ishikawa. 2018. "Endometritis: new time, new concepts." *Fertility and Sterility* 110, no. 3 : 344-350.

Kitaya, Kotaro, Takeshi Yamaguchi, Tadahiro Yasuo, Tomoharu Okubo, and Hideo Honjo. 2007. "Post-ovulatory rise of endometrial CD16(-) natural killer cells: In situ proliferation of residual cells or selective recruitment from circulating peripheral blood?". Journal of Reproductive Immunology 76, no. 1-2 : 45-53.

Koert, Emily., G. M. H. Malling, R. Sylvest, M.C. Krog, A. Kolte, L. Schmidt and H. Nielsen. 2019. "Recurrent pregnancy loss: couples' perspectives on their need for treatment, support and follow up." *Human Reproduction* 34 : 291–296.

Kofod, Louise, Anette Lindhard, Michael Bzorek, Jens Ole Eriksen, Lise Grupe Larsen, and Thomas Vauvert F. Hviid. 2017. "Endometrial immune markers are potential predictors of normal fertility and pregnancy after in vitro fertilization." *American Journal of Reproductive* I*mmunology* 78, no. 3 : e12684.

Kolte, A. M., L. A. Bernardi, O. B. Christiansen, S. Quenby, R. G. Farquharson, M. Goddijn, and M. D. Stephenson. 2015. "Terminology for pregnancy loss prior to viability: a consensus statement from the ESHRE early pregnancy special interest group." *Human Reproduction* 30, no. 3 : 495-498.

Kolte, Astrid M., Lis Raabæk Olsen, E. M. Mikkelsen, O. B. Christiansen, and Henriette Svarre Nielsen. 2015. "Depression and emotional stress is highly prevalent among women with recurrent pregnancy loss." *Human Reproduction* 30, no. 4 : 777-782.

Kuon, Ruben J., K. Vomstein, M. Weber, F. Müller, C. Seitz, S. Wallwiener, T. Strowitzki, E.Schleussner, U.R.Markert et al. 2017. „The "killer cell story" in recurrent miscarriage: association between activated peripheral lymphocytes and uterine natural killer cells". *Journal of Reproductive Immunology* 119 : 9-14.

Kuon, Ruben-J., Maja Weber, Julia Heger, Isabel Santillán, Kilian Vomstein, Christin Bär, Thomas Strowitzki, Udo R. Markert, and Bettina Toth. 2017. "Uterine natural killer cells in patients with idiopathic recurrent miscarriage." *American Journal of Reproductive* I*mmunology* 78, no. 4 : e12721.

Kuon, Ruben-J., Markert, U., Daniel, V. *et al.* 2013. Immunologische Aspekte habitueller Aborte. *Gynäkologische Endokrinologie* **11,** 109–114.

Kuroda, Keiji, R. Venkatakrishnan, S. James, S. Šućurović, B. Mulac-Jericevic, E.S. Lucas, S. Takeda, A. Shmygol, J.J. Brosens, and S. Quenby. 2013. "Elevated periimplantation uterine natural killer cell density in human endometrium is associated with impaired corticosteroid signaling in decidualizing stromal cells." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 98, no. 11 : 4429-4437.

Kutteh, William H. 2014. "Antiphospholipid antibody syndrome and reproduction." *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 26, no. 4 : 260-265.

Kutteh, William H. 2015. "Novel strategies for the management of recurrent pregnancy loss."*Seminars in Reproductive Medicine"*, 33, no. 03 : 161-168.

Kwak-Kim, Joanne, Shihua Bao, Sung Ki Lee, Joon Woo Kim, and Alice Gilman-Sachs. 2014. "Immunological modes of pregnancy loss: inflammation, immune effectors, and stress." *American Journal of Reproductive Immunology* 72, no. 2 : 129-140.

Kyono, Koichi, Tomoko Hashimoto, Yoko Nagai, and Yoshiyuki Sakuraba. 2018. "Analysis of endometrial microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing among infertile

patients: a single-center pilot study." *Reproductive Medicine and Biology* 17, no.3: 297-306.

Lachapelle, Marie-Helene, Pierre Miron, Robert Hemmings, and Denis Claude Roy. 1996. "Endometrial T, B, and NK cells in patients with recurrent spontaneous abortion. Altered profile and pregnancy outcome." *The Journal of Immunology* 156, no. 10 : 4027-4034.

Laird, Susan M., N. Mariee, L. Wei, and T. C. Li. 2011. "Measurements of CD56+ cells in peripheral blood and endometrium by flow cytometry and immunohistochemical staining in situ." *Human Reproduction* 26, no. 6 : 1331-1337.

Larsen, Elisabeth Clare, Ole Bjarne Christiansen, Astrid Marie Kolte, and Nick Macklon. 2013. "New insights into mechanisms behind miscarriage." *BMC medicine* 11, no.1 : 154.

Lash, Gendie E., Judith N. Bulmer, Tin Chiu Li, Barbara A. Innes, Najat Mariee, Gnyaneshwari Patel, Jean Sanderson, Siobhan Quenby, and Susan M. Laird. 2016. "Standardisation of uterine natural killer (uNK) cell measurements in the endometrium of women with recurrent reproductive failure." *Journal of Reproductive Immunology* 116 : 50-59.

Li, Ying Hong, and Anthony Marren. 2018. "Recurrent pregnancy loss." *Australian Journal of General Practice* 47, no. 7 : 432.

Liu, Beiyu, Najat Mariee, Susan Laird, John Smith, Jie Li, and T. C. Li. 2014. "The prognostic value of uNK cell count and histological dating in the mid-luteal phase of women with reproductive failure." *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 181 : 171-175.

Liu, Yingyu, Xiaoyan Chen, Jin Huang, Chi-Chiu Wang, Mei-Yung Yu, Susan Laird, and Tin-Chiu Li. 2018. "Comparison of the prevalence of chronic endometritis as determined by means of different diagnostic methods in women with and without reproductive failure." *Fertility and Sterility* 109, no. 5 : 832-839.

Lopez-Vergès, Sandra, J.M. Milush, S. Pandey, V.A. York, J. Arakawa-Hoyt, H. Pircher, P.J. Norris et al. 2010. "CD57 defines a functionally distinct population of mature NK cells in the human $CD56^{dim}CD16^{+}$ NK-cell subset." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 116, no. 19 : 3865-3874.

Manaster, Irit, and Ofer Mandelboim. 2010. "The unique properties of uterine NK cells." *American Journal of Reproductive Immunology* 63, no. 6 : 434-444.

Mariee, Najat, Elizabeth Tuckerman, Agzil Ali, Wei Li, Susan Laird, and Tin Chiu Li. 2012. "The observer and cycle-to-cycle variability in the measurement of uterine natural killer cells by immunohistochemistry. " *Journal of Reproductive Immunology* 95, no. 1-2 : 93-100.

Mariee, Najat, Tin Chiu Li, and Susan M. Laird. 2012. "Expression of leukaemia inhibitory factor and interleukin 15 in endometrium of women with recurrent implantation failure after IVF; correlation with the number of endometrial natural killer cells." *Human Reproduction* 27, no. 7 : 1946-1954.

Marquard, Kerri, Lynn M. Westphal, Amin A. Milki, and Ruth B. Lathi. 2010. "Etiology of recurrent pregnancy loss in women over the age of 35 years." *Fertility and Sterility* 94, no. 4 : 1473-1477.

Matteo, Maria, Ettore Cicinelli, Pantaleo Greco, Francesca Massenzio, Domenico Baldini, Teresa Falagario, et al. 2009. "Abnormal pattern of lymphocyte subpopulations in the endometrium of infertile women with chronic endometritis." *American Journal of Reproductive immunology* 61, no. 5 : 322-329.

McQueen, Dana B., Candice O. Perfetto, Florette K. Hazard, and Ruth B. Lathi. 2015. "Pregnancy outcomes in women with chronic endometritis and recurrent pregnancy loss." *Fertility and Sterility* 104, no. 4 : 927-931

Michimata, Toshihiko, M. S. Ogasawara, H. Tsuda, K. Suzumori, K. Aoki, M. Sakai, M. Fujimura, K. Nagata, M. Nakamura, and S. Saito. 2002. "Distributions of endometrial NK cells, B cells, T cells, and Th2/Tc2 cells fail to predict pregnancy outcome following recurrent abortion." *American Journal of Reproductive Immunology* 47, no.4 : 196-202.

Miyakis, Spyridon, M. D. Lockshin, T. Atsumi, D. W. Branch, R. L. Brey, R. H. W. M. Cervera, R. H. W. M. Derksen et al. 2006. "International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS)." *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 4, no. 2 : 295-306.

Moffett, Ashley, and Francesco Colucci. 2014. "Uterine NK cells: active regulators at the maternal-fetal interface." *The Journal of* Cl*inical Investigation* 124, no. 5 : 1872-1879.

Moffett, Ashley, and Norman Shreeve. 2015. "First do no harm: uterine natural killer (NK) cells in assisted reproduction." *Human Reproduction* 30, no. 7 : 1519-1525.

Moffett, Ashley, Olympe Chazara, and Francesco Colucci. 2017. "Maternal allo-recognition of the fetus." *Fertility and Sterility* 107, no. 6 : 1269-1272.

Mor, Gil, Paulomi Aldo, and Ayesha B. Alvero. 2017. "The unique immunological and microbial aspects of pregnancy." *Nature Reviews Immunology* 17, no. 8 : 469.

Moreno, Inmaculada, Ettore Cicinelli, Iolanda Garcia-Grau, Marta Gonzalez-Monfort, Davide Bau, Felipe Vilella, Dominique De Ziegler et al. 2018. "The diagnosis of chronic endometritis in infertile asymptomatic women: a comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology." American Journal of Obstetrics and Gynecology 218, no. 6 : 602-e1.

Moreno, Inmaculada, Francisco M. Codoñer, Felipe Vilella, Diana Valbuena, Juan F. Martinez-Blanch, Jorge Jimenez-Almazán, Roberto Alonso et al. 2016. "Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure." *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 215, no. 6 : 684-703.

Nakashima, Akitoshi, Tomoko Shima, Kumiko Inada, Mika Ito, and Shigeru Saito. 2012. "The balance of the immune system between T cells and NK cells in miscarriage." *American Journal of Reproductive Immunology* 67, no. 4 : 304-310.

Nielsen, Carolyn M., Matthew J. White, Martin R. Goodier, and Eleanor M. Riley. 2013. "Functional significance of CD57 expression on human NK cells and relevance to disease." *Frontiers in Immunology* 4 : 422.

Park, Hyun Jong, You Shin Kim, Tae Ki Yoon, and Woo Sik Lee. 2016."Chronic endometritis and infertility." *Clinical and Experimental Reproductive Medicine* 43, no. 4 : 185.

Popescu, Filoteia, Carolyn R. Jaslow, and William H. Kutteh. 2018. "Recurrent pregnancy loss evaluation combined with 24-chromosome microarray of miscarriage tissue provides a probable or definite cause of pregnancy loss in over 90% of patients." *Human Reproduction* 33, no. 4 : 579-587.

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. 2012."Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion." *Fertility and Sterility* 98, no. 5 : 1103-11.

Quenby, Siobhan, M. Bates, T. Doig, J. Brewster, D. I. Lewis-Jones, P. M. Johnson, and G. Vince. 1999. "Pre-implantation endometrial leukocytes in women with recurrent miscarriage." *Human Reproduction* 14, no. 9 : 2386-2391.

Quenby, Siobhan, Helena Nik, Barbara Innes, Gendie Lash, Mark Turner, Jo Drury, and Judith Bulmer. 2009. "Uterine natural killer cells and angiogenesis in recurrent reproductive failure." *Human Reproduction* 24, no. 1 : 45-54.

Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG) Green-top Guideline no.17. 2011. "The investigation and treatment of couples with recurrent first-trimester and second-trimester miscarriage." *RCOG: London, UK.*

Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG) Scientific impact paper no.53. 2016. "The role of natural killer cells in human fertility". *RCOG: London, UK.*

Romero, Roberto, Jimmy Espinoza, and Moshe Mazor. 2004. "Can endometrial infection/inflammation explain implantation failure, spontaneous abortion, and preterm birth after in vitro fertilization?." *Fertility and Sterility* 82, no. 4 : 799-804.

Russell, Peter, Gavin Sacks, Kelton Tremellen, and Alison Gee. 2013. "The distribution of immune cells and macrophages in the endometrium of women with recurrent reproductive failure. III: Further observations and reference ranges." *Pathology* 45, no. 4 : 393-401.

Saccone, Gabriele, Corina Schoen, Jason M. Franasiak, Richard T. Scott Jr, and Vincenzo Berghella. 2017. "Supplementation with progestogens in the first trimester of pregnancy to prevent miscarriage in women with unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials." *Fertility and Sterility* 107, no. 2 : 430-438.

Sacks, Gavin. 2015. "Enough! Stop the arguments and get on with the science of natural killer cell testing." *Human Reproduction* 30, no. 7 : 1526-1531.

Sacks, Gavin. 2014. „NK cells in peripheral blood and the endometrium“. In Recurrent pregnancy Loss, First addition, edited by Ole B. Christiansen, 29-37. Published by John Wiley & Sons Ltd.

Sacks, Gavin. 2015. “Reproductive immunology: the relevance of laboratory research to clinical practice (and vice versa)”. Human Reproduction 30, no. 2 : 253-255

Saito, Shigeru, Akitoshi Nakashima, and Tomoko Shima. 2011. "Future directions of studies for recurrent miscarriage associated with immune etiologies." *Journal of Reproductive Immunology* 90, no.1 : 91-95.

Saito, Shigeru, Akitoshi Nakashima, Tomoko Shima, and Mika Ito. 2010. "Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy." *American Journal of Reproductive Immunology* 63, no. 6 : 601-610.

Salker, Madhuri, Gijs Teklenburg, Mariam Molokhia, Stuart Lavery, Geoffrey Trew, Tepchongchit Aojanepong, Helen J. Mardon et al. 2010. "Natural selection of human embryos: impaired decidualization of endometrium disables embryo-maternal interactions and causes recurrent pregnancy loss." *PloS one* 5, no. 4 : e10287.

Salmon, Jane E., and Guillermina Girardi. 2004. "The role of complement in the antiphospholipid syndrome." *Current Directions in Autoimmunity* 7 : 133-148.

Santillán, Isabel, Ignacio Lozano, Julia Illán, Victoria Verdú, Santiago Coca, Jose Manuel Bajo-Arenas, and Felipe Martinez. 2015. "Where and when should natural killer cells be tested in women with repeated implantation failure?." *Journal of Reproductive Immunology* 108 : 142-148.

Seshadri, Srividya, and Sesh Kamal Sunkara. 2014. "Natural killer cells in female infertility and recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis." *Human Reproduction Update* 20, no. 3 : 429-438.

Simon, Carlos. 2018. "Introduction: Do microbes in the female reproductive function matter?." *Fertility and Sterility* 110, no. 3 : 325-326.

Tang, Ai-Wei, Z. Alfirevic, and Siobhan Quenby. 2011. "Natural killer cells and pregnancy outcomes in women with recurrent miscarriage and infertility: a systematic review." *Human Reproduction* 26, no. 8 : 1971-1980.

Thangaratinam, Shakila, Alex Tan, Ellen Knox, Mark D. Kilby, Jayne Franklyn, and Arri Coomarasamy. 2011. "Association between thyroid autoantibodies and miscarriage and preterm birth: meta-analysis of evidence." *British Medical Journal* 342 : d2616.

Ticconi, Carlo, Adalgisa Pietropolli, Nicoletta Di Simone, Emilio Piccione, and Asgerally Fazleabas. 2019. "Endometrial immune dysfunction in recurrent pregnancy loss." *International Journal of Molecular Sciences* 20, no. 21 : 5332.

Toth, Bettina, Wolfgang Würfel, Michael Bohlmann, Johannes Zschocke, Sabine Rudnik-Schöneborn, Frank Nawroth, Ekkehard Schleußner et al. 2018. "Recurrent miscarriage: diagnostic and therapeutic procedures. Guideline of the DGGG, OEGGG and SGGG (S2k-Level, AWMF Registry Number 015/050)." *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 78, no. 4 : 364.

Tuckerman, Elizabeth, Najat Mariee, Alka Prakash, Tin C. Li, and Susan Laird. 2010."Uterine natural killer cells in peri-implantation endometrium from women with repeated implantation failure after IVF." *Journal of Reproductive Immunology* 87, no. 1-2 : 60-66.

Tuckerman, Elizabeth., S. M. Laird, A. Prakash, and T. C. Li. 2007. "Prognostic value of the measurement of uterine natural killer cells in the endometrium of women with recurrent miscarriage." *Human Reproduction* 22, no. 8 : 2208-2213.

van den Boogaard, Emmy, D.M. Cohn, J.C. Korevaar, F. Dawood, R.Vissenberg, S. Middeldorp, M. Goddijn, and R.G. Farquharson. 2013. "Number and sequence of

preceding miscarriages and maternal age for the prediction of antiphospholipid syndrome in women with recurrent miscarriage." *Fertility and Sterility* 99, no. 1: 188-192.

van den Boogaard, E., S. P. Kaandorp, M. T. M. Franssen, B. W. J. Mol, N. J. Leschot, C. H. Wouters, F. Van der Veen et al. 2010. "Consecutive or non-consecutive recurrent miscarriage: is there any difference in carrier status?." *Human Reproduction* 25, no. 6 : 1411-1414.

Varla-Lefterioti, Marighoula. 2014. "The Immunobiology of Recurrent Miscarriage". In Recurrent Pregnancy Loss: Causes, Controversies and Treatment, edited by Howard J.A.Carp, 2nd edition, 233-243. CRC Press, Taylor&Francis Group, LLC.

Varla-Leftherioti, Marighoula, and Theodora Keramitsoglou. 2016. "Natural killer (NK) cell receptors and their role in pregnancy and abortion. Journal of Immunobiology. 1:107

Vassiliadou, N., and J. N. Bulmer. 1996. "Immunohistochemical evidence for increased numbers of 'classic'CD57+ natural killer cells in the endometrium of women suffering spontaneous early pregnancy loss." *Human Reproduction* 11, no. 7 : 1569-1574.

Vitagliano, Amerigo, Carlo Saccardi, Marco Noventa, Attilio Di Spiezio Sardo, Gabriele Saccone, Ettore Cicinelli, Sara Pizzi et al. 2018. "Effects of chronic endometritis therapy on in vitro fertilization outcome in women with repeated implantation failure: a systematic review and meta-analysis." *Fertility and Sterility* 110, no.1 : 103-112.

von Rango, Ulrike, Irmgard Classen-Linke, Sonja Kertschanska, Birgit Kemp, and Henning M. Beier. 2001. "Effects of trophoblast invasion on the distribution of leukocytes in uterine and tubal implantation sites." *Fertility and Sterility* 76, no. 1 : 116-124.

Wang, Nathalie F., Astrid M. Kolte, Elisabeth C. Larsen, Henriette S. Nielsen, and Ole B. Christiansen. 2016. "Immunologic abnormalities, treatments, and recurrent pregnancy loss: what is real and what is not?." *Clinical Obstetrics and Gynecology* 59, no. 3 : 509-523.

Wegmann Thomas G. 1987. "Placental immunotrophism: maternal T cells enhance placental growth and function." *American Journal of Reproductive Immunology and Microbiology* 15, no. 2 : 67-70.

Winger, Edward E. 2007. "CD57+ cells and recurrent spontaneous abortion." *American Journal of Reproductive Immunology* 58, no. 4 : 311-314.

Wu, Yang, Zhigang Tian, and Haiming Wei. 2017. "Developmental and functional control of natural killer cells by cytokines." *Frontiers in Immunology* 8 : 930.

Yang, Fenglian, Qingliang Zheng, and Liping Jin. 2019. "Dynamic function and composition changes of immune cells during normal and pathological pregnancy at the maternal-fetal interface." *Frontiers in Immunology* 10.

Yarbrough, Victoria L., Sean Winkle, and Melissa M. Herbst-Kralovetz. 2015. "Antimicrobial peptides in the female reproductive tract: a critical component of the mucosal immune barrier with physiological and clinical implications." *Human Reproduction Update* 21, no. 3 : 353-377.

Youssef, Angelos, Nathalie Vermeulen, E.E. Lisa O Lashley, Mariette Goddijn, Marie Louise P van der Hoorn. 2019. "Comparison and appraisal of (inter)national recurrent pregnancy loss guidelines." *Reproductive Biomedicine Online* 39, no. 3 : 497-503. DOI: 10.1016/j.rbmo.2019.04.008

Zolghadri, Jaleh, Mozhdeh Momtahan, Khatereh Aminian, Fariborz Ghaffarpasand, and Zohreh Tavana. 2011. "The value of hysteroscopy in diagnosis of chronic endometritis in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion." *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 155, no. 2 : 217-220.

## *დისერტაციის თემასთან დაკავშირებული სამეცნიერო პუბლიკაციები*

- Maia Chiokadze, Jenaro Kristesashvili. Immunobiological Mechanisms and Management of Recurrent Pregnancy Loss. Georgian Medical News. No6 (291) 2019. 26-31; ISSN 1512-0112

- Maia Chiokadze, Jenaro Kristesashvili. On the Issue of Standardization of Uterine Natural Killer Cell Measurement in Patients with Recurrent Pregnancy Loss. Georgian Medical News. No9 (294) 2019. 31-36; ISSN 1512-0112

- M.Chiokadze, C.Bär, J.Pastuscheck, P.Streicher, B.Don'skoi, E.Schleußner, U.Markert, R.Favaro. Evaluation of Natural Killer Cell Markers CD16, CD56 and CD57 in the Endometrium of Women with Recurrent Pregnancy Loss. Abstract. P62. The 39th Annual Meeting of The American Society for Reproductive Immunology. 12-15 June, 2019, Grand Rapids, Michigan, USA. Am J Reprod Immunol; 2019;81(suppl.1), p.66.

- U.Markert, B.Toth, J.Pastuscheck, M.Weber, C.Bär, J.Heger, P.Streicher, M.Chiokadze, R.Favaro, E.Schleußner et al., Endometrial NK and Plasma Cells in Infertile Women. Abstract.P2.8. International Federation of Placenta Associations 2019 (IFPA2019) and the 8th Latin American Symposium on Maternal-Fetal Interaction and Placenta (VIII SLIMP). 10-13 September, Buenos Aires, Argentina. Placenta Journal, Issue 83, p. e-68

- M.Chiokadze, C.Bär, J. Pastuschek, B. Dons'koi, K.G.Khazhylenko, E.Schleussner, U.R.Markert, R.R.Favaro. Beyond uterine Natural Killer cell numbers in unexplained recurrent pregnancy loss: Combined analysis of CD45, CD56, CD16, CD57 and CD138. Diagnostics 2020, 10, 650; doi:10.3390/diagnostics10090650

*<u>მოხსენებები სადისერტაციო ნაშრომის თემაზე</u>*

ნაშრომის ფრაგმენტების აპრობაცია კვლევის სხვადასხვა ეტაპებზე განხორციელდა:

- ივ.ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის მედიცინის ფაკულტეტის კოლოქვიუმებზე 2016-2020 წწ-ში.
- მედიკოსთა 42-ე საერთაშორისო სკოლა-კონფერენციაზე: "თანამედროვე კლინიკური მედიცინა. მიღწევები და ტექნოლოგიები". მოხსენება- „ლიმფოციტების სუბპოპულაციებისა და ციტოკინების პროფილი ქალებში უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგებით". 2017წ. თებერვალი, ბაკურიანი, საქართველო.
- იენის ფრიდრიხ შილერის სახ. საუნივერსიტეტო კლნიკის სამეცნიერო-კვლევთი ცენტრის ლაბორატორია „პლაცენტას" სამეცნიერო სხდომა. ორალური პრეზენტაცია, სათაურით: „Pattern of Endometrial Lymphocyte Subpopulations in Women with Unexplained Recurrent Pregnancy Loss". 25.10.2018 წ. იენა, გერმანია.
- მედიკოსთა 46-ე საერთაშორისო სკოლა-კონფერენციაზე: "თანამედროვე კლინიკური მედიცინა. მიღწევები და ტექნოლოგიები. ახალი ათასწლეულის მედიცინა". მოხსენება:"ენდომეტრიუმის იმუნური უჯრედების როლი ქალებში ორსულობის განმეორებითი დანაკარგებით". ჩაქვი, საქართველო, 6-14/07/2019
- რეპროდუქციული მედიცინის ცენტრ „უნივერსის" სამეცნიერო სხდომაზე, კვლევითი პროექტი 2-ის მოხსენება. პრეზენტაცია სახელწოდებით: „ენდომეტრიუმის ლიმფოციტთა სუბპოპულაციები ქალებში უცნობი გენეზის ორსულობის განმეორებითი დანაკარგებით". 15/01/2020.