

Aborti ricorrenti: qual è il ruolo delle citochine?

M. BRINCAT

L'aborto ricorrente è definito come tre o più aborti consecutivi prima della 20^a settimana di gestazione (1, 2). Questa condizione è un problema riproduttivo frequente in tutto il mondo, che riguarda fino all'1% delle coppie (3, 4). L'incidenza è maggiore di quella che ci si aspetterebbe se fosse dovuta solo al caso. Se fino al 15% di tutte le gravidanze clinicamente accertate terminano con un aborto, allora il rischio teorico di avere tre aborti consecutivi è dello 0,34% (5). Pertanto, alla base della perdita della gravidanza di un certo numero di donne che soffrono di aborti ricorrenti dovrà esserci una causa persistente (6). La fisiopatologia è complessa e coinvolge fattori sia materni che fetali, ed è possibile che più di uno vi contribuisca (6). I due principali fattori di rischio indipendenti di aborto ricorrente sono l'età avanzata della madre e il maggior numero di precedenti aborti (7). Tra i meccanismi di base materni vi sono patologie uterine, disfunzioni endocrine, trombofilie, e sindrome anti-fosfolipidi (8). Anomalie genetiche o di sviluppo del feto possono contribuire anch'esse all'aborto ricorrente (1). Tuttavia, fino al 50% dei casi sono idiomatici (1). La disfunzione delle cellule effettrici immuni è stata implicata nella patogenesi della perdita precoce della gravidanza (9). Questa disfunzione può coinvolgere difetti di citochine, fattori di crescita e fattori immunosoppressivi a livello dell'interfaccia materno/fetale (6). È questo un campo di ricerca in crescita, specialmente per quanto riguarda il ruolo delle citochine nell'aborto ricorrente.

Che cosa sono le citochine?

Le citochine sono proteine o glicoproteine solubili prodotte dai leucociti, e in molti casi anche da altri ti-

pi cellulari. Esse agiscono da comunicatori chimici tra le cellule, ma di per sé non sono molecole effettrici. Una caratteristica comune alla maggior parte delle citochine è che sono regolatori della difesa dell'ospite contro i patogeni e/o della risposta infiammatoria. La maggioranza delle citochine sono secrete, ma alcune possono anche essere espresse sulla membrana cellulare, mentre altre vengono tenute di riserva nella matrice extracellulare (10).

Le citochine si legano a specifici recettori sulla superficie delle cellule bersaglio. Questi recettori sono accoppiati alla traduzione del segnale intracellulare e alle vie dei secondi messaggeri. Le citochine sono per lo più fattori di crescita e/o di differenziazione. Esse agiscono in genere sulle cellule nel sistema ematopoietico (10).

Quattro sono le caratteristiche-chiave della maggior parte delle citochine:

- **Pleiotropismo** – La maggior parte delle citochine hanno più di un'azione, e ciò perché i loro recettori sono espressi su più tipi cellulari. Di conseguenza, le vie di segnalazione attivate aumenteranno l'espressione genica specifica di quel tipo cellulare.
- **Ridondanza** – La maggior parte delle citochine hanno effetti biologici osservati anche in un'altra citochina. Ciò è dovuto al fatto che ci sono segnali simili generati da differenti citochine, a causa delle somiglianze delle sequenze amminoacidiche dei recettori delle citochine.
- **Potenza** – La maggior parte delle citochine agiscono nel range nanomolare o femtomolare, perché i recettori delle citochine hanno un'affinità molto elevata per i loro ligandi.
- **Azione quale parte di una rete o cascata** – La maggior parte delle citochine fanno parte di una cascata di citochine rilasciate in successione. Esse agiscono spesso sinergicamente e, nella maggior parte dei casi, sono controregolate da citochine inibitrici o da recettori solubili.

Le citochine sono raggruppate in famiglie, a seconda della struttura dei loro recettori, che hanno caratteristiche strutturali altamente conservate. Ciò fornisce una spiegazione della ridondanza negli effetti biologici tra citochine.

Le principali famiglie di recettori delle citochine sono 6 (Fig. 1). Ogni famiglia è definita da sequenze simili nei loro domini citosolici. All'interno di ciascuna famiglia ci sono omologie nelle sequenze dei recettori, a livello sia intracellulare che extracellulare. Tuttavia, ci sono anche differenze, particolarmente a livello extracellulare, dove si possono trovare ulteriori domini.

In generale, le funzioni delle citochine appartenenti a ciascuna famiglia sono anch'esse conservate (11). I principi generali del funzionamento delle citochine all'interno delle famiglie sono stati chiariti. Ciò può fornire una rete dalla quale affrontare le complessità che si incontrano quando si studiano le funzioni delle citochine.

L'immunologia della gravidanza

I recenti progressi nell'immunologia della riproduzione hanno cercato di chiarire in quale modo il feto si sottrae allo specifico attacco immunologico. Il sistema immunitario materno in gravidanza si adatta in maniera tale che c'è un certo controllo della soppressione

per evitare il rigetto dei tessuti fetali (paterni), pur conservando l'immunocompetenza per combattere le infezioni. Ci sono, tuttavia, altre potenziali funzioni delle cellule immunitarie e delle citochine, tra cui quelle di favorire la comunicazione madre-feto e il riconoscimento della gravidanza da parte dell'organismo materno, in modo da potere eseguire opportune modificazioni fisiologiche, ad esempio nel sistema della coagulazione e nell'endotelio vasale. Inoltre, alcune citochine agiscono infatti quali fattori di crescita locali e favoriscono la crescita del feto (12).

Medawar aveva osservato che il rigetto di alloinnesti cutanei potrebbe essere prevenuto con la somministrazione di cortisone, e poiché sapeva che in gravidanza i livelli di steroidi sono elevati, formulò l'ipotesi dell'"allogravidanza fetale". Egli suppose che la separazione anatomica del feto dalla propria madre, la maturità antigenica del feto, e l'inerzia immunologica della madre portavano alla sopravvivenza del feto (13). Tuttavia, venne anche ipotizzato un modello alternativo di gravidanza, che ha portato al paradosso di Medawar-Schwartzman.

La reazione localizzata di necrosi emorragica di Schwartzman è indotta in alcuni animali da una iniezione di innesco di endotossina, seguita dopo 24 ore da una iniezione endovenosa subletale della stessa endotossina (14). Lesioni anatomopatologiche identiche si osservano in animali gravidi dopo un'unica iniezione endovenosa di endotossina, senza necessità di una

FAMIGLIA	CARATTERISTICA PRINCIPALE DEL RECETTORE	MEMBRI	FUNZIONE CONDIVISA	STRUTTURA DELLA CITOCINA
Recettori dell'ematopoietina (recettori di tipo I)	Box 1/2, citosolici Sequenza WSXWS, extracellulare	IL-6R, G-CSFR, IL-12R, IL-2R β , IL-2R γ , IL-4R, IL-3R α , IL-7R α , IL-9R, GM-CSFR, EpoR, prolattina R, GH-R, Tpo-R	Attivazione delle cellule T/B Ematopoiesi	4 fasci di α -eliche
Recettori dell'interferone (recettori di tipo III)	Box 1/2, citosolici Domini extracellulari per la fibronectina	IFN α/β , IL-10R	Antivirale (non IL-10)	4 fasci di α -eliche
Recettori del TNF	"Dominio di morte" Quattro regioni extracellulari ricche di Cys	P55 TNFR, p75 TNFR, LT(TNF) β R, CD40, CD30, CD27, OX40, TRAMP(DR3), TRAIL(DR4), 4-1BB, NGFR	Proinfiammatoria	Motivo a jelly roll
Recettori dell'IL-1/Toll-simili	Dominio citosolico Toll/IL-1R (sottogruppo IL-1R) o repeat ricchi in leucina (sottogruppo TLR) extracellulari	IL-1RI, IL-1RII, IL-18R catene α/β , TIGGIR-1, SIGIRR, TLR1, TLR10	Proinfiammatoria	β -cristallo
Recettori della tirosin chinasi	Dominio citosolico per la tirosin chinasi	M-CSFR, EGFR, TGF, IGF, FGF	Fattori di crescita	β -sheet
Recettori delle chemiochine	7 regioni spanning transmembrana	IL-8, MCP, RANTES, Eotassina	Chemiotattica	β -sheet a triplo filamento antiparallelo in motivo a chiave greca

Fig. 1 - Le sei differenti famiglie di recettori delle citochine. (Modificata, dalla voce bibliografica 10).

iniezione di innesco (15). Le donne gravide potrebbero essere ugualmente suscettibili a risposte esagerate alla endotossina durante la gestazione. L'“agente di innesco” potrebbe essere lo stesso cortisone, attraverso meccanismi aspecifici che coinvolgono i monociti e le cellule *natural killer* (NK) (16). Fattore di crescita tumorale alfa (TNF α , *Tumor Necrosis Factor α*), interferone gamma (IFN γ) e interleuchina-2 (IL-2) sono stati identificati quali citochine-chiave per la reazione di Schwarzman generalizzata (17). Pertanto, il sistema immunitario materno è soppresso in un modello, ma innescato per rispondere nell'altro. La spiegazione risiede nella modulazione differenziale dei due bracci principali del sistema immunitario: l'innato (aspecifico) e l'adattativo (specifico), che hanno entrambi componenti cellulari e umorali (12).

Il sistema innato è la prima linea di difesa, che porta al “segnale 1”. Esso stimola anche il sistema adattativo, che è efficace nell'eliminare le infezioni. L'antigene viene presentato sulla superficie della cellula in associazione con proteine del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC, *Major Histocompatibility Complex*). Ciò scatena l'attivazione delle cellule T-helper CD4+ (cellule Th) che producono citochine, e a loro volta coordinano la risposta effettrice (“segnale 2”) (18). Nel “segnale 1”, il sistema innato sembra in grado di distinguere tra pericoloso e non-pericoloso (19).

Risposta T-helper vs T-helper 2

Le cellule T-helper attivate si differenziano in Th1 e Th2. Esse hanno differenti risposte immuni attraverso quadri differenti di produzione di citochine (20, 21). Gli studi sulla gravidanza umana e murina dimostrano una forte associazione, da un lato, tra immunità materna di tipo Th1 e perdita della gravidanza, e dall'altro tra immunità di tipo Th2, insieme con il fattore di crescita trasformante beta (TGF β , *Transforming Growth Factor β*), e successo della gravidanza.

Le cellule Th1 secernono TNF α , TNF β , IFN γ e IL-2. Bassi livelli di TNF α provengono anche da alcune cellule Th2 e T citotossiche. Tuttavia, poiché livelli molto più alti di TNF α sono prodotti durante le risposte Th1 e sono dovuti ai suoi effetti citolitici che contribuiscono all'immunità cellulare, questa citochina può essere considerata come associata esclusivamente a una risposta Th1 o Th1-simile. Le citochine Th1-associate attivano i macrofagi e le reazioni cellulo-mediate coinvolte nelle infezioni resistenti dovute a patogeni intracellulari e nelle reazioni citotossiche e di ipersensibilità di tipo ritardato. Questo tipo di reazione è noto anche come risposta immune di Tipo 1 o cellulo-mediata (21, 22).

Le cellule Th2 stimolano cellule B ed eosinofili. Le citochine del tipo Th2 sono le seguenti interleuchine:

IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. Esse si accompagnano a forti risposte anticorpali alle infezioni con microrganismi extracellulari. Queste risposte immuni sono note anche come di Tipo 2 o reazioni umorali (21, 22).

Le cellule Th3 sono un gruppo unico di cellule T-helper CD4+ che si trovano nelle mucose e intervengono nella down-regolazione delle cellule Th1 e di altre cellule immuni. Inoltre, queste due risposte sono notoriamente antagonistiche. Infatti, IL-10 agisce sulle cellule che presentano l'antigene, inibendo quindi lo sviluppo delle cellule Th1. Analogamente, IFN γ impedisce l'attivazione delle cellule Th2.

Si è ipotizzato che durante la gravidanza ci sia un piccolissimo spostamento immunologico alle risposte delle citochine di tipo Th2, che sopprimerebbero gli effetti potenzialmente dannosi del sistema immune cellulo-mediato (del tipo Th1) (23). Studi condotti negli animali hanno dimostrato che potenti fattori che promuovono Th2, come il progesterone (24) e la prostaglandina E2 (25, 26), sono presenti in alte concentrazioni all'interfaccia materno-fetale. Nei soggetti umani, a livello dell'interfaccia madre-feto c'è un'ampia varietà di citochine (sia del tipo Th1 che del tipo Th2) (27, 28). Con metodi cellulo-specifici è stata dimostrata la produzione preferenziale, da parte delle cellule del trofoblasto, di IL-4 (citochine di tipo Th2), piuttosto che di IFN γ , IL-2 o TNF α (di tipo Th1) (29).

La gravidanza è stata quindi etichettata come un “fenomeno Th2”. Ciò è suffragato dalla prova che la gravidanza tende a far migliorare preesistenti condizioni autoimmuni cellulo-mediate (23). Nelle gestanti normali si hanno produzione significativamente maggiore di IL-10 e di altre citochine da parte delle cellule mononucleate del sangue periferico attivate da mitogeni (30, 31), e ridotta espressione dell'mRNA di IL-2 (28) e IFN (32) e delle corrispondenti cellule T dCD4+ e CD8+ (33).

Si è ipotizzato che la risposta Th1, specialmente TNF α IFN γ e IL-2, sia dannosa per la sopravvivenza del prodotto del concepimento (34-36). Quando somministrati a topi femmine gravide, TNF α IFN γ e IL-2 causano aborto (37), che è allora contrastato dall'anti-TNF α . *In vitro*, TNF α e IL-2 inibiscono la crescita delle cellule del trofoblasto umano (38) e stimolano sinergicamente l'apoptosi delle cellule del trofoblasto villosa dei villi primari umano (39). Secondo un'ipotesi, il concepito si proteggerebbe secernendo citochine di tipo 2 che down-regolano quelle dannose di tipo 1 (23).

Qual è il ruolo delle citochine nell'aborto ricorrente?

Risulta chiaro dalla letteratura che nell'aborto ricorrente le citochine svolgono un ruolo importante. Nelle donne con storia di aborto ricorrente, l'attività

embriotossica era evidenziata nei supernatanti di cellule mononucleate del sangue periferico attivate da trofoblasto, che erano positive per $TNF\alpha$, $TNF\beta$ e $IFN\gamma$. Al contrario, le donne normali e gli uomini non erano embriotossici né contenevano citochine di tipo Th1, ma la maggior parte contenevano le citochine di tipo Th2 IL-10 e IL-14 (40). Pertanto, l'immunità di tipo 1 per gli antigeni trofoblastici si associa ad aborto ricorrente. Le cellule mononucleate del sangue periferico attivate da mitogeni, ottenute da donne con storia di aborto ricorrente avevano, rispetto a quelle di gestanti normali, livelli più elevati di IL-2, $IFN\gamma$ e $TNF\alpha$, e più bassi di IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10, indicativi di una maggiore tendenza al tipo 1 nell'aborto ricorrente, e al tipo 2 nella gravidanza normale (41, 42).

* * *

È stato dimostrato che, rispetto alle donne con aborto ricorrente, nelle gestanti normali non c'è uno spostamento in favore del tipo 2 dei rapporti di espressione delle citochine all'interfaccia madre-feto (28, 43). Le citochine di tipo Th2 sono rilasciate spontaneamente dal tessuto placentare in coltura (44). Ciò è stato dimostrato in studi condotti su animali, insieme all'osservazione che la perdita della gravidanza può essere causata dalle citochine Th1 (37) e prevenuta dalle citochine Th2 (45).

Un fattore importante nel guidare le cellule T CDH+ naïve verso popolazioni dominate da Th1 o Th2 è il predominio di una determinata citochina nel microambiente al momento della presentazione dell'antigene. La differenziazione Th1 è favorita da $IFN\gamma$ e IL-2, mentre IL-4 determina la polarizzazione Th2 (21, 22). IL-2 è prodotta principalmente dai macrofagi in risposta a certe infezioni microbiche, e pertanto anche infezioni subcliniche possono dar luogo a un aumento della produzione di IL-12, inducendo uno spostamento complessivo verso una tendenza di tipo 1. Lo sviluppo di Th1 è aumentato anche da $IFN\gamma$. Sia IL-12 che le infezioni virali provocano una maggiore sintesi di $IFN\gamma$ da parte delle cellule NK, che a sua volta esalta la risposta Th1.

Il prodotto del concepimento può essere considerato uno "spettatore innocente" mentre la madre lotta contro l'infezione con una vigorosa risposta proinfiammatoria di Tipo Th1 (35). Rispetto alle gestanti normali, le donne con aborto ricorrente hanno livelli significativamente più elevati di IL-12 (46). Anche ormoni come la relaxina (prodotta dal corpo luteo) possono contribuire alla differenziazione delle cellule T-helper o allo spostamento di quelle già differenziate verso un profilo di tipo 1 (47). D'altro canto, è stato dimostrato che il progesterone promuove

lo sviluppo di una risposta Th2 attraverso una proteina immunomodulatrice nota come fattore bloccante indotto dal progesterone (PIBF, *Progesterone-Induced Blocking Factor*), che inibisce *in vitro* numerose risposte Th1 (48, 49). Se, a causa di livelli ridotti di TGF β 2, manca la soppressione a livello dell'interfaccia madre-feto, può essere indotto uno spostamento Th1 (50).

È stato proposto che il danno immuno-mediato Th1 potrebbe essere dovuto alle cellule NK, simili a cellule Th1 attivate, che rilasciano citochine dannose per il trofoblasto (51). Le cellule NK deciduali producono $IFN\gamma$ che attiva i macrofagi della decidua per produrre livelli tossici di monossido di azoto (NO) e di $TNF\alpha$ (52). Le citochine Th1 possono convertire le cellule NK a cellule LAK (*Lymphokine-Activated Killer*) che, come è stato dimostrato, provocano la lisi del trofoblasto (20).

$TNF\alpha$ e $IFN\gamma$ possono portare ad apoptosi delle cellule trofoblastiche (39), inibizione della secrezione del fattore che stimola la formazione di colonie di granulociti e macrofagi (GM-CSF, *Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor*) da parte dell'epitelio uterino (23), e up-regolazione della protrombinasi fg12 (procoagulante). Quest'ultimo può essere l'effetto più importante, poiché gli anticorpi anti-fg12 riducono significativamente l'effetto del $TNF\alpha$ e dell' $IFN\gamma$ e prevengono l'aborto. È stato ipotizzato che l'aborto di embrioni umani con cariotipo normale potrebbe essere dovuto a un "processo di auto-amputazione vascolare scatenato da citochine" (53). Questo implica l'attivazione di meccanismi della coagulazione che provocano una vasculite che compromette l'apporto di sangue materno all'embrione impiantato, e la formazione di trombi (54).

Le evidenze dimostrano che $TNF\alpha$, $IFN\gamma$ e cellule NK non possono, separatamente, indurre l'aborto, ma è noto che una triade Th1-NK-macrofagi è causa di aborto, che a sua volta può essere soppresso da una risposta citochimica Th2 (23, 55). Va rilevato che, a seconda del momento in cui vengono espresse, dello stadio della gestazione, delle concentrazioni relative e della soglia di occupazione dei recettori, alcune citochine di tipo 1 possono in realtà essere benefiche, piuttosto che dannose per la gravidanza (43).

Conclusione

Negli ultimi anni, il ruolo delle citochine nell'aborto ricorrente è divenuto più chiaro. Tuttavia, molte ricerche sono ancora necessarie prima di poter consigliare, sulla base delle informazioni di cui disponiamo finora, opzioni di trattamento alle pazienti affette da questa condizione.

Bibliografia

1. SZEKERES-BARTHO J, BALASCH J. *Progesterone therapy for recurrent miscarriage*. Hum Reprod Update 2008 Jan;14(1):27-35.
2. NYBO ANDERSEN AM, WOHLFAHRT J, CHRISTENS P, OLSEN J, MELBYE M. *Maternal age and fetal loss: population based register linkage study*. BMJ 2000 Jun;320(7251):1708-12.
3. STIRRAT GM. *Recurrent miscarriage*. Lancet 1990 Sep;336(8716):673-5.
4. RAI R, REGAN L. *Recurrent miscarriage*. Lancet 2006 Aug;368(9535):601-11.
5. ALBERMAN E. *The epidemiology of repeated abortion*. In: Beard RW, Sharp F, editors. Early Pregnancy Loss: Mechanisms and Treatment. London: RCOG Press; 2008. p 9-17.
6. ROYAL COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNAECOLOGISTS. *The Investigation and Treatment of Couples with Recurrent Miscarriage*. www.rcog.org.uk 2008. Ref Type: Electronic Citation
7. NYBO ANDERSEN AM, WOHLFAHRT J, CHRISTENS P, OLSEN J, MELBYE M. *Maternal age and fetal loss: population based register linkage study*. BMJ 2000 Jun;320(7251):1708-12.
8. REGAN L, RAI R. *Thrombophilia and pregnancy loss*. J Reprod Immunol 2002 May;55(1-2):163-80.
9. KING A. *Uterine leukocytes and decidualization*. Hum Reprod Update 2000 Jan;6(1):28-36.
10. FITZGERALD KA, O'NEILL LAJ, GEARING AJH, CALLARD RE. *The cytokine facts book*. London: Academic Press; 2001.
11. TANIGUCHI T. *Cytokine signaling through nonreceptor protein tyrosine kinases*. Science 1995 Apr;268(5208):251-5.
12. SACKS GP, REDMAN C, SARGENT I. *The immunology of human pregnancy*. In: Studd J, editor. Progress in Obstetrics and Gynaecology. 15 ed. Elsevier Science Limited; 2003. p 17-32.
13. MEDAWAR P. *Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates*. Symp Soc Exp Biol 1953;(7):320-38.
14. SHWARTZMAN G. *A new phenomenon of local skin reactivity to B. typhosus culture filtrate*. Proc Soc Exp Biol Med 1928;(25):560-1.
15. BELLER FK, SCHMIDT EH, HOLZGREVE W, HAUSS J. *Septicemia during pregnancy: a study in different species of experimental animals*. Am J Obstet Gynecol 1985 Apr;151(7):967-75.
16. MORI W. *The Shwartzman reaction: a review including clinical manifestations and proposal for a univisceral or single organ third type*. Histopathology 1981 Mar;5(2):113-26.
17. OZMEN L, PERICIN M, HAKIMI J, CHIZZONITE RA, WYSOCKA M, TRINCHIERI G, GATELY M, GAROTTA G. *Interleukin 12, interferon gamma, and tumor necrosis factor alpha are the key cytokines of the generalized Shwartzman reaction*. J Exp Med 1994 Sep;180(3):907-15.
18. FEARON DT. *Seeking wisdom in innate immunity*. Nature 1997 Jul;388(6640):323-4.
19. MATZINGER P. *Tolerance, danger, and the extended family*. Annu Rev Immunol 1994;12:991-1045.
20. RAGHUPATHY R. *Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm*. Semin Immunol 2001 Aug;13(4):219-27.
21. MOSMANN TR, SAD S. *The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more*. Immunol Today 1996 Mar;17(3):138-46.
22. COFFMAN RL, ROMAGNANI S. *Redirection of Th1 and Th2 responses*. Berlin: Springer-Verlag; 1999.
23. WEGMANN TG, LIN H, GUILBERT L, MOSMANN TR. *Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon?* Immunol Today 1993 Jul;14(7):353-6.
24. PICCINNI MP, GIUDIZI MG, BIAGIOTTI R, BELONI L, GIANNARINI L, SAMPOGNARO S, PARRONCHI P, MANETTI R, ANNUNZIATO F, LIVI C. *Progesterone favors the development of human T helper cells producing Th2-type cytokines and promotes both IL-4 production and membrane CD30 expression in established Th1 cell clones*. J Immunol 1995 Jul;155(1):128-33.
25. KELLY RW, CARR GG, ELLIOTT CL, TULPPALA M, CRITCHLEY HO. *Prostaglandin and cytokine release by trophoblastic villi*. Hum Reprod 1995 Dec;10(12):3289-92.
26. KELLY RW, CRITCHLEY HO. *A T-helper-2 bias in decidua: the prostaglandin contribution of the macrophage and trophoblast*. J Reprod Immunol 1997 Jul;33(3):181-7.
27. ROBERTSON SA, SEAMARK RF, GUILBERT LJ, WEGMANN TG. *The role of cytokines in gestation*. Crit Rev Immunol 1994;14(3-4):239-92.
28. VINCE GS, JOHNSON PM. *Is there a Th2 bias in human pregnancy?* J Reprod Immunol 1996 Dec;32(2):101-4.
29. SACKS GP, CLOVER LM, BAINBRIDGE DR, REDMAN CW, SARGENT IL. *Flow cytometric measurement of intracellular Th1 and Th2 cytokine production by human villous and extravillous cytotrophoblast*. Placenta 2001 Jul;22(6):550-9.
30. HANNA N, HANNA I, HLEB M, WAGNER E, DOUGHERTY J, BALKUNDI D, PADBURY J, SHARMA S. *Gestational age-dependent expression of IL-10 and its receptor in human placental tissues and isolated cytotrophoblasts*. J Immunol 2000 Jun;164(11):5721-8.
31. MARZI M, VIGANO A, TRABATTONI D, VILLA ML, SALVAGGIO A, CLERICI E, CLERICI M. *Characterization of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic human pregnancy*. Clin Exp Immunol 1996 Oct;106(1):127-33.
32. KRUSE N, GREIF M, MORIABADI NF, MARX L, TOYKA KV, RIECKMANN P. *Variations in cytokine mRNA expression during normal human pregnancy*. Clin Exp Immunol 2000 Feb;119(2):317-22.
33. REINHARD G, NOLL A, SCHLEBUSCH H, MALLMANN P, RUECKER AV. *Shifts in the TH1/TH2 balance during human pregnancy correlate with apoptotic changes*. Biochem Biophys Res Commun 1998 Apr;245(3):933-8.
34. RAGHUPATHY R. *Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy*. Immunol Today 1997 Oct;18(10):478-82.
35. CLARK DA, ARCK PC, CHAOUAT G. *Why did your mother reject you? Immunogenetic determinants of the response to environmental selective pressure expressed at the uterine level*. Am J Reprod Immunol 1999 Jan;41(1):5-22.
36. HILL JA, POLGAR K, HARLOW BL, ANDERSON DJ. *Evidence of embryo- and trophoblast-toxic cellular immune response(s) in women with recurrent spontaneous abortion*. Am J Obstet Gynecol 1992 Apr;166(4):1044-52.
37. CHAOUAT G, MENU E, CLARK DA, DY M, MINKOWSKI M, WEGMANN TG. *Control of fetal survival in CBA x DBA/2 mice by lymphokine therapy*. J Reprod Fertil 1990 Jul;89(2):447-58.
38. HAIMOVICI F, HILL JA, ANDERSON DJ. *The effects of soluble products of activated lymphocytes and macrophages on blastocyst implantation events in vitro*. Biol Reprod 1991

- Jan;44(1):69-75.
39. YUI J, GARCIA-LLORET M, WEGMANN TG, GUILBERT LJ. *Cytotoxicity of tumour necrosis factor-alpha and gamma-interferon against primary human placental trophoblasts.* Placenta 1994 Dec;15(8):819-35.
40. HILL JA, POLGAR K, ANDERSON DJ. *T-helper 1-type immunity to trophoblast in women with recurrent spontaneous abortion.* JAMA 1995 Jun;273(24):1933-6.
41. MAKHSEED M, RAGHUPATHY R, AZIZIEH F, AL AZEMI MM, HASSAN NA, BANDAR A. *Mitogen-induced cytokine responses of maternal peripheral blood lymphocytes indicate a differential Th-type bias in normal pregnancy and pregnancy failure.* Am J Reprod Immunol 1999 Nov;42(5):273-81.
42. RAGHUPATHY R, MAKHSEED M, AZIZIEH F, OMU A, GUPTA M, FARHAT R. *Cytokine production by maternal lymphocytes during normal human pregnancy and in unexplained recurrent spontaneous abortion.* Hum Reprod 2000 Mar;15(3):713-8.
43. GUILBERT LJ. *There is a bias against type 1 (inflammatory) cytokine expression and function in pregnancy.* J Reprod Immunol 1996 Dec;32(2):105-10.
44. LIN H, MOSMANN TR, GUILBERT L, TUNTIPPIPAT S, WEGMANN TG. *Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface.* J Immunol 1993 Nov;151(9):4562-73.
45. Chaouat G, Assal MA, Martal J, Raghupathy R, Elliott JF, Mosmann T, Wegmann TG. *IL-10 prevents naturally occurring fetal loss in the CBA x DBA/2 mating combination, and local defect in IL-10 production in this abortion-prone combination is corrected by in vivo injection of IFN-tau.* J Immunol 1995 May;154(9):4261-8.
46. WILSON R, MCINNES I, LEUNG B, MCKILLOP JH, WALKER JJ. *Altered interleukin 12 and nitric oxide levels in recurrent miscarriage.* Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1997 Dec;75(2):211-4.
47. PICCINNI MP, ROMAGNANI S. *Regulation of fetal allograft survival by a hormone-controlled Th1- and Th2-type cytokines.* Immunol Res 1996;15(2):141-50.
48. SZEKERES-BARTHO J, CHAOUAT G. *Lymphocyte-derived progesterone-induced blocking factor corrects resorption in a murine abortion system.* Am J Reprod Immunol 1990 May;23(1):26-8.
49. SZEKERES-BARTHO J, WEGMANN TG. *A progesterone-dependent immunomodulatory protein alters the Th1/Th2 balance.* J Reprod Immunol 1996 Aug;31(1-2):81-95.
50. LEA RG, UNDERWOOD J, FLANDERS KC, HIRTE H, BANWATT D, FINOTTO S, OHNO I, DAYA S, HARLEY C, MICHEL M. *A subset of patients with recurrent spontaneous abortion is deficient in transforming growth factor beta-2-producing "suppressor cells" in uterine tissue near the placental attachment site.* Am J Reprod Immunol 1995 Jul;34(1):52-64.
51. BAINES MG, DUCLOS AJ, ANTECKA E, HADDAD EK. *Decidual infiltration and activation of macrophages leads to early embryo loss.* Am J Reprod Immunol 1997 Jun;37(6):471-7.
52. HADDAD EK, DUCLOS AJ, LAPP WS, BAINES MG. *Early embryo loss is associated with the prior expression of macrophage activation markers in the decidua.* J Immunol 1997 May;158(10):4886-92.
53. CLARK DA, CHAOUAT G, ARCK PC, MITTRUECKER HW, LEVY GA. *Cytokine-dependent abortion in CBA x DBA/2 mice is mediated by the procoagulant fgl2 prothrombinase [correction of prothombinase].* J Immunol 1998 Jan;160(2):545-9.
54. CLARK DA, DING JW, CHAOUAT G, COULAM CB, AUGUST C, LEVY GA. *The emerging role of immunoregulation of fibrinogen-related procoagulant Fgl2 in the success or spontaneous abortion of early pregnancy in mice and humans.* Am J Reprod Immunol 1999 Jul;42(1):37-43.
55. ARCK P, DIETL J, CLARK D. *From the decidual cell internet: trophoblast-recognizing T cells.* Biol Reprod 1999 Feb;60(2):227-33.

(Da GynEndo News 21 maggio 2008)