



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΑΘΗΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ  
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ»**



*Διευθύντρια Προγράμματος: Καθηγήτρια Σοφία Καλανταρίδου*

---

**«ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΟΛΠΟΥ ΚΑΙ  
ΕΠΑΝΕΙΔΗΜΜΕΝΕΣ ΑΠΟΒΟΛΕΣ»**

*Μεταπτυχιακή εργασία  
ΣΩΤΗΡΙΟΣ ΜΗΤΡΟΥ*

---





**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΑΘΗΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ  
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΚΥΗΣΗΣ»**

*Διευθύντρια Προγράμματος: Καθηγήτρια Σοφία Καλανταρίδου*

---

**«ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΟΛΠΟΥ ΚΑΙ ΕΠΑΝΕΙΛΗΜΜΕΝΕΣ ΑΠΟΒΟΛΕΣ»**

*Μεταπτυχιακή εργασία  
ΣΩΤΗΡΙΟΣ ΜΗΤΡΟΥ*

---

**ΑΘΗΝΑ 2019**



*Στην οικογένεια μου*

*Στους γονείς μου*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	6
1. ΕΠΑΝΕΙΛΗΜΜΕΝΕΣ (ΚΑΘ' ΕΞΙΝ) ΑΠΟΒΟΛΕΣ.....	7
1.1 ΟΡΙΣΜΟΙ – ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ – ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ.....	7
1.1.1 Αυτόματη αποβολή.....	7
1.1.2 Επιδημιολογία.....	8
1.1.3 Παράγοντες κινδύνου.....	8
1.2 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ.....	10
1.2.1 Γενετικοί παράγοντες.....	10
1.2.2 Λοιμώξεις.....	11
1.2.3 Ανοσολογικοί παράγοντες.....	29
1.2.4 Ανατομικοί παράγοντες.....	44
1.2.5 Ενδοκρινικοί παράγοντες.....	44
1.2.6 Περιβαλλοντικοί παράγοντες.....	47
1.2.7 Οξειδωτικό στρες.....	52
1.2.8 Ο ανδρικός παράγοντας.....	54
2. ΤΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ.....	59
2.1 Το ανθρώπινο μικροβίωμα.....	59
2.2 Το μικροβίωμα του ουρο-γεννητικού συστήματος.....	61
2.2.1 Το μικροβίωμα του κατώτερου ουροποιητικού.....	61
2.2.2 Το μικροβίωμα του κόλπου.....	62
2.2.3 Το μικροβίωμα της μήτρας.....	64
3. ΣΚΟΠΟΣ – ΥΛΙΚΟ.....	66
3.1 ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	66
3.1.1 Μικροβίωμα και ομοιοστασία.....	66
3.1.2 Μικροβίωμα και ανοσολογία.....	67
3.1.3 Μικροβίωμα και αναπαραγωγή.....	71
3.1.4 Μικροβίωμα και Καθ' Ήξιν Αποβολές.....	73
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	75

# 1. ΕΠΑΝΕΙΛΗΜΜΕΝΕΣ (ΚΑΘ' ΕΞΙΝ) ΑΠΟΒΟΛΕΣ

## 1.1 ΟΡΙΣΜΟΙ – ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ – ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

### 1.1.1 Αυτόματη αποβολή

Ως αυτόματη αποβολή ορίζεται η αυτόματη απώλεια μιας κύησης πριν την 20η εβδομάδα κύησης. Παρότι η κλασσική εκπαίδευση ορίζει το όριο βιωσιμότητας την 24η εβδομάδα, η κλινική πρακτική και οι εξελίξεις τόσο στη Μαιευτική όσο και στη Νεογνολογία τείνουν να αναθεωρήσουν τα όρια αυτά, καθώς ένα πολύ μικρό ποσοστό νεογνών (περίπου 2-9%) θα επιβιώσουν χωρίς σοβαρή νευρολογική βλάβη ακόμα κι αν γεννηθούν πριν την 24η εβδομάδα. Ως εκ τούτου, κάθε χώρα έχει θεσπίσει το δικό της επίπεδο βιωσιμότητας βασιζόμενη όχι μόνο στην ηλικία της κύησης αλλά και σε άλλες παραμέτρους όπως το βάρος γέννησης. Στη χώρα μας, από το Νοέμβριο του 2018 το όριο βιωσιμότητας είναι οι 22 εβδομάδες. Επιπλέον, το βάρος γέννησης φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη βιωσιμότητα με τα 500 γραμμάρια να αποτελούν το κρίσιμο όριο βάρους για την πρόγνωση [1].

Οι αυτόματες αποβολές είναι η συνηθέστερη επιπλοκή της κύησης. Αφού λάβουμε υπόψη ότι ένα σημαντικό ποσοστό αποβολών λαμβάνει χώρα πριν την αναμενόμενη εμμηνορρυσία και οφείλεται σε αποτυχίες εμφύτευσης, οι υπόλοιπες είναι δυνατό να διαγνωσθούν κλινικά -βιοχημικά (θετική β-χοριακή) ή υπερηχογραφικά (σάκος κύησης). Υπολογίζεται ότι 30-40% των συλλήψεων και 10-20% των διαγνωσμένων κυήσεων καταλήγουν σε αποβολή με τη μεγάλη πλειοψηφία να συμβαίνει πριν τη 12η εβδομάδα και μόλις 1-5% μεταξύ 13ης και 20ης [2].

### **Επανειλημμένες αποβολές (Recurrent miscarriage / Recurrent Pregnancy Loss)**

Σχετικά με τον ορισμό των καθ'έξιν (επανειλημμένων) αποβολών, η επίπτωση στην ψυχολογία των ζευγαριών που βιώνουν περισσότερες από μία αποβολές και η ανάγκη μελέτης και πρόληψης τους, έχει ως αποτέλεσμα

τη διαφορετική προσέγγιση του από τις επιστημονικές εταιρείες και τους επίσημους φορείς.

Το Βασιλικό Κολλέγιο Μαιευτήρων – Γυναικολόγων (RCOG) θεωρεί αναγκαίες τις τρεις συνεχόμενες απώλειες κύησης από τη στιγμή της σύλληψης έως και τις 24 εβδομάδες κύησης που αποτελούν και το όριο βιωσιμότητας. Ο ορισμός αυτός αποτελεί και τον κλασσικό ορισμό των καθ' έξιν αποβολών [3].

Αντίθετα, η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Ανθρώπινης Αναπαραγωγής και Εμβρυολογίας (ESHRE) προτείνει την απώλεια δύο ή περισσότερων κλινικών κυήσεων πριν τις 24 εβδομάδες, εξαιρουμένων των έκτοπων κυήσεων, των μύλων κυήσεων και των αποτυχιών εμφύτευσης.

Τέλος, η Αμερικανική Εταιρεία Αναπαραγωγικής Ιατρικής (ASRM) ορίζει ως επανειλημμένες αποβολές τις δύο ή περισσότερες απώλειες κυήσεων που έχουν επιβεβαιωθεί υπερηχογραφικά ή ιστολογικά ενώ οι βιοχημικές δεν περιλαμβάνονται.

### **1.1.2 Επιδημιολογία**

Η συχνότητα εμφάνισης καθ' έξιν αποβολών δεν είναι δυνατό να προσδιοριστεί με ακρίβεια και εξαρτάται από αριθμό αποβολών που δεχόμαστε ώστε να κατατάξουμε ένα ζευγάρι στην κατηγορία αυτή. Τα επιδημιολογικά στοιχεία με βάση τον κλασσικό ορισμό, και του RCOG, δείχνουν ότι επηρεάζεται το 1-3% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας ενώ εάν συμπεριληφθούν μόνο οι κλινικές κυήσεις, το ποσοστό πέφτει όπως αναμενόταν στο 0,8-1,4% [4].

Οι καθ' έξιν αποβολές κατατάσσονται περαιτέρω σε πρωτοπαθείς (χωρίς προηγούμενη επιτυχημένη κύηση μεγαλύτερη των 24 εβδομάδων) και δευτεροπαθείς (επανειλημμένες με μία τουλάχιστον επιτυχημένη κύηση άνω των 24 εβδομάδων).

### **1.1.3 Παράγοντες κινδύνου**

#### **Ηλικία**



Πολλές μελέτες έχουν δείξει τη συσχέτιση της ηλικίας της μητέρας με την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καθ' έξιν αποβολών. Σε μία κοορτή 987 ζευγαριών με ιστορικό επανειλημμένων αποβολών που παρακολουθηθήκαν για περίοδο 5 ετών ανευρέθηκε σημαντική μείωση στην πιθανότητα γέννησης ζώντος τέκνου αυξανόμενης της ηλικίας της μητέρας [5]. Επίσης, σε μία άλλη μελέτη αξιολόγησης των παραγόντων κινδύνου για καθ' έξιν αποβολές που συμπεριέλαβε 696 γυναίκες με θετικό ιστορικό και ηλικία μεγαλύτερη από 35 έτη, ο κίνδυνος επανεμφάνισης αποβολής ήταν διπλάσιος σε σχέση με γυναίκες με ηλικία μικρότερη από 35 έτη. 40 ετών έχουν περισσότερες πιθανότητες εμφάνισης καθ' έξιν αποβολών [6]. Όσον αφορά την ηλικία του πατέρα, υπάρχουν μελέτες που δείχνουν ευθεία συσχέτιση της ηλικίας με τον κίνδυνο εμφάνισης καθ' έξιν αποβολών [7].

### **Φλεγμονή**

Η συχνότητα εμφάνισης χρόνιας ενδομητρίτιδας σε γυναίκες με ιστορικό καθ' έξιν αποβολών μπορεί να κυμαίνεται, ανάλογα με τον μελετητή, μεταξύ 7% και 58% (Plana-Ripoll O, 2016). Ισχυρά στοιχεία από τυχαιοποιημένες μελέτες που να αποδεικνύουν το όφελος από τη χορήγηση αντιβιοτικών σε γυναίκες με ιστορικό επανειλημμένων αποβολών δεν είναι διαθέσιμα προς το παρόν. Μολαταύτα υπάρχουν μελέτες που δείχνουν τη βελτίωση των ποσοστών γεννήσεων μετά τη χορήγηση αντιβιοτικής θεραπείας [8].

### **Stress**

Η επίδραση του stress στις καθ' έξιν αποβολές δεν υποστηρίζεται από τα υπάρχοντα δεδομένα. Δεν είναι σαφές εάν το stress αυξάνει τον κίνδυνο αποβολής ή είναι απλά το αποτέλεσμα αυτής. Επομένως, το ζευγάρι θα πρέπει να είναι ενήμερο πως αν και υπάρχουν μελέτες που τα συσχετίζουν [9] τα δεδομένα δεν επαρκούν [7].

### **Άλλοι παράγοντες**

Το ιστορικό προηγούμενων κυήσεων είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την έκβαση μελλοντικών κυήσεων. Ιστορικό γέννησης ζώντος

νεογνού δεν αποκλείει το ενδεχόμενο εμφάνισης καθ' ἑξιν αποβολών στο μέλλον [3].

Η επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων όπως το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ έχει μελετηθεί περισσότερο στις σποραδικές αποβολές παρά στις καθ' ἑξιν αποβολές [3].

Οργανικοί διαλύτες, εντομοκτόνα, ηλεκτρομαγνητικό πεδίο και άλλοι εργασιακοί κίνδυνοι έχουν επίσης συσχετισθεί με αποβολές [7].

## **1.2 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ**

Οι επανειλημμένες αποβολές είναι πολυπαραγοντικής και σχετικά ασαφούς αιτιολογίας. Το ποσοστό των αποβολών στο οποίο ανευρίσκεται τελικά κάποιο αίτιο δεν ξεπερνά το 50% των περιπτώσεων [10].

### **1.2.1 Γενετικοί παράγοντες**

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες αποτελούν τη συχνότερη αιτία αποβολών και η συχνότητα τους στις περιπτώσεις καθ' ἑξιν αποβολών υπολογίζεται περίπου 40% με πιο συχνές τις τρισωμίες που απαντώνται περίπου στο 63% των περιπτώσεων στις οποίες ανευρίσκεται χρωμοσωμική ανωμαλία [11].

Ο παθολογικός καρυότυπος των προϊόντων αποβολής τις περισσότερες φορές εμφανίζεται τυχαία ενώ σπανιότερα οφείλεται σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες φαινοτυπικά φυσιολογικών γονέων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι οι ισοζυγισμένες και μη ισοζυγισμένες μεταθέσεις, οι αναστροφές, οι διπλασιασμοί και οι αφαιρέσεις τμημάτων των γονικών χρωμοσωμάτων [3]. Ωστόσο, η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Ανθρώπινης Αναπαραγωγής και Εμβρυολογίας δε συνιστά τον καρυοτυπικό έλεγχο των γονέων παρά μόνο επί εύρεσης μη ισοζυγισμένης μετάθεσης στα προϊόντα αποβολής.

Το Βασιλικό Κολλέγιο Μαιευτήρων-Γυναικολόγων προτείνει τον καρυοτυπικό έλεγχο των προϊόντων αποβολής μετά την τρίτη συνεχόμενη αποβολή. Οι μέθοδοι γενετικής ανάλυσης που μπορεί να χρησιμοποιηθούν ποικίλλουν αλλά η σχετικά νέα τεχνική μικροσυστοιχιών απλών

νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNP micro-arrays) μειώνει τον κίνδυνο επιμόλυνσης από κύτταρα μητρικής προέλευσης και ως εκ τούτου αυξάνει την ακρίβεια του αποτελέσματος [12].

## 1.2.2 Λοιμώξεις

### 1.2.2.1 Βακτηριακή κολπίτιδα

Τα βακτήρια του είδους *Lactobacillus* αποτελούν την πλειοψηφία της φυσιολογικής χλωρίδας του γεννητικού συστήματος των γυναικών [13]. Στις περιπτώσεις βακτηριακής κολπίτιδας, οργανισμοί όπως οι *Gardnerella vaginalis*, στρεπτόκοκκοι της ομάδας Β, *Staphylococcus aureus*, *Ureaplasma urealyticum* και *Mycoplasma hominis* περιστασιακά κυριαρχούν επί των γαλακτοβάκιλλων στον κόλπο, μια πάθηση γνωστή ως βακτηριακή κολπίτιδα [14-15].

Η βακτηριακή κολπίτιδα είναι παρούσα στο 24-25% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας [16] και προκαλεί αύξηση του κολπικού pH από τη φυσιολογική τιμή ~4 σε ~7. Συνήθως είναι ασυμπτωματική, αλλά μπορεί να εκδηλωθεί και με κολπική έκκριση με χαρακτηριστική οσμή «ψαριού». Συνήθως αντιμετωπίζεται με αντιβιοτικά, όπως η μετρονιδαζόλη [17]. Παράγοντες κινδύνου αποτελούν η αλλαγή σεξουαλικού συντρόφου, μια πρόσφατη εγκυμοσύνη, η χρήση ενδομήτριας αντισυλληπτικής συσκευής και η αντιβιοτική θεραπεία έχουν αναγνωριστεί ως πιθανές αιτίες της βακτηριακής κολπίτιδας [18,19]. Η βακτηριακή κολπίτιδα έχει συσχετιστεί με πρόωρο τοκετό [20] και με αποβολές [21-23].

Σε μια άλλη αναδρομική μελέτη, το *Ureaplasma urealyticum* και *Mycoplasma hominis* ήταν παρόντα στο 54.3 και 30.4% αντίστοιχα των 150 ασθενών που παρουσίαζαν υπογονιμότητα, που είχαν αποβολή ή άμβλωση που προκλήθηκε για ιατρικούς λόγους [23]. Ο επιπολασμός και των δύο παθογόνων ήταν σημαντικά υψηλότερος στις γυναίκες με ιστορικό αποβολών (UU:  $P = 0,04$  και MH:  $P = 0,02$ ) και στις γυναίκες που ανέφεραν περισσότερες από μία αποβολές ( $P = 0,02$  και για τα δύο παθογόνα).

Ωστόσο, αυτή η μελέτη έχει ορισμένες αδυναμίες, καθώς δεν είναι σαφές εάν οι συγκρίσεις που έγιναν ήταν με μη μολυσμένες γυναίκες με ιστορικό αποβολής ή με μη μολυσμένες γυναίκες χωρίς ιστορικό αποβολής και η μέθοδος με την οποία εξετάστηκε ο επιπολασμός των μικροβίων δεν προσδιορίζεται.

Συσχέτιση των *Ureaplasma urealyticum* και *Mycoplasma hominis* και αποτελέσματος κύησης αναφέρθηκε από μια μελέτη που διεξάχθηκε στην Τουρκία [24]. Συνολικά 50 έγκυες γυναίκες με συμπτώματα ΒΚ εξετάστηκαν για *Ureaplasma urealyticum* και *Mycoplasma hominis* και παρακολουθήθηκαν μέχρι το τέλος της εγκυμοσύνης τους. Ως ομάδα ελέγχου (control group) μελετήθηκαν 50 ασυμπτωματικές έγκυες γυναίκες. Αποβολή αναφέρθηκε σε 12 συμπτωματικές γυναίκες, σε 8 από τις οποίες επιβεβαιώθηκε λοίμωξη από *Mycoplasma hominis* και/ή *Ureaplasma urealyticum*. Ωστόσο, ο ορισμός της αποβολής που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή τη μελέτη ήταν «λιγότερο από 36 εβδομάδες». Επιπλέον, δεν πραγματοποιήθηκε συγκριτική ανάλυση μεταξύ των δύο ομάδων.

Το *Ureaplasma urealyticum* ανιχνεύθηκε επίσης στο 25% των 101 δειγμάτων ιστού κύησης (χόριο, αμνίο, ομφάλιος λώρος) από περιπτώσεις αποβολής που κατά τα άλλα ήταν φυσιολογικές. Τα δεύτερα πιο κοινά παθογόνα ήταν το *Mycoplasma hominis* και οι στρεπτόκοκκοι της ομάδας Β σε ποσοστό 11.1%, ενώ όλοι οι ασθενείς δεν είχαν μολυνθεί [25]. Σε μια περαιτέρω μελέτη που διεξάχθηκε σε μια ομάδα 759 εγκύων στο Βέλγιο, μετά από μικροβιολογική αξιολόγηση της κολπικής χλωρίδας, το 8.4% των συμμετεχόντων παρουσίασαν βακτηριακή κολπίτιδα χωρίς να λάβουν κάποια θεραπεία [21]. Η βακτηριακή κολπίτιδα συσχετίστηκε θετικά με την αποβολή, καθώς το 2% των θετικών γυναικών απέβαλαν πριν από τις 25 εβδομάδες κύησης με OR: 6.6 (OR: 6.6, 95% CI: 2.1–20.9). Η απουσία γαλακτοβακίλλων συσχετίστηκε επίσης με αποβολή (λιγότερο από 25 εβδομάδες, OR: 4.9, 95% CI: 1.4–16.9) [21].

Αυτές οι μελέτες υποδεικνύουν συσχέτιση της βακτηριακής κολπίτιδας με αποβολή. Καθώς η βακτηριακή κολπίτιδα είναι θεραπεύσιμη, τα προγράμματα προσυμπτωματικού ελέγχου για εγκύους μπορούν να

χρησιμοποιηθούν για την πρόληψη δυσμενούς έκβασης της εγκυμοσύνης. Ωστόσο, οι τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες από τις ΗΠΑ και τον καναδά συμβουλεύουν να μην γίνεται έλεγχος σε ασυμπτωματικές εγκύους [25, 26].

Τέλος, μια πρόσφατη ανασκόπηση της Cochrane, σε 7847 γυναίκες από 21 δοκιμές, ανέδειξε μειωμένο κίνδυνο όψιμης αποβολής όταν χορηγήθηκε αντιβιοτική αγωγή για βακτηριακή κολπίτιδα (RR: 0.20, 95% CI: 0.05–0.76, σε δύο δοκιμές, 1270 γυναίκες, σταθερής επίδρασης,  $I^2 = 0\%$ ). Όπως τονίζουν οι συγγραφείς, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να διαπιστωθεί η επίδραση των προγραμμάτων προσυμπτωματικού ελέγχου για την πρόληψη ανεπιθύμητων εκβάσεων εγκυμοσύνης [27].

### 1.2.2.2 Brucellosis

Τα βακτήρια του γένους *Brucella* μπορούν να μολύνουν μια μεγάλη ποικιλία θηλαστικών, άγριων και εξημερωμένων. Τα βοοειδή και τα ελάφια είναι ευαίσθητα στην *Brucella abortus*, ενώ η *Brucella melitensis* επηρεάζει τις κασίκες και τα πρόβατα, προκαλώντας πυρετό και αποβολή, μια ασθένεια γνωστή ως βρουκέλλωση [28,29]. Οι άνθρωποι μπορούν να μολυνθούν μέσω της κατανάλωσης μη παστεριωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων [30]. Η μόλυνση ανιχνεύεται μέσω βακτηριακής απομόνωσης από δείγματα αίματος ή ουρολογικές εξετάσεις [31].

Σε μία case control μελέτη, οι Kurdoglu et al. εξέτασαν το ποσοστό αποβολών 342 εγκύων γυναικών με βρουκέλλωση σε σύγκριση με 33,936 μη μολυσμένες γυναίκες παρόμοιας κοινωνικοοικονομικής κατάστασης που νοσηλεύτηκαν στο ίδιο νοσοκομείο. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το ~24% των μολυσμένων εγκύων απέβαλαν σε σύγκριση με το ~7.5% του control group [32].

Επιπρόσθετα, ο επιπολασμός της βρουκέλλωσης μεταξύ 445 περιπτώσεων αποβολής και 445 control εγκύων γυναικών από την Ιορδανία χωρίς ιστορικό αποβολής που προσβλήθηκαν διαδοχικά, όταν ελεγχθηκε με την ηλικία, την κοινωνικοοικονομική κατάσταση και την περιοχική διαμονής, δεν ήταν στατιστικά σημαντικός [33]. Στην εργασία οι ερευνητές αναφέρουν ότι

ένα δείγμα 441 ήταν επαρκές καθώς ο επιπολασμός της βρουκέλλωσης είναι 8% σε ασθενείς υψηλού κινδύνου σε επαφή με ζώα [34], αν και η αναφορά τους ως προς την στατιστική ισχύ δεν μπορούσε να επανεξεταστεί. Ο συνολικός επιπολασμός ήταν παρόμοιος και στις δύο ομάδες, 1% στο control group και 1.8% στις περιπτώσεις.

Τα στοιχεία δείχνουν ότι η βρουκέλλωση εξακολουθεί να αποτελεί παράγοντα κινδύνου για αποβολή σε περιοχές όπου η μόλυνση είναι ενδημική στα ζώα εκτροφής. Αυτό είναι σύμφωνο με παλαιότερες μελέτες που έχουν αναφέρει υψηλά ποσοστά αποβολών μεταξύ των γυναικών με βρουκέλλωση [35,36].

### **1.2.2.3 Chlamydia trachomatis**

Τα Chlamydia trachomatis, αποτελούν ένα υποχρεωτικά ενδοκυτταρικό βακτήριο, και είναι το πιο κοινό σεξουαλικά μεταδιδόμενο νόσημα παγκοσμίως [37]. Ο επιπολασμός της νόσου είναι υψηλός, υπολογίστηκε σε 101 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις μόνο το 2005 ανα το παγκόσμιο [38]. Αν και στις γυναίκες είναι συχνά ασυμπτωματική, η λοίμωξη από Chlamydia trachomatis χωρίς θεραπεία μπορεί να οδηγήσει σε βλεννοπυώδη τραχηλίτιδα [39], οξύ ουρηθρικό σύνδρομο [40] και φλεγμονώδη νόσο της πυέλου [41]. Η λοίμωξη από Chlamydia trachomatis είναι από τους γνωστότερους παράγοντες κινδύνου για έκτοπη κύηση και πρόωρο τοκετό [42-44]. Η διάγνωση πραγματοποιείται με PCR σε δείγματα κολπικού επιχρίσματος και η θεραπεία περιλαμβάνει τη χορήγηση αντιβιοτικών, όπως τετρακυκλίνες, αζιθρομυκίνη ή ερυθρομυκίνη [45,46].

Σε μία πρόσφατη case control μελέτη που διερεύνησε πιθανή συσχέτιση της λοίμωξης από Chlamydia trachomatis και της αποβολής, χρησιμοποιώντας μια ενζυμική ανοσοπροσοφορική δοκιμασία (ELISA) για την ανίχνευση αντισωμάτων Chlamydia trachomatis σε ορούς, καθώς και ένα τυπικό κολπικό επίχρισμα για ανίχνευση με PCR, σε 145 περιπτώσεις και 261 ασθενείς control, έδειξε θετική συσχέτιση με αποβολές. Τα αντισώματα ανοσοσφαιρίνης (Ig)G ήταν παρόντα σε υψηλότερα επίπεδα στην ομάδα

αποβολής (15.2%) από ότι στους ασθενείς του control group (7.3%·  $P = 0.018$ ). Το ίδιο μοτίβο παρατηρήθηκε για τα αντισώματα IgA μόνο μετά από προσαρμογή για την ηλικία, την καταγωγή, την εκπαίδευση και τον αριθμό των σεξουαλικών συντρόφων. Επιπλέον, *Chlamydia trachomatis* ανιχνεύθηκε με χρήση PCR στον πλακούντα πιο συχνά στους πάσχοντες σε σύγκριση με το control group (4.0 και 0.7% αντίστοιχα,  $P = 0.026$ ) [47].

Στη συνέχεια, μια observational study από τη Φινλανδία σε 4920 γυναίκες με λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος έδειξε ότι μπορεί να εμφανιστούν όψιμες επιπλοκές σε έγκυες μολυσμένες με *Chlamydia trachomatis* [48]. Ωστόσο, δεν υπήρχε ομάδα ελέγχου σε αυτή τη μελέτη και ούτε ορίστηκαν οι όροι «πρώιμη» ή «όψιμη» εγκυμοσύνη, περιορίζοντας επομένως την παρέκταση των ευρημάτων.

Σε μια μελέτη από τη Σερβία, το 21.3% των 54 περιπτώσεων με αποβολή φάνηκε να έχουν επίμονη μόλυνση με *Chlamydia trachomatis*, όπως προσδιορίζεται από τα επίπεδα IgA ορού έναντι της κύριας πρωτεΐνης της εξωτερικής μεμβράνης των χλαμυδίων [49]. Οι συγγραφείς προτείνουν μια συσχέτιση μεταξύ της επίμονης λοίμωξης και της αποβολής, ωστόσο αυτές οι περιπτώσεις συγκρίθηκαν μόνο με ασθενείς με σαλπινγική υπογονιμότητα και όχι με μη μολυσμένες εγκύους.

Η λοίμωξη από *Chlamydia trachomatis* έχει μελετηθεί εκτενώς και πολλά δεδομένα είναι διαθέσιμα μέσα από έρευνα 3 δεκαετιών. Έχουν δημοσιευτεί αντικρουόμενες μελέτες, με αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με τον ρόλο των χλαμυδίων στην αποβολή [50,51]. Λαμβάνοντας υπόψη τα πιο πρόσφατα ευρήματα και την αύξηση των προγραμμάτων προσυμπτωματικού ελέγχου παγκοσμίως, όπως ο προσυμπτωματικός έλεγχος που προσφέρεται σε όλες τις έγκυες γυναίκες στις ΗΠΑ [52], η ευαισθητοποίηση του κοινού για τον πιθανό κίνδυνο μόλυνσης από *Chlamydia trachomatis* σε μελλοντικές εγκυμοσύνες είναι ένα πολύ ορθό μέτρο.

#### 1.2.2.4 *Mycoplasma genitalium*

Το *Mycoplasma genitalium* είναι ένα βακτήριο, το οποίο είναι γνωστό ότι προκαλεί ουρηθρίτιδα, τραχηλίτιδα και φλεγμονώδη νόσο της πυέλου. Η μόλυνση μπορεί επίσης να είναι ασυμπτωματική [53]. Έχει προταθεί ότι το *Mycoplasma genitalium* μπορεί να ενισχύσει τη μόλυνση και τη μετάδοση του HIV [54]. Η διάγνωση γίνεται μέσω PCR σε δείγματα ούρων [55] και οι θεραπείες περιλαμβάνουν αζιθρομυκίνη και δοξυκυκλίνη [56]. Η μόνη δημοσιευμένη μελέτη για αυτή τη λοίμωξη είναι μια μελέτη case control από τις ΗΠΑ σε 392 γυναίκες με αποβολή πριν από τις 22 εβδομάδες κύησης και 802 υγιείς έγκυες control group. Η μελέτη χρησιμοποίησε δεδομένα από συμμετέχοντες που είχαν αρχικά εγγραφεί σε άλλη μελέτη. Συνολικά, το *Mycoplasma genitalium* είχε επιπολασμό 5.9%, αλλά δεν βρέθηκε συσχέτιση με αποβολές [57].

#### 1.2.2.5 Q fever

Ο πυρετός Q ή Q fever είναι μια ζωνοσογόνος λοίμωξη, που προκαλείται από το βακτήριο *Coxiella burnetii* [58]. Η μόλυνση παρατηρείται συχνότερα σε ανθρώπους που βρίσκονται σε κοντινή απόσταση από ζώα. Το *Coxiella burnetii* μεταδίδεται συνήθως μέσω εισπνοής μολυσματικών αερολυμάτων από ζωικά υγρά [58,59]. Η λοίμωξη είναι ασυμπτωματική στις μισές περιπτώσεις σε ενήλικες, αλλά μπορεί να παρουσιαστεί ως μη ειδική ασθένεια σε συνδυασμό με πνευμονία ή ηπατίτιδα. Ο πυρετός Q επιβεβαιώνεται μέσω PCR σε δείγματα αίματος [60]. Η συνιστώμενη θεραπεία σε συμπτωματικούς ενήλικες και παιδιά είναι η χορήγηση δοξυκυκλίνης. Σε έγκυες γυναίκες, η μόλυνση με πυρετό Q έχει συσχετιστεί με δυσμενή έκβαση της εγκυμοσύνης, όπως δείχνει μια πρόσφατη μελέτη από το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των Ηνωμένων Πολιτειών [61]. Ωστόσο, όπως σημειώνουν οι συγγραφείς, μελέτες που διερευνούν ορολογικά στοιχεία μόλυνσης και αποβολής έχουν δώσει αντιφατικά αποτελέσματα. Ο προσυμπτωματικός έλεγχος εγκύων γυναικών δεν συνιστάται επί του παρόντος στην Ευρωπαϊκή Ένωση [62].

Δύο μελέτες στη Δανία, μία το 2012 και η δεύτερη το 2013, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το *Coxiella burnetii* δεν συνδέεται με αποβολή [63,64].



Και οι δύο χρησιμοποίησαν τυχαιοποιημένα δείγματα ορών από την εθνική ομάδα γεννήσεων της Δανίας. Η πρώτη μελέτη είχε τη δυνατότητα να ανιχνεύσει εάν η μόλυνση θα μπορούσε να συσχετιστεί με αποβολή. Η παρουσία λοίμωξης διερευνήθηκε σε μια ομάδα περιπτώσεων 218 γυναικών με αποβολή (απώλεια εγκυμοσύνης πριν από τις 22 εβδομάδες κύησης) σε σύγκριση με 482 υγιείς εγκυμοσύνες. Η δεύτερη μελέτη επικεντρώθηκε στα αποτελέσματα εγκυμοσύνης 397 γυναικών που εκτέθηκαν σε βοοειδή και πρόβατα (υψηλός κίνδυνος έκθεσης σε λοίμωξη από *Coxiella burnetii*) έναντι 459 γυναικών που δεν είχαν επαφή με ζώα. Ο επιπολασμός της *Coxiella burnetii* ήταν 5% στις περιπτώσεις και 6% στους μάρτυρες της πρώτης μελέτης, ενώ στη δεύτερη μελέτη το 19.5% όλων των γυναικών ήταν θετικές, ωστόσο το 87% αυτών των γυναικών είχαν επαφή με ζώα. Ο Nielsen και οι συνεργάτες του [63] ανέφεραν μια θετική περίπτωση αποβολής (0.46%) και 3 (0.67%) οροθετικές μεταξύ των μαρτύρων, ενώ στη δεύτερη μελέτη δύο αποβολές ήταν θετικές [64]. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι, παρά την παρουσία μόλυνσης από *Coxiella burnetii*, ειδικά σε έγκυες γυναίκες που έρχονται σε επαφή με βοοειδή και πρόβατα, αυτό το βακτήριο δεν φαίνεται να σχετίζεται ευρέως με δυσμενή έκβαση εγκυμοσύνης, αν και έχουν αναφερθεί μεμονωμένες περιπτώσεις.

#### 1.2.2.6 Syphilis

Η σύφιλη είναι μια βακτηριακή λοίμωξη που μπορεί να μεταδοθεί σεξουαλικά ή μέσω επαφής με το αίμα ενός μολυσμένου ατόμου. Προκαλείται από το βακτήριο *Treponema pallidum*, διαγιγνώσκεται με PCR και αντιμετωπίζεται με αντιβιοτικά [65]. Τα συμπτώματα πρώτου σταδίου περιλαμβάνουν μια εξαιρετικά μεταδοτική πληγή που αναπτύσσεται στο δεύτερο στάδιο σαν ένα εξάνθημα που συνοδεύεται από πονόλαιμο. Το τρίτο και τελευταίο στάδιο είναι η τριτογενής σύφιλη, η οποία δεν είναι μεταδοτική αλλά είναι πολύ επιβλαβής.

Ο Casal και οι συνεργάτες του [66] αξιολόγησαν παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με τη σύφιλη και τα αποτελέσματα της εγκυμοσύνης σε έναν αριθμό γυναικών από τον πληθυσμό της Βραζιλίας. Τα περιστατικά αποτελούνταν από γυναίκες θετικές στην σύφιλη, 169 με γεννήσεις ζωντανών

βρεφών και 68 που είχαν δυσμενή έκβαση εγκυμοσύνης. Αυτό περιελάμβανε αποβολή, θνησιγένεια και νεογνικό θάνατο. Η ομάδα ελέγχου των γυναικών αρνητικών για σύφιλη περιελάμβανε 219 γυναίκες που είχαν γεννήσει ζώντα βρέφη και 83 με δυσμενή έκβαση εγκυμοσύνης. Η σύφιλη συσχετίστηκε σημαντικά με το ιστορικό αποβολής (OR: 3.31, CI: 2.20–4.99,  $p < 0.0001$ ) μετά από δοκιμή με χρήση μοντέλου multiple regression. Οι περισσότερες από τις εγκυμοσύνες που οδήγησαν σε γεννήσεις ζωντανών βρεφών δεν ήταν εντελώς ασυμπτωματικές όταν υπήρχε λοίμωξη, με αποτέλεσμα, μεταξύ άλλων, την προωρότητα, το χαμηλό βάρος γέννησης και τα αναπνευστικά προβλήματα. Παρατήρησαν επίσης ότι η μητρική σύφιλη σχετιζόταν με παράνομα ναρκωτικά, αλκοόλ, μη παροχή συμβουλών για τη σύφιλη, έναρξη σεξουαλικής δραστηριότητας σε ηλικία 16 ετών ή μικρότερη, δύο ή περισσότερους σεξουαλικούς συντρόφους κατά το προηγούμενο 1.5 έτος, ζωή σε οικογένεια με χαμηλό εισόδημα και φτωχότερη υγιεινή. Όλοι οι παράγοντες που μπορούν επίσης να έχουν αρνητικό αντίκτυπο και στο αναπαραγωγικό αποτέλεσμα.

Μια μελέτη από την Κίνα ανέφερε ότι μετά από ένα πρόγραμμα προσυμπτωματικού ελέγχου που στόχευε στην πρόληψη της μετάδοσης της σύφιλης από μητέρα σε παιδί, τα ανεπιθύμητα αποτελέσματα εγκυμοσύνης, συμπεριλαμβανομένης της αποβολής, μειώθηκαν από 27.3% το 2003 σε 8.2% το 2011 [67].

Η επίδραση της σύφιλης στην εγκυμοσύνη αποτελεί αντικείμενο ενδιαφέροντος για σχεδόν 100 χρόνια. Η γενική συναίνεση είναι ότι η σύφιλη μπορεί να έχει καταστροφική επίδραση στα έμβρυα με αποτέλεσμα αποβολή, θνησιγένεια και συγγενή μετάδοση [68,69]. Τα προγράμματα προσυμπτωματικού ελέγχου της σύφιλης είναι σε ισχύ στις ΗΠΑ και την ΕΕ [52,70].

#### **1.2.2.7 Λοιμώξεις από ερπητοϊούς**

Η οικογένεια των ιών του έρπητα περιλαμβάνει έναν αριθμό παθογόνων ιών (Human Herpes Viruses/HHV) που μπορούν να παραμείνουν

στον ξενιστή και μπορούν να επανεργοποιηθούν [71]. Δύο μέλη αυτής της οικογένειας, ο HSV-1 (HHV1) και ο HSV-2 (HHV-2) δημιουργούν λανθάνουσα κατάσταση στα νευρωνικά κύτταρα και κατά την επανενεργοποίηση μπορεί να προκαλέσουν έρπητα των γεννητικών οργάνων ή των χειλιών [72]. Ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV) (HHV-5) είναι επίσης ένας πολύ κοινός ιός, που αποκτάται από τους περισσότερους ανθρώπους κατά την παιδική ηλικία [73]. Ο CMV μολύνει κυρίως μυελοειδή κύτταρα και δεν εκριζώνεται ποτέ από το σώμα [74]. Οι ιοί του έρπητα μπορούν να διαγνωστούν χρησιμοποιώντας PCR σε δείγματα ορών [75].

#### **1.2.2.8 HSV-1 και HSV-2**

HSV1 ή/και HSV2 DNA ανιχνεύθηκαν σε 43.5% από 95 κατεψυγμένα δείγματα τροφοβλαστικού ιστού από Ελληνίδες με αυθόρμητη απώλεια εγκυμοσύνης σε σύγκριση με το 16.7% των γυναικών που υποβλήθηκαν σε προαιρετική έκτρωση ( $n = 35$ ,  $P = 0,03$ , ακριβής δοκιμή Fisher) [76]. Χρησιμοποιώντας επιτόπια υβριδοποίηση HSV DNA ανιχνεύθηκε στην τροφοβλάστη 18 από τις 25 θετικές περιπτώσεις HSV. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο HSV φαίνεται να παίζει ρόλο στην πρώιμη αποβολή, αν και δεν έκαναν διάκριση μεταξύ των δύο τύπων HSV.

Αυτά τα δεδομένα υποστηρίζονται από μια πιο πρόσφατη μελέτη από την Κορέα [77]. Οι συγγραφείς αυτής της μελέτης εξέτασαν ορούς 500 εγκύων γυναικών για HSV-2 και 85 (17%) ήταν οροθετικές. Οι περισσότερες γυναίκες και στις δύο ομάδες βρέθηκαν επίσης θετικές για ερυθρά, ανεμευλογιά ζωστήρα (HHV-3) και ηπατίτιδα Β (HEPB), ωστόσο οι συγγραφείς προσαρμόστηκαν για αυτό. Από τις οροθετικές γυναίκες για τον HSV-2, το 38,8% είχε ιστορικό αποβολής σε σύγκριση με το 29,6% της ομάδας ελέγχου ( $P < 0,05$ ). Μια πιθανή συσχέτιση του HSV1 και του HSV2 με την αποβολή δεν μπορεί να εξακριβωθεί από αυτές τις αναφορές και απαιτούνται περαιτέρω μελέτες.

#### **1.2.2.9 Human papillomavirus**

Οι ιοί των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV) περιλαμβάνουν μια ομάδα από πάνω από 150 διαφορετικούς τύπους μικρών DNA ιών, μερικοί από τους οποίους προκαλούν κοινές σεξουαλικά μεταδιδόμενες λοιμώξεις [78]. Η σεξουαλικά μεταδιδόμενη λοίμωξη HPV έχει ποσοστό επιπολασμού 11.7% στο γενικό γυναικείο πληθυσμό αναπαραγωγικής ηλικίας [79]. Σύμφωνα με το CDC, ο σεξουαλικά μεταδιδόμενος επιπολασμός του HPV σε εθνικό επίπεδο στις ΗΠΑ μεταξύ των γυναικών 14-59 ετών ήταν 42.5% το 2003-2006, μια εκτίμηση που βασίζεται σε θετικά τεστ κολποτραχηλικού επιχρίσματος [80]. Επίμονη λοίμωξη με τύπους HPV υψηλού κινδύνου (η πιο διαδεδομένη είναι ο HPV 16/18 παγκοσμίως) έχουν συσχετιστεί με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και άλλες (HPV 6/11) με κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων [78,81]. Στην συντριπτική πλειοψηφία τους αυτές οι λοιμώξεις είναι ασυμπτωματικές αλλά δεν προκαλούν μακροχρόνια νόσο και ένα εμβόλιο είναι πλέον διαθέσιμο για τους τύπους 6, 11, 16 και 18 [78]. Η λοίμωξη από τον HPV δεν μπορεί να διαγνωστεί με εξετάσεις αίματος, ωστόσο ένα PCR σε δείγματα κυττάρων του τραχήλου της μήτρας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό συγκεκριμένων ιικών γονότυπων μετά από θετικό τεστ Παπανικολάου (PAP) [82].

Τα αποτελέσματα πρόσφατων μελετών σχετικά με τις επιδράσεις της λοίμωξης από HPV κατά την αποβολή είναι αντιφατικά [83-85]. Μια μελέτη στην Κίνα σχετικά με την επίδραση του HPV στην έκβαση της εγκυμοσύνης ασθενών που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με εξωσωματική γονιμοποίηση δεν βρήκε διαφορά στα ποσοστά αποβολών μεταξύ των γυναικών με ανώμαλη κυτταρολογική εξέταση του τραχήλου της μήτρας που είχαν θετικό τεστ HPV υψηλού κινδύνου και εκείνων που ήταν αρνητικές στον υψηλό κίνδυνο HPV [85].

Μια δεύτερη μελέτη από την Πολωνία δοκίμασε για 33 γονότυπους HPV και επίσης για συγκεκριμένη παρουσία HPV 16/18 DNA σε πλακούντες από αποβολές και από τοκετούς τέρματος από γυναίκες που δεν έδειξαν σημεία συστηματικής λοίμωξης (αλλά δεν εξετάστηκαν, n = 78). Βρήκαν HPV DNA στο 17.7% των περιπτώσεων αποβολής και στο 24.4% πλακούντα ελέγχου. Συνολικά το 11.8% των αποβολών και το 12.8% των φυσιολογικών

πλακούντων ήταν θετικά για τον HPV 16/18, αλλά καμία από αυτές τις διαφορές δεν έφτασε σε στατιστική σημασία [84]. Και οι δύο αυτές μελέτες υποδηλώνουν ότι η λοίμωξη από HPV στις γυναίκες δεν έχει καμία επίδραση στην έκβαση της εγκυμοσύνης, αν και δεν εξετάστηκαν περισσότερες από 150 γυναίκες σε κάθε μελέτη.

Αντίθετα, τα αποτελέσματα από μια μελέτη του 2011 συσχέτισαν σημαντικά τη λοίμωξη από τον ανδρικό σύντροφο με το ποσοστό αποβολών σε 199 ζευγάρια που παρακολουθούσαν κλινικές εξωσωματικής γονιμοποίησης στην Ιταλία (66.7% σε ζευγάρια με λοίμωξη HPV έναντι 15% του control group χωρίς λοίμωξη HPV,  $P < 0,01$ ) [83]. Οι ερευνητές εντόπισαν επίσης ότι όλες οι εγκυμοσύνες σε ζευγάρια όπου και οι δύο σύντροφοι είχαν μολυνθεί οδήγησαν σε αποβολή.

Αυτές οι μελέτες παρουσιάζουν αντιφατικά δεδομένα, ωστόσο οι δύο πρώτες εξέτασαν τη μόλυνση σε γυναίκες ενώ η δεύτερη διερεύνησε άνδρες. Είναι ενδιαφέρον ότι μια παλαιότερη μελέτη [86] ανέφερε παρουσία HPV DNA σε 15 από τα 25 δείγματα πρώιμης αποβολής σε σύγκριση με 3 από τα 15 δείγματα εκλεκτικής άμβλωσης πρώτου τριμήνου. Απαιτούνται περαιτέρω καλά σχεδιασμένες, επαρκώς ενισχυμένες μελέτες για να αποσαφηνιστεί πλήρως ο ρόλος του HPV ως δυνητικού παράγοντα κινδύνου για αποβολή, ενώ λαμβάνεται υπόψη ο ρόλος ενός μολυσμένου αρσενικού συντρόφου καθώς υπάρχουν ενδείξεις πιθανού ρόλου στην πρώιμη αποβολή [87].

#### **1.2.2.10 HIV**

Ο HIV είναι ρετροϊός και μεταδίδεται συχνότερα μέσω της μη προστατευμένης σεξουαλικής επαφής ή κοινής χρήσης εξοπλισμού για ενδοφλέβια χρήση ναρκωτικών. Υπάρχουν δύο τύποι HIV, ο HIV-1 και ο HIV-2, με τον πρώτο να είναι ο πιο κοινός [88]. Ο ιός μολύνει διάφορους κυτταρικούς τύπους του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή, όπως τα CD4+ T λεμφοκύτταρα [89,90], μακροφάγους [91] και δενδριτικά κύτταρα [92]. Σε όλο τον κόσμο, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) υπολογίζει ότι 34 εκατομμύρια άνθρωποι ζουν με τον ιό HIV, και έχουν διαγνωστεί με εξετάσεις αίματος ιικού φορτίου HIV (PCR) [93]. Η αντιρετροϊκή θεραπεία καθυστερεί

την εμφάνιση σοβαρών συμπτωμάτων και προστατεύει τον ασθενή από ευκαιριακές λοιμώξεις, που είναι η κύρια αιτία θανάτου μεταξύ των οροθετικών ασθενών [94].

Μια μελέτη του 2013 από τη Νιγηρία εξέτασε 2381 εγκυμοσύνες σε 1702 γυναίκες θετικές στον HIV σε σύγκριση με 2381 εγκύους μη μολυσμένες, από τα ίδια νοσοκομεία. Μετά τον πρόωρο τοκετό, η αποβολή συσχετίστηκε σημαντικά με τη θετικότητα στον HIV (OR: 1,37, CI: 1,1–2,3). Αυτή η συσχέτιση διατηρήθηκε μετά από προσαρμογή για πολλές συγχυτικές μεταβλητές όπως η ηλικία, η ισότητα, το ιστορικό αποβολής και άλλες. Οι μολυσμένες γυναίκες σε αυτήν τη μελέτη λάμβαναν όλες αντιρετροϊκή αγωγή, ωστόσο χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικά σχήματα ως προς την αγωγή κατά τα έτη που διεξήχθη η μελέτη. Οι περιορισμοί αυτής της μελέτης περιλαμβάνουν τον αριθμό του control group που δεν δηλώνεται επαρκώς καθώς και την έλλειψη δοκιμών για άλλα σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα [95].

Σε μια μελέτη στη Ζάμπια παρακολουθήθηκαν 1229 οροθετικές έγκυες γυναίκες [96]. Το ποσοστό αποβολών ως προς τις γεννήσεις ζώντων βρεφών ήταν 3.1% και τα CD4 κύτταρα που ήταν λιγότερα από 350 κύτταρα/mm<sup>2</sup> συσχετίστηκαν σημαντικά με την αποβολή. Οι γυναίκες στρατολογήθηκαν τόσο κατά το πρώτο όσο και στο δεύτερο τρίμηνο και καμία από τις γυναίκες που απέβαλαν δεν είχε λάβει αντιρετροϊκή θεραπεία. Η μελέτη δεν σύγκρινε τις περιπτώσεις με μη μολυσμένες έγκυες γυναίκες.

Σε μια μελέτη 382 εγκύων μολυσμένων με HIV από την Ουγκάντα/Ζιμπάμπουε που υποβλήθηκαν σε πολλαπλές αντιρετροϊκές θεραπείες [97], οι αποβολές και οι ιατρικές αμβλώσεις που προκλήθηκαν πριν από τις 22 εβδομάδες κύησης αξιολογήθηκαν ως ένας παράγοντας και όχι ως ξεχωριστά αποτελέσματα. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο θάνατος του εμβρύου μετά τις 22 εβδομάδες ταξινομήθηκε ως θνησιγένεια. Ως εκ τούτου, δεν μπορούν να εξαχθούν συγκεκριμένα συμπεράσματα σχετικά με την αποβολή από αυτή τη μελέτη. Μια μελέτη από την Ινδία σε 69 μολυσμένες με HIV και 345 μη μολυσμένες γυναίκες έδειξε υψηλότερο κίνδυνο αποβολής/θνησιγένειας μεταξύ της μολυσμένης ομάδας, ωστόσο και πάλι δεν υπήρξε διάκριση μεταξύ ιατρικά προκλημένων αμβλώσεων και αποβολών

[98]. Σε μια αναδρομική ανάλυση από τη Γερμανία, από το 42% των οροθετικών γυναικών που πήγαιναν σε εξωτερικά ιατρεία για συμβουλευτική πριν από τη σύλληψη μόνο μία έμεινε έγγυος και απέβαλε [99].

Η κατάσταση του HIV συσχετίστηκε με αποβολή σε μια μελέτη 1.218 εγκύων γυναικών από την Ουγκάντα [100]. Ωστόσο, όρισαν τη θνησιγένεια ως τη γέννηση ενός μη ζωντανού εμβρύου  $\geq 28$  εβδομάδων κύησης. και αποβολή ως γέννηση ενός μη βιώσιμου εμβρύου είτε σε  $<28$  εβδομάδες κύησης είτε με βάρος  $<500$  g. Επιπλέον, καθώς η θνησιγένεια και η αποβολή ομαδοποιήθηκαν ως ένα αποτέλεσμα, δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα σχετικά με την αποβολή από αυτή τη μελέτη.

Συνοψίζοντας, τα στοιχεία δείχνουν ότι η μόλυνση από τον ιό HIV επηρεάζει αρνητικά την εγκυμοσύνη. Ωστόσο, η αντιρετροϊκή θεραπεία μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο ανεπιθύμητων εκβάσεων [101,102]. Επιπλέον, ο HIV έχει συσχετιστεί με BV που θα μπορούσε να έχει επιζήμιο ρόλο στην έκβαση της εγκυμοσύνης[103]. Η παρουσία πολλαπλών ασθενειών θα μπορούσε να διακυβεύσει περαιτέρω την εγκυμοσύνη.

#### **1.2.2.11 Polyomavirus BK**

Ο πολυωμαϊκός ιός BK μολύνει μέχρι και το 90% του γενικού πληθυσμού μέσω άγνωστης οδού μετάδοσης και είναι συνήθως ασυμπτωματικός με εξαίρεση τα ανοσοκατεσταλμένα άτομα [104]. Τα αντισώματα κατά του ιού μπορούν να ανιχνευθούν χρησιμοποιώντας δείγματα ορών και PCR, κυτταρολογία ούρων και ιική ανοσοχρώση [105].

Πρόσφατες μελέτες έχουν διερευνήσει τον πιθανό ρόλο της λοίμωξης από τον ιό BK στις δυσμενείς εκβάσεις της εγκυμοσύνης. Μια μελέτη σε ασθενείς με ανεξήγητη λαχνίτιδα (λοίμωξη των λαχνών του πλακούντα που σχετίζεται με δυσμενή έκβαση εγκυμοσύνης) δεν ανίχνευσε BK στον πλακούντα από αποβολές [106]. Οι συγγραφείς αναφέρουν ότι «Για περιπτώσεις με διάχυτη λαχνίτιδα, η ηλικία κύησης κυμαινόταν από 31 έως 41

εβδομάδες (μέσος όρος 37.2 εβδομάδες)». Φαίνεται λοιπόν πιο κατάλληλο να αντιμετωπίζονται αυτές οι περιπτώσεις ως θνησιγένειες και όχι ως αποβολές.

Σε άλλη μελέτη από την Ιταλία, δείγματα από πέντε αποβολές εμβρύων με χοριοαμνιονίτιδα και αποβολές λόγω χρωμοσωμικών ανωμαλιών (μάρτυρες), ανιχνεύθηκε BK σε εμβρυικά όργανα [107]. Αν και αυτό παρέχει πιθανή απόδειξη κάθετης μετάδοσης του ιού, καθώς ανιχνεύτηκε σε τέσσερις στους πέντε χρωμοσωμικά μη φυσιολογικούς ελέγχους και σε τρεις στις πέντε περιπτώσεις, οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η λοίμωξη από BK δεν παίζει ρόλο στην αποβολή. Σύμφωνα με την πρώτη μελέτη, τα έμβρυα ήταν μεταξύ της 15ης και της 28ης εβδομάδας κύησης, επομένως μερικά από αυτά ήταν θνησιγένες. Επιπλέον, τα έμβρυα δεν ταιριάστηκαν με την ηλικία κύησης. Και στις δύο μελέτες, οι αριθμοί ήταν μικροί και δεν δοκιμάστηκαν οποιοσδήποτε πρώιμες αποβολές. Επομένως, το ερώτημα εάν ο ιός BK θα μπορούσε να συσχετιστεί με αποβολή απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση.

#### **1.2.2.12 Δάγγειος πυρετός (Dengue Fever)**

Ο δάγγειος πυρετός είναι μια ασθένεια που προκαλείται από τέσσερις ιούς του γένους RNA flaviviridae (DEN1-4), και μεταδίδεται μέσω τσιμπήματος κουνουπιών συνήθως σε τροπικά και υποτροπικά κλίματα παγκοσμίως. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) υπολογίζει 40-50 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις κάθε χρόνο. Ο δάγγειος πυρετός είναι μια ασθένεια που μοιάζει με γρίπη και δεν υπάρχει εμβολιασμός για αυτήν προς το παρόν και δεν διατίθεται οποιαδήποτε θεραπεία επί του παρόντος. Η διάγνωση είναι δύσκολη καθώς τα συμπτώματα μοιάζουν με άλλες ασθένειες, ωστόσο οι συνήθεις προσεγγίσεις περιλαμβάνουν την ανίχνευση DNA και αντισωμάτων σε δείγματα ορού χρησιμοποιώντας PCR και ELISA, αντίστοιχα [108].

Ο ρόλος του δάγγειου πυρετού στην αποβολή εξετάστηκε σε μια προοπτική μελέτη από τη Μαλαισία σε 115 γυναίκες με αποβολή έως και 22 εβδομάδες κύησης και 296 υγιείς έγκυες μάρτυρες (control group). Αυτή η μελέτη βρήκε σημαντική συσχέτιση της λοίμωξης από δάγγειο πυρετό με αποβολή μετά από προσαρμογή για παράγοντες όπως η ηλικία της μητέρας, η ηλικία κύησης, η ισότητα και η εθνικότητα (5.3% στις περιπτώσεις έναντι



1.7% στο control group, προσαρμοσμένο odds ratio (OR: 4,2, 95% CI: 1.2–14,  $p = 0.023$ ) [109].

#### **1.2.2.13 Ερυθρά (Rubella)**

Η ερυθρά είναι μια ήπια παιδική ασθένεια που, εάν αποκτηθεί κατά τις πρώτες 16 εβδομάδες κύησης, μπορεί να οδηγήσει σε αποβολή και σοβαρά εμβρυϊκά ελαττώματα [110]. Ένα εμβόλιο είναι διαθέσιμο εδώ και αρκετά χρόνια με αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση των νέων κρουσμάτων σύμφωνα με την μια πρόσφατη έκθεση προόδου του ΠΟΥ [111]. Ανεξάρτητα από αυτή την πρόοδο, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι υπάρχει ένας αριθμός μη εμβολιασμένων εγκύων στην Ευρώπη και παγκοσμίως που δεν έχουν πρόσβαση στον εμβολιασμό και εξακολουθούν να διατρέχουν κίνδυνο δυσμενούς έκβασης εγκυμοσύνης λόγω της ερυθράς [112,113].

#### **1.2.2.14 Γρίπη (Influenza virus)**

Μια μελέτη για την πανδημία της γρίπης από το 1918 κατέληξε στο συμπέρασμα ότι ο influenza virus οδήγησε σε μείωση των ζωντανών γεννήσεων νεογνών όχι μόνο λόγω της υψηλής θνησιμότητας αλλά και της αύξησης των πρώιμων αποβολών σε έγκυες γυναίκες που είχαν μολυνθεί από τον ιό [114]. Σε μια αναφορά σειράς περιστατικών σχετικά με την πανδημία της γρίπης A H1N1, έξι γυναίκες εισήχθησαν στην εντατική και είχαν δυσμενή έκβαση εγκυμοσύνης, ωστόσο μόνο μία βαρέως άρρωστη ασθενής είχε αυθόρμητη άμβλωση καθώς τέσσερις περιπτώσεις συνέβησαν κατά το τρίτο τρίμηνο [115].

#### **1.2.2.15 Ελονοσία (Malaria)**

Η ελονοσία προκαλείται από μόλυνση πρωτοζώων του γένους Plasmodium, μεταδίδεται μέσω τσιμπήματος κουνουπιών και είναι ενδημική σε περισσότερες από 100 χώρες στην Αφρική, την Ασία και τη Νότια Αμερική [116]. Το 2012 υπολογίστηκαν 207 εκατομμύρια κρούσματα ελονοσίας που οδήγησαν σε περίπου 627.000 θανάτους (το 90% όλων των θανάτων από ελονοσία συμβαίνουν στην υποσαχάρια Αφρική) [116]. Τα συμπτώματα

περιλαμβάνουν πυρετό, ιδρώτες, πονοκέφαλο και διάρροια και μπορούν να αντιμετωπιστούν με τη χρήση διαφορετικών φαρμάκων ανάλογα με τα συμπτώματα και το συγκεκριμένο παθογόνο που προκαλεί τη νόσο, όπως η ατοβακουόνη συν προγουανίλη ή η δοξυκυκλίνη [117]. Τα παράσιτα της ελονοσίας αναγνωρίζονται με μικροσκοπική εξέταση δειγμάτων αίματος των ασθενών. Το 2007, 54.7 εκατομμύρια εγκυμοσύνες σημειώθηκαν σε περιοχές με ενδημική ελονοσία και άλλα 70.5 εκατομμύρια σε περιοχές με εξαιρετικά χαμηλή μετάδοση της ελονοσίας [118]. Το πλασμώδιο μπορεί να δεσμεύσει τη θειική χονδροϊτίνη A που εκφράζεται στην τροφοβλάστη και αυτό είναι που προκαλεί τοπική παρασαιμία στον πλακούντα [119]. Η νόσος είναι πιο σοβαρή στις primigravida γυναίκες και μειώνεται με κάθε εγκυμοσύνη καθώς η ανοσία συσσωρεύεται σε εκείνα τα παράσιτα που στοχεύουν τον πλακούντα [120].

Οι γυναίκες με ασυμπτωματική και συμπτωματική ελονοσία (ένα επεισόδιο πριν από τις 14 εβδομάδες κύησης) διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο αποβολής (προσαρμοσμένο OR: 2.70, 95% CI: 2.04–3.59 και OR: 3.99, 95% CI: 3.1–5.13, αντίστοιχα). Αυτή η μελέτη συμπεριέλαβε 3527 γυναίκες με αποβολή και 14087 γυναίκες που γέννησαν υγιή μωρά στην Ταϊλάνδη. Οι αναλογίες κινδύνου δεν ήταν διαφορετικές για τα διαφορετικά γένη της οικογενειας προτοζών *Plasmodium* [121].

Οι De Beaudrap et al. [100] μελέτησαν επίσης την ελονοσία κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης στην Ουγκάντα. Σε 1218 έγκυες γυναίκες δεν βρέθηκε συσχέτιση της ελονοσίας με δυσμενή έκβαση της εγκυμοσύνης, αλλά αποδείχθηκε συσχέτιση με τον ιό HIV. Από αυτές τις μελέτες είναι εμφανής η συσχέτιση της ελονοσίας με τις ανεπιθύμητες εκβάσεις της εγκυμοσύνης, και πιο συγκεκριμένα με την αποβολή.

#### **1.2.2.16 Τοξοπλάσμωση (Toxoplasmosis)**

Ο επιπολασμός της τοξοπλάσμωσης διαφέρει ανά τον κόσμο, από 20–40% στο Ηνωμένο Βασίλειο και τις ΗΠΑ [122] έως ~70% στις τροπικές χώρες [123]. Σε μια πρόσφατη μελέτη από το Λονδίνο, το 17.32% από τα 2610 δείγματα που εξετάστηκαν ήταν οροθετικά [124]. Παρόλο που οι περισσότεροι ασθενείς είναι ασυμπτωματικοί, τα άτομα με ανοσοκαταστολή και οι γυναίκες

που μολύνονται είναι επιρρεπή στην ανάπτυξη σοβαρής νόσου ενώ είναι έγκυες μπορούν να περάσουν τη λοίμωξη κάθετα [125]. Η παρουσία της επιβεβαιώνεται με ανίχνευση αντισωμάτων.

Ο Alvarado-Esquivel et al. [126] έδειξε ότι το 6.7% των 326 γυναικών με ιστορικό αποβολής είχαν εκτεθεί στο *Toxoplasma gondii*. Ωστόσο, αυτή η μελέτη δεν περιελάμβανε control group χωρίς ιστορικό αποβολής. Αποβολή ή θνησιγένεια συνέβη σε 28 από τις 190 περιπτώσεις εγκύων με τοξοπλάσμωση που παρουσιάστηκε στην Αγγλία και την Ουαλία μεταξύ 2008 και 2012, ωστόσο αυτά είναι δεδομένα από το πρόγραμμα επιτήρησης που ισχύει επί του παρόντος και δεν αποτελούν μέρος μελέτης [127]. Σε μια μελέτη σε δείγματα ορού από 100 γυναίκες που είχαν αποβάλει, το 86% εκ των οποίων ήταν κατά το πρώτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης, το 55% ήταν οροθετικό για IgG έναντι του *Toxoplasma gondii* [128], ωστόσο, δεν έγινε καμία σύγκριση σε μη μολυσμένες εγκύους. Μια μετα-ανάλυση πολλών μεξικανικών μελετών δείχνει επίσης ότι τα ποσοστά μόλυνσης είναι υψηλότερα σε γυναίκες με αποβολή [129]. Παρόλα αυτά, όπως τονίζουν οι συγγραφείς, μόνο τρεις από τις 132 μελέτες που περιλαμβάνονται στη συστηματική τους ανασκόπηση, επικεντρώθηκαν σε γυναίκες που είχαν αποβολή.

Η πιθανότητα συσχέτισης της λοίμωξης από *Toxoplasma gondii* που οδηγεί σε αποβολή τονίζεται από την παρούσα ανασκόπηση πρόσφατων μελετών. Λαμβάνοντας υπόψη τον σημαντικό παγκόσμιο επιπολασμό αυτής της λοίμωξης από πρωτόζωα, συνιστάται η εξέταση εγκύων γυναικών εάν διαπιστωθεί ότι αυτή η λοίμωξη παρουσιάζει σημαντικό κίνδυνο για δυσμενή έκβαση της εγκυμοσύνης.

### **Πώς οι λοιμώξεις οδηγούν σε αποβολή;**

Η εγκυμοσύνη είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που περιλαμβάνει πολλαπλούς τύπους κυττάρων και ρυθμίζεται από αρκετούς εξελιγμένους μηχανισμούς, οι οποίοι δεν έχουν ακόμη διευκρινιστεί πλήρως παρά την πολυετή και εκτεταμένη έρευνα στο αντικείμενο. Για να κατανοηθεί το αρνητικό αντίκτυπο των λοιμώξεων στην εγκυμοσύνη, πρέπει πρώτα να

κατανοήθει και το πώς δημιουργείται μια φυσιολογική, επιτυχημένη εγκυμοσύνη, η μορφολογία μητέρας-εμβρύου, διαδικασία εμφύτευσης και ο ρόλος που διαδραματίζει το ανοσοποιητικό σύστημα.

Το ανθρώπινο ενδομήτριο αποτελείται από πολλούς και διαφορετικούς τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των επιθηλιακών κυττάρων του αυλού και των αδενικών οστών, των στρωματικών ινοβλαστικών κυττάρων, των κυττάρων του ανοσοποιητικού και των αιμοφόρων αγγείων. Κατά τη διάρκεια κάθε εμμηνορροϊκού κύκλου, το ενδομήτριο στρωματικό διαμέρισμα υφίσταται μορφολογική και δομική μεταμόρφωση για να γίνει δεκτικό στην εμφύτευση, μια διαδικασία που γίνεται ως απόκριση στα οιστρογόνα και την προγεστερόνη των ωοθηκών μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται «αποσκίνιση». Πριν από την εμφύτευση, η τροφοβλάστη διαφοροποιείται στην αναπτυσσόμενη βλαστοκύστη καθώς ταξιδεύει από τη σάλπιγγα στη μήτρα. Το «παράθυρο εμφύτευσης», κατά το οποίο η μήτρα είναι δεκτική στο έμβρυο, είναι συνήθως μεταξύ 6 και 12 ημερών μετά την ωορρηξία [130]. Η βλαστοκύστη προσκολλάται στο δεκτικό ενδομήτριο χρησιμοποιώντας πρωτεΐνες πρόσφυσης, που ονομάζονται ιντεγκρίνες, κατά τη διάρκεια του παραθύρου εμφύτευσης [131]. Ο σχηματισμός πλακούντα ξεκινά καθώς η τροφοβλάστη έρχεται σε επαφή με το επιθήλιο και διαφοροποιείται. Στη διαδικασία αυτή εμπλέκονται διάφορα άλλα μόρια, τόσο από τη μητρική όσο και από την εμβρυϊκή πλευρά [132-135]

Κατά τη διάρκεια της εισβολής των τροφοβλαστικών κυττάρων, αναπτύσσονται κοιλότητες που ονομάζονται κενά, οι οποίες, καθώς γεμίζουν με μητρικό αίμα, φέρνουν τη μητρική κυκλοφορία σε επαφή με τις λάχνες του πλακούντα, σηματοδοτώντας έτσι την έναρξη της πλακουντιακής κυκλοφορίας που περιλαμβάνει ανταλλαγή θρεπτικών ουσιών και αποβλήτων μεταξύ του εμβρύου και της μητέρας. Στις 10<sup>η</sup> μέχρι 12<sup>η</sup> ημέρα της κύησης, το έμβρυο είναι πλήρως ενσωματωμένο στο ενδομήτριο, το επιθήλιο έχει αναπτυχθεί πάνω του και η διαδικασία εμφύτευσης έχει ολοκληρωθεί.

Οι τρεις ζώνες του πλακούντα είναι πλέον διακριτές: η πρώιμη χοριακή πλάκα κοντά στο έμβρυο, ο μεσολάχνιος χώρος με τα λαχνοειδή δέντρα και η πρωτόγονη βασική πλάκα σε επαφή με το μητρικό ενδομήτριο [136, 137].

Ταυτόχρονα, τα ενδοαγγειακά τροφοβλαστικά κύτταρα που προέρχονται από τη βασική πλάκα εισβάλλουν στα τοιχώματα των σπειροειδών αρτηριών, αντικαθιστώντας τα μητρικά μυϊκά και ενδοθηλιακά κύτταρα με κύτταρα τροφοβλάστης, μετατρέποντας τις αρτηρίες σε αιμοφόρα αγγεία μεγάλης διαμέτρου και χαμηλής αντίστασης [138].

Ο ρόλος του ανοσοποιητικού συστήματος σε μια επιτυχημένη εγκυμοσύνη είναι καθοριστικός. Ενώ διατηρείται η ανοσολογική ανοχή του ημι-αλλογενικού εμβρύου, αρκετά συστατικά του ανοσοποιητικού συστήματος εκπληρώνουν τον καθορισμένο ρόλο τους στην προετοιμασία για την εμφύτευση καθώς και κατά τη διάρκεια της κύησης [139,140]. Natural killer (NK), μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα έχουν όλα ανιχνευθεί [141-143]. Κυτοκίνες όπως η ιντερλευκίνη (IL-10) και το CSF-1 μεταξύ άλλων έχουν συνδεθεί με τη διαδικασία εμφύτευσης και εκφράζονται στα κύτταρα της [141,144-145]. Η εμφύτευση προκαλεί μια φλεγμονώδη απόκριση λόγω της εισβολής και της βλάβης του μητρικού ιστού, με πολλά κύτταρα να υφίστανται απόπτωση [146,147].

Η ανώμαλη εμφύτευση, ο πλακούντας ή ο μετασχηματισμός των αιμοφόρων αγγείων πιστεύεται ότι οδηγεί σε αποβολή [148,149]. Μια ενεργή λοίμωξη θα μπορούσε να επηρεάσει την εγκυμοσύνη επηρεάζοντας οποιαδήποτε από τις προαναφερθείσες διαδικασίες καθώς και να διαταράξει την ισορροπία του ανοσοποιητικού, είτε οδήγησε σε μόλυνση του πλακούντα και του εμβρύου είτε όχι.

### **1.2.3 Ανοσολογικοί παράγοντες**

Οι αυτοάνοσες ανωμαλίες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις επαναλαμβανόμενες απώλειες εγκυμοσύνης και αντιπροσωπεύουν μία από τις πολλές αποδεκτές αιτίες αποβολής [150]. Μεταξύ αυτών, ένας αυξανόμενος αριθμός στοιχείων συνδέει την αυτοάνοση φλεγμονή του θυρεοειδούς με δυσμενή έκβαση της εγκυμοσύνης, συμπεριλαμβανομένων των αποβολών ή των πρόωρων τοκετών. Η θυρεοειδίτιδα Hashimoto, η πιο κοινή αυτοάνοση διαταραχή παγκοσμίως [151], επηρεάζει περίπου το 4% των

γυναικών κατά την αναπαραγωγική τους ηλικία [152,153] και έχει εμπλακεί στην παθογένεση επαναλαμβανόμενων αποβολών [154].

Είναι αξιοσημείωτο ότι μπορεί να εμφανιστεί μεμονωμένα ή ταυτόχρονα με άλλες ενδοκρινικές και/ή μη ενδοκρινικές αυτοάνοσες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένου του αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου (APS) [155], το οποίο μπορεί να αντιπροσωπεύει την κλινική έκφραση μιας πιο εκτεταμένης διαταραχής του ανοσοποιητικού συστήματος. Η παρουσία αντισωμάτων κατά της υπεροξειδάσης του θυρεοειδούς (anti-TPO-Abs) (περίπου 10% των γυναικών στις 14 εβδομάδες κύησης) έχει προταθεί ως αιτία στειρότητας και αυξημένου ποσοστού αποβολών [154-158]. Μια μετα-ανάλυση έδειξε μια αναλογία πιθανοτήτων 2,1 για επανειλημμένες αποβολές σε γυναίκες που φέρουν αντισώματα κατά της υπεροξειδάσης του θυρεοειδούς [159], τα οποία αρχικά θεωρήθηκαν αιτιολογικά για μεμονωμένες ή επαναλαμβανόμενες αποβολές [158]. Σήμερα, μια κατάλληλη ισορροπία μεταξύ ανοσολογικών παραγόντων μητέρας και εμβρύου φαίνεται να είναι το κλειδί για την πρόληψη μιας ανοσολογικής απόρριψης του εμβρύου [160].

Στην πραγματικότητα, μια διαταραχή της ανοσολογικής αυτοανοχής και η ενεργοποίηση μιας προφλεγμονώδους απόκρισης έχει συνδεθεί με τις επαναλαμβανόμενες απώλειες εγκυμοσύνης [161,162]. Ωστόσο, καμία μελέτη δεν έχει εξετάσει εάν η παρουσία περισσότερων από μία αυτοάνοσων διαταραχών μπορεί να αυξήσει ή να μειώσει τον κίνδυνο αποβολών. Ως εκ τούτου, αυτή η μελέτη είχε ως στόχο την αξιολόγηση του ποσοστού υποτροπιάζουσας απώλειας εγκυμοσύνης σε ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto, μεμονωμένες ή ταυτόχρονα με άλλες μη ενδοκρινικές αυτοάνοσες διαταραχές.

Αν και το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (APS) θεωρείται από τους επιστήμονες ως μια σχετικά νέα διαταραχή, η προέλευσή του χρονολογείται στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα με την ταυτοποίηση του αντισώματος Wasserman, το οποίο δεσμεύει τη φωσφολιπιδική καρδιολιπίνη και χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση του βακτηριδίου *Treponema pallidum* [163]. Το αντίσωμα εντοπίστηκε στη συνέχεια σε ασθενείς που δεν είχαν σύφιλη, δημιουργώντας ουσιαστικά τον όρο 'βιολογικό ψευδώς θετικό ορολογικό τεστ' για σύφιλη

(BFP-STTS). Στη δεκαετία του 1950, το BFP-STTS συνδέθηκε με έναν αναστολέα πήξης ο οποίος ονομάστηκε αντιπηκτικό του λύκου, και ονομάστηκε έτσι επειδή οι πρώτες αναφορές περιπτώσεων του συνδέθηκε με αιμορραγία σε ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο [164]. Η παρουσία του αντιπηκτικού του λύκου συνδέθηκε στη συνέχεια τόσο με θρόμβωση όσο και με απώλεια εγκυμοσύνης, αλλά οι περιπλοκές της εκτέλεσης της δοκιμασίας (μια δοκιμασία λειτουργικής πήξης που απαιτεί φρέσκο πλάσμα) περιόρισαν τις ερευνητικές προσπάθειες. Το 1983, έγιναν διαθέσιμα πιο εύκολα και τυποποιημένα τέστ ELISA που ανίχνευαν αντικαρδιολιπινικό αντίσωμα (aCL) και ακολούθησαν πολλές αναφορές που περιγράφουν μια μεγάλη ποικιλία κλινικών εκδηλώσεων που σχετίζονται με την αντικαρδιολιπίνη, που τώρα ονομάζεται APS, συμπεριλαμβανομένης της ταυτοποίησης ασθενών με APS μόνο (πρωτοπαθής APS, ή PAPS) και ασθενείς με οξεία πολυσυστηματική θρόμβωση (καταστροφική APS (CAPS)). Στη δεκαετία του 1990, κατέστη σαφές ότι τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα (aPL) συνδέονται κυρίως με την κυκλοφορούσα πρωτεΐνη πλάσματος b2-γλυκοπρωτεΐνη I (b2GPI) όταν δεσμεύεται με φωσφολιπίδια, παρά απευθείας. Το anti-b2GPI αντίσωμα ELISA παρέχει τώρα μια πρόσθετη δοκιμή για την ανίχνευση της παρουσίας aPL [163]. Η κατανόηση του ρόλου της b2GPI και άλλων πρωτεϊνών που δεσμεύουν τα φωσφολιπίδια έχει οδηγήσει σε μεγαλύτερη σαφήνεια σχετικά με τους πολλαπλούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στις χαρακτηριστικές εκδηλώσεις αυτού του συνδρόμου, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής ενεργοποίησης, της ενεργοποίησης του συμπληρώματος και των προθρομβωτικών και αντινωδολυτικών επιδράσεων. Αυτή η πολλαπλότητα μηχανισμών υπογραμμίζει τόσο το φάσμα των εκδηλώσεων που σχετίζονται με το aPL (δεν είναι όλες αποτέλεσμα θρόμβωσης) όσο και το σκεπτικό για προτεινόμενες μελλοντικές θεραπείες (δεν είναι όλες αντιπηκτικές).

Η δέσμευση του aPL με την b2GPI σε κυτταρικές επιφάνειες ενεργοποιεί τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα αιμοπετάλια που οδηγούν σε προφλεγμονώδεις και προθρομβωτικούς φαινοτύπους και στην ενεργοποίηση συμπληρώματος, με το καθαρό αποτέλεσμα να οδηγεί σε θρόμβωση και πιθανή παρέμβαση με τροφοβλάστη και φθαρμένα κύτταρα.

Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν επίσης τη συμμετοχή ουδετερόφιλων στην έκφραση του παράγοντα ιστού (TF) και την απελευθέρωση εξωκυτταρικών παγίδων ουδετερόφιλων (NETosis), καθώς και την ανοδική ρύθμιση του μηχανιστικού στόχου του συμπλέγματος ραπαμυκίνης (mTOR) στα ενδοθηλιακά κύτταρα, που μπορεί να συμβάλει στην aPL-σχετιζόμενη αγγειοπάθεια. Οι αιμοστατικές αντιδράσεις περιλαμβάνουν τόσο προθρομβωτικές επιδράσεις, όπως επίκτητη αντίσταση στην πρωτεΐνη C και την αναστολή του αναστολέα της οδού TF και ινωδολυτικές αλλαγές, όπως η αναστολή της δραστηριότητας του αναστολέα του πλασμινογόνου των ιστών [165]. Ως αποτέλεσμα της ολοένα αυξανόμενης κατανόησης μιας πολύπλοκης αλληλεπίδρασης θρόμβωσης, φλεγμονής και αγγειοπάθειας, μπορεί να προκύψουν νέες θεραπείες για την καλύτερη αντιμετώπιση ενός ευρέος φάσματος εκδηλώσεων APS, συμπεριλαμβανομένων των καρδιακών και νεφρικών παθήσεων. Επί του παρόντος, η αντιπηκτική αγωγή με βαρφαρίνη παραμένει η βασική θεραπεία για τη θρόμβωση και η συνδυαστική θεραπεία με ασπιρίνη και ηπαρίνη η καθιερωμένη θεραπεία για μαιευτικές επιπλοκές.

### **1.2.3.1 Διάγνωση αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου (APS)**

Δεδομένης της τεράστιας αύξησης τόσο της βασικής όσο και της κλινικής έρευνας για το APL και το APS τα τελευταία τριάντα χρόνια, καθώς και τη σαφή συσχέτιση του συνδρόμου με κλινικά διαθέσιμα τεστ αντισωμάτων, φαίνεται ότι η διάγνωση του APS θα πρέπει να είναι απλή. Δεν συμβαίνει πάντα, ωστόσο, λόγω της μεγάλης διαφοροποίησης τόσο στα εργαστηριακά ευρήματα όσο και στις κλινικές εκδηλώσεις. Ως αποτέλεσμα, εξακολουθούν να εμφανίζονται τόσο υπερδιάγνωση όσο και υποδιάγνωση. Η σχετικά υψηλή συχνότητα χαμηλού τίτλου aPL (οι χαμηλοί τίτλοι συνδέονται πολύ λιγότερο συχνά με κλινικά συμπτώματα) μπορεί να οδηγήσει σε υπερδιάγνωση. Εναλλακτικά, η αρχική εμφάνιση μιας σπάνιας επιπλοκής με μη ειδικά συμπτώματα, όπως η αμφοτερόπλευρη αιμορραγία των επινεφριδίων, μπορεί να οδηγήσει σε υποδιάγνωση εάν δεν υπάρχουν άλλα τυπικά συμπτώματα. Σχεδόν οι μισοί ασθενείς με CAPS, για παράδειγμα,



παρουσιάζουν CAPS ως την πρώτη τους εκδήλωση αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου (APS) [166], καθιστώντας την αρχική διάγνωση δύσκολη.

### **1.2.3.2 Κριτήρια ταξινόμησης αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου (APS)**

Ενώ το φάσμα των κλινικών εκδηλώσεων που σχετίζονται με το APS είναι ευρύ, μόνο οι πιο χαρακτηριστικές εκδηλώσεις περιλαμβάνονται στα Αναθεωρημένα Κριτήρια Ταξινόμησης Sapporo για το Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο [167]. Το Livedo reticularis, τα δερματικά έλκη, η θρομβοπενία, η αιμολυτική αναιμία, η καρδιακή βαλβιδοπάθεια και η νεφροπάθεια είναι μεταξύ των κοινών εκδηλώσεων που δεν περιλαμβάνονται στα τρέχοντα Αναθεωρημένα Κριτήρια Ταξινόμησης Sapporo [168]. Τα κριτήρια ταξινόμησης γενικά αποσκοπούν στον εντοπισμό ομοιογενών ομάδων ασθενών για κλινική ή μεταφραστική έρευνα και έτσι τυπικά περιλαμβάνουν μόνο τις πιο ειδικές κλινικές εκδηλώσεις, σε αυτή την περίπτωση αρτηριακή, φλεβική ή θρόμβωση μικρών αγγείων και απώλεια εγκυμοσύνης ή νοσηρότητα στο πλαίσιο της επίμονης LA ή μέτριου έως υψηλού τίτλου aCL ή ab2GPI.

Τα διαγνωστικά κριτήρια δεν έχουν καθοριστεί επίσημα για το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (APS). Ασθενείς που παρουσιάζουν τυπικές κλινικές εκδηλώσεις όπως ανεξήγητες ή υποτροπιάζουσες θρομβώσεις, ανεξήγητη εμβρυϊκή απώλεια, υποτροπιάζουσα πρώιμη απώλεια εγκυμοσύνης και πρώιμη πλακουντιακή ανεπάρκεια ή προεκλαμψία θα πρέπει να αξιολογούνται για τη διάγνωση. Η παρουσία ήπιας θρομβοπενίας, livedo reticularis ή καρδιακής βαλβιδοπάθειας μπορεί να ενισχύσει την υποψία για το σύνδρομο. Η σημασία των δοκιμών χαμηλού τίτλου ή άτυπων δοκιμών όπως αντισώματα έναντι της φωσφατιδυλοσερίνης ή της φωσφατιδυλαιθανολαμίνης είναι αβέβαιη. Η διάγνωση συνδέεται πιο στενά με μέτρια-υψηλού τίτλου aCL και ab2GPI ή θετικές δοκιμασίες LA. Ενώ η IgA αναφέρεται συχνά σε αναλύσεις για αντισώματα aCL και ab2GPI, σπάνια προσδιορίζεται μεμονωμένα και δεν περιλαμβάνεται στα κριτήρια ταξινόμησης. Νέες αναλύσεις για aPL αναπτύσσονται και ενδέχεται να γίνουν τυπικές στο μέλλον. Τα πιο πολλά υποσχόμενα από αυτά είναι τα αντισώματα anti-b2GPI Domain I και αντισώματα αντι-προθρομβίνης/φωσφατιδυλοσερίνης

(aPT/PS). Η δοκιμασία anti-PT/PS έχει προταθεί ότι συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την παρουσία LA. Ωστόσο, αυτές οι δοκιμασίες δεν είναι ακόμη επαρκώς τυποποιημένες ή επικυρωμένες για κλινική χρήση ρουτίνας [169].

Η θετικότητα του aPL μπορεί να αποδειχθεί σε έως και 10% του γενικού πληθυσμού (συνηθέστερα aCL, λιγότερο συχνά LA), αλλά τα περισσότερα από αυτά τα αποτελέσματα είναι παροδικά, χαμηλού τίτλου και πιθανώς σχετίζονται με παροδική λοίμωξη [170]. Μια βιβλιογραφική ανασκόπηση (περιορισμένη από ετερογενή τύπο αντισωμάτων και τίτλους αποκοπής) υπολόγισε τα ποσοστά θετικότητας aPL σε 6% σε ασθενείς με νοσηρότητα εγκυμοσύνης, 13.5% για εγκεφαλικό και 9.5% για εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση [171]. Μια άλλη ανάλυση υπολόγισε ένα ποσοστό 17% για οποιοδήποτε APL σε νέους (<50 ετών) ασθενείς με καρδιαγγειακά συμβάματα [172].

### **1.2.3.3 Αξιολόγηση κινδύνου αντιφωσfolιπιδικού συνδρόμου (APS)**

Η αξιολόγηση του κινδύνου θρόμβωσης ή νοσηρότητας εγκυμοσύνης με θετικό APL εξαρτάται από τη διαστρωμάτωση που βασίζεται τόσο στα χαρακτηριστικά των αντισωμάτων όσο και σε άλλους κλινικούς παράγοντες. Σωρευτικά στοιχεία από πολλές δημοσιεύσεις υποστηρίζουν τη σημασία του προφίλ αντιφωσfolιπιδικού αντισώματος e, δηλαδή ενός σύνθετου τύπου APL και τη σχέση του με τον βαθμό κινδύνου τόσο για θρόμβωση όσο και για επιπλοκές εγκυμοσύνης. Οι ορισμοί του «προφίλ υψηλού κινδύνου» ποικίλλουν ελαφρώς, αλλά συνήθως περιλαμβάνουν την παρουσία LA με ή χωρίς αντισώματα υψηλού τίτλου aCL ή ab2GPI. Επομένως, το ποιο τεστ αντισωμάτων είναι θετικό είναι πολύ σημαντικό, με το LA να συνδέεται στενότερα με τον κίνδυνο. Ο ισότυπος IgG του aCL και του ab2GPI πιστεύεται ότι σχετίζεται πιο στενά με τον κίνδυνο από το IgM ή το IgA.

Η συγκέντρωση είναι επίσης σημαντική, αν και αυτό είναι συχνά πιο δύσκολο να εκτιμηθεί για το LA δεδομένης της ποικιλίας των δοκιμασιών που χρησιμοποιούνται. Γενικά, κάθε θετικό LA θεωρείται ότι παρουσιάζει υψηλό κίνδυνο για επιπλοκές. Σε μια συστηματική ανασκόπηση, οι Erkan και Garcia ορίζουν το προφίλ υψηλού κινδύνου ως ένα επίμονο θετικό τεστ LA με ή

χωρίς την παρουσία μέτριας υψηλού τίτλου aCL (>40 GPL ή MPL) ή ab2GPI (>99% IgG ή IgM) [163]. Επίσης στην ανασκόπηση αναφέρεται εάν η προσθήκη aCL ή ab2GPI προσθέτει περαιτέρω κίνδυνο σε ένα θετικό LA. Στις πρόσφατες συστάσεις της EULAR για τη διαχείριση του APS, ένα προφίλ υψηλού κινδύνου ορίζεται ευρύτερα ως η επίμονη παρουσία LA, διπλού aPL (οποιοσδήποτε συνδυασμός LA, aCL και ab2GPI) ή τριπλού aPL (LA, aCL και ab2GPI), ή την παρουσία επίμονα υψηλών συγκεντρώσεων [173]. Ένα προφίλ χαμηλού κινδύνου είναι γενικά ένα απομονωμένο αντίσωμα aCL και/ή ab2GPI με χαμηλή μέση συγκέντρωση, ιδιαίτερα εάν είναι παροδικά θετικό. Αυτό γενικά σημαίνει τίτλους GPL και MPL μικρότερους από 40 [163,173].

Η επιμονή του αντισώματος (θετικό σε δύο περιπτώσεις με διαφορά τουλάχιστον 12 εβδομάδων) απαιτείται για την εκπλήρωση των εργαστηριακών κριτηρίων ταξινόμησης APS. Ένα παροδικό αντίσωμα μπορεί να οφείλεται σε παροδική λοίμωξη ή εργαστηριακό σφάλμα και συνήθως δεν σχετίζεται με κλινικές επιπλοκές [174,175].

Εκτός από αυτά τα χαρακτηριστικά του προφίλ APL, η παρουσία άλλων κλινικών ή εργαστηριακών παραγόντων μπορεί να επηρεάσει τον κίνδυνο. Τουλάχιστον το 50% των ασθενών με APL και θρόμβωση έχουν πρόσθετους παράγοντες κινδύνου τη στιγμή του συμβάντος [176], συμπεριλαμβανομένης της παρουσίας υποκείμενου συστηματικού ερυθματώδη λύκου (SLE) [177], γενετικών προθρομβωτικών φαινοτύπων [178] και παραδοσιακών καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου [178,179]. Παροδικοί ή επίκτητοι παράγοντες όπως το κάπνισμα, η παρατεταμένη ακινητοποίηση, η χειρουργική επέμβαση και η χρήση από του στόματος αντισυλληπτικών ή θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης μπορεί επίσης να αυξήσουν τον κίνδυνο [180], όπως και οι συνυπάρχουσες ιατρικές καταστάσεις όπως η εγκυμοσύνη, το νεφρωσικό σύνδρομο ή η συνεχιζόμενη χρόνια φλεγμονή [177].

Δεδομένης της μεταβλητότητας στους ορισμούς και τα όρια για το aPL, καθώς και τη σαφή επίδραση των παραγόντων τροποποίησης, είναι δύσκολο να εκτιμηθεί ο ακριβής κίνδυνος θρόμβωσης που σχετίζεται με θετικό aPL. Μια συστηματική ανασκόπηση υποδηλώνει ότι μεταξύ των ασθενών με θετικό

aPL, ο κίνδυνος ανάπτυξης θρόμβωσης είναι <1% ετησίως σε κατά τα άλλα υγιείς ασθενείς (δηλαδή, χωρίς λύκο και χωρίς άλλους παράγοντες κινδύνου), έως και 10% ετησίως σε γυναίκες με ιστορικό μαιευτικής APS και >10% ετησίως σε ασθενείς με ιστορικό φλεβικής θρόμβωσης που διέκοψαν τα αντιπηκτικά φάρμακα εντός των προηγούμενων 6 μηνών [181]. Σε μια πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση που περιελάμβανε 30 μελέτες και 16441 ασθενείς, οι αναλογίες πιθανοτήτων (Odds Ratio) για θρόμβωση με θετικό LA ήταν 6.14 (95% CI: 2.74 έως 13.8) για φλεβική θρόμβωση και 3.58 (95% CI: 1.29 έως 99) για αρτηριακή θρόμβωση (τα Odds Ratio ήταν αυξημένα αλλά χαμηλότερα για θετικό aCL και ab2GPI) [182]. Μια άλλη μελέτη που επικεντρώθηκε σε ασθενείς υψηλότερου κινδύνου υπολόγισε το OR για θρόμβωση με τριπλά θετικό aPL σε 33 (95% CI: 7.0 έως 157.6) [183].

Οι προσπάθειες βελτίωσης της διαστρωμάτωσης κινδύνου είχαν ως αποτέλεσμα αρκετές σύνθετες βαθμολογίες που ενσωματώνουν σταθμισμένες τιμές. Ένα τέτοιο σύνθετο σκορ είναι το Global APS Score (GAPSS) [184], το οποίο έχει αποδειχθεί ότι προβλέπει τη συχνότητα της θρόμβωσης καλύτερα από το aPL μόνο [185]. Περιλαμβάνει τόσο εργαστηριακά όσο και κλινικά δεδομένα: η προσθήκη συνολικών πόντων για κάθε αντίσωμα και κλινικό χαρακτηριστικό αποδίδει μια βαθμολογία, με υψηλότερη βαθμολογία να συνεπάγεται μεγαλύτερο κίνδυνο. Περιλαμβάνει ένα νέο τεστ προσδιορισμού aPL, το aPT/PS που δεν είναι ακόμη ευρέως διαθέσιμο ή επικυρωμένο. Τα κλινικά δεδομένα που περιλαμβάνονται είναι η υπερλιπιδαιμία και η αρτηριακή υπέρταση.

Η αξιολόγηση του κινδύνου νοσηρότητας της εγκυμοσύνης με aPL βασίζεται ομοίως στη διαστρωμάτωση, συμπεριλαμβανομένης της αξιολόγησης του προφίλ aPL και άλλων παραγόντων κινδύνου [186,187]. Η παρουσία άλλων προθρομβωτικών παραγόντων κινδύνου που αυξάνουν τον κίνδυνο εμβρυϊκής απώλειας ή δυσμενών εκβάσεων εγκυμοσύνης περιλαμβάνουν προηγούμενο ιστορικό θρόμβωσης [186,187], ιστορικό νοσηρότητας εγκυμοσύνης [187], διάγνωση SLE [186] και παρουσία αυξημένης ομοκυστεΐνης [188]. Το κατά πόσον η παρουσία άλλων κληρονομήσιμων θρομβοφιλιών συμβάλλει σημαντικά στον κίνδυνο συζητείται

[189]. Άλλοι αποδεδειγμένοι παράγοντες κινδύνου για ανεπιθύμητες εκβάσεις περιλαμβάνουν χαμηλότερη ηλικία [186], μη φυσιολογική ταχυμετρία Doppler αρτηρίας της μήτρας [190] και χαμηλά επίπεδα συμπληρώματος [191,192].

Η προοπτική πολυκεντρική μελέτη παρατήρησης PROMISSE (Predictors of Pregnancy Outcome: Biomarkers in Antiphospholipid Antibody Syndrome and Systemic Erythematosus Lupus), μια μεγάλη πολυκεντρική μελέτη παρατήρησης των κυήσεων APL και SLE, αναγνώρισε το LA ως τον ισχυρότερο ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα δυσμενούς έκβασης εγκυμοσύνης πέρα από 12 εβδομάδες, 144 ασθενείς με θετικό aPL. Στη μοντελοποίηση πολλαπλών μεταβλητών, το θετικό LA συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο κακής έκβασης του εμβρύου (RR: 1/4 12.33; 95% CI: 3.01 έως 50.56, p: 1/4 0,0005) μετά από προσαρμογή για την ηλικία, ιστορικό θρόμβωσης και διάγνωση SLE. Η χαμηλότερη ηλικία, το ιστορικό θρόμβωσης και ο ΣΕΛ συνδέονται ανεξάρτητα με αυξημένο κίνδυνο ανεπιθύμητης έκβασης εγκυμοσύνης, αλλά, σε αυτή τη μελέτη, η κατάσταση του aCL και του ab2GPI δεν ήταν ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου [186].

#### **1.2.3.4 Θεραπεία του αντιφωσfolιπιδικού συνδρόμου**

Η θεραπεία των πιο κοινών κλινικών εκδηλώσεων του APS, όπως η φλεβική θρόμβωση ή η εμβρυϊκή απώλεια, είναι απλή και υποστηρίζεται από τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες. Ωστόσο, εξακολουθούν να υπάρχουν πολλές κλινικές καταστάσεις όπου η θεραπεία πρέπει να βασίζεται σε ασθενέστερα κλινικά δεδομένα ή ακόμα και σε γνωμάτευση ειδικών. Οι κατηγορίες θεραπειών μπορούν να χωριστούν σε πρωτογενή θρομβοπροφύλαξη, δευτερογενή θρομβοπροφύλαξη, θεραπεία CAPS, προφύλαξη εγκυμοσύνης και θεραπεία μη κριτηρίων εκδηλώσεων. Οι συστάσεις θεραπείας που περιγράφονται εδώ ισχύουν για εκείνους τους ασθενείς που πληρούν τα εργαστηριακά κριτήρια για APS. Τα αποτελέσματα χαμηλών τίτλων ή άτυπων αντισωμάτων απαιτούν προσεκτική στάθμιση του πιθανού κινδύνου και του οφέλους της πιθανής θεραπείας και εξέταση άλλων κλινικών παραγόντων.

#### **1.2.3.5 Πρωτοπαθής θρομβοπροφύλαξη**

Υπάρχουν τρεις υποομάδες θετικών σε aPL ασθενών που ενδέχεται να λάβουν πρωτογενή θρομβοπροφύλαξη: ασθενείς που είναι ασυμπτωματικοί και δεν έχουν SLW, ασθενείς που είναι ασυμπτωματικοί και έχουν SLE και ασθενείς που δεν είχαν θρόμβωση αλλά είχαν επιπλοκές εγκυμοσύνης συμβατές με μαιευτική APS (OB-APS).

Για ασυμπτωματικούς θετικούς σε aPL ασθενείς χωρίς υποκείμενο λύκο, δεν υπάρχουν τυχαιοποιημένες διπλές-τυφλές κλινικές μελέτες με δεδομένα που υποστηρίζουν αντιπηκτική ή αντισταθμιστική θεραπεία. Η μελέτη αντιφωσfolιπιδικού αντισώματος ακετυλοσαλικυλικού οξέος (APLASA), μια πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή,

Ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο κλινική δοκιμή, τυχαιοποιημένα ασυμπτωματικά, επίμονα θετικά στο aPL άτομα (n 1/4 98, τόσο SLE όσο και μη SLE) έλαβαν ημερήσια δόση 81 mg ασπιρίνης ή εικονικού φαρμάκου και τα ακολούθησαν για 2.3 χρόνια κατά μέσο όρο. Η ενδιάμεση ανάλυση στα 2 χρόνια βρήκε χαμηλότερα από τα αναμενόμενα ποσοστά συμβάντων σε ολόκληρο τον πληθυσμό της μελέτης και η δοκιμή της αρχικής υπόθεσης θα απαιτούσε ένα μη εφικτό μέγεθος δείγματος. Έτσι, η περαιτέρω πρόσληψη ασθενών τερματίστηκε. Τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι οι ασυμπτωματικοί ασθενείς με aPL δεν επωφελούνται από την ασπιρίνη για την πρωτογενή προφύλαξη από θρόμβωση και έχουν χαμηλό συνολικό ετήσιο ποσοστό επίπτωσης οξείας θρόμβωσης [177].

Αντίθετα, μια μεγάλη μετα-ανάλυση που περιελάμβανε 1208 ασθενείς, ως επί το πλείστον από αναδρομικές μελέτες παρατήρησης, διαπίστωσε ότι η χαμηλή δόση ασπιρίνης (LDA) σε ασυμπτωματικούς θετικούς σε aPL ασθενείς απέτρεψε την πρώτη αρτηριακή αλλά όχι την πρώτη φλεβική θρόμβωση [193]. Αυτό ίσχυε για ασυμπτωματικούς θετικούς στο aPL ασθενείς με και χωρίς υποκείμενο ΣΕΛ, καθώς και για ασθενείς με ιστορικό μαιευτικών αλλά όχι θρομβωτικών επιπλοκών. Λόγω της ετερογένειας στον ορισμό του θετικού aPL σε διάφορες μελέτες, είναι δύσκολο να διαστρωθεί περαιτέρω με βάση τον τύπο ή το επίπεδο θετικότητας του aPL, είτε πρόκειται για LA, aCL ή ab2GPI. Η μικρή αύξηση του κινδύνου αιμορραγίας που σχετίζεται με την LDA

θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά τη λήψη της απόφασης έναρξης αυτής της θεραπείας [194].

Η υδροξυχλωροκίνη (HCQ) έχει επίσης προταθεί ως πιθανή θρομβοπροφυλακτική θεραπεία για ασυμπτωματικούς θετικούς σε aPL ασθενείς χωρίς SLE. Η Συμμαχία Antiphospholipid Syndrome Alliance for Clinical Trials and International Networking (APS-ACTION) ξεκίνησε μια πολυκεντρική, διεθνή, τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη δοκιμή (RCT) στην οποία επίμονα θετικοί σε aPL αλλά χωρίς θρόμβωση ασθενείς χωρίς συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα τυχαιοποιήθηκαν για να λάβουν HCQ ή καμία θεραπεία εκτός από το τυπικό τους σχήμα. Αυτή η μελέτη τερματίστηκε επίσης πρόωρα λόγω του χαμηλού ποσοστού πρόσληψης και της παρατεταμένης έλλειψης παραγωγής και της σημαντικής αύξησης της τιμής του HCQ στις Ηνωμένες Πολιτείες [195]. Μελλοντικές μελέτες μπορεί να απαντήσουν στο ερώτημα εάν οι ασυμπτωματικοί ασθενείς χωρίς SLE με aPL θα ωφεληθούν με μειωμένο κίνδυνο θρόμβωσης.

#### **1.2.3.6 Δευτερογενής θρομβοπροφύλαξη: φλεβικές θρομβώσεις**

Η μακροχρόνια δευτερογενής θρομβοπροφύλαξη είναι υποχρεωτική για απρόκλητη θρόμβωση που σχετίζεται με aPL. Η παραδοσιακή θεραπεία μέχρι τη δεκαετία του 1990 ήταν η υψηλής έντασης βαρφαρίνη, με βάση δύο αναδρομικές μελέτες [196,197]. Το 1992, οι Rosove και Brewer περιέγραψαν τα ποσοστά υποτροπής της θρόμβωσης σε μια μέση παρακολούθηση 5.2 ετών σε 70 ασθενείς από 0 σε βαρφαρίνη υψηλής έντασης, 0.07 σε μέτριας έντασης βαρφαρίνη και 0.19 έως 0.57 σε χαμηλή ένταση ή καθόλου βαρφαρίνη [196]. Μια άλλη μελέτη ανέφερε ποσοστά υποτροπής ανά ασθενή-έτος 0.013 για τη βαρφαρίνη υψηλής έντασης έναντι 0.23 για την ασπιρίνη σε 147 ασθενείς που παρακολούθηθηκαν για 10 χρόνια σαν μέσο όρο [197].

Πιο πρόσφατες προοπτικές μελέτες βαρφαρίνης υποστηρίζουν μέτριας έντασης βαρφαρίνη, τουλάχιστον για φλεβική θρόμβωση [198,199]. Οι Crowther et al. παρακολούθησαν 114 ασθενείς για μέσο όρο 2.7 ετών σε μια τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή δοκιμή ασθενών με θετικό aPL και προηγούμενη θρόμβωση που είχε εκχωρηθεί σε μέτριας (INR 2.0 έως 3.0) ή

υψηλής (INR 3.1 έως 4.0) έντασης βαρφαρίνη. Το ποσοστό υποτροπής δεν ήταν υψηλότερο στην ομάδα μέτριας έντασης (2/58) από ότι στην ομάδα υψηλής έντασης (6/56). Ορισμένοι σημαντικοί περιορισμοί εγείρουν ανησυχίες για την ευρεία εφαρμογή αυτών των ευρημάτων: οι περισσότεροι ασθενείς της μελέτης είχαν φλεβική θρόμβωση (76%), ασθενείς με υποτροπιάζουσες θρομβώσεις σε βαρφαρίνη INR > 2.0 αποκλείστηκαν και η ομάδα υψηλής έντασης ήταν υποθεραπευτική στο 43% των περιπτώσεων (τα 4/6 των ασθενών με θρόμβο στην ομάδα υψηλού INR είχαν INR < 2.0 τη στιγμή της θρόμβωσης) [198]. Μια παρόμοια μελέτη επιβεβαίωσε ότι η υψηλής έντασης βαρφαρίνη δεν ήταν ανώτερη από την τυπική βαρφαρίνη. αυτή η μελέτη είχε επίσης κυρίως ασθενείς με φλεβική θρόμβωση (69%) και απέκλεισε ασθενείς με υποτροπιάζουσες θρομβώσεις [199].

Με βάση αυτές τις RCTs, η προτεινόμενη δευτερογενής θρομβοπροφύλαξη για μη υποτροπιάζουσα (μη προκληθείσα) φλεβική θρόμβωση είναι η δια βίου βαρφαρίνη, INR 2.0 έως 3.0 [173,200]. Για ασθενείς με υποτροπιάζουσες θρομβώσεις και εμφανείς αποτυχίες της βαρφαρίνης, είναι σημαντικό να ελέγχεται το INR τη στιγμή του συμβάντος. Όταν το INR φαίνεται θεραπευτικό, ίσως αξίζει τον κόπο να προσδιορίσετε τα επίπεδα του χρωμογόνου παράγοντα X: ένα «θεραπευτικό» INR μπορεί να μην είναι αποτελεσματικό INR σε όλους τους ασθενείς, επειδή το LA μπορεί μερικές φορές να επηρεάσει τον χρόνο προθρομβίνης (PT). Πιθανές αλλαγές θεραπείας στο πλαίσιο της αποτυχίας της βαρφαρίνης περιλαμβάνουν: αύξηση του στόχου INR σε 3.0 έως 4.0, προσθήκη LDA στη βαρφαρίνη, προσθήκη πρόσθετων θεραπειών όπως στατίνη ή HCQ ή αλλαγή σε ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους (LMWH). Για μία μόνο προκληθείσα φλεβική θρόμβωση (δηλαδή, μετά από ένα μακρύ ταξίδι με αεροπλάνο, νέα χρήση από του στόματος αντισυλληπτικού), μπορεί κανείς να εξετάσει ένα περιορισμένο πρόγραμμα αντιπηκτικής αγωγής 3 έως 6 μηνών με μακροχρόνια προφύλαξη για καταστάσεις αιμοστατικού στρες [200].

### **1.2.3.7 Δευτερογενής θρομβοπροφύλαξη: αρτηριακές θρομβώσεις**



Γενικά, οι ασθενείς με αρτηριακή θρόμβωση αντιμετωπίζονται με πιο επιθετικό αντιπηκτικό σχήμα από εκείνους με φλεβική θρόμβωση μόνο. Η μελέτη αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων και εγκεφαλικού επεισοδίου (APASS), ωστόσο, δεν βρήκε όφελος της βαρφαρίνης έναντι της ασπιρίνης, πιθανότατα λόγω περιορισμών της μελέτης, συμπεριλαμβανομένης της δοκιμής aPL. Το APASS ήταν μια μελέτη κούρτης στο πλαίσιο της μελέτης υποτροπιάζοντος εγκεφαλικού επεισοδίου Warfarin εναντίον Aspirin (WARSS), στο οποίο συμμετείχαν 1770 ασθενείς με οξύ εγκεφαλικό επεισόδιο που τυχαιοποιήθηκαν σε πλήρη δόση αντί για LDA (325 mg) ή βαρφαρίνη (στόχος INR 2.2). Όλοι οι εγγεγραμμένοι ασθενείς εξετάστηκαν μία φορά για aPL και 720/1770 ασθενείς (41%) ήταν θετικοί σε aPL (όχι απαραίτητα μέτριου ή υψηλού τίτλου). Ένα μόνο θετικό aPL (οποιοδήποτε τεστ) δεν συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο θρομβο-αποφρακτικών συμβάντων, αν και οι ασθενείς με θετικό LA και aCL είχαν μεγαλύτερο κίνδυνο ή υποτροπή.

Για τους 720 θετικούς σε aPL ασθενείς, όπως και για τους υπόλοιπους ασθενείς με εγκεφαλικό επεισόδιο, δεν υπήρχε διαφορά στο ποσοστό υποτροπής μεταξύ της θεραπείας με ΑΣΟ και βαρφαρίνης (INR 2.2). Αυτή η μελέτη έχει σημαντικούς περιορισμούς στη γενίκευση: το aPL ελέγχθηκε μόνο μία φορά, τα περισσότερα aPL ήταν χαμηλού τίτλου και οι ασθενείς είχαν σχετικά μεγαλύτερη μέση ηλικία (60 έτη) [201]. Τα αποτελέσματα μπορεί να ισχύουν για ηλικιωμένους ασθενείς με εγκεφαλικό με ένα μόνο θετικό τεστ aPL χαμηλού τίτλου, αλλά οι περισσότεροι κλινικοί γιατροί δεν θεωρούν ότι αυτό ισχύει για τη φροντίδα του ασθενούς με εγκεφαλικό επεισόδιο APS με υψηλού τίτλου ή πολλαπλά θετικά τεστ aPL.

Μια πρόσφατη ανάλυση μιας μεγάλης βάσης δεδομένων για APS (αρτηριακή θρόμβωση) βρήκε τον χαμηλότερο κίνδυνο υποτροπής σε όσους λάμβαναν βαρφαρίνη (οποιοδήποτε INR) σε συνδυασμό με αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία. Οι 139 ασθενείς παρακολούθηθηκαν κατά μέσο όρο 4.24 ετών. το ένα τρίτο ήταν τριπλά θετικά. Τα ποσοστά υποτροπιάζουσας θρόμβωσης ήταν 37.2% μόνο για αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία, 23.7% μόνο για αντιπηκτική αγωγή και 6.9% για εκείνους τους ασθενείς που έλαβαν αντιπηκτική και αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία [202]. Μια απλή αναδρομική

μελέτη κοόρτης βρήκε τα χαμηλότερα ποσοστά υποτροπής της αρτηριακής θρόμβωσης με διπλή αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με βαρφαρίνη, την αντιαιμοπεταλιακή μονοθεραπεία και τη βαρφαρίνη συν αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία [203]. Με βάση αυτά τα δεδομένα, η προτεινόμενη δευτερογενής θρομβοπροφύλαξη των αρτηριακών θρομβώσεων είναι η δια βίου βαρφαρίνη σε υψηλή ένταση, INR 3.0 έως 4.0 ή συνδυασμός LDA (δηλ. 81 ή 100 mg) με βαρφαρίνη σε μέτρια ένταση, INR 2.0 έως 3.0 [173, 200].

Όπως και με τη θεραπεία της φλεβικής θρόμβωσης, είναι σημαντικό να ελέγχεται το INR τη στιγμή του συμβάντος για εμφανείς αποτυχίες της βαρφαρίνης όταν το INR φαίνεται να είναι θεραπευτικό, μπορεί να αξίζει τον κόπο να προσδιοριστεί ο χρωμογόνος παράγοντας X. Άλλες αλλαγές θεραπείας για αποτυχίες της βαρφαρίνης περιλαμβάνουν: αύξηση του στόχου INR σε 3.0 έως 4.0 (εάν αρχικός στόχος ήταν χαμηλότερος INR), προσθήκη LDA (αν όχι λήψη), προσθέτοντας πρόσθετες θεραπείες όπως στατίνη ή HCQ ή αλλαγή σε LMWH. Θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι συνήθειες προφυλάξεις σχετικά με τον αυξημένο κίνδυνο αιμορραγίας της ταυτόχρονης χρήσης ασπιρίνης με βαρφαρίνη.

Υποτροπιάζοντα θρομβωτικά συμβάντα συμβαίνουν κατά τη θεραπευτική θεραπεία με βαρφαρίνη: το ποσοστό θρομβωτικής υποτροπής ήταν 7.5/100 ανθρωπο-έτη για τα 5 χρόνια μετά το πρώτο συμβάν παρά την αντιπηκτική αγωγή σε μια πρόσφατη πολυκεντρική μελέτη παρατήρησης [204]. Οι παράγοντες κινδύνου για υποτροπή περιελάμβαναν την παρουσία σακχαρώδους διαβήτη, κληρονομική θρομβοφιλία και από του στόματος διακοπή της αντιπηκτικής αγωγής. Το LMWH προτείνεται εάν η βαρφαρίνη δεν είναι αποτελεσματική ή δεν είναι ανεκτή.

#### **1.2.3.8 Θεραπεία καταστροφικού APS**

Το CAPS είναι ένα σπάνιο πολυσυστηματικό σύνδρομο οξείας πολυοργανικής ανεπάρκειας με κυρίαρχη απόφραξη μικρών αγγείων. Το τρέχον ποσοστό θνησιμότητας είναι 37%, βελτιωμένο από τις παλαιότερες αναφορές. Συχνές εκδηλώσεις περιλαμβάνουν νεφρική δυσλειτουργία με

υπέρταση (70%), θρομβοπενία (60%), πνευμονική συμμετοχή (70%), καρδιακές (53%), δερματικές επιπλοκές με livedo, νέκρωση ή πορφύρα (66%) και εγκεφαλικές εκδηλώσεις με έμφραγμα, εγκεφαλοπάθεια, επιληπτικές κρίσεις ή φλεβικές αποφράξεις (60%). Πιθανοί παράγοντες ενεργοποίησης εντοπίζονται στο 50% περίπου των ασθενών: πιο συνηθισμένοι είναι η μόλυνση (20%), το τραύμα, η χειρουργική επέμβαση και η απόσυρση των αντιπηκτικών. Η ταυτόχρονη διάγνωση του SLE είναι ένας κακός προγνωστικός παράγοντας [166].

Οι συστάσεις για τη θεραπεία με CAPS περιλαμβάνουν τη θεραπεία οποιασδήποτε υποκείμενης πάθησης (π.χ. λοίμωξη) και «τριπλή θεραπεία», η οποία περιλαμβάνει ενδοφλέβια ηπαρίνη, υψηλή δόση στεροειδών (για το σύνδρομο συστημικής φλεγμονώδους απόκρισης) και ενδοφλέβια ανοσοσφαιρίνη (IVIg) και/ή πλασμαφαίρεση. Η ανάλυση μητρώου CAPS του 2018 συνέκρινε την «τριπλή θεραπεία» με «άλλους συνδυασμούς» φαρμάκων σε «Χωρίς φάρμακα τριπλής θεραπείας». Μελετήθηκαν συνολικά 525 επεισόδια CAPS, με 37% συνολική θνησιμότητα. Τριπλή θεραπεία χρησιμοποιήθηκε στο 40% των ασθενών, άλλοι συνδυασμοί στο 57% των ασθενών και καμία φαρμακευτική αγωγή τριπλής θεραπείας στο 2,5% των ασθενών. Τα ποσοστά θνησιμότητας ήταν ως εξής: 28,5% (τριπλή θεραπεία), ~41% (άλλοι συνδυασμοί) και 75% (χωρίς φάρμακα τριπλής θεραπείας) [202]. Η κλινική κατευθυντήρια γραμμή McMaster RARE-Best Practices για τη διάγνωση και τη διαχείριση του CAPS συνιστά τριπλή θεραπεία για την πρώτη θεραπεία των CAP (συνδυαστική θεραπεία γλυκοκορτικοειδών, ηπαρίνης και πλασμαφαίρεσης ή/και IVIg). Οποιαδήποτε μονοθεραπεία ως αρχική θεραπεία αποθαρρύνεται [203].

Για ασθενείς με CAPS που αποτυγχάνουν στην τριπλή θεραπεία, μπορεί να ληφθεί υπόψη η προσθήκη rituximab ή eculizumab (εξανθρωπισμένο μονοκλωνικό αντίσωμα κατά του C5): αναφορές περιπτώσεων και σειρές υποδηλώνουν όφελος για τα νεφρικά μοσχεύματα CAPS και APS [200-203]. Καθώς το aPL ενεργοποιεί τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα αιμοπετάλια, οδηγώντας σε προφλεγμονώδεις και προθρομβωτικούς φαινοτύπους καθώς και σε

ενεργοποίηση του συμπληρώματος, η αναστολή του συμπληρώματος με την εκουλιζουμάμπη μπορεί να προσφέρει πρόσθετο όφελος για ανθεκτικές περιπτώσεις.

#### **1.2.4 Ανατομικοί παράγοντες**

Οι συγγενείς ανωμαλίες της μήτρας αφορούν διαφοροποιήσεις στη δομή και την κατασκευή της μήτρας και απαντώνται περίπου στο 5% των γυναικών. Συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής και παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία ανατομικών χαρακτηριστικών.

Η επίπτωση των συγγενών ανωμαλιών της μήτρας είναι τριπλάσια σε γυναίκες με ιστορικό καθ' ἑξιν αποβολών, και πιο συχνή σε γυναίκες που αποβάλουν κατά τη διάρκεια του δευτέρου τριμήνου σε σύγκριση με αυτές που αποβάλουν στο πρώτο. Το διάφραγμα μήτρας είναι η συχνότερη ανατομική παραλλαγή και σε αυτή οφείλονται περίπου 5% των περιπτώσεων [205]. Υστεροσκοπική αφαίρεση του διαφράγματος βελτιώνει την πιθανότητα επιτυχούς κύησης σχεδόν υποτετραπλασιάζοντας τον κίνδυνο αποβολής από 41,7% σε 11,9% [206].

Στους ανατομικούς παράγοντες ανήκουν και βλάβες όπως τα ινομύωματα, οι πολύποδες, οι ενδομήτριες συμφύσεις και η ανεπάρκεια τραχήλου μήτρας. Συγκρινόμενες αυτές με τις συγγενείς, φαίνεται να αποτελούν συχνότερο αίτιο επανειλημμένων αποβολών με σχεδόν διπλάσια συχνότητα [207].

#### **1.2.5 Ενδοκρινικοί παράγοντες**

Από όλες τις αιτίες των καθ' ἑξιν αποβολών, οι ενδοκρινολογικοί παράγοντες έχουν μελετηθεί περισσότερο, αλλά κι αυτοί παραμένουν αμφισβητήσιμοι. Η ωοθυλακιορρηξία, η εμφύτευση και τα πρώτα στάδια ανάπτυξης του εμβρύου εξαρτώνται από ένα ενδοκρινικό ρυθμιστικό σύστημα της μητέρας. Το κατά πόσον οι διαταραχές αυτού του συστήματος ευθύνονται

για αυτόματες αποβολές, όταν το έμβρυο είναι ικανό να αναπτυχθεί φυσιολογικά, είναι υπό συζήτηση. Οι θυρεοειδικές ορμόνες είναι εξαιρετικά σημαντικές για την ανάπτυξη του εμβρύου. Μια πρόσφατη μελέτη κατέδειξε τη συσχέτιση των διαταραχών του θυρεοειδούς και των αυξημένων τιμών αντιθυρεοειδικών αντισωμάτων (anti-TPO, anti-TG) με διαταραχές ωοθυλακιορρηξίας, σπερματογένεσης, γονιμοποίησης και ανάπτυξης του εμβρύου, υποστηρίζοντας έτσι το σημαντικό ρόλο των διαταραχών του θυρεοειδούς στην υπογονιμότητα και τις αποβολές [30].

Οι ασθενείς με κλινικό υποθυρεοειδισμό έχουν δύο με τρεις φορές υψηλότερα ποσοστά αποβολών σε σχέση με το γενικό πληθυσμό, όμως η σχέση ανάμεσα στον υποκλινικό υποθυρεοειδισμό και τις αποβολές δεν είναι τόσο ξεκάθαρη. Ο υποκλινικός υποθυρεοειδισμός χαρακτηρίζεται από αυξημένες τιμές TSH και φυσιολογικές τιμές f T4 και f T3. Τα αντισώματα έναντι της θυρεοειδικής υπεροξειδάσης (TPO)-anti-TPO- έχουν μελετηθεί περισσότερο όσον αφορά τη συσχέτιση με καθ' έξιν αποβολές. Σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας εμφανίζονται με συχνότητα 8-14%. Η παρουσία anti-TPO αυτοαντισωμάτων προδιαθέτουν σε υποθυρεοειδισμό, όμως η πλειοψηφία των γυναικών με θετικά αυτοαντισώματα anti-TPO είναι ευθυρεοειδικές [8]. Υπάρχουν μεταanalύσεις που αποδεικνύουν ότι τα αντιθυρεοειδικά αντισώματα ανευρίσκονται σε αυξημένη συχνότητα σε γυναίκες με επανειλημμένες πρώιμες αποβολές [7].

Σε γυναίκες με καθ' έξιν αποβολές συστήνεται θυρεοειδικός έλεγχος που περιλαμβάνει μέτρηση TSH (ASRM, ESHRE) και anti-TPO αυτοαντισώματα (ESHRE) [7]. Οι γυναίκες θα πρέπει να είναι ευθυρεοειδικές πριν επιχειρήσουν να μείνουν έγκυες. Η χορήγηση λεβοθυροξίνης σε δόση 25-50μg/ημέρα προτείνεται προκειμένου τα επίπεδα TSH να διατηρούνται κάτω από 2.5mIU/ml στο πρώτο τρίμηνο της κύησης. Δεν υπάρχουν μελέτες που να αποδεικνύουν συσχέτιση ανάμεσα στις καθ' έξιν αποβολές και τον υπερθυρεοειδισμό [7].

Η προλακτίνη είναι μια πολύ σημαντική ορμόνη για την ανθρώπινη αναπαραγωγή. Η προλακτίνη φαίνεται ότι παίζει κάποιο ρόλο στην ομαλή λειτουργία του ωχρού σωματίου της κύησης και στην έκκριση προγεστερόνης, όμως ο μηχανισμός δεν είναι σαφώς καθορισμένος. Η υπερπρολακτιναιμία

αυξάνει την πιθανότητα αποβολών, πιθανόν λόγω της δράσης στον άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-γονάδες, με αποτέλεσμα την ανεπαρκή ανάπτυξη των ωοθυλακίων και της ωρίμανσης των ωοθηκών ή/και της ανεπάρκειας της ωχρινικής φάσης με αποτέλεσμα την ελαττωμένη παραγωγή προγεστερόνης. Η ESHRE προτείνει τη μέτρηση προλακτίνης στα πλαίσια διερεύνησης καθ' έξιν αποβολών μόνο σε γυναίκες με κλινικά συμπτώματα υπερπρολακτιναιμίας [7]. Η αποκατάσταση των τιμών προλακτίνης στα φυσιολογικά με τη χορήγηση αγωνιστών ντοπαμίνης έχει αποδειχθεί πως βελτιώνει τα ποσοστά επιτυχούς κύησης σε γυναίκες με ιστορικό καθ' έξιν αποβολών.

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μια χρόνια ενδοκρινολογική πάθηση που αποτελεί αιτία επανειλημμένων αποβολών. Υπάρχει συσχέτιση μόνο μεταξύ μη ρυθμιζόμενου διαβήτη και καθ' έξιν αποβολών. Το ποσοστό αποβολών σε ινσουλινοεξαρτώμενες γυναίκες κυμαίνεται από 15% (σε γυναίκες με καλό έλεγχο σακχάρου) έως 45% (σε γυναίκες με υψηλά επίπεδα σκχάρου ή HbA1c στο πρώτο τρίμηνο της κύησης). Τα υψηλότερα ποσοστά αποβολών σε γυναίκες με μη ικανοποιητικό έλεγχο του σακχάρου πιθανώς να οφείλονται στην εμβρυοτοξική δράση της υπεργλυκαιμίας. Το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) σχετίζεται με επιπλοκές όπως ο διαβήτης κύησης, η προεκλαμψία και οι αποβολές. Οι γυναίκες με PCOS παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο αποβολών όμως, στη βιβλιογραφία ο μηχανισμός δεν είναι απολύτως ξεκάθαρος.

Αρκετοί παράγοντες, όπως η παχυσαρκία, η υπερινσουλιναίμια, η υπερέκκριση LH και η υπερανδρογοναιμία σχετίζονται τόσο με PCOS όσο και με τις αποβολές [208]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η σχέση μεταξύ PCOS, αντίστασης στην ινσουλίνη και αποβολών. Η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι η κατάσταση στην οποία είναι μειωμένη η αποτελεσματικότητα της ινσουλίνης στο να προάγει την απορρόφηση και χρήση της γλυκόζης από τα όργανα, τους ιστούς και τα κύτταρα. Η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι συχνή μεταξύ γυναικών με καθ' έξιν αποβολές και συνδέεται με αύξηση του ποσοστού αποβολών. Ο παθογενετικός μηχανισμός είναι, προς το παρόν, άγνωστος. Ως ανεπάρκεια ωχρινικής φάσης χαρακτηρίζεται η κατάσταση κατά την οποία η παραγόμενη από το ωχρό σωματίο προγεστερόνη δεν είναι ικανή

να διατηρήσει ένα εκκριτικό ενδομήτριο το οποίο είναι απαραίτητο για τη εμφύτευση της βλαστοκύστης και την ανάπτυξη του εμβρύου. Η ωχρινική ανεπάρκεια είναι, κατά πάσα πιθανότητα, αποτέλεσμα ανεπαρκούς ανταπόκρισης του ενδομητρίου στην προγεστερόνη, παρά ελαττωμένης παραγωγής από το ωχρό σωματίο.

Η προγεστερόνη είναι πολύ σημαντική για τις τροποποιήσεις που υφίσταται το ενδομήτριο προκειμένου να γίνει η εμφύτευση και να διατηρηθεί η κύηση στα αρχικά της στάδια. Η ανεπάρκεια της ωχρινικής φάσης μπορεί να οφείλεται σε άλλες ενδοκρινοπάθειες όπως το PCOS, η υπερπρολακτιναιμία και το stress [209]. Η διάγνωση αυτής της διαταραχής είναι δύσκολη. Η έκκριση της προγεστερόνης είναι παλμική με αποτέλεσμα οι τιμές της να ποικίλλει σημαντικά ακόμα και σε σύντομο χρονικό διάστημα. Μια μόνο τιμή προγεστερόνης 30ng/ml, αλλιώς να λαμβάνουν υποκατάσταση, προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος απώλειας της κύησης [209]. Τα δεδομένα αυτά δημοσιεύθηκαν πολύ πρόσφατα, με αποτέλεσμα τόσο η ESHRE όσο και η ASRM να μην περιλαμβάνουν τη μέτρηση της βιταμίνης D στις κατευθυντήριες οδηγίες τους για τη διερεύνηση των καθ' ἑξιν αποβολών.

### **1.2.6 Περιβαλλοντικοί παράγοντες**

Ένα αναπτυσσόμενο έμβryo θεωρείται ιδιαίτερα ευαίσθητο σε περιβαλλοντικούς ρύπους, συμπεριλαμβανομένης της ατμοσφαιρικής ρύπανσης. Αρκετά στοιχεία από διάφορες μελέτες έχουν δείξει τις δυσμενείς επιδράσεις των ατμοσφαιρικών ρύπων στην υγεία της μητέρας και στην έκβαση της εγκυμοσύνης. Μερικές από αυτές είναι ο πρόωρος τοκετός, το χαμηλό βάρος γέννησης, ο περιορισμός της ενδομήτριας ανάπτυξης και άλλες συγγενείς ανωμαλίες [210,211]. Η απώλεια εγκυμοσύνης περιλαμβάνει την αυθόρμητη αποβολή που συνήθως ορίζεται ως η απώλεια του εμβρύου πριν από τις 20 εβδομάδες κύησης και τη θνησιγένεια, που συνήθως ορίζεται ως η απώλεια του εμβρύου μετά τις 20 εβδομάδες κύησης. Η απώλεια εγκυμοσύνης είναι η πιο σοβαρή δυσμενής έκβαση της εγκυμοσύνης, αλλά η κατανόηση της αιτίας του εμβρυϊκού θανάτου είναι περιορισμένη.

Οι επιβλαβείς επιπτώσεις της περιβαλλοντικής ρύπανσης στις αυθόρμητες αποβολές και τη θνησιγένεια έχουν προταθεί στο παρελθόν με την έκθεση σε μαγνητικά πεδία [212,213], το κάπνισμα από τους γονείς και τον περιβαλλοντικό καπνό τσιγάρου [214,215]. Ωστόσο, η σχέση μεταξύ της ατμοσφαιρικής ρύπανσης και της απώλειας εγκυμοσύνης δεν έχει μελετηθεί καλά.

Η αυτόματη αποβολή ή θεωρείται η πιο συχνή και σοβαρή επιπλοκή της πρώιμης εγκυμοσύνης, με συχνότητα εμφάνισης 17–22% όλων των αναγνωρισμένων κυήσεων [216]. Το πραγματικό ποσοστό απώλειας είναι δύσκολο να προσδιοριστεί και ορισμένοι επιστήμονες έχουν προτείνει ότι το 20-40% όλων των απωλειών μπορεί να συμβεί πριν από την κλινική ανίχνευση [217,218].

#### **1.2.6.1 Μονοξείδιο του άνθρακα**

##### **Μονοξείδιο του άνθρακα και αυθόρμητη αποβολή**

Μόνο τρεις μελέτες ανέλυσαν την έκθεση στο μονοξείδιο του άνθρακα και την αυθόρμητη άμβλωση και τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα [219-221]. Μια μελέτη περιπτώσεων ελέγχου από το Ιράν βρήκε ένα 95% αύξηση των αυθόρμητων αμβλώσεων σε περιπτώσεις σε σύγκριση με το control group (AOR = 1,95, 95% CI: 1,50–2,55) [220], αλλά μια μελέτη χρονοσειράς δεν βρήκε συσχέτιση μεταξύ αυθόρμητης αποβολής και έκθεσης σε μονοξείδιο του άνθρακα και μια προοπτική κοόρτη βρήκε μηδενικά αποτελέσματα [219, 221]. Αυτές οι μελέτες παρήγαγαν ασαφή αποτελέσματα, υποδηλώνοντας ότι πρέπει να γίνουν περισσότερες μελέτες σε αυτόν τον τομέα.

##### **Μονοξείδιο του άνθρακα και θνησιγένεια**

Μέχρι στιγμής, τρεις δημοσιευμένες μελέτες βρήκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ μονοξειδίου του άνθρακα και θνησιγένειας [222-224]. Η αναδρομική κοόρτη από τις Ηνωμένες Πολιτείες βρήκε μια αύξηση 1% στη θνησιγένεια ανά 1-ppm αύξηση του CO στο τρίτο τρίμηνο και μια αύξηση 4% στη θνησιγένεια ανά 1-ppm αύξηση του CO καθ 'όλη τη διάρκεια της



εγκυμοσύνης (AOR = 1.01, 95% CI: 0.95–1.07, AOR = 1.04, 95% CI: 0.97–1.12) [222]. Μια συγχρονική μελέτη από τις Ηνωμένες Πολιτείες βρήκε μια αύξηση 14% στη θνησιγένεια ανά 0,4 ppm αύξηση του CO στο τρίτο τρίμηνο και μια αύξηση 13% στη θνησιγένεια ανά 0,4 ppm αύξηση του CO σε όλη τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (AOR = 1.14, 95% CI: 1.06–1.24, AOR = 1.13, 95% CI: 0.99–1.29) [223]. Μια προοπτική κοόρτη βρήκε αύξηση 1% στη θνησιγένεια ανά 10 µg/m<sup>3</sup> αύξηση του CO στο τρίτο τρίμηνο (AOR = 1.01, 95% CI: 1.00–1.01) και 18% αύξηση στη θνησιγένεια ανά 10 µg/m<sup>3</sup> αύξηση σε CO καθ' όλη τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (AOR = 1.18, 95% CI: 1.04–1.34) [224].

### 1.2.6.2 Διοξείδιο του αζώτου

#### **Διοξείδιο του αζώτου και αυθόρμητη αποβολή**

Διεξήχθησαν έξι μελέτες, εκ των οποίων μία ανέφερε θετική σχέση μεταξύ της έκθεσης σε NO<sub>2</sub> και της αυτόματης αποβολής, αλλά με εκτιμώμενο μικρό μέγεθος [220]. Η μελέτη περιπτώσεων ελέγχου από το Ιράν βρήκε μια αύξηση 4% στις αυθόρμητες αποβολές μεταξύ εκείνων που εκτέθηκαν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις NO<sub>2</sub>, σε σύγκριση με εκείνες που εκτέθηκαν σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις NO<sub>2</sub> (AOR = 1.04, 95% CI: 1.02–1.05). Μια προοπτική κοόρτη στις Ηνωμένες Πολιτείες ανέφερε αύξηση 18% στις αυθόρμητες αποβολές για εκείνες τις γυναίκες που ανήκουν στο ανώτερο 90ο εκατοστημόριο της ετήσιας μέσης ημερήσιας έκθεσης στην κυκλοφορία σε σύγκριση με το κατώτερο 75ο εκατοστημόριο, στο οποίο ο κύριος ρύπος που αναλύθηκε ήταν το NO<sub>2</sub> (AOR = 1.18, 95 % CI: 0.87–1.60) [227]. Ωστόσο, οι άλλες τέσσερις μελέτες απέτυχαν να υποστηρίξουν τα παραπάνω ευρήματα και τα αποτελέσματα ήταν ασαφή [219,221,225,226].

#### **Διοξείδιο του αζώτου και θνησιγένεια**

Τρεις μελέτες, δύο μελέτες κοόρτης και μια συγχρονική μελέτη, βρήκαν αυξημένες θνησιγένειες με έκθεση σε NO<sub>2</sub> [223,224,228]. Η αναδρομική

κοόρτη από τις Ηνωμένες Πολιτείες βρήκε μια αύξηση 8% στα ποσοστά θνησιγένειας ανά 10-ppb αύξηση του NO<sub>2</sub> καθ' όλη τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και μια αύξηση 3% στα ποσοστά θνησιγένειας ανά 10-ppb αύξηση του NO<sub>2</sub> κατά το τρίτο τρίμηνο (AOR = 1,08 , 95% CI: 1,03–1,13, AOR = 1,03, 95% CI: 0,99–1,08) [228]. Η μελλοντική κοόρτη από την Κίνα βρήκε αύξηση 13% στα ποσοστά θνησιγένειας ανά 10 µg/m<sup>3</sup> αύξηση του NO<sub>2</sub> στο τρίτο τρίμηνο (AOR = 1,13, 95% CI: 1,07–1,21) [224]. Η συγχρονική μελέτη από τις Ηνωμένες Πολιτείες βρήκε αύξηση 27% στα ποσοστά θνησιγένειας ανά 10-ppb αύξηση στη συγκέντρωση NO<sub>2</sub> (AOR = 1,27, 95% CI: 1,04–1,55) [223]. Τέσσερις πρόσθετες μελέτες μέτρησαν τη συσχέτιση μεταξύ NO<sub>2</sub> και θνησιγένειας αλλά παρήγαγαν ασήμαντα αποτελέσματα [219,229,230,231]. Αυτές οι μελέτες υποδηλώνουν ασαφή αποτελέσματα.

### 1.2.6.3. Καπνός μαγειρικής

#### Καπνός μαγειρικής και αυθόρμητη αποβολή

Τα μόνα διαθέσιμα επιδημιολογικά στοιχεία σχετικά με τη συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης στον καπνό του μαγειρέματος και της αυθόρμητης αποβολής είναι από μια μελέτη case-control που διεξήχθη στη Σρι Λάνκα [232]. Αυτή η μελέτη ανέφερε ότι σε σύγκριση με γυναίκες που έφεραν βιώσιμο έμβρυο, εκείνες που είχαν αποβολές (που ορίζονται ως μερική ή πλήρης αποβολή εμβρύου ≤ 28 εβδομάδων εγκυμοσύνης) κατά τη διάρκεια του δεύτερου τριμήνου είχαν 283% περισσότερες πιθανότητες να εκτεθούν στον καπνό του μαγειρέματος (από το κάψιμο καυσόξυλων) κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης τους. Ενώ αυτή η μελέτη παρέχει ενδεικτικά στοιχεία σχετικά με τη συσχέτιση μεταξύ καπνού μαγειρέματος και αυθόρμητων αμβλώσεων, αυτά τα αποτελέσματα θα πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή καθώς βασίζονται σε χαμηλή απόδοση κρουσμάτων. Ο καπνός από την καύση καυσίμων βιομάζας περιέχει πολλούς ρύπους, όπως σωματίδια, μονοξειδίο του άνθρακα και πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες. Απαιτούνται πρόσθετα στοιχεία από μελλοντικές μελέτες για να καθοριστεί πώς αυτό το μείγμα ρύπων μπορεί να επηρεάσει τον κίνδυνο αυθόρμητων αμβλώσεων.

## Καπνός μαγειρικής και θνησιγένεια

Συνολικά, μια μελέτη time-series, τρεις cross-sectional, μια μελέτη case-control και δύο μελέτες κοόρτης μέτρησαν τη συσχέτιση μεταξύ καπνού μαγειρέματος και θνησιγένειας, με όλες εκτός από μία να παρέχουν ισχυρές ενδείξεις για τη θετική συσχέτιση μεταξύ καπνού μαγειρέματος και θνησιγένειας [223,234-239]. Μια προοπτική μελέτη κοορτής που έλαβε χώρα στην Ινδία, το Πακιστάν, την Κένυα, τη Ζάμπια και τη Γουατεμάλα βρήκε αύξηση 66% στις θνησιγενείς γεννήσεις, θάνατο πριν από τον τοκετό και 43% αύξηση στις μη εμβαπτισμένες θνησιγένειες, θάνατο που συνέβη εντός του τοκετού, μεταξύ των γυναικών που χρησιμοποιούν μολυσμένα καύσιμα σε σύγκριση με εκείνους που χρησιμοποιούν καθαρά καύσιμα (AOR = 1.66, 95% CI: 1.23–2.25, AOR = 1.43, 95% CI: 1.15–1.85) [223]. Μεταξύ τριών cross-sectional μελετών που διεξήχθησαν στην Ινδία, δύο μελέτες βρήκαν αύξηση 26% και 171% στις θνησιγένειες μεταξύ γυναικών που εκτέθηκαν σε καύσιμα βιομάζας (AOR = 1.26, 95% CI: 1.12–1.43, AOR = 2.71, 95% CI: 0.99–∞, αντίστοιχα) [236, 237]. Η τρίτη cross-sectional μελέτη ανέφερε ότι το ποσοστό θνησιγένειας αυξήθηκε κατά 24%, 36% και 23% μεταξύ των γυναικών που χρησιμοποιούσαν καύσιμα από ξύλο, κηροζίνη και άλλα καύσιμα αντίστοιχα σε σύγκριση με τη χρήση ηλεκτρικής ενέργειας [235]. Μια μελέτη case-control βρήκε αύξηση 50% στις θνησιγένειες μεταξύ των γυναικών που εκτέθηκαν στον καπνό του μαγειρέματος (AOR = 1.5, 95% CI: 1.0–2.1) και μια μελέτη χρονοσειρών βρήκε αύξηση 111% στα ποσοστά θνησιγένειας μεταξύ των γυναικών που χρησιμοποιούν βιομάζα καυσίμων σε σύγκριση με γυναίκες που χρησιμοποιούν καθαρότερα καύσιμα (AOR = 2.11, 95% CI: 1.74–2.57) [234,238]. Υπήρξε μόνο μία μελέτη που δεν βρήκε συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης στον καπνό του μαγειρέματος και του αυξημένου κινδύνου θνησιγένειας [239]. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν μια ισχυρή σχέση μεταξύ της έκθεσης στον καπνό από το μαγείρεμα και της θνησιγένειας.

### 1.2.6.4. Άλλοι ρύποι και θνησιγένεια

Συνολικά, δύο μελέτες εξέτασαν τις επιπτώσεις άλλων ρύπων που δεν αναφέρονται παραπάνω στον κίνδυνο θνησιγένειας [240, 241]. Μια cross-sectional μελέτη από τη Βραζιλία εξέτασε τη συσχέτιση μεταξύ διαφορετικών

επιπέδων βαρέων μετάλλων και οργανοχλωρικών ενώσεων και του κινδύνου θνησιγένειας [240], και μια cross-sectional μελέτη από την Αίγυπτο εξέτασε τη συσχέτιση μεταξύ του συνολικού αριθμού σκόνης σε αναστολή συγκέντρωση σκόνης και συγκέντρωση αναπνεύσιμης σκόνης με κίνδυνο θνησιγένειας [241]. Και οι δύο μελέτες έδειξαν μηδενικά αποτελέσματα.

## 1.2.7 Οξειδωτικό στρες

### 1.2.7.1. Ο ρόλος του οξειδωτικού στρες

Αν και το οξυγόνο είναι απαραίτητο για τη διατήρηση της ζωής στα κύτταρα, υφίσταται εκτεταμένο μεταβολισμό που μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή τοξικών παραγώγων. Αυτός ο μεταβολισμός περιορίζεται κυρίως στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια που τελικά οδηγεί στη δημιουργία ATP, το οποίο υποστηρίζει τον μεταβολισμό των κυττάρων. Τα τελικά προϊόντα του μεταβολισμού του οξυγόνου μπορεί να περιλαμβάνουν μόρια σε ενεργοποιημένη ηλεκτρονική κατάσταση που έχουν ασύζευκτα ηλεκτρόνια και είναι εξαιρετικά αντιδραστικά με μόρια που βρίσκονται σε βιολογικά συστήματα. Συλλογικά, αυτά τα ενεργοποιημένα μοριακά είδη που προέρχονται από το μεταβολισμό του οξυγόνου χαρακτηρίζονται ως αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) [243]. Τα ROS καταστρέφουν εκτενώς τα κυτταρικά οργανίδια, συμπεριλαμβανομένων των μιτοχονδρίων, του πυρηνικού και μιτοχονδριακού DNA και της κυτταρικής μεμβράνης, οδηγώντας τελικά σε κυτταρικό θάνατο [244-246]. Ωστόσο, τα ROS παίζουν παθολογικό ρόλο όχι μόνο στη λειτουργία των κυττάρων αλλά και φυσιολογικό όταν υπάρχουν σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Για την πρόληψη της βλάβης που προκαλείται από το ROS, τα κύτταρα έχουν εξελίξει αντιοξειδωτικά συστήματα. Ως αποτέλεσμα, υπάρχει μια λεπτή ισορροπία μεταξύ της παραγωγής ROS και της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας που διατηρεί μια φυσιολογική ισορροπία που οδηγεί σε κυτταρική ομοιόσταση. Όταν αυτή η ισορροπία διαταράσσεται από υπερβολική παραγωγή ROS, ακολουθεί μια κατάσταση οξειδωτικού στρες που οδηγεί σε κυτταρική βλάβη και κυτταρική δυσλειτουργία [247-248].

Η αιτιολογία της υποτροπιάζουσας απώλειας εγκυμοσύνης περιλαμβάνει χρωμοσωμικές ανωμαλίες, ανατομικές ανωμαλίες της μήτρας, ανοσολογικές διαταραχές όπως σύνδρομο αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων, διαταραχές πήξης όπως υπερομοκυστιναιμία και κατακερματισμό του DNA του σπέρματος [242]. Το οξειδωτικό στρες έχει επίσης ενοχοποιηθεί ως σημαντική αιτία επαναλαμβανόμενης απώλειας εγκυμοσύνης. Η απώλεια της αντιοξειδωτικής άμυνας έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με υποτροπιάζουσα απώλεια εγκυμοσύνης [249]. Οι βιοχημικοί δείκτες της βλάβης της μεμβράνης που προκαλείται από το ROS, όπως τα προϊόντα υπεροξειδωσης των λιπιδίων, φτάνουν σε υψηλά επίπεδα αμέσως πριν από την άμβλωση [250].

Έχει προταθεί ότι μια ανισορροπία οξειδωτικών/αντιοξειδωτικών συσχετίζεται με απώλεια εγκυμοσύνης [251].

#### **1.2.7.2. Οξειδωτικό στρες και επαναλαμβανόμενη απώλεια εγκυμοσύνης (RPL)**

Η επαναλαμβανόμενη απώλεια εγκυμοσύνης, που ορίζεται ως 3 ή περισσότερες διαδοχικές απώλειες εγκυμοσύνης πριν από τις 20 εβδομάδες κύησης, έχει αναφερθεί ότι επηρεάζει το 0,5%-3% των γυναικών σε αναπαραγωγική ηλικία [256]. Υπάρχει βαθύ συναισθηματικό και ψυχολογικό στρες που σχετίζεται με τις επαναλαμβανόμενες αμβλώσεις. Οι γυναίκες βιώνουν μέτρια έως σοβαρή θλίψη και έχουν αισθήματα ενοχής ή άγχους που συνοδεύουν τις αμβλώσεις [257]. Οι οικογένειες δυσκολεύονται να αντιμετωπίσουν την κατάσταση και αυτές οι γυναίκες μπορεί να χρειάζονται ψυχοθεραπευτική υποστήριξη κατά καιρούς. Οι αιτιολογικοί παράγοντες που σχετίζονται με την επαναλαμβανόμενη απώλεια εγκυμοσύνης μπορεί να είναι ποικίλοι και πολλαπλοί. Οι παράγοντες που αναφέρονται στη βιβλιογραφία είναι γενετικές ανωμαλίες, ανωμαλίες της μήτρας, αυτοάνοσα νοσήματα όπως ο συστηματικός ερυθρεματώδης λύκος ή το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, διαταραχές πήξης του αίματος όπως η υπερομοκυστιναιμία ή και άλλοι τύποι θρομβοφιλιών, λοιμώδεις νόσοι, ενδοκρινοπάθειες, σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, κατακερματισμός του DNA του σπέρματος και μειωτικές αλλοιώσεις του σπέρματος [242,258]. Στο 50% - 60% περίπου των επαναλαμβανομένων απωλειών εγκυμοσύνης, δεν μπορεί να εντοπιστεί ένας αιτιολογικός

παράγοντας και επομένως ταξινομούνται ως ιδιοπαθείς. Η βλάβη του ενδοθηλίου, η εξασθενημένη αγγείωση του πλακούντα και η ανοσολογική δυσλειτουργία πιστεύεται ότι παίζουν ρόλο στην παθοφυσιολογία της ιδιοπαθούς επαναλαμβανόμενης απώλειας εγκυμοσύνης.

Ο ανθρώπινος πλακούντας είναι αιμοχοριακός. Η επιτυχής εγκυμοσύνη απαιτεί την ανάπτυξη μιας επαρκούς μητροπλακουντιακής κυκλοφορίας. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η μητρική αρτηριακή κυκλοφορία εγκαθίσταται στον πλακούντα στις 10-12 εβδομάδες κύησης [254,259-261]. Ο ανώμαλος πλακούντας φαίνεται να εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της πρώιμης απώλειας εγκυμοσύνης [255]. Ο μη φυσιολογικός πλακούντας οδηγεί σε οξειδωτικό στρες του πλακούντα και δυσλειτουργία συγκυτιοτροφοβλαστών και έχει προταθεί ως αιτία πρώιμης αποβολής.

Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση υπολόγισε μια υψηλότερη συγκεντρωτική εκτίμηση κινδύνου για RPL με υπερομοκυστειναιμία νηστείας και μεταφόρτωσης [261]. Η μετα-ανάλυση καταλήγει στο συμπέρασμα ότι η υπερομοκυστειναιμία είναι ένας παράγοντας κινδύνου για επαναλαμβανόμενη πρώιμη απώλεια εγκυμοσύνης. Το σελήνιο είναι ένας συμπαράγοντας για το αντιοξειδωτικό ένζυμο υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, το οποίο καθαρίζει τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Δύο από τις 4 δημοσιευμένες μελέτες που διερεύνησαν τη συσχέτιση της κατάστασης του σεληνίου με τις επαναλαμβανόμενες αποβολές δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα μεταξύ ασθενών και control group [252,262]. Δύο από τις μελέτες ανέφεραν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα σεληνίου στην ομάδα των επαναλαμβανόμενων αμβλώσεων [253,263]. Δεν υπάρχουν πειστικές ενδείξεις για τη λήψη συμπληρωμάτων σεληνίου σε υποτροπιάζουσες επαναλαμβανόμενες αμβλώσεις λόγω του μειονεκτήματος του μικρού μεγέθους δείγματος των μελετών και των αντικρουόμενων αποτελεσμάτων.

## **1.2.8 Ο ανδρικός παράγοντας**

### **1.2.8.1 Χρωμοσωμικές ανωμαλίες**

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες στους καρυότυπους μπορεί να οφείλονται σε έναν από τους δύο τύπους ανωμαλιών: μη φυσιολογικές δομές των μεμονωμένων χρωμοσωμάτων με τον σωστό αριθμό χρωμοσωμάτων (23 ζεύγη ή 46 χρωμοσώματα) ή μη φυσιολογικό συνολικό αριθμό χρωμοσωμάτων (επιπλέον ή λείπουν χρωμοσώματα X45, eg. ή 47, XXY).

### 1.2.8.2 Δομική ανωμαλία

Οι μη φυσιολογικές δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες μπορούν να υποδηλωθούν ως διαφορετικές διευθετήσεις του κατάλληλου αριθμού χρωμοσωμάτων. Ως εκ τούτου, ένα μέρος ενός χρωμοσώματος μπορεί να βρεθεί συνδεδεμένο με ένα διαφορετικό χρωμόσωμα, έτσι ώστε όλο το γενετικό υλικό να υπάρχει αλλά όχι στις σωστές θέσεις. Σε αυτές τις περιπτώσεις, είναι δυνατό για τέτοια άτομα να δημιουργήσουν γαμέτες που δεν είναι ισορροπημένοι. Ο γαμέτης είναι το μισό του καρυότυπου ενός ατόμου μέσα στο γεννητικό κύτταρο. Εάν η αναδιάταξη των χρωμοσωμάτων έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία γαμετών με μη ισορροπημένες μετατοπίσεις, τότε δεν συμβαίνουν ζωντανές γεννήσεις αλλά αντιθέτως, αποβολή. Τα άτομα που προκύπτουν από ισορροπημένες μετατοπίσεις δεν θα έχουν κλινικά ή φυσικά ευρήματα για να κάνουν διαγνωστούν. Μόνο όταν τα άτομα ελέγχονται με καρυότυπο μπορούν να ανιχνευθούν. Τα ζευγάρια, όπου ο ένας ή και οι δύο φέρουν ισορροπημένη μετατόπιση, διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο αποβολής λόγω του γεγονότος ότι μπορεί να παράγουν ισορροπημένους ή μη ισορροπημένους γαμέτες.

Οι ισορροπημένες μετατοπίσεις έχουν γνωστό αντίκτυπο στα μελλοντικά αποτελέσματα εγκυμοσύνης. Οι ισορροπημένες μεταθέσεις αποτελούνται από αμφίδρομες ή ρομπερτσονικές μεταθέσεις ή αναστροφές. Σχετίζονται με μειωμένα ποσοστά εγκυμοσύνης και αυξημένες αποβολές. Η εκτιμώμενη επίπτωση της μετατόπισης Robertson είναι περίπου 0.1% στο γενικό πληθυσμό [264]. Σε ζευγάρια με επαναλαμβανόμενες αποβολές, ο επιπολασμός αναφέρεται περίπου στο 8% [265].

Η μετατόπιση τυπικά συμβαίνει είτε *de novo* στο έμβρυο είτε κληρονομείται από οποιονδήποτε γονέα. Στην περίπτωση που κληρονομηθεί

από γονέα, ο μεταφορέας γονέας εμφανίζεται συχνά φυσιολογικός. Οι άνδρες με μετατόπιση μπορεί να έχουν γαμέτες με φυσιολογικό, ισορροπημένο ή μη ισορροπημένο συμπλήρωμα χρωμοσωμάτων που μπορεί να οδηγήσει σε φυσιολογικούς, ισορροπημένους ή μη ισορροπημένους απογόνους. Εάν ένας γονικός φορέας έχει μετατόπιση 21q21q ή ισοχρωμομερή, τότε υπάρχει 100% κίνδυνος υποτροπής της τρισωμίας 21 και περίπου 50–80% κίνδυνος η τρισωμία 21 των εμβρύων να οδηγήσει σε αποβολή [266].

### 1.2.8.3 Αριθμητική ανωμαλία

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες που περιλαμβάνουν έναν μη φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων συνήθως οδηγούν σε αποβολή όταν αυτό συμβαίνει στο έμβρυο. Ωστόσο, οι ζωντανοί άνδρες μπορεί να έχουν ένα επιπλέον χρωμόσωμα, αλλά αυτά τα άτομα έχουν σημαντικές ανωμαλίες που είναι κλινικά ανιχνεύσιμες με το ιστορικό και τη φυσική εξέταση. Οι πιο συχνές από αυτές τις διαταραχές περιλαμβάνουν το σύνδρομο Down (τρисωμία 21, επίπτωση 1 στις 600) και το σύνδρομο Klinefelter (47, XXY, επίπτωση 1 το 2000). Οι περισσότεροι από αυτούς τους άνδρες πιστεύεται ότι έχουν σημαντικά μειωμένη γονιμότητα ή στειρότητα και υψηλά ποσοστά αποβολών 50% ή περισσότερο [266].

### 1.2.8.4 Σπέρμα

Καθώς η τεχνολογία έχει βελτιωθεί, η επιστήμη κατάφερε όχι μόνο να μελετήσει τους καρυότυπους των περιφερικών λευκών αιμοσφαιρίων από άνδρες των οποίων οι γυναίκες έχουν επαναλαμβανόμενες απώλειες εγκυμοσύνης, αλλά μπόρεσε να προχωρήσει πέρα από τα λευκά αιμοσφαίρια στον γαμέτη και να αναλύσει τη βλαστική σειρά: μεμονωμένα χρωμοσώματα σπέρματος.

Ο Rubio et al. [267] μελέτησε 12 δείγματα σπέρματος από ζευγάρια με δύο ή περισσότερες απώλειες πρώτου τριμήνου που υποβάλλονταν σε εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF) (πέντε με wάρια της συζύγου τους και επτά με δωρεά wαρίων). Ανέλυσαν τους αποσυμπυκνωμένους πυρήνες σπέρματος για διπλοειδία και δισωμία των χρωμοσωμάτων 13, 18, 21, X και



Υ, χρησιμοποιώντας δίχρωμο και τρίχρωμο φθορίζοντα *in situ* υβριδισμό. Η φυλετική χρωμοσωμία αυξήθηκε σημαντικά ( $p < 0.0001$ ) και εμφανίστηκε 15% πιο συχνά σε ζευγάρια με επαναλαμβανόμενες αποβολές από ό,τι στο control group. Είναι ενδιαφέρον ότι επηρέασε μόνο τα φυλετικά χρωμοσώματα. Οι συχνότητες αυτοσωμικής δισωμίας και διπλοειδίας δεν έφτασαν σε στατιστική σημασία σε σύγκριση με τους ελέγχους του γενικού πληθυσμού. Επιπλέον, τα ζευγάρια που χρησιμοποίησαν ωάρια από δότη με σπέρμα συζύγου είχαν στατιστικά σημαντική δισωμία και διπλοειδία του φυλετικού χρωμοσώματος του σπέρματος. Και πάλι, αυτό συνεπάγεται τον αντίκτυπο των πατρικών επιπτώσεων παρά την ηλικία της γυναίκας, καθώς οι περισσότεροι δότες ωαρίων είναι νέοι.

#### **1.2.8.5 Μεταλλάξεις θρομβοφιλίας**

Οι Jivraj et al. ανέφερε τις γενετικές θρομβοφιλικές μεταλλάξεις ως πιθανές αιτίες για επαναλαμβανόμενες αποβολές. Σε ζευγάρια με υποτροπιάζουσα απώλεια εγκυμοσύνης, όπου ο ένας από τους δύο εταίρους έφερε περισσότερα από ένα αλληλόμορφα θρομβοφιλικής μετάλλαξης, ο σχετικός κίνδυνος αποβολής σε μελλοντική εγκυμοσύνη χωρίς θεραπεία ήταν 1.9 (95% CI: 1.3 – 2.8) σε σύγκριση με ζευγάρια χωρίς θρομβοφιλική μετάλλαξη [268]. Επιπλέον, αυτή η μελέτη σημείωσε ότι το ποσοστό αποβολών ήταν υψηλότερο όταν ο άνδρας έφερε περισσότερες από μία θρομβοφιλικές μεταλλάξεις (87.5% , επτά στα οκτώ άτομα) από ότι όταν η γυναίκα έφερε περισσότερες από μία θρομβοφιλικές μεταλλάξεις (75%, τρία στα τέσσερα άτομα), αλλά οι αριθμοί σε αυτή τη μελέτη είναι μικροί.

#### **1.2.8.6 Ποιότητα σπέρματος**

Όπως σημειώθηκε παραπάνω, τα ζευγάρια όπου οι σύζυγοι άνδρες έχουν σοβαρές ανωμαλίες στις αναλύσεις σπέρματος δυσκολεύονται να συλλάβουν και μπορεί να διατρέχουν κίνδυνο για γενετικές ανωμαλίες. Μερικοί ερευνητές προσπάθησαν να δείξουν μια σχέση μεταξύ της ποιότητας του σπέρματος όπως προσδιορίστηκε στην ανάλυση του σπέρματος και της

επαναλαμβανόμενης αποβολής. Μερικές μελέτες ήταν ανεπιτυχείς στον εντοπισμό μιας σχέσης μεταξύ των τυπικών παραμέτρων του σπέρματος και της επαναλαμβανόμενης αποβολής [269-270]. Μια μελέτη ήταν επιτυχής στον εντοπισμό συσχέτισης μεταξύ μιας αύξησης της κωνικής μορφολογίας του σπέρματος σε ανεξήγητες επαναλαμβανόμενες αποβολές σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό ( $p < 0.005$ ), αλλά δεν υπήρχε σχέση με τον αριθμό των σπερματοζωαρίων, την κινητικότητα, την άμορφη μορφολογία, το τεστ υποωσμωτικής διόγκωσης ή τη βιωσιμότητα. Ωστόσο, όταν τα ζευγάρια επαναλαμβανόμενων αποβολών συγκρίθηκαν με γόνιμους δότες, η άμορφη μορφολογία ( $p < 0.01$ ) και η αντιδραστικότητα υποωσμωτικής διόγκωσης ( $p < 0.05$ ) ήταν επίσης στατιστικά σημαντικές [271].

#### 1.2.8.7 Πατρική ηλικία

Καθώς οι άνδρες γερνούν, όχι μόνο αυξάνονται οι πιθανότητες για μετάλλαξη ή ανευπλοειδία, αλλά και υπάρχει και μείωση της ποιότητας του σπέρματος (ιδιαίτερα η κινητικότητα), μείωση του ποσοστού σύλληψης, αύξηση του ποσοστού αποβολών, αύξηση των γενετικών ανωμαλιών, αύξηση σε περίπου 20 αυτοσωμικές επικρατούσες ασθένειες στους απογόνους (π.χ. σύνδρομο Apert, αχονδροπλασία, Marfan, Wardenburg, κ.λπ.) και αύξηση του θανάτου του εμβρύου. Η κυτταρογενετική ανάλυση δειγμάτων σπέρματος από δότες καταδεικνύει αυξημένη συχνότητα αριθμητικών και δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών στο σπέρμα ανδρών 59-74 ετών σε σύγκριση με το σπέρμα ανδρών ηλικίας 23-29 ετών [272]. Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η πατρική ηλικία μπορεί να επηρεάσει τις δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες του σπέρματος και μπορεί να είναι ένας μηχανισμός που εξηγεί αυτά τα ευρήματα.

Η πατρική ηλικία σχετίζεται επίσης με μεταλλάξεις στο σπέρμα που έχουν επιζήμια αποτελέσματα στα έμβρυα. Αυτές οι μεταλλάξεις συμβαίνουν σε τρία αναγνωρισμένα hot spots: FGFR2, FGFR3 και RET. Αυτά τα γονίδια κωδικοποιούν τους υποδοχείς κινάσης τυροσίνης [273]. Κάθε μία από αυτές τις μεταλλάξεις σχετίζεται με μια αυτοσωμική κυρίαρχη επίδραση στους

απογόνους (αχονδροπλασία, σύνδρομο Apert, κ.λπ.) - εάν επιβιώσουν μέχρι τον τοκετό.

## **2. ΤΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ**

### **2.1 Το ανθρώπινο μικροβίωμα**

Το ανθρώπινο είδος έχει συνεξελιχθεί με τα τρισεκατομμύρια μικροβίων που κατοικούν στο σώμα μας και δημιουργούν πολύπλοκα, προσαρμοστικά οικοσυστήματα ειδικά για το σώμα. Αυτά τα οικοσυστήματα είναι τέλεια προσαρμοσμένα στην συνεχώς μεταβαλλόμενη φυσιολογία του ξενιστή. Οι δυσβιώσεις στο μικροβίωμα έχουν συσχετιστεί με πολλές ασθένειες, όπως η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, η σκλήρυνση κατά πλάκας, ο διαβήτης (τύπου 1 και 2), οι αλλεργίες, το άσθμα, ο αυτισμός και ο καρκίνος [274,275]. Η δυσβίωση μιας μικροβιακής κοινότητας είναι δύσκολο να οριστεί, αλλά θα μπορούσε να θεωρηθεί ως μια διαταραχή που απομακρύνεται από μια κατά τα άλλα ισορροπημένη οικολογία [274] για να παρατείνει, να επιδεινώσει ή να προκαλέσει μια επιζήμια επίδραση στην υγεία. Έτσι, η εύρεση χαρακτηριστικών που διακρίνουν ευρέως τα υγιή από τα ανθυγιεινά μικροβιώματα θα βοηθήσει στη διάγνωση ασθενειών που σχετίζονται με το μικροβίωμα και θα μπορούσε ενδεχομένως να προσφέρει νέα μέσα για την πρόληψη της εμφάνισης της νόσου ή τη βελτίωση της πρόγνωσης.

Πολλά πιθανά χαρακτηριστικά, κοινά σε υγιή μικροβιώματα, έχουν προταθεί, συμπεριλαμβανομένων των επικρατούντων οργανισμών ή των μοριακών οδών [276] καθώς και των κανόνων ορισμένων οικολογικών ιδιοτήτων, όπως η ποικιλομορφία και η σταθερότητα [277, 278]. Τα μικροβιώματα παρουσιάζουν τακτικά μεγάλο βαθμό ποικιλομορφίας μεταξύ των ανθρώπων, ακόμη και στην απουσία ασθένειας [277]. Αυτό περιπλέκει τον εντοπισμό απλών μικροβιακών συστατικών ή ανισορροπιών που είτε προκαλούν ασθένεια είτε αντικατοπτρίζουν μια νοσηρή κατάσταση. Η κατανόηση των ιδιοτήτων ενός υγιούς μικροβιώματος και των πολλών διαφορετικών μικροβιακών οικολογιών που συναντώνται απουσία εμφανούς

ασθένειας, είναι επομένως ένα απαραίτητο πρώτο βήμα για τον εντοπισμό και τη διόρθωση μικροβιακών διαμορφώσεων που εμπλέκονται στην ασθένεια.

Μια υπόθεση είναι αυτή ενός υγιούς «λειτουργικού πυρήνα»: ένα συμπλήρωμα μεταβολικών και άλλων μοριακών λειτουργιών που εκτελούνται από το μικροβίωμα σε ένα συγκεκριμένο ενδιαίτημα αλλά δεν παρέχονται απαραίτητα από τους ίδιους οργανισμούς σε διαφορετικούς ανθρώπους [276]. Ένας τέτοιος πυρήνας μπορεί να χρειάζεται να υπάρχει ως γενετικό δυναμικό (δηλαδή, κωδικοποιημένος στα μεταγονιδιώματα του DNA), όπως το ανθρώπινο γονιδίωμα δεν πρέπει να κωδικοποιεί σοβαρές επιβλαβείς μεταλλάξεις για να είναι υγιές ή μπορεί να χρειάζεται να εκφράζεται και να ρυθμίζεται καλά σε ένα άτομο. για να παραμείνει υγιής (δηλαδή, πρέπει να κωδικοποιείται από μετατρανσκριπτώματα RNA ή να υπάρχει με τη μορφή πρωτεΐνης ή μικρομοριακών προϊόντων), ή φυσικά ένας συνδυασμός των παραπάνω. Ο λειτουργικός πυρήνας πρέπει, φυσικά, να περιλαμβάνει τουλάχιστον τις λειτουργίες συντήρησης που είναι απαραίτητες για την ατομική μικροβιακή ζωή, οι οποίες πρέπει να υπάρχουν γονιδιωματικά και σωστά εκφρασμένες.

Είναι ενδιαφέρον ότι αυτές οι ιδιότητες μπορεί επίσης να περιλαμβάνουν λειτουργίες ειδικές για τις κόγχες των μικροβίων στο ανθρώπινο οικοσύστημα. Τέτοιες λειτουργίες μπορεί να περιλαμβάνουν διεργασίες που δεν εκτελούνται από ανθρώπινα κύτταρα και επομένως αντιπροσωπεύουν μια πιθανή βάση για συμβιωτικές σχέσεις ξενιστή-μικροβίου. Ένα υγιές μικροβίωμα μπορεί να χαρακτηριστεί περαιτέρω από τη συμπεριφορά του με την πάροδο του χρόνου [275,278]. Διαισθητικά, ένα μικροβίωμα που σχετίζεται με την υγεία πρέπει να έχει έναν βαθμό ανθεκτικότητας σε εξωτερικές (διατροφικές ή φαρμακευτικές) ή εσωτερικές (που σχετίζονται με την ηλικία ή τη στοχαστική μετατόπιση) αλλαγές. Ακόμα κι αν μια συγκεκριμένη δομή κοινότητας παρείχε όλες τις απαραίτητες βασικές λειτουργίες, χωρίς αυτή την ανθεκτικότητα δεν θα μπορούσε να εγguηθεί αυτές τις λειτουργίες για πολύ. Έτσι, η αντίσταση ενός μικροβιώματος στο στρες και τις διαταραχές και η ικανότητά του να επανέλθει σε ένα υγιές

λειτουργικό προφίλ στη συνέχεια είναι μεταξύ των πιθανών ιδιοτήτων που χαρακτηρίζουν ένα υγιές μικροβίωμα [275,279].

## **2.2 Το μικροβίωμα του ουρο-γεννητικού συστήματος**

### **2.2.1 Το μικροβίωμα του κατώτερου ουροποιητικού**

Ο αριθμός των μικροβίων που κατοικούν στο σώμα μας υπερτερεί κατά πολύ των ανθρώπινων κυττάρων. Έχει γραφεί χαρακτηριστικά ότι είμαστε περίπου, και μόνο, 10% άνθρωποι. Αυτές οι συσχετιστικές σχέσεις υπάρχουν σε όλα τα σημεία του σώματος που εκτίθενται στον έξω κόσμο, συμπεριλαμβανομένου του γαστρεντερικού σωλήνα, του δέρματος, της στοματικής κοιλότητας και του ουρογεννητικού συστήματος. Κάθε σημείο του σώματος που φιλοξενεί μικροβιακά οικοσυστήματα διαφέρει στη μικροβιακή σύνθεση καθώς και στις μεταβολικές λειτουργίες [280]. Το μικροβίωμα κάθε ατόμου είναι μοναδικό, αναπτύσσεται γρήγορα σε όλη την πρώιμη παιδική ηλικία και στη συνέχεια με διαφορετικά ποσοστά μεταβλητότητας στην ενήλικη ζωή [280]. Οι παραλλαγές στη μικροβιακή σύνθεση μπορούν να επηρεαστούν τόσο από γενετικούς όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η διατροφή, η γεωγραφική θέση, η έκθεση σε τοξίνες/καρκινογόνα και ορμόνες.

Η πρόσφατη ανακάλυψη μικροβιακών πληθυσμών που κατοικούν στο ουροποιητικό σύστημα ονομάστηκε "μικρόβιομα του ουροποιητικού", ενώ τα ούρα θεωρούνταν παραδοσιακά αποστειρωμένα. Πρόσφατα στοιχεία αμφισβήτησαν αυτό το δόγμα με μελέτες που δείχνουν τόσο την καλλιέργεια όσο και τη μοριακή ανίχνευση μικροβίων στο ουροποιητικό σύστημα και την ουροδόχο κύστη [281]. Τα δείγματα ούρων μπορεί να περιέχουν μικρόβια (ή μικροβιακά θραύσματα και DNA) που προέρχονται από την ουρήθρα, την ουροδόχο κύστη, τον ουρητήρα και/ή τα νεφρά [282]. Τα καθαρά δείγματα ούρων μπορεί επίσης να μολυνθούν από μικρόβια που βρίσκονται μέσα ή πάνω στον κόλπο ή στο πέος. Ο εντοπισμός βακτηρίων σε οποιαδήποτε από αυτές τις ανατομικές θέσεις είναι περιορισμένος. Επιπλέον, οι περισσότερες μελέτες έχουν επικεντρωθεί αποκλειστικά στα βακτήρια, με τη συμβολή άλλων μικροβιακών πληθυσμών όπως οι μύκητες και οι ιοί στο μικροβίωμα των ούρων να μην έχουν ακόμη διευκρινιστεί.

Το μικροβίωμα των ούρων μπορεί να αλλάξει με τη ηλικία [283]. Δεν είναι γνωστό εάν αυτές οι αλλαγές στη μικροχλωρίδα των ούρων συμβάλλουν στον κίνδυνο καρκίνου του ουρογεννητικού συστήματος αργότερα στη ζωή. Οι διαφορές που σχετίζονται με το φύλο έχουν μελετηθεί καλύτερα και έχουν εντοπιστεί ευδιάκριτες διαφορές στη σύνθεση του μικροβιώματος των ούρων ανά φύλο.

### 2.2.2 Το μικροβίωμα του κόλπου

Το κολπικό μικροβίωμα είναι ένα περίπλοκο και δυναμικό μικροοικοσύστημα που υφίσταται διαρκώς διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια του γυναικείου εμμηνορροϊκού κύκλου και σε ολόκληρη τη ζωή της γυναίκας.

Ο κολπικός βλεννογόνος αποτελείται από ένα στρωματοποιημένο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο που καλύπτεται από την τραχηλική βλέννη [284]. Λόγω της περιορισμένης αιμάτωσης, το οξυγόνο, η γλυκόζη και τα άλλα θρεπτικά συστατικά που χρειάζεται ο κολπικός βλεννογόνος, τα αποκτά από τους υποκείμενους υποβλεννογονίους ιστούς μέσω διάχυσης [285]. Αυτό δημιουργεί τοπικά μια σχετικά αναερόβια. Ο κόλπος στεγάζει μια πολύπλοκη μικροβιακή κοινότητα που υφίσταται σε μια συμβιωτική σχέση με τον ξενιστή. Έτσι, το γηγενές περιβάλλον, οι μικροοργανισμοί και τα γονιδιώματά τους συνθέτουν από κοινού ολόκληρο τον βιότοπο, γνωστό και ως κολπικό μικροβίωμα [286].

Σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, φυσιολογικές αλλαγές, όπως αλλαγές στα επίπεδα ορμονών, προκαλούν διακυμάνσεις στο κολπικό μικροβίωμα. Έχουν αναφερθεί σημαντικές διαφορές μεταξύ μη εγκύων και εγκύων γυναικών όσον αφορά το μικροβίωμα του κόλπου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα σύγκρισης, παρατηρείται απότομη μείωση της ποικιλομορφίας και της αφθονίας του κολπικού μικροβιώματος σε έγκυες γυναίκες. Επιπλέον, η επικράτηση των *Lactobacillus*, *Actinomycetales*, *Clostridiales* και *Bacteroidales* παρατηρείται σε έγκυες γυναίκες. Σε μη έγκυες γυναίκες, παρατηρείται η επικράτηση των *Lactobacillus*, *Actinobacteria*, *Prevotella*, *Veillonellaceae*, *Streptococcus*, *Proteobacteria*, *Bifidobacteriaceae*, *Bacteroides* και *Burkholderiales* [287]. Έτσι, το κολπικό μικροβίωμα θα άλλαζε

προσωρινά σε ένα μόνο άτομο. Επιπλέον, το κολπικό μικροβίωμα διαφέρει σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των ατόμων και οι διαφορές οφείλονται σε παραλλαγές στη σεξουαλική δραστηριότητα [288], στο πλύσιμο [289], στο χρόνιο στρες [290], την περιφερειακή ανισότητα [291], την φυλή [292] και άλλους παράγοντες [293].

Τα είδη *Lactobacillus* ευδοκιμούν στο κολπικό αναερόβιο περιβάλλον και παράγουν διάφορες αντιμικροβιακές ενώσεις, όπως γαλακτικό οξύ, υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και βακτηριοσίνες, συμβάλλοντας έτσι σε ένα υγιές κολπικό μικροβίωμα και δημιουργώντας άμυνα ενάντια στα εισβάλλοντα παθογόνα. Τα είδη *Lactobacillus* είναι η κύρια πηγή L-γαλακτικού οξέος και D-γαλακτικού οξέος που διατηρούν την τιμή pH του οικότοπου χαμηλότερη από 4.5 [294], ενώ τα επιθηλιακά κύτταρα συνεισφέρουν περίπου 20% L-γαλακτικό οξύ [295]. Ωστόσο, ο ρόλος του  $H_2O_2$  στο κολπικό μικροβίωμα παραμένει αμφιλεγόμενος. Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι έχει θετικά αποτελέσματα στην αναστολή της υπερανάπτυξης παθογόνων μικροβίων [296]. Ο O'Hanlon et al. διαπίστωσε ότι το  $H_2O_2$  σε φυσιολογικά επίπεδα εμφανίζει τη μη ανιχνεύσιμη ικανότητα εξάλειψης των παθογόνων μικροβίων, ενώ σε υψηλά επίπεδα, παρουσιάζει μεγαλύτερη αντιμικροβιακή ικανότητα έναντι του *Lactobacillus* παρά παθογόνα μικρόβια [297].

Αυτό το εύρημα δείχνει ότι το  $H_2O_2$  δεν είναι ζωτικής σημασίας αντιμικροβιακός παράγοντας για τη διατήρηση της ομοιόστασης του κολπικού μικροβιώματος. Ο *Lactobacillus* συνθέτει επίσης βακτηριοσίνες, έναν τύπο αντιμικροβιακών πεπτιδίων που μπορούν να διαπεράσουν τη μικροβιακή κυτταρική μεμβράνη μη αυτόχθονων μικροοργανισμών [298]. Επιπλέον, μπορούν να προσκολληθούν σε κολπικά επιθηλιακά κύτταρα και να ανταγωνιστούν άλλα μικροβιακά κύτταρα για θέσεις δέσμευσης [299]. Αυτό το εύρημα είναι σημαντικό, επειδή η προσκόλληση του παθογόνου στα επιθηλιακά κύτταρα είναι το πρώτο βήμα και μια κρίσιμη προϋπόθεση της μόλυνσης [300]. Συγκεκριμένα, το κυρίαρχο είδος *Lactobacillus* καθορίζει την έκταση της προστασίας του κολπικού οικοσυστήματος. Αντίθετα, η υγεία και η υψηλή σταθερότητα της κολπικής κοινότητας ενισχύονται από το *L. crispatus* που παρέχει D- και L- γαλακτικά οξέα [301].

### 2.2.3 Το μικροβίωμα της μήτρας

Η μελέτη της μικροχλωρίδας του γυναικείου γεννητικού συστήματος έχει επικεντρωθεί εδώ και καιρό στον κόλπο, ενώ η παρουσία μικροοργανισμών στην ανώτερη γεννητική οδό (UGT) σχετιζόταν κυρίως με λοιμώδεις καταστάσεις. Η πρώτη αναφορά για ενδομήτριο αποικισμό από κοινά βακτήρια προέρχεται από την απομόνωση των βακτηρίων *Lactobacilli* μαζί με τα *Enterobacter*, *Mycoplasma hominis* και *Gardnerella vaginalis* από δείγματα ενδομητρίου που συλλέγονται διατραχηλικά με καθετήρα διπλού αυλού [302]. Στη συνέχεια, η ύπαρξη ενός ενδομητρικού μικροβιώματος υποστηρίχθηκε περαιτέρω από τη μικροβιακή ανάπτυξη βακτηρίων από κομμάτια της μήτρας που ελήφθησαν μετά από υστερεκτομή, η οποία αποφεύγει την πιθανή μόλυνση των ενδομητρικών δειγμάτων μέσω του τραχηλικού κολπικού σωλήνα σε ασθενείς που χειρουργήθηκαν για καλοήθεις παθήσεις [303]. Επίσης, χρησιμοποιώντας μικροβιακή καλλιέργεια, στο ωοθυλακικό υγρό έχουν εντοπιστεί βακτήρια που ανήκουν σε *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus* και *Streptococcus*. Επιπλέον, η σύνθεση της μικροχλωρίδας στο ωοθυλακικό υγρό δείχνει συσχέτιση με αναπαραγωγικά αποτελέσματα μετά την εξωσωματική γονιμοποίηση [304].

#### 2.2.3.1 Διαφορές μεταξύ ενδομητρικού και κολπικού μικροβιώματος

Επειδή η εμφύτευση εμβρύου λαμβάνει χώρα στην κοιλότητα της μήτρας και όχι στον κόλπο, η αναπαραγωγική ιατρική ενδιαφέρεται πρωτίστως για το ενδομητρικό μικροβίωμα και την επίδρασή του στην εγκυμοσύνη και διατήρηση της εγκυμοσύνης.

Η μοριακή ταυτοποίηση βακτηριακών ειδών χρησιμοποιώντας αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με στόχευση 16S rRNA επέτρεψε την ανίχνευση τουλάχιστον ενός από τα 12 βακτηριακά είδη που εξετάστηκαν στο 95% των ενδομητρικών δειγμάτων [305]. Είναι ενδιαφέρον ότι το βακτηριακό DNA ανιχνεύθηκε επίσης σε δείγματα ενδομητρίου που συλλέχθηκαν κατά την



υστερεκτομή από ασυμπτωματικούς ασθενείς χωρίς σημάδια φλεγμονής του ενδομητρίου ή με θετική διάγνωση βακτηριακής κολπίτιδας, δείχνοντας διαφορετικό μικροβιακό προφίλ από τα αντίστοιχα του κόλπου σε ορισμένες περιπτώσεις, πράγμα που σημαίνει ότι αυτά τα ταυτοποιημένα βακτήρια θα πρέπει να αποτελούν το ενδομήτριο μικροβίωμα [305]. Σε συμφωνία με αυτήν την εργασία, το 16S NGS έχει χρησιμοποιηθεί για τη σύγκριση της ενδομήτριας και κολπικής μικροχλωρίδας από γόνιμα άτομα που δείχνουν ανίχνευση βακτηρίων σε όλα τα δείγματα που αναλύθηκαν [306]. Όπως αναμενόταν, ο *Lactobacillus* spp. ήταν η πιο άφθονη λειτουργική ταξινομική μονάδα στο ενδομήτριο, αλλά ανιχνεύθηκαν και άλλα είδη όπως *Atopobium*, *Bifido-bacterium*, *Gardnerella*, *Megasphaera*, *Prevotella*, *Sneathia*, *Streptococcus* και άλλοι δυσβιοτικοί παράγοντες που βρέθηκαν προηγουμένως στον κόλπο.

Ωστόσο, στο 20% περίπου των δειγμάτων που αναλύθηκαν, οι μικροβιακός πληθυσμός του ενδομητρίου και του κόλπου διέφεραν είτε ως προς τα βακτηριακά ταξινομικά είδη που προσδιορίστηκαν είτε στη σχετική αφθονία στην οποία εκπροσωπούνταν και στους δύο τύπους δειγμάτων [306]. Αυτές οι διαφορές έχουν επίσης αναφερθεί από τον Wee και τους συνεργάτες του σε μια μελέτη περιπτώσεων ελέγχου που συνέκρινε δείγματα ενδομητρίου έναντι κόλπου και τραχήλου σε γόνιμες και υπογόνιμες γυναίκες [307]. Και πάλι, οι ομοιότητες ακόμα και στο ίδιο άτομο μεταξύ του ανώτερου (ενδομητρίου) και του κατώτερου (κολπικού) μικροβιώματος έχουν παρατηρηθεί στον γενικό πληθυσμό με διακριτές και σταδιακές μεταβάσεις σε διαφορετικές τοποθεσίες [308]. Είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι έχουν παρατηρηθεί διαφορές μεταξύ της ενδομήτριας και της κολπικής χλωρίδας ανεξάρτητα από τη μέθοδο συλλογής των ενδομητρικών δειγμάτων - διατραχηλικά [306-308] ή σε χειρουργική επέμβαση της μήτρας [305,308] - η οποία επιβεβαιώνει την ύπαρξη της γηγενούς ενδομήτριας μικροχλωρίδας.

Μαζί, αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το ενδομητρικό και το κολπικό μικροβίωμα είναι παρόμοια, σύμφωνα με τον αποικισμό της μήτρας από βακτήρια που ανεβαίνουν από τον κόλπο, αλλά όχι πάντα πανομοιότυπα σε κάθε γυναίκα. Το μικροβίωμα του ενδομητρίου και του κόλπου κυριαρχείται

κυρίως από το *Lactobacillus* spp., ενώ η παρουσία/κυριαρχία άλλων βακτηριακών ταξινομήσεων μπορεί να οδηγήσει σε δυσβιοτική/παθολογική μικροβιακή κατάσταση υπεύθυνη για υπογονιμότητα ή άλλες καταστάσεις.

### **3. ΣΚΟΠΟΣ – ΥΛΙΚΟ**

#### **3.1 ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

##### **3.1.1 Μικροβίωμα και ομοιοστασία**

Τα τελευταία χρόνια έχει επιβεβαιωθεί η σχέση της μικροχλωρίδας του εντέρου με βασικά ανθρώπινα φυσικά γεγονότα (π.χ. προσαρμογή του μεταβολικού φαινοτύπου, ανάπτυξη του επιθηλίου) [309]. Επιπρόσθετα έχει προταθεί ότι η μικροχλωρίδα καλύπτει πιο συμβατές μεταβολικές ιδιότητες από αυτές που έχουν καθιερωθεί στο ανθρώπινο γονιδίωμα και επίσης παρέχει χημικές και βιοχημικές οδούς για τα άτομα. Αρκετές μεταβολικές μακροβιοτικές μορφές ήταν πολύτιμες για τον ξενιστή και εμπλέκονται είτε με συμπληρώματα είτε με ξενοβιοτικά παρασκευάσματα (π.χ. πέψη μη χωνεμένων αμύλων και βιοσύνθεση θρεπτικών ουσιών) [310]. Επίσης, ένας φυσικός φραγμός μπορεί επίσης να προσφέρεται από τη μικροχλωρίδα του εντέρου, η οποία προστατεύει τον ξενιστή από εξωτερικά παθογόνα μέσω της αποφυγής και της παραγωγής αντιμικροβιακών ουσιών [311].

Η μικροχλωρίδα είναι επίσης θεμελιώδης στην ανάπτυξη του βλεννογόνου του εντέρου και στην ασφαλή διάταξη του ξενιστή. Αυτό μπορεί να αποδειχθεί καλά σε ζώα χωρίς μικρόβια, καθώς έχουν λίγες ποσότητες μη ευαίσθητων κυτταρικών τύπων, έλλειψη λεμφικών δομών, ανεπαρκώς σχηματισμένους σπλήνες και λεμφικούς κόμβους και επιδεινωμένα επίπεδα κυτοκινών [312]. Αυτές οι μελέτες συνέβαλαν στο συμπέρασμα ότι η μικροχλωρίδα συνδέεται σε μεγάλο βαθμό με την ανάπτυξη ανθεκτικών κυττάρων και ασφαλών ικανοτήτων, αλλά και με την ευεργετική αλληλεπίδραση στη βελτίωση πολλών ασθενειών [313].

Οι μικροοργανισμοί αποικίζουν τον ξενιστή αμέσως μετά τη γέννηση, σχηματίζοντας ένα απλό δίκτυο. Αυτό το δίκτυο σταδιακά μετατρέπεται σε ένα εξαιρετικά ποικιλόμορφο βιολογικό σύστημα μεταξύ της ανάπτυξης του ξενιστή και, μετά από λίγο, δημιουργούνται βακτηριακές συνδέσεις. Ένα φυσιολογικό μικροβίωμα παρέχει ζωτικά συμπληρώματα, χρησιμοποιεί μη βρώσιμα μείγματα (π.χ. ξυλογλυκάνες, που βρίσκονται συνήθως σε λαχανικά που μπορούν να υποστούν επεξεργασία από *Bacteroides*, ή φρουκτοολιγοσακχαρίτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν από *Lactobacillus* και *Bifidobacterium*), προστατεύει από τον αποικισμό παθογόνων, βοηθά στην ανάπτυξη του εντερικού σχεδιασμού [314], παρεμβαίνει στα λιπίδια (π.χ. ακόρεστα λίπη βραχείας αλυσίδας - SCFAs: όξινα, προπιονικά, και βουτυρικά οξέα) και ομοιόσταση πρωτεϊνών, στη μικροβιακή ένωση των βασικών συμπληρωμάτων θρεπτικών συστατικών [315], στον έλεγχο της κινητικότητας του εντέρου, της επιδείνωσης, της ομοιόστασης της γλυκόζης και της συλλογής ζωτικότητας [316].

Συγκεκριμένα, η μικροχλωρίδα του εντέρου έχει αποδειχθεί ότι μεταφέρει θρεπτικά συστατικά στον ξενιστή. Αυτή είναι η περίπτωση της βιταμίνης K, των φυλλικών αλάτων (B9), της βιοτίνης (B7), της ριβοφλαβίνης (B2), της κοβαλαμίνης (B12) και ενδεχομένως άλλων βιταμινών B [317]. Η σημασία του μικροβιώματος του εντέρου στην ανοσολογική διέγερση καταδείχθηκε επίσης, ιδιαίτερα στην τυπική βελτίωση των χυμικών και κυτταρικών μη ευαίσθητων πλαισίων του βλεννογόνου [318]. Στην πραγματικότητα, τόσο τα σημάδια όσο και οι μεταβολίτες των μικροοργανισμών αποδείχθηκε ότι γίνονται αντιληπτά από αιμοποιητικά και μη αιμοποιητικά κύτταρα και προσαρμόζονται σε φυσιολογικές αντιδράσεις [319]. Επίσης, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι δεν έχει κάθε μικροχλωρίδα ιατρικά οφέλη.

### **3.1.2 Μικροβίωμα και ανοσολογία**

Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, το γυναικείο σώμα υφίσταται πολυάριθμες ανατομικές και φυσιολογικές αλλαγές για να επιτρέψει την επιτυχή εμφύτευση ενός γονιμοποιημένου ωαρίου και την ανάπτυξη ενός

εμβρύου. Οι περισσότερες από αυτές τις αλλαγές είναι παροδικές και θα επανέλθουν στο «φυσιολογικό» μετά τον τοκετό. Η βάση για όλες αυτές τις φυσιολογικές αλλαγές βρίσκεται στις αυξήσεις των επιπέδων των ορμονών κατά τη σύλληψη. Τα επίπεδα της hCG αυξάνονται σταθερά για να φτάσουν τα μέγιστα επίπεδα γύρω στη 10η εβδομάδα της κύησης και πέφτουν στις βασικές τιμές λίγο αργότερα [320]. Η hCG ξεκινά την παραγωγή προγεστερόνης από τα κύτταρα του ωχρού σωματίου, μιας προσωρινής ενδοκρινικής δομής που παραμένει στην ωοθήκη μετά την ωορρηξία. Το ωχρό σωματίο παράγει επίσης οιστρογόνα, τα οποία με τη σειρά τους συμβάλλουν στη βιοσύνθεση της προγεστερόνης. Η παραγωγή τόσο της προγεστερόνης όσο και των οιστρογόνων αναλαμβάνεται από τον αναπτυσσόμενο πλακούντα μετά από αρκετές εβδομάδες κύησης και έτσι τα επίπεδά τους αυξάνονται προοδευτικά κατά το πρώτο τρίμηνο (T1) και φτάνουν στο αποκορύφωμά τους στο τρίτο τρίμηνο (T3) της κύησης.

Ενώ ο κύριος σκοπός της hCG θεωρείται από καιρό ότι είναι οι ορμονικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, υποκινεί επίσης και πολυάριθμες φυσιολογικές αλλαγές που στοχεύουν στην ανάπτυξη και τον τοκετό ενός υγιούς μωρού. Πρέπει να διατηρηθεί μια προσεκτική ισορροπία μεταξύ της ανοσολογικής ανοχής έναντι των εμβρυϊκών αντιγόνων και της ανοσίας έναντι των μολυσματικών παραγόντων. Μια τριπλή αλληλεπίδραση μεταξύ των ορμονών της εγκυμοσύνης, του ανοσοποιητικού συστήματος και της μικροχλωρίδας λαμβάνει χώρα. Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι οι μικροβιακές αλλοιώσεις που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορεί να βοηθήσουν στη διατήρηση της ομοιόστασης και να βοηθήσουν τις απαιτούμενες φυσιολογικές αλλαγές που συμβαίνουν στην εγκυμοσύνη. Ωστόσο, αυτές οι ίδιες ανοσολογικές και μικροβιακές αλλοιώσεις μπορεί επίσης να κάνουν τις γυναίκες πιο ευάλωτες κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και της περιόδου μετά τον τοκετό, ειδικά όσον αφορά τις ανοσολογικές και μολυσματικές ασθένειες. Έτσι, μια περαιτέρω κατανόηση των αλληλεπιδράσεων ξενιστή-μικροβίου που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορεί να βελτιώσει τον εντοπισμό των πληθυσμών που διατρέχουν κίνδυνο για δυσμενή έκβαση της εγκυμοσύνης.

Πολλές διεργασίες είναι πλέον γνωστό ότι εξαρτώνται από τη δραστηριότητα της hCG. Ειδικότερα, η προώθηση της ανάπτυξης του πλακούντα και της αγγείωσης φαίνεται να αποτελούν σημαντικό μέρος της λειτουργικότητας της hCG. Επιπλέον, η hCG διεγείρει την ανάπτυξη και διαφοροποίηση των οργάνων του εμβρύου και αποτρέπει την πρόωρη συστολή των μυών της μήτρας [321]. Η προγεστερόνη παίζει ρόλο στην αρχή της εγκυμοσύνης προκαλώντας τη διαφοροποίηση των στρωματικών κυττάρων και βοηθά στην αναμόρφωση του τραχήλου της μήτρας για την προσαρμογή του στην εμβρυϊκή εμφύτευση. Επιπλέον, η προγεστερόνη συντηρεί την εγκυμοσύνη απαγορεύοντας τις συσπάσεις της μήτρας μέσω της μείωσης της παραγωγής υποδοχέων ωκυτοκίνης και προσταγλανδίνης και αναστολής της συσταλτικότητας των λείων μυϊκών κυττάρων [322,323]. Τα οιστρογόνα, αν και δεν διεγείρουν τη συστολή, φαίνεται να διευκολύνουν τις διαδικασίες που οδηγούν στον τοκετό [5]. Εδώ βλέπουμε να αναδεικνύεται ένας κεντρικός ρόλος για τις ορμόνες της εγκυμοσύνης στη ρύθμιση των ανοσολογικών διεργασιών κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, ο οποίος είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη και την ευημερία του αλλογενούς εμβρύου.

### **3.1.2.1 Ανοσολογική ανοχή στην εγκυμοσύνη και αναγνώριση πατρικών αντιγόνων**

Αρκετές υποομάδες μητρικών ανοσοκυττάρων υπάρχουν στο τροποποιημένο ενδομήτριο. Η πλειονότητα των πρώιμων διεισδυτικών ανοσοκυττάρων (>70%) είναι κύτταρα φυσικού φονέα (Natural Killer) και μακροφάγα που στρατολογούνται από την ενδομήτρια hCG, την προγεστερόνη και τα οιστρογόνα [324], αλλά βρίσκονται επίσης και T-κύτταρα. Ο φυσιολογικός ρόλος των κυττάρων NK είναι να σκοτώνουν κύτταρα υπό στρες, όπως κύτταρα μολυσμένα με όγκο και ιούς καθώς επίσης και η αναγνώριση και λύση κυττάρων που στερούνται αυτόματου MHC-I. Έτσι, η παρουσία μεγάλου αριθμού κυττάρων NK στο τροποποιημένο ενδομήτριο μπορεί να αναμένεται να οδηγήσει σε κυτταρόλυση των εμβρυϊκών κυττάρων που λείπουν από τον εαυτό τους, όπως έχει προταθεί στο πλαίσιο της μεταμόσχευσης οργάνων [325].

Ωστόσο, τα κύτταρα της μήτρας εκφράζουν διαφορετικούς υποδοχείς στην κυτταρική επιφάνεια από τα περιφερειακά κύτταρα και δεν είναι κυτταροτοξικά [326]. Αυτό οφείλεται εν μέρει στο γεγονός ότι οι εμβρυϊκοί τροφοβλάστες εμφανίζουν μια τυπική έκφραση MHC, με ορισμένες από αυτές (ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων ιστοσυμβατότητας να καταστέλλουν ενεργά τη δραστηριότητα αυτών των κυττάρων της μήτρας [327]. Επιπλέον, οι εμβρυϊκοί τροφοβλάστες λείπουν σε πολλά άλλα μόρια MHC-I και II, πράγμα που σημαίνει ότι μπορούν σε κάποιο βαθμό να ξεφύγουν από την αναγνώριση από το μητρικό ανοσοποιητικό σύστημα [328].

### **3.1.2.2. Ανοσολογία εγκυμοσύνης εκτός μήτρας**

Η γενική συναίνεση μέχρι στιγμής φαίνεται να είναι ότι η εμφύτευση σχετίζεται με φλεγμονή χαμηλού βαθμού και την κυτταροκίνη Th1 ενώ η κύρια διάρκεια της εγκυμοσύνης απαιτεί μια στροφή προς τις σχετιζόμενες ως προς την ανοχή κυτταροκίνες Th2. Ο τοκετός ξεκινά μέσω των κυτταροκινών Th1 στη μήτρα. Σε ποιο βαθμό αυτές οι τοπικές ανοσολογικές αλλαγές μεταφράζονται σε περιφερειακές επιδράσεις είναι λιγότερο σαφές. Αναφορές περιστατικών έχουν προτείνει ότι η εγκυμοσύνη μπορεί να μειώσει τις ανάγκες ανοσοκατασταλτικής θεραπείας σε μεταμοσχεύσεις [329] και χρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου [330]. Επιπρόσθετα, η πορεία της νόσου πολλών αντι-ανοσοποιητικών νόσων, συμπεριλαμβανομένης της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και της σκλήρυνσης κατά πλάκας, φάνηκε να βελτιώνεται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης [331], υποδηλώνοντας ότι αυτή η ανοσολογική ανοχή υπερβαίνει τον πλακούντα. Έχει προταθεί ότι οι παθολογικές αλλοιώσεις στα υποσύνολα Th που συμβαίνουν στη μήτρα κατά τη διάρκεια της αποτυχίας εγκυμοσύνης αντικατοπτρίζονται από περιφερειακές αλλοιώσεις σε αυτά τα υποσύνολα [332]. Ωστόσο, οι μελέτες που διερεύνησαν τα επίπεδα κυτοκινών σε υγιή εγκυμοσύνη κατά τα τρία τρίμηνα έχουν διαφορές μεταξύ τους.

Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε αυξημένα επίπεδα τόσο των κυτοκινών Treg (IL-10, sTNFRII) όσο και των κυτοκινών Th1 (INFg, IL-2, IL-12, IL-27) κατά το δεύτερο τρίμηνο της εγκυμοσύνης [333]. Δύο μελέτες ανέφεραν μείωση του TNFa από την πρώιμη έως την όψιμη εγκυμοσύνη [334], αν και

τρεις άλλες μελέτες δεν επιβεβαίωσαν αυτό το εύρημα [335]. Το πιο συνεπές εύρημα μέχρι σήμερα φαίνεται να είναι η αύξηση των επιπέδων της IL6 (συχνά θεωρείται κυτοκίνη Th1) από την πρώιμη έως την όψιμη εγκυμοσύνη [335-337]. Παρόμοια διαφωνία παρατηρείται και για τα κυκλοφορούντα ανοσοκύτταρα.

### 3.1.3 Μικροβίωμα και αναπαραγωγή

Ο ρόλος της ενδομήτριας μικροχλωρίδας στη αλληλεπίδραση εμβρύου-μήτρας κατά την έναρξη της εγκυμοσύνης παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για την αναπαραγωγική ιατρική και η καλύτερη κατανόηση του πώς είναι ένα υγιές περιβάλλον στη μήτρα και πώς να το επιτύχουμε, θα ωφελούσε όχι μόνο τις γυναίκες που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση αλλά επίσης κάθε γυναίκα που επιθυμεί να συλλάβει. Η λοίμωξη της μήτρας είναι γνωστός παράγοντας κινδύνου για στειρότητα, καθώς αυτό το παθογόνο περιβάλλον μπορεί να συνεπάγεται φλεγμονή και ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού στο ενδομήτριο, διαταραχή της εμφύτευσης του εμβρύου και την έναρξη μιας επιτυχημένης εγκυμοσύνης. Κατά τις δεκαετίες του 1990 και του 2000, αναφέρθηκε η συσχέτιση της λοίμωξης του ενδομητρίου με την αναπαραγωγική ανεπάρκεια των θεραπειών εξωσωματικής γονιμοποίησης από διάφορες ομάδες που αξιολογούσαν την ενδομήτρια χλωρίδα κατά τη στιγμή της εμβryo-μεταφοράς με μικροβιακή καλλιέργεια του περιφερικού άκρου του καθετήρα μεταφοράς.

Σε όλες αυτές τις μελέτες, το αναπαραγωγικό αποτέλεσμα ήταν σταθερά φτωχό κατά την απομόνωση παθογόνων του ενδομητρίου όπως *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* και Gram-αρνητικά βακτήρια [338,339] με αρνητική καλλιέργεια. Από την άλλη πλευρά, η απομόνωση του *Lactobacillus* spp. συσχετίστηκε με αυξημένα ποσοστά εμφύτευσης και εγκυμοσύνης ανά μεταφορά και χαμηλότερα ποσοστά αποβολών [338,339]. Επίσης, μια ολοκληρωμένη μελέτη που διεξήχθη το 1999 έδειξε τη σημασία ενός υγιούς μικροβιακού περιβάλλοντος στο παράθυρο της εμφύτευσης με καλλιέργεια ενδομήτριων δειγμάτων τη στιγμή της ανάκτησης ωαρίων (όταν συνταγογραφήθηκε ένα προφυλακτικό αντιβιοτικό) και στην εμβryo-

μεταφορά, η οποία πραγματοποιήθηκε 48 ώρες μετά. Σε αυτή τη μελέτη, οι ασθενείς με παθογόνα ενδομητρίου κατά τη στιγμή της ET παρουσίασαν μειωμένα κλινικά ποσοστά εγκυμοσύνης ανά μεταφορά (18.7%) σε σύγκριση με εκείνες τις γυναίκες με αρνητικές καλλιέργειες ή εκείνες που είχαν ανταποκριθεί σε αντιβιοτική θεραπεία πριν από την εμβryo-μεταφορά (41.3% και 38.1%, αντίστοιχα), υποστηρίζοντας την ιδέα ότι η αναστρεψιμότητα των λοιμώξεων του ενδομητρίου θα μπορούσε να βελτιώσει τα αναπαραγωγικά αποτελέσματα σε ασθενείς με εξωσωματική γονιμοποίηση [340].

Η κλασική καλλιέργεια παρέχει μια περιορισμένη και μεροληπτική άποψη του περιβάλλοντος της μήτρας, καθώς δεν είναι κάθε βακτήριο ικανό να αναπτυχθεί σε τυπικές εργαστηριακές συνθήκες. Για το λόγο αυτό, έχουν χρησιμοποιηθεί μοριακές τεχνολογίες ικανές να παρέχουν μια εμπειριστατωμένη άποψη της μικροχλωρίδας της μήτρας για την αποκάλυψη της σύνθεσης και της επίδρασης της ενδομήτριας χλωρίδας σε ασθενείς που υποβάλλονται σε τεχνολογίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Αξιοποιώντας την αλληλουχία του γονιδίου 16S rRNA, το ενδομήτριο μικροβίωμα των υπογόνιμων ασθενών με επαναλαμβανόμενη αποτυχία εμφύτευσης ή υποτροπιάζουσα απώλεια εγκυμοσύνης έχει διερευνηθεί, δείχνοντας ότι το μικροβίωμα της μήτρας αυτών των ασθενών αποτελείται κυρίως από βακτήρια από τα phyla Firmicutes, Bacteroidetes και Proteobacteria [341]. Αυτοί οι φυλές περιέχουν πολλά γένη που έχουν αναφερθεί προηγουμένως όχι μόνο στη γυναικεία αναπαραγωγική οδό, αλλά και πιο συγκεκριμένα σε δείγματα στο ενδομήτριο: Τα firmicutes περιλαμβάνουν Lactobacilli, Streptococci, Staphylococci, μεταξύ άλλων. Τα bacteroidetes περιέχουν Prevotella. και τα proteobacteria περιέχουν enterobacteria όπως E. coli και K. pneumoniae).

Ο αντίκτυπος της μικροχλωρίδας του ενδομητρίου στα αναπαραγωγικά αποτελέσματα αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον Franasiak και τους συνεργάτες του το 2016. Σε αυτή τη μελέτη, εφαρμόστηκε αλληλουχία 16S rRNA στην άκρη του καθετήρα μεταφοράς σε 33 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε εξωσωματική γονιμοποίηση με ευπλοειδή έμβρυα. Χρησιμοποιώντας αυτή την προσέγγιση, τα βακτήρια Lactobacillus και Flavobacterium ήταν τα πιο



άφθονα γένη που εντοπίστηκαν, ακολουθούμενα από άλλα βακτήρια του γεννητικού συστήματος, κάτι που ήταν σύμφωνο με προηγούμενα ευρήματα. Ωστόσο, δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του προφίλ μικροβιώματος του ενδομητρίου και του αναπαραγωγικού αποτελέσματος σε αυτούς τους ασθενείς [342].

Αργότερα, μια δεύτερη μελέτη σχετικά με την επίδραση του μικροβιώματος του ενδομητρίου στο αποτέλεσμα της αναπαραγωγικής διαδικασίας αποκάλυψε ότι η χαμηλή αφθονία *Lactobacillus* στο ενδομήτριο υγρό σχετίζεται με κακή αναπαραγωγική επιτυχία σε ασθενείς με επαναλαμβανόμενη αποτυχία εμφύτευσης, ακόμη και αν έχουν δεκτικό ενδομήτριο κατά τη στιγμή της εμβryo-μεταφοράς [305]. Σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες, το *Lactobacillus* spp. ήταν το πιο αντιπροσωπευόμενο γένος βακτηρίων στα ενδομήτρια δείγματα αυτών των ασθενών, ακολουθούμενο από *Gardnerella*, *Streptococcus* και *Bifido-bacterium*. Ωστόσο, μόνο το ποσοστό των *Lactobacilli* ήταν προγνωστικό της αναπαραγωγικής επιτυχίας ή αποτυχίας της εξωσωματικής γονιμοποίησης σε αυτούς τους 35 ασθενείς που έλαβαν εξατομικευμένη εμβryo-μεταφορά. Από αυτή την άποψη, ασθενείς με μικροβίωμα κυριαρχούμενο από *Lactobacillus* (πάνω από το 90% των *Lactobacilli*) παρουσίασαν σημαντικά αυξημένη εμφύτευση, εγκυμοσύνη, συνεχιζόμενη εγκυμοσύνη και ποσοστά ζώντων γεννήσεων [305]. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν σημαντικό ρόλο των μικροβιακών κοινοτήτων στην εμφύτευση και την εγκυμοσύνη.

### 3.1.4 Μικροβίωμα και Καθ' Ήξιν Αποβολές

Το *Atopobium vaginae* και το *Gardnerella vaginalis* είναι τα κύρια παθογόνα που σχετίζονται με τη βακτηριακή κολπίτιδα. Διεγείρουν μια έμφυτη ανοσολογική απόκριση από τα κολπικά επιθηλιακά κύτταρα [343]. Ωστόσο, η επιβλαβής επίδραση αυτών των παθογόνων δεν περιορίζεται στον κόλπο. Γυναίκες με βακτηριακή κολπίτιδα που υποβάλλονται σε λαπαροσκοπική σαλπινγεκτομή ή απόξεση παρουσιάζουν σημαντικά αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ενδομητρίων πολυμικροβιακών βιοφίλμ με *G. vaginalis* και άλλα βακτήρια. Τα *Streptococcus agalactiae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus*

faecalis, Neisseria gonorrhoeae και, σε ορισμένες μελέτες, G. vaginalis, είναι τα κύρια παθογόνα της χρόνιας ενδομητρίτιδας [344,345]. Αυτή η κατάσταση βλάπτει τα αναπαραγωγικά αποτελέσματα στη φυσική σύλληψη και την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, συμβάλλοντας περαιτέρω σε μαιευτικές και νεογνικές επιπλοκές [346]. Μια case series μελέτη τριών γυναικών με υποτροπιάζουσα αποτυχία εμφύτευσης και χρόνια ενδομητρίτιδα έδειξε την εξάλειψη των παθογόνων που σχετίζονται με αυτήν και την επακόλουθη αποκατάσταση της γονιμότητας μετά από ενδομήτρια χορήγηση αντιβιοτικών [347]. Επιπλέον, βακτήρια όπως το S. agalactiae είναι γνωστό ότι είναι μία από τις κύριες αιτίες νεογνικών λοιμώξεων από κάθετη μετάδοση. Τέλος, στην απουσία των Lactobacillus, τα Bifidobacterium βακτήρια είναι υπεύθυνα για να διατηρήσουν την υγιή κολπική ισορροπία με την παραγωγή γαλακτικού οξέος [348,349]. Ωστόσο, τα αποτελέσματά δείχνουν μια αρνητική συσχέτιση των βακτηρίων Bifidobacterium με έναν επιτυχημένο τοκετό, συμπέρασμα το οποίο βρίσκεται σε συμφωνία με άλλες αναφορές που δείχνουν ότι τα είδη βακτηρίων Bifidobacterium είναι παθογόνα σε διάφορες μολυσματικές καταστάσεις [350,351].

Τα τρέχοντα στοιχεία υποδεικνύουν ότι αυτό που μπορεί πραγματικά να επηρεάσει τη γονιμότητα είναι η παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών στην κοιλότητα της μήτρας και όχι η απαιτίαση μιας συγκεκριμένης συγγενικής ταξινόμησης. Αυτό υποστηρίζεται από τα αποτελέσματά που δείχνουν ότι η απουσία βακτηρίων (όχι ανιχνεύσιμα δείγματα) μπορεί επίσης να βρεθεί σε συσχέτιση με καλά αναπαραγωγικά αποτελέσματα. Μια μελέτη έδειξε ότι και στα δείγματα ενδομητρίου υγρού σε βιοψία ενδομητρίου τα ποσοστά επιτυχημένων τοκετών σε μη ανιχνεύσιμα δείγματα ήταν 50% και 49.06% σε σύγκριση με 35.58% και 40.53% στα ανιχνεύσιμα δείγματα. Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η απουσία βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένων του βακτηρίων Lactobacillus, δεν εμποδίζει την εμφύτευση και ενισχύει τα στοιχεία που υποστηρίζουν το ρόλο των παθογόνων βακτηρίων ως παράγοντα κινδύνου στην αναπαραγωγή. Αυτό είναι σύμφωνο με τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν από άλλους που δείχνουν ότι η απομόνωση βακτηριακών παθογόνων από το άκρο του καθετήρα που χρησιμοποιείται για την μεταφορά του εμβρύου σχετίζεται με κακά αποτελέσματα εξωσωματικής γονιμοποίησης

[352-355]. Από αυτό επίσης μπορούμε να υποθέσουμε ότι ο κύριος ρόλος του *Lactobacillus* spp. στην αναπαραγωγή μπορεί να είναι η αποφυγή του αποικισμού της κοιλότητας της μήτρας από παθογόνα βακτήρια. Ως εκ τούτου, ο ρόλος των βακτηρίων που αποικίζουν την ανώτερη αναπαραγωγική οδό θα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

[1] Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, Vanderpoel S, International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology; World Health Organization. Fertil Steril. 2009 Nov;92(5):1520-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.09.009. PMID: 19828144

[2] Michels TC, Tiu AY. Second trimester pregnancy loss. Am Fam Physician 2007 Nov 1;76(9):1341-6.

[3] RCOG Green-top Guideline No.17, April 2017. The investigation and treatment of couples with recurrent first trimester and second trimester miscarriage.

[4] Larsen EC, Christiansen OB, Kolte AM, Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. BMC Med. 2013 Jun 26;11:154. doi: 10.1186/1741-7015-11-154. PMID: 23803387 PMCID: PMC3699442

[5] Lund LK, Vik T, Skranes J, Lydersen S, Brubakk AM, Indredavik MS. Low birth weight and psychiatric morbidity; stability and change between adolescence and young adulthood. Early Hum Dev. 2012 Aug;88(8):623-9. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2012.01.006. Epub 2012 Feb 10. PMID: 22325843

[6] Lo JC, Groeger JA, Santhi N, Arbon EL et al. Effects of partial and acute total sleep deprivation on performance across cognitive domains, individuals and circadian phase. PLoS One. 2012;7(9):e45987. doi: 10.1371/journal.pone.0045987. PMID: 23029352, PMCID: PMC3454374

[7] ESHRE, Early Pregnancy Guideline Development Group, Hum Rep O, Nov 2017, 2018;(2). Recurrent Pregnancy Loss. doi: <https://doi.org/10.1093/hropen/hoy004>

- [8] Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R et al. Chronic endometritis due to common bacteria is prevalent in women with recurrent miscarriage as confirmed by improved pregnancy outcome after antibiotic treatment. *Reprod Sci.* 2014 May;21(5):640-7. doi: 10.1177/1933719113508817. PMID: 24177713 PMCID: PMC3984485
- [9] Kolte AM, Olsen LR, Mikkelsen EM, Christiansen OB, Nielsen HS. Depression and emotional stress is highly prevalent among women with recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod.* 2015 Apr;30(4):777-82. doi: 10.1093/humrep/dev014. PMID: 25662810 PMCID: PMC4359400
- [10] Ford HB, Scust DJ. Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis and therapy. *Rev Obstet Gynecol.* 2009;2(2):76-83
- [11] Zhang T, Sun Y, Chen Z, Li T. Traditional and molecular chromosomal abnormality analysis of products of conception in spontaneous and recurrent miscarriage. *BJOG.* March 2018;125(4):414-420
- [12] Brezina PR, Kearns WG. The evolving role of genetics in reproductive medicine. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2014 Mar;41(1):41-55
- [13] Lamont RF, Sobel JD, Akins RA, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Romero R. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. *BJOG.* 2011 Apr; 118(5): 533–549. 10.1111/j.1471-0528.2010.02840.x
- [14] Casari E, Ferrario A, Morengi E, Montanelli A. Gardnerella, Trichomonas vaginalis, Candida, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in the genital discharge of symptomatic fertile and asymptomatic infertile women. *New Microbiol.* 2010 Jan;33(1):69-76.
- [15] Eschenbach D. Bacterial vaginosis and anaerobes in obstetric-gynecologic infection. *Clin Infect Dis.* 1993 Jun;16 Suppl 4:S282-7. PMID: 8324132 DOI: 10.1093/clinids/16.supplement\_4.s282
- [16] Ralph SG, Rutherford AJ, Wilson JD. Influence of bacterial vaginosis on conception and miscarriage in the first trimester: cohort study. *BMJ.* 1999 Jul 24; 319(7204): 220–223. PMID: 10417083 doi: 10.1136/bmj.319.7204.220
- [17] Donders GG, Zodzika J, Rezeberga D. Treatment of bacterial vaginosis: what we have and what we miss. *Expert Opin Pharmacother* 2014 Apr;15(5):645-57. PMID: 24579850 DOI: 10.1517/14656566.2014.881800

[18] Hay P. Bacterial vaginosis and miscarriage. *Curr Opin Infect Dis.* 2004 Feb;17(1):41-4. PMID: 15090889 DOI: 10.1097/00001432-200402000-00008

[19] Slama R, Bouyer J, Windham G. Influence of paternal age on the risk of spontaneous abortion. *Am J Epidemiol.* 2005 May 1;161(9):816-23. PMID: 15840613 DOI: 10.1093/aje/kwi097

[20] Hay PE, Lamont RF, Taylor-Robinson D, Morgan DJ, Ison C, Pearson J. Abnormal bacterial colonisation of the genital tract and subsequent preterm delivery and late miscarriage. *BMJ.* 1994 Jan 29; 308(6924): 295–298. doi: 10.1136/bmj.308.6924.295

[21] Donders GG, Van Calsteren K, Bellen G, Reybrouck R, Van Den Bosch T, Riphagen I, Van Lierde S. Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy. *BJOG.* 2009 Sep;116(10):1315-24. PMID: 19538417 DOI: 10.1111/j.1471-0528.2009.02237.x

[22] Rocchetti TT, Marconi C, Rall VLM, Borges VTM, Corrente JE, Da Silva MG. Group B streptococci colonization in pregnant women: risk factors and evaluation of the vaginal flora. *Arch Gynecol Obstet.* 2011 Apr;283(4):717-21. PMID: 20349243 DOI: 10.1007/s00404-010-1439-8

[22] Tavo V. Prevalence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* among women of reproductive age in Albania. *Med Arch.* 2013;67(1):25-6. PMID: 23678833 DOI: 10.5455/medarh.2013.67.25-26

[23] Bayraktar MR, Ozerol IH, Gucluer N, Celik O. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in pregnant women. *Int J Infect Dis.* 2010 Feb;14(2):e90-5. PMID: 19515594 DOI: 10.1016/j.ijid.2009.03.020

[24] Allanson B, Jennings B, Jacques A, Charles AK, Keil AD, Dickinson JE. Infection and fetal loss in the mid-second trimester of pregnancy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2010 Jun;50(3):221-5. PMID: 20618237 DOI: 10.1111/j.1479-828X.2010.01148.x

[25] U.S. Preventive Services. Bacterial Vaginosis in Pregnancy to Prevent Preterm Delivery: Screening 2008.

[26] Yudin MH, Money DM. Screening and management of bacterial vaginosis in pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can.* 2008 Aug;30(8):702-708. PMID: 18786293 DOI: 10.1016/S1701-2163(16)32919-X

[27] Brocklehurst P, Gordon A, Heatley E, Milan S. Antibiotics for treating bacterial vaginosis in pregnancy (Review). *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Jan 31;(1):CD000262. PMID: 23440777 DOI: 10.1002/14651858.CD000262.pub4

[28] Atluri VL, Xavier MN, de Jong MF, den Hartigh AB, Tsolis RM. Interactions of the human pathogenic *Brucella* species with their hosts. *Annu Rev Microbiol*. 2011;65:523-41. PMID: 21939378 DOI: 10.1146/annurev-micro-090110-102905

[29] Moreno E. Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis. *Front Microbiol*. 2014 May 13;5:213. PMID: 24860561 DOI: 10.3389/fmicb.2014.00213

[30] Corbel MJ. Brucellosis: an overview. *Emerg Infect Dis*. Apr-Jun 1997;3(2):213-21. PMID: 9204307 DOI: 10.3201/eid0302.970219

[31] Centres for Disease Control and Prevention—CDC. Brucellosis 2012a.

[32] Kurdoglu M, Adali E, Kurdoglu Z, Karahocagil MK, Kulusari A, Yildizhan R, Kucukaydin Z, Sahin HG, Kamaci M, Akdeniz H. Brucellosis in pregnancy: a 6-year clinical analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2010 Feb;281(2):201-6. PMID: 19434417 DOI: 10.1007/s00404-009-1106-0

[33] Abo-Shehada MN, Abu-Halaweh M. Seroprevalence of *Brucella* species among women with miscarriage in Jordan. *East Mediterr Health J*. 2011 Nov;17(11):871-4. PMID: 22276497 DOI: 10.26719/2011.17.11.871

[34] Abo-Shehada MN, Odeh JS, Abu-Essud M, Abuharfeil N. Seroprevalence of Brucellosis among high risk people in Northern Jordan. *Int J Epidemiol*. 1996 Apr;25(2):450-4. PMID: 9119573 DOI: 10.1093/ije/25.2.450

[35] Lulu AR, Araj GF, Khateeb MI, Mustafa MY, Yusuf AR, Fenech FF. Human brucellosis in Kuwait: a prospective study of 400 cases. *Q J Med*. 1988 Jan;66(249):39-54. PMID: 3051080

[36] Khan MY, Mah MW, Memish ZA. Brucellosis in pregnant women. *Clin Infect Dis*. 2001 Apr 15;32(8):1172-7. PMID: 11283806 DOI: 10.1086/319758

[37] Howie SEM, Horner PJ, Horne AW. Chlamydia trachomatis infection during pregnancy: known unknowns. *Discov Med*. 2011 Jul;12(62):57-64. PMID: 21794209

[38] World Health Organisation (WHO). Prevalence and incidence of selected sexually transmitted infections. 2011.

- [39] Brunham RC, Paavonen J, Stevens CE, Kiviat N, Kuo CC, Critchlow CW, Holmes KK. Mucopurulent cervicitis—the ignored counterpart in women of urethritis in men. *N Engl J Med*. 1984 Jul 5;311(1):1-6. PMID: 6427611 DOI: 10.1056/NEJM198407053110101
- [40] Stamm WE, Wagner KF, Amsel R, Alexander ER, Turck M, Counts GW, Holmes KK. Causes of the acute urethral syndrome in women. *N Engl J Med*. 1980 Aug 21;303(8):409-15. PMID: 6993946 DOI: 10.1056/NEJM198008213030801
- [41] Paavonen J, Lehtinen M. Chlamydial pelvic inflammatory disease. *Hum Reprod Update*. Nov-Dec 1996;2(6):519-29. PMID: 9111185 DOI: 10.1093/humupd/2.6.519
- [42] Martin DH, Koutsky L, Eschenbach DA, Daling JR, Alexander ER, Benedetti JK, Holmes KK. Prematurity and perinatal mortality in pregnancies complicated by maternal *Chlamydia trachomatis* infections. *JAMA*. 1982 Mar 19;247(11):1585-8. PMID: 7062461
- [43] Bakken IJ, Skjeldestad FE, Nordbø SA. *Chlamydia trachomatis* infections increase the risk for ectopic pregnancy: a population-based, nested case-control study. *Sex Transm Dis*. 2007 Mar;34(3):166-9. PMID: 16837829 DOI: 10.1097/01.olq.0000230428.06837.f7
- [44] Shaw JL V, Wills GS, Lee KF, Horner PJ, McClure MO, Abrahams VM, Wheelhouse N, Jabbour HN, Critchley HOD, Entrican G et al. . *Chlamydia trachomatis* infection increases fallopian tube PROKR2 via TLR2 and NFκB activation resulting in a microenvironment predisposed to ectopic pregnancy. *Am J Pathol*. 2011 Jan;178(1):253-60. PMID: 21224062 DOI: 10.1016/j.ajpath.2010.11.019
- [45] Brocklehurst P, Rooney G. Interventions for treating genital *chlamydia trachomatis* infection in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000;1998(2):CD000054. PMID: 10796106 DOI: 10.1002/14651858.CD000054
- [46] MedlinePlus. MedlinePlus—*Chlamydia trachomatis* 2014.
- [47] Baud D, Goy G, Jatou K, Osterheld M-C, Blumer S, Borel N, Vial Y, Hohlfeld P, Pospischil A, Greub G. Role of *Chlamydia trachomatis* in miscarriage. *Emerg Infect Dis*. 2011 Sep;17(9):1630-5. PMID: 21888787 DOI: 10.3201/eid1709.100865
- [48] Kortekangas-Savolainen O, Mäkinen J, Koivusalo K, Mattila K. Hospital-diagnosed late sequelae after female *Chlamydia trachomatis* infections in 1990–2006 in Turku, Finland. *Gynecol Obstet Invest*. 2012;73(4):299-303. PMID: 22472364 DOI: 10.1159/000334822

[49] Arsovic A, Nikolov A, Sazdanovic P, Popovic S, Baskic D. Prevalence and diagnostic significance of specific IgA and anti-heat shock protein 60 *Chlamydia trachomatis* antibodies in subfertile women. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014 May;33(5):761-6. PMID: 24413970 DOI: 10.1007/s10096-013-2008-4

[50] Feist A, Sydler T, Gebbers JJ, Pospischil A, Guscetti F. No association of *Chlamydia* with abortion. *J R Soc Med*. 1999 May;92(5):237-8. PMID: 10472259 DOI: 10.1177/014107689909200506

[51] Wilkowska-Trojnieł M, Zdrodowska-Stefanow B, Ostaszewska-Puchalska I, Redzko S, Przepieć J, Zdrodowski M. The influence of *Chlamydia trachomatis* infection on spontaneous abortions. *Adv Med Sci*. 2009;54(1):86-90. PMID: 19403438 DOI: 10.2478/v10039-009-0008-5

[52] Centres for Disease Control and Prevention—CDC. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010. *MMWR Recomm Rep*. 2010 Dec 17;59(RR-12):1-110. PMID: 21160459

[53] Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: from chrysalis to multicolored butterfly. *Clin Microbiol Rev*. 2011 Jul;24(3):498-514. PMID: 21734246 DOI: 10.1128/CMR.00006-11

[54] Napierala Mavedzenge S, Weiss HA. Association of *Mycoplasma genitalium* and HIV infection: a systematic review and meta-analysis. *AIDS*. 2009 Mar 13;23(5):611-20. PMID: 19194271 doi: 10.1097/QAD.0b013e328323da3e.

[55] Centres for Disease Control and Prevention—CDC. *Mycoplasma genitalium* 2012b.

[56] Horner P, Blee K, Adams E. Time to manage *Mycoplasma genitalium* as an STI: but not with azithromycin 1g! *Curr Opin Infect Dis*. 2014 Feb;27(1):68-74. PMID: 24322592 DOI: 10.1097/QCO.0000000000000030

[57] Short VL, Jensen JS, Nelson DB, Murray PJ, Ness RB, Haggerty CL. *Mycoplasma genitalium* among young, urban pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2010;2010:984760. PMID: 20379360 DOI: 10.1155/2010/984760

[58] Maurin M, Raoult D. Q fever. *Clin Microbiol Rev*. 1999 Oct;12(4):518-53. PMID: 10515901 PMID: PMC88923 DOI: 10.1128/CMR.12.4.518



[59] van der Hoek W, Dijkstra F, Schimmer B, Schneeberger PM, Vellema P, Wijkmans C, ter Schegget R, Hackert V, van Duynhoven Y. Q fever in the Netherlands: an update on the epidemiology and control measures. *Euro Surveill*. 2010 Mar 25;15(12):19520. PMID: 20350500

[60] Centres for Disease Control and Prevention—CDC. Q fever 2013.

[61] Anderson A, Bijlmer H, Fournier P-E, Graves S, Hartzell J, Kersh GJ, Limonard G, Marrie TJ, Massung RF, McQuiston JH et al. . Diagnosis and management of Q fever—United States, 2013: recommendations from CDC and the Q Fever Working Group. *MMWR Recomm Rep*. 2013 Mar 29;62(RR-03):1-30. PMID: 23535757

[62] Munster J, Steggerda L, Leenders A, Aarnoudse J, Hak E. Screening for *Coxiella burnetii* infection during pregnancy: pros and cons according to the Wilson and Jungner criteria. *Euro Surveill*. 2012 Jan 19;17(3):20061. PMID: 22297102

[63] Nielsen SY, HjØllund NH, Andersen AMN, Henriksen TB, KantsØ B, Krogfelt KA, MØlbak K. Presence of antibodies against *coxiella burnetii* and risk of spontaneous abortion: a nested case-control study. *PLoS One*. 2012;7(2):e31909. PMID: 22363769 DOI: 10.1371/journal.pone.0031909

[64] Nielsen SY, Andersen A-MN, MØlbak K, HjØllund NH, KantsØ B, Krogfelt KA, Henriksen TB. No excess risk of adverse pregnancy outcomes among women with serological markers of previous infection with *Coxiella burnetii*: evidence from the Danish National Birth Cohort. *BMC Infect Dis*. 2013 Feb 17;13:87. PMID: 23413787 DOI: 10.1186/1471-2334-13-87

[65] Cohen SE, Klausner JD, Engelman J, Philip S. Syphilis in the modern era: an update for physicians. *Infect Dis Clin North Am*. 2013 Dec;27(4):705-22. PMID: 24275265 DOI: 10.1016/j.idc.2013.08.005

[66] Casal C, Araújo EDC, Corvelo TCDO. Risk factors and pregnancy outcomes in women with syphilis diagnosed using a molecular approach. *Sex Transm Infect*. 2013 May;89(3):257-61. PMID: 23038710 DOI: 10.1136/sextrans-2012-050552

[67] Hong F-C, Yang Y-Z, Liu X-L, Feng T-J, Liu J-B, Zhang C-L, Lan L-N, Yao M-Z, Zhou H. Reduction in mother-to-child transmission of syphilis for 10 years in Shenzhen, China. *Sex Transm Dis*. 2014 Mar;41(3):188-93. PMID: 24521725 DOI: 10.1097/OLQ.0000000000000097

[68] Temmerman M, Lopita MI, Sanghvi HCG, Sinei SKF, Plummer FA, Piot P. The role of maternal syphilis, gonorrhoea and HIV-1 infections in spontaneous abortion. *Int J STD AIDS*. Nov-Dec 1992;3(6):418-22. PMID: 1286116 DOI: 10.1177/095646249200300603

[69] Oswal S, Lyons G. Syphilis in pregnancy. *Contin Educ Anaesthesia Crit Care Pain* 2008;8:224–227.

[70] Janier M, Hegyi V, Dupin N, Unemo M, Tiplica G, Potočnik M, French P, Patel R. IUSTI: 2014 European Guideline on the Management of Syphilis Int Union Against Sex Transm Infect 2014;1–29.

[71] Whitley RJ, Roizman B. Herpes simplex virus infections. *Lancet*. 2001 May 12;357(9267):1513-8. doi: 10.1016/S0140-6736(00)04638-9.

[72] Margolis TP, Imai Y, Yang L, Vallas V, Krause PR. Herpes simplex virus type 2 (HSV-2) establishes latent infection in a different population of ganglionic neurons than HSV-1: role of latency-associated transcripts. *J Virol*. 2007 Feb;81(4):1872-8. doi: 10.1128/JVI.02110-06.

[73] Chisholm C, Lopez L. Cutaneous infections caused by Herpesviridae: a review. *Arch Pathol Lab Med*. 2011 Oct;135(10):1357-62. doi: 10.5858/arpa.2010-0156-RS.

[74] Koch S, Solana R, Dela Rosa O, Pawelec G. Human cytomegalovirus infection and T cell immunosenescence: a mini review. *Mech Ageing Dev*. 2006 Jun;127(6):538-43. PMID: 16513159 DOI: 10.1016/j.mad.2006.01.011

[75] Singh A, Preiksaitis J, Ferenczy A, Romanowski B. The laboratory diagnosis of herpes simplex virus infections. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2005 Mar;16(2):92-8. PMID: 18159535 PMCID: PMC2095011 DOI: 10.1155/2005/318294

[76] Kapranos NC, Kotronias DC. Detection of herpes simplex virus in first trimester pregnancy loss using molecular techniques. *In Vivo*. Sep-Oct 2009;23(5):839-42.

[77] Kim ID, Chang HS, Hwang KJ. Herpes simplex virus 2 infection rate and necessity of screening during pregnancy: a clinical and seroepidemiologic study. *Yonsei Med J*. 2012 Mar;53(2):401-7. PMID: 22318830 DOI: 10.3349/ymj.2012.53.2.401

[78] Cutts FT, Franceschi S, Goldie S, Castellsague X, De Sanjose S, Garnett G, Edmunds WJ, Claeys P, Goldenthal KL, Harper DM et al. . Human papillomavirus and HPV vaccines: a review. *Bull World Health Organ*. 2007 Sep;85(9):719-26. PMID: 18026629 DOI: 10.2471/blt.06.038414

[79] Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis.* 2010 Dec 15;202(12):1789-99. PMID: 21067372 DOI: 10.1086/657321

[80] Hariri S, Unger ER, Sternberg M, Dunne EF, Swan D, Patel S, Markowitz LE. Prevalence of genital human papillomavirus among females in the United States, the National Health And Nutrition Examination Survey, 2003–2006. *J Infect Dis.* 2011 Aug 15;204(4):566-73. PMID: 21791659 DOI: 10.1093/infdis/jir341

[81] Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet.* 2013 Sep 7;382(9895):889-99. PMID: 23618600 DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60022-7

[82] Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doorn LJ. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol.* 2005 Mar;32 Suppl 1:S43-51. PMID: 15753011 DOI: 10.1016/j.jcv.2004.12.004

[83] Perino A, Giovannelli L, Schillaci R, Ruvolo G, Fiorentino FP, Alimondi P, Cefal E, Ammatuna P. Human papillomavirus infection in couples undergoing in vitro fertilization procedures: impact on reproductive outcomes. *Fertil Steril.* 2011 Apr;95(5):1845-8. PMID: 21167483 DOI: 10.1016/j.fertnstert.2010.11.047

[84] Skoczyński M, Goździcka-Józefiak A, Kwaśniewska A. Prevalence of human papillomavirus in spontaneously aborted products of conception. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2011 Dec;90(12):1402-5. PMID: 21585342 DOI: 10.1111/j.1600-0412.2011.01189.x

[85] Yang R, Wang Y, Qiao J, Liu P, Geng L, Guo Y. Does human papillomavirus infection do harm to in-vitro fertilization outcomes and subsequent pregnancy outcomes? *Chin Med J (Engl).* 2013 Feb;126(4):683-7. PMID: 23422189

[86] Hermonat PL, Han L, Wendel PJ, Quirk JG, Stern S, Lowery CL, Rechtin TM. Human papillomavirus is more prevalent in first trimester spontaneously aborted products of conception compared to elective specimens. *Virus Genes.* 1997;14(1):13-7. PMID: 9208451 DOI: 10.1023/a:1007975005433

[87] Garolla A, Pizzol D, Foresta C. The role of human papillomavirus on sperm function. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2011 Aug;23(4):232-7. PMID: 21666465 DOI: 10.1097/GCO.0b013e328348a3a4

[88] Gnann JW, McCormick JB, Mitchell S, Nelson JA, Oldstone MB. Synthetic peptide immunoassay distinguishes HIV type 1 and HIV type 2 infections. *Science*. 1987 Sep 11;237(4820):1346-9. PMID: 2888192 DOI: 10.1126/science.2888192

[89] Miedema F, Petit A, Terpstra FG, Schattenkerk JK, de Wolf F, Al BJ, Roos M, Lange J, Danner SA, Goudsmit J et al. . Immunological abnormalities in human immunodeficiency virus (HIV)-infected asymptomatic homosexual men. HIV affects the immune system before CD4+ T helper. *J Clin Invest*. 1988 Dec;82(6):1908-14. PMID: 2974045 DOI: 10.1172/JCI113809

[90] Embretson J, Zupancic M, Ribas J, Burke A, RACZ P, TENNER-RACZ K, HAASE AT. Massive covert infection of helper T lymphocytes and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS. *Nature*. 1993 Mar 25;362(6418):359-62. PMID: 8096068 DOI: 10.1038/362359a0

[91] Orenstein J, Fox C, Wahl S. Macrophages as a source of HIV during opportunistic infections. *Science*. 1997 Jun 20;276(5320):1857-61. PMID: 9188531 DOI: 10.1126/science.276.5320.1857

[92] Gringhuis SI, van der Vlist M, van den Berg LM, den Dunnen J, Litjens M, Geijtenbeek TBH. HIV-1 exploits innate signaling by TLR8 and DC-SIGN for productive infection of dendritic cells. *Nat Immunol*. 2010 May;11(5):419-26. PMID: 20364151 DOI: 10.1038/ni.1858

[93] World Health Organisation (WHO). HIV 2013a. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/index.html> (15 January 2022, date last accessed).

[94] Dybul M, Fauci A, Bartlett J. Guidelines for using antiretroviral agents among HIV-infected adults and adolescent. *Ann Intern Med*. 2002 Sep 3;137(5 Pt 2):381-433. PMID: 12617573 DOI: 10.7326/0003-4819-137-5\_part\_2-200209031-00001

[95] Ezechi OC, Gab-Okafor CV, Oladele DA, Kalejaye OO, Oke BA, Ujah IO. Pregnancy, obstetric and neonatal outcomes in HIV positive Nigerian women. *Int J Gynecol Obstet* 2013;119:S345.

[96] Kim H-Y, Kasonde P, Mwiya M, Thea DM, Kankasa C, Sinkala M, Aldrovandi G, Kuhn L. Pregnancy loss and role of infant HIV status on perinatal mortality among HIV-infected women. *BMC Pediatr*. 2012 Aug 31;12:138. PMID: 22937874 DOI: 10.1186/1471-2431-12-138

[97] Gibb DM, Kizito H, Russell EC, Chidziva E, Zalwango E, Nalumenya R, Spyer M, Tumukunde D, Nathoo K, Munderi P et al. . Pregnancy and infant outcomes among HIV-infected women taking long-term art with and without tenofovir in the DART trial. *PLoS Med.* 2012;9(5):e1001217. PMID: 22615543 DOI: 10.1371/journal.pmed.1001217

[98] Darak S, Janssen F, Hutter I. Fertility among HIV-infected Indian women: the biological effect and its implications. *J Biosoc Sci.* 2011 Jan;43(1):19-29. PMID: 20937166 DOI: 10.1017/S0021932010000568

[99] Gingelmaier A, Wiedenmann K, Sovric M, Mueller M, Kupka MS, Sonnenberg-Schwan U, Mylonas I, Friese K, Weizsaecker K. Consultations of HIV-infected women who wish to become pregnant. *Arch Gynecol Obstet.* 2011 Apr;283(4):893-8. PMID: 21165745 DOI: 10.1007/s00404-010-1794-5

[100] De Beaudrap P, Turyakira E, White LJ, Nabasumba C, Tumwebaze B, Muehlenbachs A, Guérin PJ, Boum Y, McGready R, Piola P. Impact of malaria during pregnancy on pregnancy outcomes in a Ugandan prospective cohort with intensive malaria screening and prompt treatment. *Malar J.* 2013 Apr 24;12:139. PMID: 23617626 DOI: 10.1186/1475-2875-12-139

[101] Zolopa A, Andersen J, Powderly W, Sanchez A, Sanne I, Suckow C, Hogg E, Komarow L. Early antiretroviral therapy reduces AIDS progression/death in individuals with acute opportunistic infections: a multicenter randomized strategy trial. *PLoS One.* 2009;4(5):e5575. PMID: 19440326 DOI: 10.1371/journal.pone.0005575

[102] Friedman RK, Bastos FI, Leite IC, Veloso VG, Moreira RI, Cardoso SW, Vasconcelos de Andrade ÂC, Sampaio MC, Currier J, Grinsztejn B. Pregnancy rates and predictors in women with HIV/AIDS in Rio de Janeiro, Southeastern Brazil. *Rev Saude Publica.* 2011 Apr;45(2):373-81. PMID: 21412574 DOI: 10.1590/s0034-89102011000200016

[103] Ledru S, Méda N, Ledru E, Bazie AJ, Chiron JP. HIV-1 infection associated with abnormal vaginal flora morphology and bacterial vaginosis. *Lancet.* 1997 Oct 25;350(9086):1251-2. PMID: 9652590 DOI: 10.1016/s0140-6736(05)63486-1

[104] Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis.* 2003 Oct;3(10):611-23. PMID: 14522260 DOI: 10.1016/s1473-3099(03)00770-9

[105] Masutani K. Current problems in screening, diagnosis and treatment of polyomavirus BK nephropathy. *Nephrology (Carlton).* 2014 Jun;19 Suppl 3:11-6. PMID: 24842815 DOI: 10.1111/nep.12254

- [106] Cajaiba MM, Parks WT, Fuhrer K, Randhawa PS. Evaluation of human polyomavirus BK as a potential cause of villitis of unknown etiology and spontaneous abortion. *J Med Virol*. 2011 Jun;83(6):1031-3. PMID: 21503916 DOI: 10.1002/jmv.22082
- [107] Boldorini R, Allegrini S, Miglio U, Nestasio I, Paganotti A, Veggiani C, Monga G, Pietropaolo V. BK virus sequences in specimens from aborted fetuses. *J Med Virol*. 2010 Dec;82(12):2127-32. PMID: 20981804 DOI: 10.1002/jmv.21923
- [108] Centres for Disease Control and Prevention—CDC. Dengue fever 2012.
- [109] Tan PC, Soe MZ, Lay K, Wang SM, de Sekaran S, Omar SZ. Dengue infection and miscarriage: a prospective case control study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(5):e1637. PMID: 22590658 DOI: 10.1371/journal.pntd.0001637
- [110] Banatvala JE, Brown DWG. Rubella. *Lancet*. 2004 Apr 3;363(9415):1127-37. PMID: 15064032 DOI: 10.1016/S0140-6736(04)15897-2
- [111] Reef SE, Strebel P, Dabbagh A, Gacic-Dobo M, Cochi S. Progress toward control of rubella and prevention of congenital rubella syndrome—worldwide, 2009. *J Infect Dis*. 2011 Jul;204 Suppl 1:S24-7. PMID: 21666168 DOI: 10.1093/infdis/jir155
- [112] Metcalf CJE, Munayco CV, Chowell G, Grenfell BT, Bjørnstad ON. Rubella metapopulation dynamics and importance of spatial coupling to the risk of congenital rubella syndrome in Peru. *J R Soc Interface*. 2011 Mar 6;8(56):369-76. PMID: 20659931 DOI: 10.1098/rsif.2010.0320
- [113] Muscat M, Shefer A, Ben Mamou M, Spataru R, Jankovic D, Deshevoy S, Butler R, Pfeifer D. The state of measles and rubella in the WHO European Region, 2013. *Clin Microbiol Infect*. 2014 May;20 Suppl 5:12-8. PMID: 24520948 DOI: 10.1111/1469-0691.12584
- [114] Bloom-Feshbach K, Simonsen L, Viboud C, Mølbak K, Miller MA, Gottfredsson M, Andreasen V. Natality decline and miscarriages associated with the 1918 influenza pandemic: the Scandinavian and United States experiences. *J Infect Dis*. 2011 Oct 15;204(8):1157-64. PMID: 21917887 DOI: 10.1093/infdis/jir510
- [115] Oluyomi-Obi T, Avery L, Schneider C, Kumar A, Lapinsky S, Menticoglou S, Zarychanski R. Perinatal and maternal outcomes in critically ill obstetrics patients with pandemic H1N1 Influenza A. *J Obstet Gynaecol Can*. 2010 May;32(5):443-447. PMID: 20500952 DOI: 10.1016/S1701-2163(16)34497-8

- [116] World Health Organisation (WHO). World Malaria Report 2013. 2013b
- [117] Kar S, Kar S. Control of malaria. *Nat Rev Drug Discov*. 2010 Jul;9(7):511-2. PMID: 20592740 DOI: 10.1038/nrd3207
- [118] Dellicour S, Tatem AJ, Guerra CA, Snow RW, Ter Kuile FO. Quantifying the number of pregnancies at risk of malaria in 2007: a demographic study. *PLoS Med*. 2010 Jan 26;7(1):e1000221. PMID: 20126256 DOI: 10.1371/journal.pmed.1000221
- [119] Agbor-Enoh ST, Achur RN, Valiyaveetil M, Leke R, Taylor DW, Gowda DC. Chondroitin sulfate proteoglycan expression and binding of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes in the human placenta during pregnancy. *Infect Immun*. 2003 May;71(5):2455-61. PMID: 12704116 DOI: 10.1128/IAI.71.5.2455-2461.2003
- [120] Fried M, Nosten F, Brockman A, Brabin BJ, Duffy PE. Maternal antibodies block malaria. *Nature*. 1998 Oct 29;395(6705):851-2. PMID: 9804416 DOI: 10.1038/27570
- [121] McGready R, Lee SJ, Wiladphaingern J, Ashley EA, Rijken MJ, Boel M, Simpson JA, Paw MK, Pimanpanarak M, Mu O et al. . Adverse effects of *falciparum* and *vivax* malaria and the safety of antimalarial treatment in early pregnancy: a population-based study. *Lancet Infect Dis*. 2012 May;12(5):388-96. PMID: 22169409 DOI: 10.1016/S1473-3099(11)70339-5
- [122] Food Standards Agency. Risk profile in relation to toxoplasma in the food chain 2012.
- [123] Klaren VNA, Kijlstra A. Toxoplasmosis, an overview with emphasis on ocular involvement. *Ocul Immunol Inflamm*. 2002 Mar;10(1):1-26. PMID: 12461700 DOI: 10.1076/ocii.10.1.1.10330
- [124] Flatt A, Shetty N. Seroprevalence and risk factors for toxoplasmosis among antenatal women in London: a re-examination of risk in an ethnically diverse population. *Eur J Public Health*. 2013 Aug;23(4):648-52. PMID: 22696530 DOI: 10.1093/eurpub/cks075
- [125] Jones JL, Lopez A, Wilson M, Schulkin J, Gibbs R. Congenital toxoplasmosis: a review. *Obstet Gynecol Surv*. 2001 May;56(5):296-305. PMID: 11333376 DOI: 10.1097/00006254-200105000-00025
- [126] Alvarado-Esquivel C, Pacheco-Vega SJ, Hernández-Tinoco J, Centeno-Tinoco MM, Beristain-García I, Sánchez-Anguiano LF, Liesenfeld O, Rábago-Sánchez E, Berumen-Segovia LO. Miscarriage history and *Toxoplasma gondii* infection: a cross-sectional study in

women in Durango City, Mexico. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*. 2014 Jun;4(2):117-22. PMID: 24883197 DOI: 10.1556/EuJMI.4.2014.2.4

[127] Halsby K, Guy E, Said B, Francis J, O'Connor C, Kirkbride H, Morgan D. Enhanced surveillance for toxoplasmosis in England and Wales, 2008–2012. *Epidemiol Infect*. 2014 Aug;142(8):1653-60. PMID: 24093517 DOI: 10.1017/S095026881300246X

[128] Vado-Solis IA, Suarez-Solis VM, Jimenez-Delgadillo B, Zavala-Velazquez JE, Segura JC. *Toxoplasma gondii* presence in women with spontaneous abortion in Yucatan, Mexico. *J Parasitol*. 2013 Apr;99(2):383-5. PMID: 22924922 DOI: 10.1645/GE-3189.1

[129] Galvan-Ramirez MDLL, Troyo R, Roman S, Calvillo-Sanchez C, Bernal-Redondo R. A systematic review and meta-analysis of *Toxoplasma gondii* infection among the Mexican population. *Parasit Vectors*. 2012 Nov 26;5:271. PMID: 23181616 DOI: 10.1186/1756-3305-5-271

[130] Rashid NA, Lalitkumar S, Lalitkumar PG, Gemzell-Danielsson K. Endometrial receptivity and human embryo implantation. *Am J Reprod Immunol*. 2011 Jul;66 Suppl 1:23-30. PMID: 21726335 DOI: 10.1111/j.1600-0897.2011.01048.x

[131] Merviel P, Challier JC, Carbillon L, Foidart JM, Uzan S. The role of integrins in human embryo implantation. *Fetal Diagn Ther*. Nov-Dec 2001;16(6):364-71. PMID: 11694740 DOI: 10.1159/000053942

[132] Dimitriadis E, White CA, Jones RL, Salamonsen LA. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. *Hum Reprod Update*. Nov-Dec 2005;11(6):613-30. PMID: 16006437 DOI: 10.1093/humupd/dmi023

[133] Tranguch S, Daikoku T, Guo Y, Wang H, Dey SK. Molecular complexity in establishing uterine receptivity and implantation. *Cell Mol Life Sci*. 2005 Sep;62(17):1964-73. PMID: 16143898 DOI: 10.1007/s00018-005-5230-0

[134] Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update*. Nov-Dec 2006;12(6):731-46. PMID: 16982667 DOI: 10.1093/humupd/dml004

[135] Chen Q, Zhang Y, Lu J, Wang Q, Wang S, Cao Y, Wang H, Duan E. Embryo–uterine cross-talk during implantation: the role of Wnt signaling. *Mol Hum Reprod*. 2009 Apr;15(4):215-21. PMID: 19223336 DOI: 10.1093/molehr/gap009



[136] Pijnenborg R, Dixon G, Robertson WB, Brosens I. Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks of pregnancy. *Placenta*. Jan-Mar 1980;1(1):3-19. PMID: 7443635 DOI: 10.1016/s0143-4004(80)80012-9

[137] Pijnenborg R, Bland JM, Robertson WB, Dixon G, Brosens I. The pattern of interstitial trophoblastic invasion of the myometrium in early human pregnancy. *Placenta*. Oct-Dec 1981;2(4):303-16. PMID: 7301778 DOI: 10.1016/s0143-4004(81)80027-6

[138] Lyall F. Priming and remodelling of human placental bed spiral arteries during pregnancy—a review. *Placenta*. 2005 Apr;26 Suppl A:S31-6. PMID: 15837064 DOI: 10.1016/j.placenta.2005.02.010

[139] Entrican G. Immune regulation during pregnancy and host-pathogen interactions in infectious abortion. *J Comp Pathol*. Feb-Apr 2002;126(2-3):79-94. PMID: 11944996 DOI: 10.1053/jcpa.2001.0539

[140] Chaouat G, Ledée-Bataille N, Dubanchet S, Zourbas S, Sandra O, Martal J. Th1/Th2 paradigm in pregnancy: paradigm lost? Cytokines in pregnancy/early abortion: reexamining the Th1/Th2 paradigm. *Int Arch Allergy Immunol*. 2004 Jun;134(2):93-119. PMID: 15153791 DOI: 10.1159/000074300

[141] Guleria I, Pollard JW. The trophoblast is a component of the innate immune system during pregnancy. *Nat Med*. 2000 May;6(5):589-93. PMID: 10802718 DOI: 10.1038/75074

[142] Moffett-King A. Natural killer cells and pregnancy. *Nat Rev Immunol*. 2002 Sep;2(9):656-63. PMID: 12209134 DOI: 10.1038/nri886

[143] Gardner L, Moffett A. Dendritic cells in the human decidua. *Biol Reprod*. 2003 Oct;69(4):1438-46. PMID: 12826583 DOI: 10.1095/biolreprod.103.017574

[144] Altman DJ, Schneider SL, Thompson DA, Cheng HL, Tomasi TB. A transforming growth factor beta 2 (TGF-beta 2)-like immunosuppressive factor in amniotic fluid and localization of TGF-beta 2 mRNA in the pregnant uterus. *J Exp Med*. 1990 Nov 1;172(5):1391-401. PMID: 1700055 DOI: 10.1084/jem.172.5.1391

[145] Thaxton JE, Sharma S. Interleukin-10: a multi-faceted agent of pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2010 Jun;63(6):482-91. PMID: 20163400 DOI: 10.1111/j.1600-0897.2010.00810.x

[146] Jerzak M, Bischof P. Apoptosis in the first trimester human placenta: the role in maintaining immune privilege at the maternal-foetal interface and in the trophoblast

remodelling. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2002 Jan 10;100(2):138-42. PMID: 11750952  
DOI: 10.1016/s0301-2115(01)00431-6

[147] Joswig A, Gabriel H-D, Kibschull M, Winterhager E. Apoptosis in uterine epithelium and decidua in response to implantation: evidence for two different pathways. *Reprod Biol Endocrinol.* 2003 May 26;1:44. PMID: 12801416 DOI: 10.1186/1477-7827-1-44

[148] Michel MZ, Khong TY, Clark DA, Beard RW. A morphological and immunological study of human placental bed biopsies in miscarriage. *Br J Obstet Gynaecol.* 1990 Nov;97(11):984-8. PMID: 2252877 DOI: 10.1111/j.1471-0528.1990.tb02468.x

[149] Ball E, Bulmer JN, Ayis S, Lyall F, Robson SC. Late sporadic miscarriage is associated with abnormalities in spiral artery transformation and trophoblast invasion. *J Pathol.* 2006 Mar;208(4):535-42. PMID: 16402350 DOI: 10.1002/path.1927

[150] Grimstad F, Krieg S. Immunogenetic contributions to recurrent pregnancy loss. *J Assist Reprod Genet.* 2016 Jul;33(7):833-47. PMID: 27169601 DOI: 10.1007/s10815-016-0720-6

[151] Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmun Rev.* Apr-May 2014;13(4-5):391-7. PMID: 24434360 DOI: 10.1016/j.autrev.2014.01.007

[152] Weetman AP. Immunity, thyroid function and pregnancy: molecular mechanisms. *Nat Rev Endocrinol.* 2010 Jun;6(6):311-8. PMID: 20421883 DOI: 10.1038/nrendo.2010.46

[153] Weetman AP. Autoimmune thyroid disease. *Endocrine.* 2020 May;68(2):258-260. PMID: 32052368 DOI: 10.1007/s12020-020-02188-6

[154] De Carolis C, Greco E, Guarino MD, Perricone C, Dal Lago A, Giacomelli R, Fontana L, Perricone R. Anti-thyroid antibodies and antiphospholipid syndrome: evidence of reduced fecundity and of poor pregnancy outcome in recurrent spontaneous aborters. *Am J Reprod Immunol.* 2004 Oct;52(4):263-6. PMID: 15494047 DOI: 10.1111/j.1600-0897.2004.00215.x

[155] Stagnaro-Green A, Glinoe D. Thyroid autoimmunity and the risk of miscarriage. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2004 Jun;18(2):167-81. PMID: 15157834 DOI: 10.1016/j.beem.2004.03.007

[156] Arachchilage DRJ, Laffan M. Pathogenesis and management of antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol.* 2017 Jul;178(2):181-195. PMID: 28339096 DOI: 10.1111/bjh.14632

[157] Lazarus JH, Premawardhana LDKE. Screening for thyroid disease in pregnancy. *J Clin Pathol.* 2005 May;58(5):449-52. PMID: 15858112 DOI: 10.1136/jcp.2004.021881

[158] Poppe K, Velkeniers B, Glinooer D. Thyroid disease and female reproduction. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007 Mar;66(3):309-21. PMID: 17302862 DOI: 10.1111/j.1365-2265.2007.02752.x

[159] Prummel MF, Wiersinga WM. Thyroid autoimmunity and miscarriage. *Eur J Endocrinol.* 2004 Jun;150(6):751-5. PMID: 15191343 DOI: 10.1530/eje.0.1500751

[160] Toth B, Jeschke U, Rogenhofer N, Scholz C, Würfel W, Thaler CJ, Makrigiannakis A. Recurrent miscarriage: current concepts in diagnosis and treatment. *J Reprod Immunol.* 2010 May;85(1):25-32. PMID: 20185181 DOI: 10.1016/j.jri.2009.12.006

[161] Makhseed M, Raghupathy R, Azizieh F, Omu A, Al-Shamali E, Ashkanani L. Th1 and Th2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions. *Hum Reprod.* 2001 Oct;16(10):2219-26. PMID: 11574519 DOI: 10.1093/humrep/16.10.2219

[162] Beaman KD, Ntrivalas E, Mallers TM, Jaiswal MK, Kwak-Kim J, Gilman-Sachs A. Immune etiology of recurrent pregnancy loss and its diagnosis. *Am J Reprod Immunol.* 2012 Apr;67(4):319-25. PMID: 22380608 DOI: 10.1111/j.1600-0897.2012.01118.x

[163] Erkan D, Lockshin MD. Antiphospholipid Syndrome: Current Research Highlights and Clinical Insights. Springer, 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-55442-6

[164] Conley CL, Hartman RC. A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J Clin Invest.* 1952; 31: 621-622

[165] Garcia D, Erkan D. Diagnosis and Management of the Antiphospholipid Syndrome. *N Engl J Med.* 2018 May 24;378(21):2010-2021. PMID: 29791828 DOI: 10.1056/NEJMra1705454

[166] Cervera R, Bucciarelli S, Plasín MA, Gómez-Puerta JA, Plaza J et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome (CAPS): descriptive analysis of a series of 280 patients from the "CAPS Registry". *J Autoimmun.* May-Jun 2009;32(3-4):240-5. PMID: 19324520 DOI: 10.1016/j.jaut.2009.02.008

[167] Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006 Feb;4(2):295-306. PMID: 16420554 DOI: 10.1111/j.1538-7836.2006.01753.x

[168] Ugolini-Lopes MR, Criado PR, Parsi K, et al. Treatment of non-criteria manifestations in antiphospholipid syndrome. Springer; 2017. p. 247e66.

[169] Bertolaccini ML, Amengual O, Artim-Eser B, et al. Clinical and prognostic significance of non-criteria antiphospholipid antibody tests. Springer; 2017. p. 171e87.

[170] Unlu O, Domingues V, de Jesús GR, et al. Definition and epidemiology of antiphospholipid syndrome. Springer; 2017. p. 147e69.

[171] Andreoli L, Chighizola CB, Banzato A, Pons-Estel JG, Ramire de Jesus G, Erkan D. Estimated frequency of antiphospholipid antibodies in patients with pregnancy morbidity, stroke, myocardial infarction, and deep vein thrombosis: a critical review of the literature. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013 Nov;65(11):1869-73. PMID: 23861221 DOI: 10.1002/acr.22066

[172] Sciascia S, Sanna G, Khamashta MA, et al. The estimated frequency of antiphospholipid antibodies in young adults with cerebrovascular events: a systematic review. *Ann Rheum Dis.* 2015 Nov;74(11):2028-33. PMID: 24942381 DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-205663

[173] Tektonidou MG, Andreoli L, Limper M, et al. EULAR recommendations for the management of antiphospholipid syndrome in adults. *Ann Rheum Dis.* 2019 Oct;78(10):1296-1304. PMID: 31092409 DOI: 10.1136/annrheumdis-2019-215213.

[174] Martinez-Berriotxo A, Ruiz-Irastorza G, Egurbide MV, et al. Transiently positive anticardiolipin antibodies and risk of thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2007;16(10):810-6. PMID: 17895304 DOI: 10.1177/0961203307083316

[175] Tektonidou MG, Laskari K, Panagiotakos DB, et al. Risk factors for thrombosis and primary thrombosis prevention in patients with systemic lupus erythematosus with or without antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum.* 2009 Jan 15;61(1):29-36. PMID: 19116963 DOI: 10.1002/art.24232

[176] Erkan D, Yazici Y, Peterson MG, et al. A cross-sectional study of clinical thrombotic risk factors and preventive treatments in antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 2002 Aug;41(8):924-9. PMID: 12154210 DOI: 10.1093/rheumatology/41.8.924

[177] Erkan D, Harrison MJ, Levy R, et al. Aspirin for primary thrombosis prevention in the antiphospholipid syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in asymptomatic antiphospholipid antibody-positive individuals. *Arthritis Rheum*. 2007 Jul;56(7):2382-91. PMID: 17599766 DOI: 10.1002/art.22663

[178] Danowski A, De Azevedo MN, Petri M. Determinants of risk for venous and arterial thrombosis in primary antiphospholipid syndrome and in antiphospholipid syndrome with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2009 Jun;36(6):1195-9. PMID: 19447935 DOI: 10.3899/jrheum.081194

[179] Giron-Gonzalez JA, del Río EG, Rodríguez C, et al. Antiphospholipid syndrome and asymptomatic carriers of antiphospholipid antibody: prospective analysis of 404 individuals. *J Rheumatol*. 2004 Aug;31(8):1560-7. PMID: 15290736

[180] Kaul M, Erkan D, Sammaritano L, Lockshin MD. Assessment of the 2006 revised antiphospholipid syndrome classification criteria. *Ann Rheum Dis*. 2007 Jul;66(7):927-30. PMID: 17337473 DOI: 10.1136/ard.2006.067314

[181] Lim W, Crowther MA, Eikelboom JW. Management of antiphospholipid antibody syndrome: a systematic review. *JAMA*. 2006 Mar 1;295(9):1050-7. PMID: 16507806 DOI: 10.1001/jama.295.9.1050

[182] Reynaud Q, Lega JC, Mismetti P, et al. Risk of venous and arterial thrombosis according to type of antiphospholipid antibodies in adults without systemic lupus erythematosus: a systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev*. 2014 Jun;13(6):595-608. PMID: 24418303 DOI: 10.1016/j.autrev.2013.11.004

[183] Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, et al. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood*. 2011 Oct 27;118(17):4714-8. PMID: 21765019 DOI: 10.1182/blood-2011-03-340232

[184] Sciascia S, Sanna G, Murru V, et al. GAPSS: the Global Anti-Phospholipid Syndrome Score. *Rheumatology (Oxford)*. 2013 Aug;52(8):1397-403. PMID: 23315788 DOI: 10.1093/rheumatology/kes388

[185] Zuily S, De Laat B, Mohamed S, et al. Validity of the global anti-phospholipid syndrome score to predict thrombosis: a prospective multicentre cohort study. *Rheumatology (Oxford)*. 2015 Nov;54(11):2071-5. PMID: 26163690 DOI: 10.1093/rheumatology/kev238

[186] Lockshin MD, Kim M, Laskin CA, et al. Prediction of adverse pregnancy outcome by the presence of lupus anticoagulant, but not anticardiolipin antibody, in patients with antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum*. 2012 Jul;64(7):2311-8. PMID: 22275304 DOI: 10.1002/art.34402

[187] Ruffatti A, Tonello M, Visentin MS, et al. Risk factors for pregnancy failure in patients with anti-phospholipid syndrome treated with conventional therapies: a multicentre, case-control study. *Rheumatology (Oxford)*. 2011 Sep;50(9):1684-9. PMID: 21652586 DOI: 10.1093/rheumatology/ker139

[188] Gris JC, Perneger TV, Quere I, et al. Antiphospholipid/antiprotein antibodies, hemostasis-related autoantibodies, and plasma homocysteine as risk factors for a first early pregnancy loss: a matched case-control study. *Blood*. 2003 Nov 15;102(10):3504-13. PMID: 12869511 DOI: 10.1182/blood-2003-01-0320

[189] Manuck T, Branch DW, Lai Y, et al. Antiphospholipid antibodies and pregnancy outcomes in women heterozygous for factor V Leiden. *J Reprod Immunol*. 2010 Jun;85(2):180-5. PMID: 20439118 DOI: 10.1016/j.jri.2010.03.007

[190] De Carolis S, Botta A, Garofalo S, et al. Uterine artery velocity waveforms as predictors of pregnancy outcome in patients with antiphospholipid syndrome: a review. *Ann N Y Acad Sci*. 2007 Jun;1108:530-9. PMID: 17894018 DOI: 10.1196/annals.1422.056

[191] Alijotas-Reig J, Vilardell-Tarres M. Is obstetric antiphospholipid syndrome a primary nonthrombotic, proinflammatory, complement-mediated disorder related to antiphospholipid antibodies? *Obstet Gynecol Surv*. 2010 Jan;65(1):39-45. PMID: 20040128 DOI: 10.1097/OGX.0b013e3181c97809

[192] Kim MY, Guerra MM, Kaplowitz E, et al. Complement activation predicts adverse pregnancy outcome in patients with systemic lupus erythematosus and/or antiphospholipid antibodies. *Ann Rheum Dis*. 2018 Apr;77(4):549-555. PMID: 29371202 DOI: 10.1136/annrheumdis-2017-212224

[193] Arnaud L, Mathian A, Ruffatti A, et al. Efficacy of aspirin for the primary prevention of thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies: an international and collaborative

meta-analysis. *Autoimmun Rev.* 2014 Mar;13(3):281-91. PMID: 24189281 DOI: 10.1016/j.autrev.2013.10.014

[194] Baigent C, Blackwell L, Collins R, et al. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. PMID: 19482214 PMCID: PMC2715005 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60503-1.

[195] Erkan D, Unlu O, Sciascia S, Belmont HM, Ware Branch D, Cuadrado MJ et al. Hydroxychloroquine in the primary thrombosis prophylaxis of antiphospholipid antibody positive patients without systemic autoimmune disease. *Lupus.* 2018 Mar;27(3):399-406. PMID: 28764618 DOI: 10.1177/0961203317724219

[196] Rosove MH, Brewer PM. Antiphospholipid thrombosis: clinical course after the first thrombotic event in 70 patients. *Ann Intern Med.* 1992 Aug 15;117(4):303-8. PMID: 1637025 DOI: 10.7326/0003-4819-117-4-303

[197] Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F, et al. The management of thrombosis in the antiphospholipid-antibody syndrome. *N Engl J Med.* 1995 Apr 13;332(15):993-7. PMID: 7885428 DOI: 10.1056/NEJM199504133321504

[198] Crowther MA, Ginsberg JS, Julian J, et al. A comparison of two intensities of warfarin for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid antibody syndrome. *N Engl J Med.* 2003 Sep 18;349(12):1133-8. PMID: 13679527 DOI: 10.1056/NEJMoa035241

[199] Finazzi G, Marchioli R, Brancaccio V, et al. A randomized clinical trial of high-intensity warfarin vs. conventional antithrombotic therapy for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid syndrome (WAPS). *J Thromb Haemost.* 2005 May;3(5):848-53. PMID: 15869575 DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01340.x

[200] Crowther M, Legault KJ, Garcia DA et al. Prevention and treatment of thrombotic antiphospholipid syndrome. In: Erkan D, Lockshin MD, editors. *Antiphospholipid syndrome: current research highlights and clinical insights.* Springer; 2017. p. 223-233.

[201] Levine SR, Brey RL, Tilley BC, Thompson JLP, Sacco RL et al. Antiphospholipid antibodies and subsequent thrombo-occlusive events in patients with ischemic stroke. *JAMA.* 2004 Feb 4;291(5):576-84. PMID: 14762036 DOI: 10.1001/jama.291.5.576

[202] Jackson WG, Oromendia C, Unlu O, et al. Recurrent thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies and arterial thrombosis on antithrombotic therapy. *Blood Adv.* 2017 Nov 16;1(25):2320-2324. PMID: 29296881 DOI: 10.1182/bloodadvances.2017008185

[203] Ohnishi N, Fujieda Y, Hisada R, et al. Efficacy of dual antiplatelet therapy for preventing recurrence of arterial thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 2019 Jun 1;58(6):969-974. PMID: 30508199 DOI: 10.1093/rheumatology/key340

[204] Bazzan M, Vaccarino A, Stella S, et al. Patients with antiphospholipid syndrome and thrombotic recurrences: A real world observation (the Piedmont cohort study). *Lupus*. 2016 Apr;25(5):479-85. PMID: 26657216 DOI: 10.1177/0961203315617538

[205] Gordts S. The ESHRE-ESGE consensus on the classification of female genital tract congenital anomalies. *Gynecological Surgery* 2013;10(3):163-163

[206] Kupesic S, Kurjak A, Skenderovic S, Bjelos D. Screening for uterine abnormalities by three-dimensional ultrasound improves perinatal outcome. *J Perinat Med*. 2002;30(1):9-17. doi: 10.1515/JPM.2002.002. PMID: 11933661

[207] Jaslow CR, Kutteh WH. Effect of prior birth and miscarriage frequency on the prevalence of acquired and congenital uterine anomalies in women with recurrent miscarriage: a cross-sectional study. *Fertil Steril*. 2013 Jun;99(7):1916-1922.e.1

[208] Kazerooni T, Ghaffarpasand F, Asadi N, Dehkoda Z et al. Correlation between thrombophilia and recurrent pregnancy loss in patients with polycystic ovary syndrome: a comparative study. *J Chin Med Assoc*. 2013 May;76(5):282-8. PMID: 23683262 DOI: 10.1016/j.jcma.2013.01.009

[209] Khalife D, Kutteh W, Tarhini H et al. Parental Attitudes Toward Fertility Preservation in Female Adolescent Cancer Patients in Lebanon. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2019 Oct;32(5):525-529. PMID: 31108172 DOI: 10.1016/j.jpag.2019.05.006

[210] Nieuwenhuijsen MJ, Dadvand P, Grellier J, Martinez D, Vrijheid M. Environmental risk factors of pregnancy outcomes: a summary of recent meta-analyses of epidemiological studies. *Environ Health*. 2013 Jan 15;12:6. PMID: 23320899 PMCID: PMC3582445 DOI: 10.1186/1476-069X-12-6

[211] Stillerman KP, Mattison DR, Giudice LC, Woodruff TJ. Environmental exposures and adverse pregnancy outcomes: a review of the science. *Reprod Sci*. 2008 Sep;15(7):631-50. PMID: 18836129 DOI: 10.1177/1933719108322436



[212] Lindbohm ML, Hietanen M. Magnetic fields of video display terminals and pregnancy outcome. *J Occup Environ Med.* 1995 Aug;37(8):952-6. PMID: 8520959 DOI: 10.1097/00043764-199508000-00011

[213] Juutilainen J, Matilainen P, Saarikoski S, Läärä E, Suonio S. Early pregnancy loss and exposure to 50-Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics.* 1993;14(3):229-36. PMID: 8323573 DOI: 10.1002/bem.2250140306

[214] Hyland A, Piazza KM, Hovey KM, Ockene JK, Andrews CA, Rivard C, et al. Associations of lifetime active and passive smoking with spontaneous abortion, stillbirth and tubal ectopic pregnancy: a cross-sectional analysis of historical data from the Women's Health Initiative. *Tob Control.* 2015 Jul;24(4):328-35. PMID: 24572626 DOI: 10.1136/tobaccocontrol-2013-051458

[215] Pineles BL, Park E, Samet JM. Systematic review and meta-analysis of miscarriage and maternal exposure to tobacco smoke during pregnancy. *Am J Epidemiol.* 2014 Apr 1;179(7):807-23. PMID: 24518810 PMCID: PMC3969532 DOI: 10.1093/aje/kwt334

[216] García-Enguádanos A, Calle ME, Valero J, Luna S, Domínguez-Rojas V. Risk factors in miscarriage: a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2002 May 10;102(2):111-9. PMID: 11950476 DOI: 10.1016/s0301-2115(01)00613-3

[217] Wilcox AJ, Weinberg CR, O'connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, et al. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med.* 1988 Jul 28;319(4):189-94. PMID: 3393170 DOI: 10.1056/NEJM198807283190401

[218] Eskenazi B, Gold EB, Lasley BL, Samuels SJ, Hammond SK, Wight S, et al. Prospective monitoring of early fetal loss and clinical spontaneous abortion among female semiconductor workers. *Am J Ind Med.* 1995 Dec;28(6):833-46. PMID: 8588567 DOI: 10.1002/ajim.4700280615

[219] Dastoorpoor M, Idani E, Goudarzi G, Khanjani N. Acute effects of air pollution on spontaneous abortion, premature delivery, and stillbirth in Ahvaz, Iran: a time-series study. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018 Feb;25(6):5447-5458. PMID: 29214476 DOI: 10.1007/s11356-017-0692-9

[220] Moridi M, Ziaei S, Kazemnejad A. Exposure to ambient air pollutants and spontaneous abortion. *J Obstet Gynaecol Res.* 2014 Mar;40(3):743-8. PMID: 24738119 DOI: 10.1111/jog.12231

[221] Ha S, Sundaram R, Louis GM, Nobles C, Seeni I, Sherman S, et al. Ambient air pollution and the risk of pregnancy loss: a prospective cohort study. *Fertil Steril*. 2018 Jan;109(1):148-153. PMID: 29153729 PMCID: PMC5758402 DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.09.037

[222] Sergerie M, Martinet S, Kiffer N, et al. Impact of reverse transcriptase inhibitors on sperm mitochondrial and genomic DNA in assisted reproduction techniques. *Gynecol Obstet Fertil*. 2004 Oct;32(10):841-9. PMID: 15501159 DOI: 10.1016/j.gyobfe.2004.08.014

[223] Faiz AS, Rhoads GG, Demissie K, Kruse L, Lin Y, Rich DQ. Ambient air pollution and the risk of stillbirth. *Am J Epidemiol*. 2012 Aug 15;176(4):308-16. PMID: 22811493 PMCID: PMC3491970 DOI: 10.1093/aje/kws029

[224] Yang S, Tan Y, Mei H, Wang F, Li N, Zhao J, et al. Ambient air pollution the risk of stillbirth: A prospective birth cohort study in Wuhan, China. *Int J Hyg Environ Health*. 2018 Apr;221(3):502-509. PMID: 29422441 DOI: 10.1016/j.ijheh.2018.01.014

[225] Di Ciaula A, Bilancia M. Relationships between mild PM10 and ozone urban air levels and spontaneous abortion: clues for primary prevention. *Int J Environ Health Res*. 2015;25(6):640-55. PMID: 25609560 DOI: 10.1080/09603123.2014.1003041

[226] Hou HY, Wang D, Zou XP, Yang ZH, Li TC, Chen YQ. Does ambient air pollutants increase the risk of fetal loss? A case-control study. *Arch Gynecol Obstet*. 2014 Feb;289(2):285-91. PMID: 23864201 DOI: 10.1007/s00404-013-2962-1

[227] Green RS, Malig B, Windham GC, Fenster L, Ostro B, Swan S. Residential exposure to traffic and spontaneous abortion. *Environ Health Perspect*. 2009 Dec;117(12):1939-44. PMID: 20049215 PMCID: PMC2799470 DOI: 10.1289/ehp.0900943

[228] Green R, Sarovar V, Malig B, Basu R. Association of stillbirth with ambient air pollution in a California cohort study. *Am J Epidemiol*. 2015 Jun 1;181(11):874-82. PMID: 25861815 DOI: 10.1093/aje/kwu460

[229] Bobak M, Leon DA. Pregnancy outcomes and outdoor air pollution: an ecological study in districts of the Czech Republic. *Occup Environ Med*. 1999 Aug;56(8):539-43. PMID: 10492651 DOI: 10.1136/oem.56.8.539

[230] Pereira LA, Loomis D, Conceicao GM, Braga AL, Arcas RM, Kishi HS, et al. Association between air pollution and intrauterine mortality in São Paulo, Brazil. *Environ Health Perspect*. 1998 Jun;106(6):325-9. PMID: 9618348 DOI: 10.1289/ehp.98106325

[231] Hwang BF, Lee YL, Jaakkola JJ. Air pollution and stillbirth: a population-based case-control study in Taiwan. *Environ Health Perspect*. 2011 Sep;119(9):1345-9. PMID: 21447454 DOI: 10.1289/ehp.1003056

[232] Samaraweera Y, Abeysena C. Maternal sleep deprivation, sedentary lifestyle and cooking smoke: Risk factors for miscarriage: A case control study. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2010 Aug;50(4):352-7. PMID: 20716263 DOI: 10.1111/j.1479-828X.2010.01190.x

[233] Patel AB, Meleth S, Pasha O, Goudar SS, Esamai F, Garces AL, et al. Impact of exposure to cooking fuels on stillbirths, perinatal, very early and late neonatal mortality - a multicenter prospective cohort study in rural communities in India, Pakistan, Kenya, Zambia and Guatemala. *Matern Health Neonatol Perinatol*. 2015 Jul 21;1:18. PMID: 27057335 DOI: 10.1186/s40748-015-0019-0

[234] Mishra V, Retherford RD, Smith KR. Cooking smoke and tobacco smoke as risk factors for stillbirth. *Int J Environ Health Res*. 2005 Dec;15(6):397-410. PMID: 16506434 DOI: 10.1080/09603120500288913

[235] Lakshmi PV, Viridi NK, Sharma A, Tripathy JP, Smith KR, Bates MN, et al. Household air pollution and stillbirths in India: analysis of the DLHS-II National Survey. *Environ Res*. 2013 Feb;121:17-22. PMID: 23375552 DOI: 10.1016/j.envres.2012.12.004

[236] Sehgal M, Rizwan SA, Krishnan A. Disease burden due to biomass cooking-fuel-related household air pollution among women in India. *Glob Health Action*. 2014 Nov 4;7:25326. PMID: 25373414 DOI: 10.3402/gha.v7.25326

[237] Wylie BJ, Coull BA, Hamer DH, Singh MP, Jack D, Yeboah-Antwi K, et al. Impact of biomass fuels on pregnancy outcomes in central East India. *Environ Health*. 2014 Jan 9;13(1):1. PMID: 24405644 DOI: 10.1186/1476-069X-13-1

[238] Mavalankar DV, Trivedi CR, Gray RH. Levels and risk factors for perinatal mortality in Ahmedabad, India. *Bull World Health Organ*. 1991;69(4):435-42. PMID: 1934237

[239] Tielsch JM, Katz J, Thulasiraj RD, Coles CL, Sheeladevi S, Yanik EL, et al. Exposure to indoor biomass fuel and tobacco smoke and risk of adverse reproductive outcomes, mortality, respiratory morbidity and growth among newborn infants in south India. *Int J Epidemiol*. 2009 Oct;38(5):1351-63. PMID: 19759098 DOI: 10.1093/ije/dyp286

[240] Guimarães MT, Cunha MG, Carvalho DP, Ribeiro TS, Martins LC, Braga AL, et al. Influence of environmental contamination on pregnancy outcomes. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2015 Oct;22(19):14950-14959. PMID: 26002366 DOI: 10.1007/s11356-015-4704-3

[241] Hafez AS, Fahim HI, Badawy HA. Socioenvironmental predictors of abortion and stillbirths in an industrial community in Egypt. *J Egypt Public Health Assoc*. 2001;76(1-2):1-16. PMID: 17216978

[242] Cramer DW, Wise LA. The epidemiology of recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med*. 2000;18(4):331-9. PMID: 11355791 DOI: 10.1055/s-2000-13722

[243] Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals and antioxidant protection: mechanisms and significance in toxicology and disease. *Hum Toxicol*. 1988 Jan;7(1):7-13. PMID: 3278973 DOI: 10.1177/096032718800700102

[244] Kowaltowski AJ, Vercesi AE. Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 1999 Feb;26(3-4):463-71. PMID: 9895239 DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00216-0

[245] Ronnenberg AG, Goldman MB, Chen D, et al. Preconception folate and vitamin B(6) status and clinical spontaneous abortion in Chinese women. *Obstet Gynecol*. 2002 Jul;100(1):107-13. PMID: 12100811 DOI: 10.1016/s0029-7844(02)01978-6

[246] Pierce GB, Parchment RE, Lewellyn AL. Hydrogen peroxide as a mediator of programmed cell death in the blastocyst. *Differentiation*. 1991 Apr;46(3):181-6. PMID: 1655543 DOI: 10.1111/j.1432-0436.1991.tb00880.x

[247] Agarwal A, Allamaneni SS. Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction. *Reprod Biomed Online*. 2004 Sep;9(3):338-47. PMID: 15353087 DOI: 10.1016/s1472-6483(10)62151-7

[248] Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol*. 2005 Jul 14;3:28. PMID: 16018814 DOI: 10.1186/1477-7827-3-28

[249] Simşek M, Nazıroğlu M, Simşek H, Cay M et al. Blood plasma levels of lipoperoxides, glutathione peroxidase, beta carotene, vitamin A and E in women with habitual abortion. *Cell Biochem Funct*. 1998 Dec;16(4):227-31. PMID: 9857484

[250] Sane AS, Chokshi SA, Mishra VV, et al. Serum lipoperoxides in induced and spontaneous abortions. *Gynecol Obstet Invest.* 1991;31(3):172-5. PMID: 2071057 DOI: 10.1159/000293145

[251] Łagód L, Paszkowski T, Sikorski R, Rola R. The antioxidant-prooxidant balance in pregnancy complicated by spontaneous abortion. *Ginekol Pol.* 2001 Dec;72(12):1073-8. PMID: 11883212

[252] Al-Kunani AS, Knight R, Haswell SJ, et al. The selenium status of women with a history of recurrent miscarriage. *BJOG.* 2001 Oct;108(10):1094-7. PMID: 11702843 DOI: 10.1111/j.1471-0528.2001.00253.x

[253] Kumar KS, Kumar A, Prakash S, et al. Role of red cell selenium in recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol.* 2002 Mar;22(2):181-3. PMID: 12521704 DOI: 10.1080/01443610120113373

[254] Jauniaux E, Watson AL, Hempstock J, et al. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure. *Am J Pathol.* 2000 Dec;157(6):2111-22. PMID: 11106583 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64849-3

[255] Burton GJ, Hempstock J, Jauniaux E. Oxygen, early embryonic metabolism and free radical-mediated embryopathies. *Reprod Biomed Online.* Jan-Feb 2003;6(1):84-96. PMID: 12626148 DOI: 10.1016/s1472-6483(10)62060-3

[256] Gynecologists ACoOa. Management of recurrent pregnancy loss. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002 Aug;78(2):179-90. PMID: 12360906 DOI: 10.1016/s0020-7292(02)00197-2

[257] Adolfsson A, Larsson PG, Wijma B, et al. Guilt and emptiness: women's experiences of miscarriage. *Health Care Women Int.* Jun-Jul 2004;25(6):543-60. PMID: 15354621 DOI: 10.1080/07399330490444821

[258] Stray-Pedersen B, Stray-Pedersen S. Etiologic factors and subsequent reproductive performance in 195 couples with a prior history of habitual abortion. *Am J Obstet Gynecol.* 1984 Jan 15;148(2):140-6. PMID: 6691389 DOI: 10.1016/s0002-9378(84)80164-7

[259] Kliman HJ. Uteroplacental blood flow. The story of decidualization, menstruation, and trophoblast invasion. *Am J Pathol.* 2000 Dec;157(6):1759-68. PMID: 11106547 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64813-4

[260] Hustin J, Schaaps JP. Echographic [corrected] and anatomic studies of the maternotrophoblastic border during the first trimester of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1987 Jul;157(1):162-8. PMID: 3300349 DOI: 10.1016/s0002-9378(87)80371-x

[261] Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, et al. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 2000 Dec;74(6):1196-9. PMID: 11119750 DOI: 10.1016/s0015-0282(00)01595-8

[262] Nicoll AE, Norman J, Macpherson A, et al. Association of reduced selenium status in the aetiology of recurrent miscarriage. *Br J Obstet Gynaecol.* 1999 Nov;106(11):1188-91. PMID: 10549965 DOI: 10.1111/j.1471-0528.1999.tb08146.x

[263] Kocak I, Aksoy E, Ustun C. Recurrent spontaneous abortion and selenium deficiency. *Int J Gynaecol Obstet.* 1999 Apr;65(1):79-80. PMID: 10390108 DOI: 10.1016/s0020-7292(99)00022-3

[264] Morel F, Roux C, Bresson JL. FISH analysis of the chromosomal status of spermatozoa from three men with 45,XY,der(13;14)(q10;q10) karyotype. *Mol Hum Reprod.* 2001 May;7(5):483-8. PMID: 11331672 DOI: 10.1093/molehr/7.5.483

[265] Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Sato T, et al. Poor prognosis of recurrent aborters with either maternal or paternal reciprocal translocations. *Fertil Steril.* 2004 Feb;81(2):367-73. PMID: 14967375 DOI: 10.1016/j.fertnstert.2003.07.014

[266] Leporrier N, Herrou M, Morello R, Leymarie P. Fetuses with Down's syndrome detected by prenatal screening are more likely to abort spontaneously than fetuses with Down's syndrome not detected by prenatal screening. *BJOG.* 2003 Jan;110(1):18-21. PMID: 12504930

[267] Rubio C, Simon C, Blanco J, et al. Implications of sperm chromosome abnormalities in recurrent miscarriage. *J Assist Reprod Genet.* 1999 May;16(5):253-8. PMID: 10335472 DOI: 10.1023/a:1020315529090

[268] Jivraj S, Rai R, Underwood J, Regan L. Genetic thrombophilic mutations among couples with recurrent miscarriage. *Hum Reprod.* 2006 May;21(5):1161-5. PMID: 16431900 DOI: 10.1093/humrep/dei466

[269] Hill JA, Abbott AF, Politch JA. Sperm morphology and recurrent abortion. *Fertil Steril.* 1994 Apr;61(4):776-8. PMID: 8150124

[270] Sbracia S, Cozza G, Grasso JA, et al. Semen parameters and sperm morphology in men in unexplained recurrent spontaneous abortion, before and during a 3 year follow-up period. *Hum Reprod.* 1996 Jan;11(1):117-20. PMID: 8671172 DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a019002

[271] Buckett WM, Luckas MJ, Aird IA, et al. The hypo-osmotic swelling test in recurrent miscarriage. *Fertil Steril.* 1997 Sep;68(3):506-9. PMID: 9314923 DOI: 10.1016/s0015-0282(97)00241-0

[272] Kleinhaus K, Perrin M, Friedlander Y, et al. Paternal age and spontaneous abortion. *Obstet Gynecol.* 2006 Aug;108(2):369-77. PMID: 16880308 DOI: 10.1097/01.AOG.0000224606.26514.3a

[273] Crow JF. Development. There's something curious about paternal-age effects. *Science.* 2003 Aug 1;301(5633):606-7. PMID: 12893932 DOI: 10.1126/science.1088552

[274] Petersen C, Round JL. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cell Microbiol.* 2014 Jul;16(7):1024-33. PMID: 24798552 DOI: 10.1111/cmi.12308

[275] Backhed F, Fraser CM, Ringel Y, Sanders ME, Sartor RB, Sherman PM, et al. Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host Microbe.* 2012 Nov 15;12(5):611-22. PMID: 23159051 DOI: 10.1016/j.chom.2012.10.012

[276] Shafquat A, Joice R, Simmons SL, Huttenhower C. Functional and phylogenetic assembly of microbial communities in the human microbiome. *Trends Microbiol.* 2014 May;22(5):261-6. PMID: 24618403 DOI: 10.1016/j.tim.2014.01.011

[277] The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012 Jun 13;486(7402):207-14. PMID: 22699609 DOI: 10.1038/nature11234

[278] Faith JJ, Guruge JL, Charbonneau M, Subramanian S, Seedorf H, Goodman AL, et al. The long-term stability of the human gut microbiota. *Science.* 2013 Jul 5;341(6141):1237439. PMID: 23828941 DOI: 10.1126/science.1237439

[279] Bodelier PL. Toward understanding, managing, and protecting microbial ecosystems. *Front Microbiol.* 2011 Apr 25;2:80. PMID: 21747797 DOI: 10.3389/fmicb.2011.00080

[280] 2 Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the Human Microbiome. *Nutr Rev.* 2012 Aug; 70(Suppl 1): S38–S44. PMID: 22861806 doi: 10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x

[281] 4 Tang J. Microbiome in the urinary system—a review. *AIMS Microbiol.* 2017; 3(2): 143–154. PMID: 31294154 doi: 10.3934/microbiol.2017.2.143

[282] [8] Bao Y, Al KF, Chanyi RM, et al. Questions and challenges associated with studying the microbiome of the urinary tract. *Ann Transl Med.* 2017 Jan; 5(2): 33. PMID: 28217698 doi: 10.21037/atm.2016.12.14

[283] [9] Lewis DA, Brown R, Williams J, et al. The human urinary micro- biome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults. *Front Cell Infect Microbiol* 2013;3:41. PMID: 23967406 DOI: 10.3389/fcimb.2013.00041

[284] Pekmezovic M, Mogavero S, Naglik JR, and Hube B. Host-pathogen interactions during female genital tract infections. *Trends Microbiol.* 2019 Dec;27(12):982-996. doi: 10.1016/j.tim.2019.07.006

[285] Linhares IM, Summers PR, Larsen B, Giraldo PC, and Witkin SS. Contemporary perspectives on vaginal pH and lactobacilli. *Am J Obstet Gynecol.* 2011 Feb;204(2):120.e1-5. doi: 10.1016/j.ajog.2010.07.010

[286] Marchesi JR, and Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome.* 2015 Jul 30;3:31. doi: 10.1186/s40168-015-0094-5

[287] Aagaard K, Riehle K, Ma J, Segata N, Mistretta TA, Coarfa C, et al. A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy. *PLoS One.* 2012;7(6):e36466. doi: 10.1371/journal.pone.0036466

[288] Noyes N, Cho KC, Ravel J, Forney LJ, and Abdo Z. Associations between sexual habits, menstrual hygiene practices, demographics and the vaginal microbiome as revealed by Bayesian network analysis. *PLoS One.* 2018 Jan 24;13(1):e0191625. doi: 10.1371/journal.pone.0191625

[289] Schwebke, JR, Richey CM, and Weiss2 HL. Correlation of behaviors with microbiological changes in vaginal flora. *J Infect Dis.* 1999 Nov;180(5):1632-6. doi: 10.1086/315065



- [290] Culhane JF, Rauh V, McCollum KF, Elo IT, and Hogan V. Exposure to chronic stress and ethnic differences in rates of bacterial vaginosis among pregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Nov;187(5):1272-6. doi: 10.1067/ mob.2002.127311
- [291] Gupta VK, Paul S, and Dutta C. Geography, ethnicity or subsistence- specific variations in human microbiome composition and diversity. *Front Microbiol.* 2017 Jun 23;8:1162. doi: 10.3389/fmicb.2017.01162
- [292] Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 Mar 15;108 Suppl 1(Suppl 1):4680-7. doi: 10.1073/pnas.1002611107
- [293] Nelson TM, Borgogna JC, Michalek RD, Roberts DW, Rath JM, Glover ED, et al. Cigarette smoking is associated with an altered vaginal tract metabolomic profile. *Sci Rep.* 2018 Jan 16;8(1):852. doi: 10.1038/s41598-017-14943-3
- [294] Witkin SS, and Linhares IM. Why do lactobacilli dominate the human vaginal microbiota? *BJOG.* 2017 Mar;124(4):606-611. doi: 10.1111/1471-0528.14390
- [295] Boskey ER, Cone RA, Whaley KJ, and Moench TR. Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source. *Hum Reprod.* 2001 Sep;16(9):1809-13. doi: 10.1093/humrep/ 16.9.1809
- [296] Pararas MV, Skevaki CL, and Kafetzis DA. Preterm birth due to maternal infection: Causative pathogens and modes of prevention. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2006 Sep;25(9):562-9. doi: 10.1007/s10096-006-0190-3
- [297] O'Hanlon DE, Moench TR, and Cone RA. In vaginal fluid, bacteria associated with bacterial vaginosis can be suppressed with lactic acid but not hydrogen peroxide. *BMC Infect Dis.* 2011 Jul 19;11:200. doi: 10.1186/1471-2334-11-200
- [298] Stoyancheva G, Marzotto M, Dellaglio F, and Torriani S. Bacteriocin production and gene sequencing analysis from vaginal *Lactobacillus* strains. *Arch Microbiol.* 2014 Sep;196(9):645-53. doi: 10.1007/s00203-014-1003-1
- [299] do Carmo MS, Noronha FM, Arruda MO, Costa ÉP, Bomfim MR, Monteiro AS et al. *Lactobacillus fermentum* ATCC 23271 displays in vitro inhibitory activities against *Candida* spp. *Front Microbiol.* 2016 Oct 27;7:1722. doi: 10.3389/fmicb.2016.01722

[300] Ribet D, Cossart P. How bacterial pathogens colonize their hosts and invade deeper tissues. *Microbes Infect.* 2015 Mar;17(3):173-83. doi: 10.1016/j.micinf.2015.01.004

[301] Petrova MI, Lievens E, Malik S, Imholz N, and Lebeer S. Lactobacillus species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. *Front Physiol.* 2015 Mar 25;6:81. doi: 10.3389/fphys.2015.00081

[302] Hemsell DL, Obregon VL, Heard MC, Nobles BJ. Endometrial bacteria in asymptomatic, nonpregnant women. *J Reprod Med.* 1989 Nov;34(11):872-4. PMID: 2585386

[303] Møller BR, Kristiansen FV, Thorsen P, Frost L, Mogensen SC. Sterility of the uterine cavity. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1995 Mar;74(3):216-9. PMID: 7900526 DOI: 10.3109/00016349509008942

[304] Pelzer ES, Allan JA, Waterhouse MA, Ross T, Beagley KW, Knox CL. Micro-organisms within human follicular fluid: effects on IVF. *PLoS One.* 2013;8(3):e59062. PMID: 23554970 DOI: 10.1371/journal.pone.0059062

[305] Mitchell CM, Haick A, Nkwopara E, Garcia R, Rendi M, Agnew K, et al. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 2015 May;212(5):611.e1-9. PMID: 25524398 DOI: 10.1016/j.ajog.2014.11.043

[306] Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez- Almazan J, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol* 2016;15:684–703. PMID: 27717732 DOI: 10.1016/j.ajog.2016.09.075

[307] Wee BA, Thomas M, Sweeney EL, Frentiu FD, Samios M, Ravel J, et al. A retrospective pilot study to determine whether the reproductive tract microbiota differs between women with a history of infertility and fertile women. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2018;58:341–8. PMID: 29280134 DOI: 10.1111/ajo.12754

[308] Chen C, Song X, Wei W, Zhong H, Dai J, Lan Z, et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun.* 2017 Oct 17;8(1):875. PMID: 29042534 DOI: 10.1038/s41467-017-00901-0

[309] Wang X, X Xu, and Y Xia. Further analysis reveals new gut microbiome markers of type 2 diabetes mellitus. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2017, 110(3):445–453. doi: 10.1007/s10482-016-0805-3

- [310] Roberfroid MB, Bornet F, Bouley C, Cummings JH. Colonic Microflora: nutrition and health. Summary and conclusions of an International Life Sciences Institute (ILSI) [Europe] Workshop Held in Barcelona, Spain. *Nutrition Reviews*. 2009, 53 (5):127–30. doi: 10.1111/j.1753-4887.1995.tb01535.x.
- [311] Cash HL, Whitham CV, Behrendt CL, and Hooper LV. Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin. *Science*. 2006, 313 (5790):1126–30. doi: 10.1126/science.1127119.
- [312] Macpherson AJ, and Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immun*. 2004, 4 (6):478–485. doi: 10.1038/nri1373.
- [313] Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, and Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Phys Revs*. 2010 90 (3): 859–904. doi: 10.1152/physrev.00045.2009.
- [314] Goh YJ, and Klaenhammer TR. Genetic mechanisms of prebiotic oligosaccharide metabolism in probiotic microbes. *Ann Rev Food Sci Tech*. 2015, 6 (1):137–56. doi: 10.1146/annurev-food-022814-015706.
- [315] Morowitz MJ, Carlisle EM, and Alverdy JC. Contributions of intestinal bacteria to nutrition and metabolism in the critically ill. *Surg Clin NA*. 2011, 91 (4):771–785. doi: 10.1016/j.suc.2011.05.001
- [316] Cani PD, Everard A, and Duparc T. Gut microbiota, enteroendocrine functions and metabolism. *Curr Op Pharma*. 2013, 13 (6):935–40. doi: 10.1016/j.coph.2013.09.008.
- [317] Kang Z, Zhang J, Zhou J, Qi Q, Du G, and Chen J. Recent advances in microbial production of d-aminolevulinic acid and vitamin B12. *Biotech Adv*. 2012, 30 (6):1533–42. doi: 10.1016/j.biotechadv.2012.04.003.
- [318] Cebra JJ. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am Jour Clin Nutr* 1999, 69 (5): 1046s–51s. doi: 10.1093/ajcn/69.5.1046s.
- [319] Thaiss CA, Zmora N, Levy M, and Elinav E. The microbiome and innate immunity. *Nature* 2016, 535:(7610);65–74. doi: 10.1038/nature18847.
- [320] Korevaar TIM, Steegers EAP, de Rijke YB, Schalekamp-Timmermans S, Visser WE, Hofman A, et al. Reference ranges and determinants of total hCG levels during pregnancy: the Generation R Study. *Eur J Epidemiol* 2015;30: 1057e66. <https://doi.org/10.1007/s10654-015-0039-0>.

[321] Cole LA. Biological functions of hCG and hCG-related molecules. *Reprod Biol Endocrinol* 2010;8:102. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-8-102>.

[322] SykesL,BennettPR.Efficacy of progesterone for prevention of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2018;52:126e36. doi: <https://doi.org/10.1016/J.BPOBGYN.2018.08.006>.

[323] Byrns MC. Regulation of progesterone signaling during pregnancy: implications for the use of progestins for the prevention of preterm birth. *J Steroid*

[324] Sentman CL, Meadows SK, Wira CR, Eriksson M. Recruitment of uterine NK cells: induction of CXCL chemokine ligands 10 and 11 in human endometrium by estradiol and progesterone. *J Immunol* 2004;173:6760e6. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.11.6760>.

[325] Benichou G, Yamada Y, Aoyama A, Madsen JC. Natural killer cells in rejection and tolerance of solid organ allografts. *Curr Opin Organ Transplant* 2011;16: 47e53. doi: <https://doi.org/10.1097/MOT.0b013e32834254cf>.

[326] Faas MM, de Vos P. Uterine NK cells and macrophages in pregnancy. *Placenta* 2017;56:44e52. <https://doi.org/10.1016/J.PLACENTA.2017.03.001>.

[327] Ishitani A, Sageshima N, Lee N, Dorofeeva N, Hatake K, Marquardt H, et al. Protein expression and peptide binding suggest unique and interacting functional roles for HLA-E, F, and G in maternal-placental immune recognition. *J Immunol* 2003;171:1376e84. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.3.1376>.

[328] Guleria I, Sayegh MH. Maternal acceptance of the fetus: True human tolerance. *J Immunol* 2007;178:3345e51. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.178.6.3345>.

[329] Fischer T, Schobel H, Barenbrock M. Specific immune tolerance during pregnancy after renal transplantation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996;70:217e9. [https://doi.org/10.1016/s0301-2115\(95\)02581-2](https://doi.org/10.1016/s0301-2115(95)02581-2).

[330] de Lima A, Zelinkova Z, van der Ent C, Steegers EAP, van der Woude CJ. Tailored anti-TNF therapy during pregnancy in patients with IBD: maternal and fetal safety. *Gut* 2016;65:1261e8. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309321>.

[331] Ysrraelit MC, Correale J. Impact of sex hormones on immune function and multiple sclerosis development. *Immunology* 2019;156:9e22. <https://doi.org/10.1111/imm.13004>.

[332] Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2010;63:601e10. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00852.x>.

[333] Tagoma A, Haller-Kikkatalo K, Roos K, Oras A, Kirss A, Ilonen J, et al. Interleukin-7, T helper 1 and regulatory T-cell activity-related cytokines are increased during the second trimester of healthy pregnancy compared to non-pregnant women. *Am J Reprod Immunol* 2019;1e10. <https://doi.org/10.1111/aji.13188>. aji.13188.

[334] Doria A, Cutolo M, Ghirardello A, Zen M, Villalta D, Tincani A, et al. Effect of pregnancy on serum cytokines in SLE patients. *Arthritis Res Ther* 2012;14: R66. <https://doi.org/10.1186/ar3782>.

[335] van der Giessen J, Binyamin D, Belogolovski A, Frishman S, Tenenbaum- Gavish K, Hadar E, et al. Modulation of cytokine patterns and microbiome during pregnancy in IBD. *Gut* 2020;69(3):473e86. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318263>. gutjnl-2019-318263.

[336] Vassiliadis S, Ranella A, Papadimitriou L, Makrygiannakis A, Athanassakis I. Serum levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in non-pregnant women, during pregnancy, labour and abortion. *Mediat Inflamm* 1998;7: 69e72. <https://doi.org/10.1080/09629359891199>.

[337] Coussons-Read ME, Okun ML, Nettles CD. Psychosocial stress increases inflammatory markers and alters cytokine production across pregnancy. *Brain Behav Immun* 2007;21:343e50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2006.08.006>.

[338] Fanchin R, Harmas A, Benaoudia F, Lundkvist U, Olivennes F, Frydman R. Microbial flora of the cervix assessed at the time of embryo transfer adversely affects in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril*. 1998 Nov;70(5):866-70. PMID: 9806568 DOI: 10.1016/s0015-0282(98)00277-5

[339] Moore DE, Soules MR, Klein NA, Fujimoto VY, Agnew KJ, Eschenbach DA. Bacteria in the transfer catheter tip influence the live-birth rate after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2000 Dec;74(6):1118-24. PMID: 11119737 DOI: 10.1016/s0015-0282(00)01624-1

[340] Egbase PE, Udo EE, al-Sharhan M, Grudzinskas JG. Prophylactic antibiotics and endocervical microbial inoculation of the endometrium at embryo trans- fer. *Lancet*. 1999 Aug 21;354(9179):651-2. PMID: 10466674 DOI: 10.1016/s0140-6736(99)02415-0

[341] Verstraelen H, Vilchez-Vargas R, Desimpel F, Jauregui R, Vankeirsbilck N, Weyers S, et al. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene. *PeerJ*. 2016 Jan 19;4:e1602. PMID: 26823997 DOI: 10.7717/peerj.1602

[342] Moore DE, Soules MR, Klein NA, Fujimoto VY, Agnew KJ, Eschenbach DA. Bacteria in the transfer catheter tip influence the live-birth rate after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2000 Dec;74(6):1118-24. PMID: 11119737 DOI: 10.1016/s0015-0282(00)01624-1

[343] Libby EK, Pascal KE, Mordechai E, Adelson ME, Trama JP. *Atopobium vaginae* triggers an innate immune response in an in vitro model of bacterial vaginosis. *Microbes Infect*. 2008;10(4):439–446. doi: 10.1016/j.micinf.2008.01.004.

[344] Cicinelli E, De Ziegler D, Nicoletti R, Colafiglio G, Saliani N, Resta L, Rizzi D, De Vito D. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. *Fertil Steril*. 2008;89(3):677–684. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.03.074

[345] Kitaya K, Takeuchi T, Mizuta S, Matsubayashi H, Ishikawa T. Endometritis: new time, new concepts. *Fertil Steril*. 2018;110(3):344–350. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.04.012.

[346] Kitaya K, Matsubayashi H, Yamaguchi K, Nishiyama R, Takaya Y, Ishikawa T, Yasuo T, Yamada H. Chronic endometritis: potential cause of infertility and obstetric and neonatal complications. *Am J Reprod Immunol*. 2016;75(1):13–22. doi: 10.1111/aji.12438

[347] Sfakianoudis K, Simopoulou M, Nikas Y, Rapani A, Nitsos N, Pierouli K, Pappas A, Pantou A, Markomichali C, Koutsilieris M, Pantos K. Efficient treatment of chronic endometritis through a novel approach of intrauterine antibiotic infusion: a case series. *BMC Womens Health*. 2018;18(1):197. doi: 10.1186/s12905-018-0688-8

[348] Freitas AC, Hill JE. Quantification, isolation and characterization of *Bifidobacterium* from the vaginal microbiomes of reproductive aged women. *Anaerobe*. 2017;47:145–156. doi: 10.1016/j.anaerobe.2017.05.012.

[349] Kyono K, Hashimoto T, Kikuchi S, Nagai Y, Sakuraba Y. A pilot study and case reports on endometrial microbiota and pregnancy outcome: an analysis using 16S rRNA gene sequencing among IVF patients, and trial therapeutic intervention for dysbiotic endometrium. *Reprod Med Biol*. 2019;18(1):72–82. doi: 10.1002/rmb2.12250.

[350] Chen Y, Hong Z, Wang W, Gu L, Gao H, Qiu L, Di W. Association between the vaginal microbiome and high-risk human papillomavirus infection in pregnant Chinese women. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):677. doi: 10.1186/s12879-019-4279-6

[351] Pathak P, Trilligan C, Rapose A. Bifidobacterium--friend or foe? A case of urinary tract infection with Bifidobacterium species. *BMJ Case Rep.* 2014;2014. 10.1136/bcr-2014-205122<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25253483>

[352] Egbase PE, Al-Sharhan M, Al-Othman S, Al-Mutawa M, Udo EE, Grudzinskas JG. Incidence of microbial growth from the tip of the embryo transfer catheter after embryo transfer in relation to clinical pregnancy rate following in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod.* 1996;11(8):1687–1689. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a019470

[353] Fanchin R, Harmas A, Benaoudia F, Lundkvist U, Olivennes F, Frydman R. Microbial flora of the cervix assessed at the time of embryo transfer adversely affects in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 1998;70(5):866–870. doi: 10.1016/S0015-0282(98)00277-5

[354] Moore DE, Soules MR, Klein NA, Fujimoto VY, Agnew KJ, Eschenbach DA. Bacteria in the transfer catheter tip influence the live-birth rate after in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2000;74(6):1118–1124. doi: 10.1016/S0015-0282(00)01624-1

[355] Selman H, Mariani M, Barnocchi N, Mencacci A, Bistoni F, Arena S, Pizzasegale S, Brusco GF, Angelini A. Examination of bacterial contamination at the time of embryo transfer, and its impact on the IVF/pregnancy outcome. *J Assist Reprod Genet.* 2007;24(9):395–399. doi: 10.1007/s10815-007-9146-5