

Celulele uterine natural killer în sarcina normală, avorturi habituale și preeclampsie

Natural Killer uterine cells in normal pregnancy, recurrent pregnancy loss and preeclampsia

Carmen Constantinescu*, Irina Enăchescu**, Cristian Văduva***, Alice Văduva****

*medic primar obstetrică-ginecologie, Sp. Univ. C.F. Craiova

**medic rezident obstetrică-ginecologie, Sp. Jud. de Urgență Craiova

***medic primar obstetrică-ginecologie, Sp. Jud. de Urgență Craiova

****medic specialist medicină internă, Sp. Jud. de Urgență Craiova

Abstract

Decidual transformation of endometrium is a key feature of normal implantation and subsequently normal pregnancy. There is a close correlation between unusual leukocyte population, uterine natural killer (NK) cells, and the onset of decidualization. These uterine NK cells are in close contact with stromal cells and surrounding vessels and glands. These cells derive predominantly from a subset of peripheral blood NK cells, which under hormonal influence gets recruited to the uterus. The role of these cells

in human pregnancy is not yet well defined, furthermore, it is considered that fosters the placental and trophoblast growth and ensures immunomodulation at the maternal-fetal interface. There are data showing the involvement of uterine natural killer cells in the pathogenesis of unexplained recurrent pregnancy loss (RPL) and preeclampsia.

Keywords: MIF (macrophage inhibitory factor), LIF (leukemia inhibitory factor), cytokine, recurrent pregnancy loss (RPL)

Rezumat

Transformarea endometrului în deciduă este o caracteristică esențială a unei implantații și, ulterior, a unei sarcini normale. Există o strânsă corelație între o populație de leucocite aparte, celulele uterine natural killer și debutul decidualizării. Aceste celulele uterine natural killer sunt în strâns contact cu celulele stromale și înconjoară vasele și glandele. Aceste celule provin, în principal, dintr-o subpopulație de celule natural killer periferice, care sub influențe hormonale sunt recrutate la nivel uterin. Rolul acestor celule în sarcina umană nu este încă bine definit; mai mult, se consideră că favorizează dezvoltarea placentară și trofoblastică și asigură procesul de imunomodulare la nivelul interfeței maternofetale. Există date care arată implicarea celulelor uterine natural killer în patogenia avorturilor habituale neexplicate și preeclampsie.

Cuvinte-cheie: MIF (factorul inhibitor macrofagic), LIF (factorul inhibitor leucemic), citokine

Celulele natural killer uterine provin în principal din celule natural killer sangvine, care sub influență hormonală sunt recrutate la nivelul uterului. Celulele natural killer (NK) reprezintă 10-15% din limfocitele sangvine periferice. Acțiunea acestora este reglată prin intermediul receptorilor activatori și inhibitori. Antigenele de suprafață ale

acestor celule sunt CD 16 și CD 56. CD 16 este un receptor cu o afinitate scăzută pentru complexe de Ig G și este sintetizat de majoritatea celulelor natural killer. CD 16 este responsabil de citotoxicitatea celulară a celulelor NK mediată prin intermediul anticorpilor. CD 56 este o izoformă a moleculelor de adeziune a celulelor neurale (NCAM), sintetizate,

în principal, de toate celulele NK, de un număr redus de limfocite citotoxice T și de anumite țesuturi neurale⁽²⁾.

CD 69 reprezintă unul din cei mai precoce markeri de activare ai suprafeței celulare sintetizat de celulele NK. Celulele NK produc o varietate de receptori inhibitori (KIRs) și activatori (KARs), care recunosc HLA-G sintetizat de trofoblastul extravilos⁽³⁾. Endometrul uman prezintă un număr semnificativ crescut de leucocite, procentul și fenotipul acestora modificându-se în timpul ciclului menstrual. Numărul celulelor natural killer uterine variază de-a lungul ciclului menstrual. Ele sunt reduse în faza proliferativă, cresc semnificativ în faza secretorie, rămânând în număr mare în sarcina precoce și scad apoi după 20 de săptămâni gestaționale, fiind practic absente la termen⁽⁴⁾. Leucocitele reprezintă 10% din celulele stromale în faza proliferativă, 20% în faza secretorie și 30% în sarcina precoce⁽⁶⁾.

Celulele natural killer sunt originare

din măduva osoasă. După diferențiere, ele intră în circulația periferică într-o fază foarte precoce de maturare. S-a speculat că interacțiunea dintre integrina $\beta 2\alpha L$ a celulelor NK și molecula de adeziune intracelulară-1 a endoteliului vaselor deciduale induce migrarea celulelor NK din sângele periferic spre stroma endometrială sau deciduă⁽¹⁴⁾. În celulele natural killer uterine au loc câteva transformări în timpul ciclului menstrual și în sarcină. În primul rând, are loc o creștere semnificativă a numărului de celule uNK de-a lungul fazei secretorii și în sarcina precoce, ele reprezentând aproximativ 75% din leucocitele uterine. În al doilea rând, fenotipul celulelor uNK se modifică în timpul ciclului menstrual și în sarcina precoce. Sinteza antigenilor activatori CD 69 și HLA-DR, CD 11 și CD 18 este crescută în faza proliferativă și scade apoi treptat. Similar, în sarcină, are loc o scădere a sintezei mai multor markeri activatori, precum CD 69, HLA-DR și CD 45 RA. În plus, majoritatea celulelor uNK sintetizează unul sau mai mulți receptori inhibitori în sarcina precoce⁽⁷⁾.

Rolul jucat de celulele NK în procesul de implantare este încă neclar. Prezența lor în endometrul de preimplantare indică faptul că ele nu reprezintă numai un răspuns imun la moartea embrionului. Invazia extinsă a trofoblastului este necesară pentru succesul implantării și placentăției. Acest proces este reglat foarte fin: invazia excesivă conduce la bolile trofoblastice, în timp ce o invazie insuficientă determină pierderea precoce a sarcinii. Datele existente susțin teoria că leucocitele endometriale joacă un rol important în acest proces și recrutarea lor este reglată de citokine. Menținerea unei sarcinii depinde de prezența citokinelor care favorizează dezvoltarea trofoblastului - citokinele Th 2-incluzând interleukinele IL-4, IL-5 și IL-10.

Celulele uNK produc citokine, care în mod normal nu sunt produse de celulele NK periferice, precum factorul inhibitor leucemic și factorii de creștere angiogenici, conducând la conceptul că acestea pot avea funcții importante la nivel uterin⁽¹⁵⁾. Celulele uNK reprezintă o sursă de MIF, o citokină care este considerată un regulator important al inflamației, influențând atât funcțiile ereditare, cât și cele antigen specifice ale sistemului imun⁽¹⁶⁾. Se presupune că există un rol critic al acestui factor în mecanismul de

menținere a sarcinii. MIF s-a demonstrat că este sintetizat în epiteliul glandular și stroma endometrului, precum și decidua și trofoblast. Concentrația serică a acestei citokine este foarte crescută în trimestrul I, II și III de sarcină comparativ cu statusul negravid și, cel mai important, aceste concentrații sunt scăzute la pacientele cu avorturi habituale⁽¹⁷⁾.

În particular, concentrația serică a MIF este mai mică în avorturile întâlnite la pacientele cu un cariotip fetal normal decât la cele cu un cariotip fetal anormal, sugerând, astfel, rolul citokinei în etiologia avortului⁽¹⁸⁾. Aceste observații subliniază importanța celulelor uNK asupra sintezei de factori de creștere, precum factorul de creștere endotelial vascular C și angiopoietina 2. În acest context, MIF poate să joace un rol important ca mediator al procesului de neovascularizație. Această citokină este implicată în angieneză atât in vivo, cât și in vitro⁽¹⁹⁾.

Celulele uNK obținute din decidua sarcinilor precoce reprezintă o sursă majoră de factori de creștere angiogenici, care se pare că au un rol semnificativ în remodelarea arterelor spiralate în sarcina normală. Una din adaptările majore survenite în cursul sarcinii este remodelarea arterelor spiralate, unde are loc o înlocuire la nivelul mediei vasculare a structurii musculoelastice cu material fibrinoid, transformând, astfel, arterele spiralate în vase largi, dilatate și cu rezistență scăzută. Remodelarea porțiunii deciduale a arterelor spiralate este, în general, completă la 10-12 săptămâni gestaționale, iar remodelarea completă a porțiunii miometrială a acestor vase este completă la 14-16 săptămâni gestaționale. Defecte ale remodelării arterelor spiralate sunt asociate cu complicații ale sarcinii: preeclampsia, hipotrofia fetală și avorturile din trimestrul II de sarcină⁽²⁰⁾.

Celulele natural killer reprezintă populația predominantă a celulelor limfoide deciduale. În timpul sarcinii precoce ele se acumulează ca un infiltrat dens în jurul celulelor inavazive citotrofoblastice. Ele cooperează cu trofoblastul extravilos în remodelarea arterelor spiralate prin producerea de citokine care sunt implicate în procesul de angieneză și de stabilitate vasculară, precum factorul de creștere vascular endotelial (VEGF), factorul de creștere placentar (PlGF) și angiopoietina.

Primele etape ale angiogenezei sunt similare cu cele ale remodelării arteriale. Inițial, are loc dilatarea a vaselor și o creștere a permeabilității acestora, conducând la depuneri de proteine plasmatică în pereții vasculari. Aceste procese se consideră că sunt mediate predominant de oxidul nitric (ON) și VEGF A. Oxidul nitric derivat din trofoblastul extravilos se pare că nu are un rol în remodelarea arterelor spiralate. De asemenea, VEGF A poate fi detectat în stroma deciduală, dar producția de VEGF A la nivelul celulelor uNK este minimă.

VEGF A poate inhiba invazia trofoblastică in vitro, iar prezența unei concentrații crescute a acestuia la nivelul deciduei în sarcina precoce sugerează mai degrabă un rol în reglarea invaziei trofoblastice decât o funcție angiogenică. Mai mult, celulele uNK reprezintă o sursă majoră de sinteză a VEGF C la nivelul patului placentar, iar acest factor de creștere este capabil să inducă permeabilitate vasculară⁽²⁴⁾. Al doilea pas în angieneză este reprezentat de separarea fibrelor musculare netede vasculare și de o eventuală pierdere a acestora de la nivelul peretelui vascular. Ang 2 și TGF- β 1 sunt considerați factori-cheie în medierea acestor etape ale angiogenezei. Ang 1 și Ang 2 acționează prin receptorul Tie 2. Ang 1 are proprietăți proangiogenice și Ang 2 inhibă acest proces prin competiție, legându-se de Tie 2.

Celulele uNK reprezintă sursa majoră de Ang 1 și Ang 2 la nivelul patului placentar, iar raportul crescut Ang 1/Ang 2 favorizează destabilizarea vasculară. Similar cu VEGF A, concentrația de Ang 2 a celulelor uNK scade pe măsură ce sarcina avansează, sugerând din nou rolul acestui factor de creștere în remodelarea precoce a arterelor spiralate. TGF- β 1 inhibă proliferarea celulelor musculare netede vasculare și printr-un proces de „up-regulation” condiționează concentrația de actină din fibrele musculare netede⁽²⁵⁾.

Recent, un rol important îi aparține interferonului- γ (IFN- γ) derivat din celulele uNK în inițierea procesului de remodelare a arterelor spiralate⁽²³⁾. În prezența citokinelor Th-1, care includ IL-2 și interferonul IFN- γ , liza celulelor trofoblastice este favorizată. Astfel, sarcina pare să fie un status dependent de Th-2. Populația de celule natural killer uterine împreună cu celulele endometriale derivate din timus (T) reprezintă

o sursă majoră de citokine. Astfel, modificările numerice în populația de uNK pot conduce la alterări ale profilului citokinelor endometriale, determinând o perturbare a echilibrului Th-2/Th-1 în favoarea lizei celulelor trofoblastice⁽⁵⁾.

Precoce în sarcină, celulele trofoblastice extraviloase (EVT) derivate din placenta, invadează decida și stratul intern al miometrului. Există două rute de invazie a EVT: de-a lungul deciduei, determinând creșterea EVT interstițial și prin lumenul arteriolelor spiralate, determinând creșterea EVT endovascular. Interleukina 10, sintetizată în decida și placenta, este implicată în reglarea invaziei citotrofoblastice prin inhibarea sintezei matricei metaloproteinazelor, influențând calitatea răspunsului imun matern. Studii recente consideră că EVT interstițial și endovascular este responsabil de remodelarea arterelor spiralate, în timp ce unii autori sugerează că procesul este inițiat în absența EVT în momentul în care arterele spiralate sunt înconjurate de celulele uterine natural killer⁽²²⁾. Actualmente, s-a postulat că remodelarea arterelor spiralate are o componentă nontrofoblastică sau deciduală și o componentă dependentă trofoblastică⁽²¹⁾.

Unul din efectele directe ale hormonilor steroidieni sexuali asupra celulelor uNK este reglarea sintezei genelor proteinelor imunomodulatoare. Glicodelina este una din genele produse selectiv de populația de celule uNK și nu de celulele NK CD 56 periferice. Glicodelina este produsă de glandele secretorii endometriale, fiind identificată prima dată la trei zile după peak-ul de LH (z16) și fiind absentă în endometrul proliferativ⁽⁸⁾.

Se pare că producția de glicodelină a celulelor uNK este crescută de progesteron în timpul fazei luteale a ciclului menstrual și în sarcina precoce, favorizând imunosupresia locală la nivelul interfeței materno-fetale. Este posibil ca și alte substanțe imunomodulatoare produse de celulele uNK să fie de asemenea reglate hormonal⁽⁹⁾. Pe lângă reglarea hormonală directă a celulelor uNK, există și o reglare indirectă prin intermediul efectelor hormonale asupra celulelor intermediare. Există două tipuri de celule în mediul endometrial care reprezintă ținte hormonale: limfocitele T și celulele stromale endometriale⁽¹⁰⁾. Există câteva observații care sugerează că aceste celule

natural killer uterine pot să fie asociate cu procesul de decidualizare. Modificările stromale sunt vizualizate inițial în jurul arteriolelor spiralate în ziua 8 de la peak-ul de LH (LH+8). Celulele natural killer uterine încep să se înmulțească în jurul zilei 3 de la peak-ul de LH (LH+3) și sunt prezente înainte ca procesul de predecidualizare să aibă loc. Celulele NK sunt localizate în jurul arteriolelor și glandelor. În faza secretorie tardivă (LH+11-13) există un număr foarte mare de celule NK împrăștiate peste tot în stromă, ele reprezentând aproximativ 30-40% din celulele compartimentului stromal.

Migrarea celulelor NK în uter și contactul cu mediul specializat al endometrului și deciduei, cu matricea extracelulară bogată în fibronectină și laminină, se pare că implică participarea integrinelor. Celulele NK deciduale prezintă o gamă variată de integrine comparative cu celulele NK din periferie. Cel puțin 3 receptori de fibronectină sunt sintetizați de celulele NK uterine ($\alpha 4\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$ și $\alpha 6\beta 1$), precum și un receptor de laminină ($\alpha 1\beta 1$). Celulele NK se vor lega de celulele stromale prin intermediul subunităților $\alpha 4$ și $\alpha 5$ ale integrinei⁽¹¹⁾. Un alt mecanism molecular de interacțiune între cele două tipuri de celule se poate realiza prin intermediul receptorilor NK de la nivelul moleculelor de antigene leucocitare umane clasa I (HLA). Celulele deciduale NK au o serie de receptori specifici pentru moleculele HLA clasa I. Receptorul NK CD94/NKG2A are o concentrație de 5 ori mai mare la nivel de decida comparativ cu celulele NK periferice⁽¹²⁾. Acest receptor poate fi utilizat pentru a monitoriza moleculele HLA clasa I trofoblastice la nivelul situsului de implantație, CD94/NKG2A mediind interacțiunea NK-trofoblast. Celulele NK uterine trebuie să sintetizeze cantități crescute de CD94/NKG2A pentru a preveni distrugerea lor de celulele înconjurătoare autologe (celulele stromale materno)⁽¹³⁾.

Glucocorticoizii exercită efecte specifice asupra celulelor endometriale. Acestea includ procesul de implantație, proliferarea celulară endometrială, apoptoza și remodelarea endometrială. Glucocorticoizii represează sinteza promotorilor de PRL și CRH la nivel decidual, fiecare din aceștia fiind markeri ai decidualizării. Acest fapt și sinteza exclusiv la nivel endometrial a

receptorilor de glucocorticoizi conduce la ideea că au rol în decidualizare⁽²⁶⁾.

Concentrația 11 β HSD2 este mai mare decât a 11 β HSD1 pe parcursul ciclului menstrual. 11 β HSD2 este prezentă în epiteliul luminal și glandular, având concentrație crescută în faza secretorie a ciclului menstrual. Sinteza 11 β HSD1 poate facilita invazia trofoblastului prin anularea efectului inhibitor mediat de glucocorticoizi asupra matricei metaloproteinazelor. Este interesant că sinteza de receptori de glucocorticoizi se realizează în imediata vecinătate a epiteliului glandular și s-a sugerat rolul acestora în controlul invaziei trofoblastului. Avortul habitual este caracterizat prin trei sau mai multe avorturi consecutive. Se consideră că există mai multe cauze ale acestuia: anomalii cromozomiale, anomalii uterine anatomice, infecții endometriale, patologii endocrină (defect de fază luteală, disfuncție tiroidiană, diabet zaharat necontrolat), sindrom antifosfolipidic, trombofilie idiopatică și cauze aloimune⁽¹⁾. În avorturile habituale, creșterea numărului și activității celulelor natural killer în sângele periferic este asociată cu o creștere posibilă a numărului celulelor CD56, CD16 la nivel endometrial. În primul rând, celulele uNK implicate în patogenia avorturilor habituale sunt o populație diferită de celulele uNK prezente în sarcina cu evoluție normală, fiind rezultatul unui dezechilibru al raportului Th1/Th2 din periferie. În avorturile habituale există o deficiență a procesului de "down-regulation" a răspunsurilor imune de recunoaștere a antigenelor și aloantigenelor datorată predominanței citokinelor Th1 în sângele periferic.

O altă posibilitate este ca sinteza citokinelor celulelor NK să fie importantă pentru o singură etapă a dezvoltării placentare (dezvoltarea inițială placentară asociată cu implantația), dar nu și pentru altele. Numărul crescut și activitatea intensă a celulelor NK în sarcina tardivă poate fi detrimental. Alternativ, subtipurile de celule uNK din avorturile habituale sau activitatea lor pot fi diferite, determinând dezvoltare aberantă și avort. Este posibil să existe numai un dezechilibru local Th1/Th2 la nivel de endometru⁽²⁷⁾. Situsurile de implantație la pacientele cu avorturi habituale cu cariotip normal au un număr scăzut de celule Th2. Sinteza

defectuoasă de IL-4 și LIF de celulele T deciduale la pacientele cu avorturi recurente a fost investigată. Sinteza de IL-4 și LIF se realizează printr-un proces de „up-regulation” de progesteron; un defect în reglarea acestui mecanism explicând unele cazuri de avorturi recurente.

Polimorfismul receptorilor de progesteron a fost investigat la pacientele cu avorturi recurente și nu s-a identificat nici o asociere a polimorfismului specific PROGINS la nivelul genei receptorilor de progesteron. Scăderea producției de glicodelină a fost observată la pacientele cu avorturi habituale neexplicate. Concentrații crescute ale IL-13 și IL-15, o creștere a raportului IL-13/IL-15 și o scădere a concentrației IL-1β și IL-6 au fost observate în faza secretorie medie endometrială la pacientele cu avorturi recurente, a căror etiologie este neelucidată comparativ cu lotul martor, sugerând, astfel, o reglare anormală a citokinelor în acest caz. În studiile care au investigat sinteza genelor la nivel placentar, vilozitățile coriale prelevate de la pacientele cu avorturi recurente neelucidate etiologic (5-6 săptămâni gestaționale) au arătat o scădere a sintezei genelor implicate în angiogenază și o creștere a genelor implicate în apoptoză.

Disfuncția endotelială este considerată un factor major în patogenia preeclampsiei. Aceasta se caracterizează prin modificări ale placentei, vascularizației uteroplacentare, rinichilor, ficatului și afectare endotelială. Hipertensiunea și hipersensibilitatea vasculară la agenții presori, activarea neutrofililor și plachetelor a fost identificată în preeclampsie și este dependentă de disfuncția endotelială. Se știe că citokinele inflamatorii sunt activatori potenți a endoteliului vascular și sunt considerate mediatori ai disfuncției endoteliale în preeclampsie. Atât factorul tumoral de necroză α (TNF α), interleukina 1 β (IL-1 β), cât și interleukina 10 (IL-10) induc alterări funcționale în celulele endoteliale. Există o asociere între aceste citokine inflamatorii și dezvoltarea preeclampsiei. Se descrie o dereglare a producției acestor citokine în placenta preeclamptică, concretizată printr-o sinteză crescută a ARNm al IL-10 în țesuturile placentare și un nivel plasmatic crescut al acesteia. Preeclampsia este o complicație serioasă a sarcinii în care fătul primește o rezervă inadecvată de sânge datorită unei invazii defectuoase trofoblastice. Există dovezi că această stare are un fundament imunologic. Celulele natural killer de la nivelul situsului de placentă sintetizează receptori KIR (killer cell immunoglobulin-like receptors) care se pot lega de moleculele HLA-C la nivelul celulelor trofoblastice. Ambele sisteme genice sunt polimorfice și o asociere a genotipurilor matern KIR și fetal HLA-C este observată în preeclampsie⁽²⁸⁾.

Concluzii

✘ Celulele natural killer (NK) reprezintă 10-15% din limfocitele sangvine periferice. Acțiunea acestora este reglată prin intermediul receptorilor activatori și inhibitori.

✘ În celulele natural killer uterine au loc câteva transformări în timpul ciclului menstrual și în sarcină.

✘ Celulele uNK produc citokine, care în mod normal nu sunt produse de celulele NK periferice, precum factorul inhibitor leucemic și factorii de creștere angiogenici, conducând la conceptul că acestea pot avea funcții importante la nivel uterin.

✘ Celulele uNK obținute din decidua sarcinilor precoce reprezintă o sursă majoră de factori de creștere angiogenici, care se pare că au



Ușor ca un fluture!



Contraceptiv oral
pentru folosire îndelungată



GEDEON RICHTER

un rol semnificativ în remodelarea arterelor spiralate în sarcina normală.

✘ În avorturile habituale, creșterea numărului și activității celulelor natural killer în sângele periferic este asociată cu o creștere posibilă a numărului celulelor CD56, CD16 la nivel endometrial.

✘ Situsurile de implantare la pacientele cu avorturi habituale cu cariotip normal au un număr scăzut de celule Th2. Sinteza defectuoasă de IL-4 și LIF de celulele T deciduale la pacientele cu avorturi

recurente a fost investigată. Sinteza de IL-4 și LIF se realizează printr-un proces de „up-regulation” de progesteron; un defect în reglarea acestui mecanism explicând unele cazuri de avorturi recurente.

✘ Se știe că citokinele inflamatorii sunt activatori potenți a endoteliului vascular și sunt considerate mediatori ai disfuncției endoteliale în preeclampsie. Atât factorul tumoral de necroză α (TNF α), interleukina 1 β (IL-1 β), cât și interleukina 10 (IL-10) induc alterări

funcționale în celulele endoteliale. Există o asociere între aceste citokine inflamatorii și dezvoltarea preeclamsiei.

✘ Celulele natural killer de la nivelul situsului de placentă sintetizează receptori KIR (killer cell immunoglobulin-like receptors) care se pot lega de moleculele HLA-C la nivelul celulelor trofoblastice. Ambele sisteme genice sunt polimorfice și o asociere a genotipurilor matern KIR și fetal HLA-C este observată în preeclampsie.

Bibliografie selectivă

1. Lee R.M., Silver R.M. 2000. Recurrent pregnancy loss: summary and clinical recommendations. *Semin Reprod Med* 18:433-440.
2. Cooper M.A., Fehniger T.A., Caligiuri M.A. 2001. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol* 22:633-640.
3. Moffett-King A (2002). Natural killer cells and pregnancy. *Nat Rev Immunol* 2, 656-663.
4. Trundle A. and Moffett A. (2004). Human uterine leukocytes and pregnancy. *Tissue Antigens* 63, 1-12.
5. K. Clifford, A.M. Flanagan and L. Regan Endometrial CD56+ natural killer cells in women with recurrent miscarriage: a histomorphometric study *Hum. Reprod.*, November 1, 1999; 14(11): 2.727-2.730.
6. Bulmer J.N., Morrison L., Longfellow M., Ritson A., Pace D. 1991 Granulated lymphocytes in human endometrium: histochemical and immunohistochemical studies. *Hum Reprod* 6:791-798.
7. Kodama T., Hara T., Okamoto E., Kusunoki Y., Ohama K. 1998 Characteristic changes of large granular lymphocytes that strongly express CD56 in endometrium during the menstrual cycle and early pregnancy. *Hum Reprod* 13:1036-1043.
8. Seppala M., Taylor R.N., Koistinen H., Koistinen R., Milgrom E. 2002 Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation. *Endocr Rev* 23:401-430.
9. Kao L.C., Tulac S., Lobo S., Imani B., Yang J.P., Germeyer A., Osteen K., Taylor R.N., Lessey B.A., Giudice L.C. 2002 Global gene profiling in human endometrium during the window of implantation. *Endocrinology* 143:2.119-2.138.
10. Choe Y.S., Shim C., Choi D., Lee C.S., Lee K.K., Kim K. 1997 Expression of galectin-1 mRNA in the mouse uterus is under the control of ovarian steroids during blastocyst implantation. *Mol Reprod Dev* 48:261-266.
11. Burrows T.D., King A., Loke Y.W., 1995. The role of integrins in adhesion of decidual NK cells to extracellular matrix and decidual stromal cells. *Cell.Immunol.* 166, 53-61.
12. Loke Z.W., King A. 2000. Immunological aspects of human implantation. *Proceedings of Human Implantation. Recent Advances and Clinical Aspects, J. Reprod. Fertil.*, in press.
13. Komatsu T., Konishi I., Mandai M., 1998. Expression of class I human leukocyte antigen (HLA) and beta 2- microglobulin is associated with decidualization of human endometrial stromal cells. *Hum. Reprod.* 13, 2.246-2.251.
14. Kammerer U., Marzusch K., Krober S. et al. (1999) A subset of CD56+ large granular lymphocytes in first-trimester human decidua are proliferating cells. *Fertil. Steril.*, 71, 74-79.
15. Li X.F., Charnock-Jones D.S., Zhang E., Hiby S., Malik S., Day K., Licence D., Bowen J.M., Gardner L., King A. et al. 2001 Angiogenic growth factor messenger ribonucleic acids in uterine natural killer cells. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86 1.823-1.834.
16. Calandra T. & Roger T. 2003 Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nature Reviews Immunology* 3 791-800.
17. Arcuri F., Ricci C., Ietta F., Cintonino M., Tripodi S.A., Cetin I., Garzia E., Schatz F., Klemi P. & Santopietro R. et al. 2001 Macrophage migration inhibitory factor in the human endometrium: expression and localization during the menstrual cycle and early pregnancy. *Biology of Reproduction* 64 1200-1205.
18. Yamada H., Kato E.H., Morikawa M., Shimada S., Saito H., Watarai M., Minakami H. & Nishihira J. 2003 Decreased serum levels of macrophage migration inhibition factor in miscarriages with normal chromosome karyotype. *Human Reproduction* 18 616-620.
19. Amin M.A., Volpert O.V., Woods J.M., Kumar P., Harlow L.A. & Koch A.E. 2003 Migration inhibitory factor mediates angiogenesis via mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol kinase. *Circulation Research* 93 321-329.
20. Ball E., Bulmer J., Ayis S., Lyall F., Robson S. (2006) Late sporadic miscarriage is associated with abnormalities in spiral artery transformation and trophoblast invasion *J. Pathol.* 208, 535-542.
21. Pijnenborg R., Vercruyse L., Hanssens M. (2006) The uterine spiral arteries in human pregnancy: facts and controversies *Placenta* Epub ahead of print.
22. Ball E., Bulmer J., Ayis S., Lyall F., Robson S. (2006) Late sporadic miscarriage is associated with abnormalities in spiral artery transformation and trophoblast invasion *J. Pathol.* 208,535-542.
23. Ashkar A.A., Di Santo J.P., Croy B.A. (2000) Interferon contributes to initiation of uterine vascular modification, decidual integrity, and uterine natural killer cell maturation during normal murine pregnancy *J. Exp. Med.* 192, 259-270.
24. Cao R., Eriksson A., Kubo H., Alitalo K., Cao Y., Thyberg J. (2004) Comparative evaluation of FGF-2-, VEGF-A-, and VEGF-C-induced angiogenesis, lymphangiogenesis, vascular fenestrations, and permeability *Circ. Res.* 94,664-670.
25. Maisonpierre P.C., Suri C., Jones P.F., Bartunkova S., Wiegand S.J., Radziejewski C., Compton D., McClain J., Aldrich T.H., Papadopoulos N., Daly T.J., Davis S., Sato T.N., Yancopoulos G.D. (1997) Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis *Science* 277, 55-60.
26. Gubbay O., Critchley H.O., Bowen J.M., King A., Jabbour H.N. 2002 Prolactin induces ERK phosphorylation in epithelial and CD56(+) natural killer cells of the human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2.329-2.336.
27. Bermas B.L., Hill J.A. 1997 Proliferative responses to recall antigens are associated with pregnancy outcome in women with a history of recurrent spontaneous abortion. *J Clin Invest* 100:1.330-1.334.
28. Pijnenborg R., Vercruyse, M. Hanssens and A. van Assche. 2003. Incomplete trophoblast invasion: the evidence. *Pre-eclampsia*. H. Critchley, A. MacLean, L. Poston, and J. Walker, editors. RCOG Press, London, UK. 15-26.