

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Beatriz Galfaro Silva
Thays Rodrigues Kuchla Souto

O SISTEMA IMUNOLÓGICO E A FALHA DE IMPLANTAÇÃO RECORRENTE

São Paulo
2023

Beatriz Galfaro Silva – RA: 017882
Thays Rodrigues Kuchla Souto – RA: 017458

O SISTEMA IMUNOLÓGICO E A FALHA DE IMPLANTAÇÃO RECORRENTE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Dr. Mauro Fantini Nogueira Martins, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

São Paulo
2023

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Silva, Beatriz Galfaro

**O sistema imunológico e a falha de implantação
recorrente / Beatriz Galfaro Silva, Thays Rodrigues
Kuchla Souto. -- São Paulo: Centro Universitário São
Camilo, 2023.**

37 p.

Orientação de Mauro Fantini Nogueira Martins.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro
Universitário São Camilo, 2023.

1. Antígenos HLA-G 2. Células matadoras naturais 3. Citocinas 4.
Gravidez 5. Implantação do embrião I. Souto, Thays Rodrigues Kuchla II.
Martins, Mauro Fantini Nogueira III. Centro Universitário São Camilo IV.

Título

CDD: 616.079

Beatriz Galfaro Silva
Thays Rodrigues Kuchla Souto

O SISTEMA IMUNOLÓGICO E A FALHA DE IMPLANTAÇÃO RECORRENTE

Mauro Fantini Nogueira Martins

Professor Orientador

Júlia Meireles Nogueira

Professor Examinador Externo

Rodrigo Alessandro Riemma Vela

Professor Examinador Interno

DEDICATÓRIA

Eu, Beatriz dedico este trabalho primeiramente a Deus, fonte de toda sabedoria, que me sustentou e iluminou cada passo dessa jornada acadêmica. À minha família, que sempre acreditou em mim e me apoiou incondicionalmente. Vocês são meu alicerce e minha motivação para buscar sempre o melhor. Ao meu namorado, que foi minha fonte de compreensão e paciência durante todo esse percurso. Sua presença foi o meu porto seguro e a sua fé em mim foi o que me manteve firme. Aos meus amigos, que estiveram ao meu lado, compartilhando risos, desafios e celebrando cada conquista. Aos meus professores e coordenadores, que me guiaram com maestria, compartilhando conhecimento e experiência. Suas orientações foram cruciais para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Eu, Thays dedico este trabalho primeiramente ao orientador que ajudou bastante no processo de escrita deste documento, com bastante dicas de como melhorar e entregar da melhor forma. A minha família que desde o início presenciou o processo de desenvolvimento e conclusão, sempre me apoiaram nas minhas decisões sobre meu futuro. Dedico, também, aos meus amigos que me ajudaram em todos e tiveram paciência comigo todos esses dias.

RESUMO

A implantação do embrião no útero é crucial para uma gravidez saudável, exigindo transformações no útero para torná-lo receptivo. A falha de implantação é determinada após fracasso em três tentativas de fertilização *in vitro* e isso ocorre em 15% das tentativas de gravidez. Isso pode resultar em impactos físicos e psicológicos, destacando a importância do acompanhamento psicoterapêutico. Diversos fatores, como idade materna avançada e desregulações no sistema imune, podem contribuir para essa interrupção precoce. Atualmente, terapias imunológicas mostram promessa, sendo o Tacrolimus um exemplo que aumentou a taxa de implantação em 40%, ele é um medicamento imunossupressor e anti-inflamatório capaz de inibir a proliferação linfocitária e a liberação de citocinas inflamatórias. O objetivo deste estudo foi realizar uma pesquisa bibliográfica em fontes científicas para analisar e discutir as informações mais recentes sobre a influência do sistema imunológico na implantação do embrião no útero. Foi realizada uma revisão bibliográfica a partir de artigos publicados em português e em inglês, encontrados nas bases de dados e foram priorizados artigos que trouxessem dados clínicos e experimentos *in vitro* foram preteridos para o presente trabalho. Neste estudo foi exposto o sucesso ou a perda gestacional influenciada pelo sistema imunológico, também foi demonstrado o papel crucial do HLA-G na tolerância materno-fetal, modulando as citocinas e inibindo as células Natural-killers uterinas. Da mesma forma foi exemplificado que o equilíbrio entre células anti-inflamatórias e inflamatórias é crucial para a implantação durante a gestação e desvios dessa igualdade podem resultar em falhas de implantação. Por fim, tratamentos como Plasma Rico em Plaquetas (PRP), Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos (G-CSF) e Infusão Intrauterina de Células Mononucleares do sangue Periférico (PBMC) podem aumentar as chances de uma gestação saudável. No entanto, devido à complexidade da causa da falha de implantação, são necessárias mais pesquisas para desenvolver um tratamento eficaz.

Palavras chaves: falha de implantação; citocinas; HLA-G; gravidez; células NK.

ABSTRACT

Implantation of the embryo in the uterus is crucial for a healthy pregnancy, requiring transformations in the uterus to make it receptive. Implantation failure is determined after failure in 3 in vitro fertilization attempts and this occurs in 15% of pregnancy attempts. This can result in physical and psychological impacts, highlighting the importance of psychotherapeutic follow-up. Several factors, such as advanced maternal age and dysregulation in the immune system, can contribute to this early disruption. Currently, immune therapies show promise, with Tacrolimus being one example that increased the implantation rate by 40%. It is an immunosuppressive and anti-inflammatory drug capable of inhibiting lymphocyte proliferation and the release of inflammatory cytokines. The aim of this study was to conduct a literature search in scientific sources to analyze and discuss the most recent information on the influence of the immune system when the embryo implants in the uterus. A literature review was carried out based on articles published in Portuguese and in English found in the databases and prioritized articles that brought clinical data and in vitro experiments were deprecated for the present study. In this study, the success or loss of pregnancy influenced by the immune system was exposed, crucial role of HLA-G in maternal-fetal tolerance by modulating cytokines and inhibiting uterine natural-killer cells has also been demonstrated. Likewise, it was exemplified that the balance between anti-inflammatory and inflammatory cells is crucial for implantation during pregnancy and diversions of this equality can result in deployment failures. Finally, treatments such as Platelet Rich Plasma (PRP), Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) and Intrauterine Infusion of Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) may increase the chances of a healthy pregnancy. However, due to the complexity of the cause of implantation failure, more research is needed to develop an effective treatment.

Key words: deployment failure; cytokines; HLA-G; pregnancy; NK cells.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sequência de implantação de blastocisto humano.....	13
Figura 2 - Efeito da qualidade embrionária na concentração de HLA-G secretado no protocolo de estimulação longa e curta.....	16
Figura 3 - Diferenciação das células T helper (Th) em Th1, Th2, Th17 e T regulador (Treg) a partir da célula <i>naive</i>	20
Figura 4 - Polimorfismos STAT3, IL-1 β , IL-6 e TNF- α na inflamação e falha recorrente de implantação.....	22
Figura 5 - Citocinas liberadas pelas células T relacionadas a implantação do blastocisto.....	23
Figura 6 - Balanço dos linfócitos Th1 e Th2 durante a gravidez associado ao sucesso ou rejeição gestacional, mostrando uma tendência a um perfil de resposta Th2.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS

AH	Eclosão assistida
dNK	Natural Killers Decidual
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Imunoensaio enzimático
ERA	Conjunto de Receptividade endometrial
FIV	Fertilização in vitro
G-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos
GH	Hormônio do crescimento
HBPM	Heparina de baixo peso molecular
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana Intrauterina
ICSI	Injeção intracitoplasmática de espermatozóides
IFN-gama	Interferons
IGIV	Imunoglobulinas intravenosas
IgE	Imunoglobulina E
IL- 10	Interleucina 10
IL- 15	Interleucina 15
IL- 17	Interleucina 17
IL- 2	Interleucina 2
IL- 4	Interleucina 4
IL- 5	Interleucina 5
IL- 6	Interleucina 6
IL- 8	Interleucina 8
IMC	Índice de massa corporal
IMSI	Injeção intracitoplasmática de esperma morfologicamente selecionado
LIF	Fator Inibidor de Leucemia
LILR	Receptores semelhantes à Imunoglobulina leucocitária
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
PBMC	Terapias Imunomoduladoras: mononucleares do sangue periférico
PRP	Infusão intrauterina de plasma rico em plaquetas autólogo
RIF	Falha de Implantação Recorrente
STAT	Transdutores de sinais e ativadores de transcrição
TCD8	Linfócito T citotóxico que expressa glicoproteína CD8
Th1	Linfócito T helper 1
Th17	Linfócito T helper 17
Th2	Linfócito T helper 2
TGF-beta	Fator de Transformação do crescimento beta
TNF-alfa	Fator de Necrose Tumoral
Treg	Linfócito T regulador
uNK	Natural Killers uterinas
ZIFT	Transferência intrafalopiana de zigoto para trompa de Falópio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	OBJETIVO.....	11
3	METODOLOGIA.....	12
4	IMPLANTAÇÃO.....	13
5	PROTEÍNA HLA-G.....	15
6	AÇÃO DAS CÉLULAS NATURAL KILLER UTERINAS.....	18
7	RESPOSTA INFLAMATÓRIA DURANTE A IMPLANTAÇÃO.....	20
8	FALHA DE IMPLANTAÇÃO.....	25
9	TRATAMENTO E TERAPIA PARA FALHA DE IMPLANTAÇÃO.....	27
10	CONCLUSÃO.....	29
11	REFERÊNCIAS.....	31

1. INTRODUÇÃO

A implantação do embrião no útero é o processo essencial para que uma gravidez ocorra normalmente e sem intercorrências. Para que ocorra o sucesso do desenvolvimento do feto, é necessário que o útero sofra algumas alterações no epitélio a fim de se tornar receptivo, como por exemplo diminuir as suas microvilosidades (Nancy *et al.*, 2018) para expor suas proteínas e atrair o embrião.

Por outro lado, a falha de implantação é determinada após fracasso em três tentativas de Fertilização *in vitro* em um casal saudável (Orvieto *et al.*, 2015) e de acordo com um estudo, a falha de implantação é estimada em 15% das tentativas de gravidez (Busnelli *et al.*, 2020). Essa perda pode gerar impactos físicos e psicológicos, como transtorno de ansiedade, depressão e estresse pós-traumático. Por isso, é necessário ter um acompanhamento psicoterapêutico para auxiliar e alinhar as expectativas de uma gravidez bem sucedida (Farren *et al.*, 2018).

Essa interrupção precoce na gravidez possui causas variáveis como idade materna avançada, tabagismo, índice de massa corporal alto e danos no DNA espermático. A desregulação do sistema imune com o aumento das células NK uterinas, o desequilíbrio das células T-helper 1 e T-helper 2 e o aparecimento dos autoanticorpos também pode ser um dos fatores para a falha de implantação (Bashiri *et al.*, 2018).

Atualmente, existem algumas terapias imunológicas capazes de aumentar a taxa de implantação como o Tacrolimus, as imunoglobulinas intravenosas (IGIV), as células mononucleares do sangue periférico e o fator estimulador de colônias de granulócitos (Bashiri *et al.*, 2018).

Já existem avanços interessantes na área: o medicamento Tacrolimus, por exemplo, aumentou em 40% a taxa de implantação. Ele é um medicamento imunossupressor que regula o equilíbrio das células Th1/Th2, aumentando as citocinas anti-inflamatórias que estão relacionadas com o sucesso da gravidez (Bahrami-Asl *et al.*, 2020).

Entretanto, como a causa da falha de implantação é incerta e pode ter vários fatores contribuintes, é necessário que haja mais pesquisas nessa área para tornar o tratamento único e eficaz.

2. OBJETIVO

Entender como o sistema imunológico interfere na implantação do embrião e consegue promover mecanismos de tolerância materno fetal, prevenindo a Falha de Implantação Recorrente.

3. METODOLOGIA

Será realizada uma revisão bibliográfica a partir de artigos publicados em português e em inglês, entre 1993 e 2023, encontrados nas bases de dados Pubmed, Scielo e Google Scholar. Foram priorizados artigos que trouxessem dados clínicos e também experimentos *in vitro* foram escolhidos para o presente trabalho, utilizando-se as seguintes palavras-chave: “falha de implantação”, “citocinas”, “interleucinas”, “gravidez”, “células NK”.

4. IMPLANTAÇÃO

A implantação é um processo altamente organizado que precisa de um blastocisto competente e um útero receptivo, durante a janela de implantação que ocorre entre os dias 7 e 10 após a fecundação (Barbieri, 2014).

Para que o útero fique receptivo, é necessário que ocorra a decidualização do endométrio. Esse processo consiste em alterar a mucosa uterina para ser receptiva ao blastocisto formado. Com isso, vai promover um acúmulo de lipídeos e glicogênio, como reserva energética para o blastocisto (Kajihara *et al.*, 2014); um aumento no número de vasos sanguíneos e glândulas e uma diminuição da união das células epiteliais do endométrio com a matriz extracelular (Okada *et al.*, 2018), esse maior espaço entre as células irá permitir que o embrião consiga passar com uma maior facilidade. A Figura 1 abaixo representa o momento em que vai ocorrer o processo de Nidação, em que o Blastocisto vai se aderir à mucosa uterina.

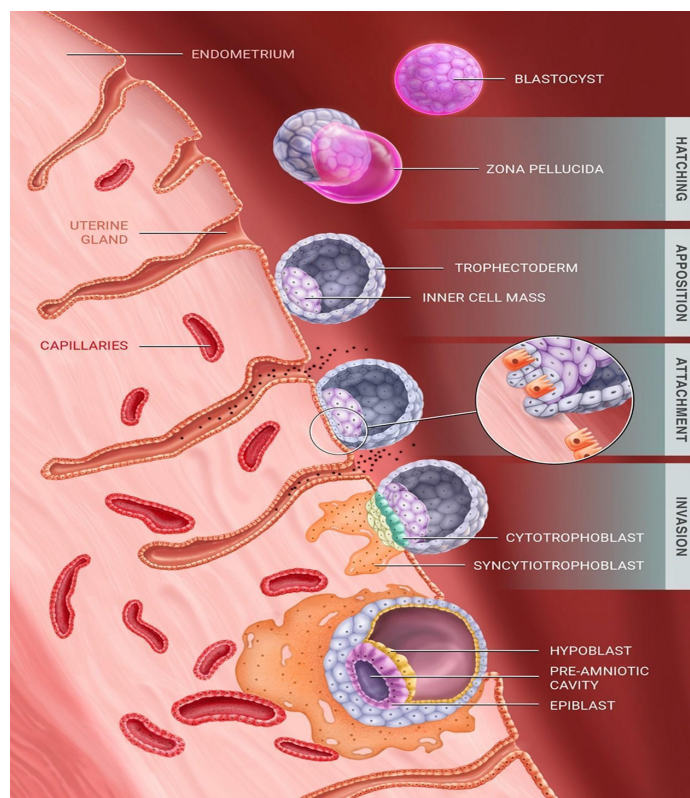


Figura 1. Sequência de implantação de blastocisto humano. Para que aconteça processo de implantação do blastocisto é necessário a decidualização do endométrio, tornando o útero receptivo, envolvendo alterações como aumento de vasos sanguíneos e glândulas e a abertura do espaço entre células epiteliais para facilitar a passagem do

embrião. A figura mostra o momento da Nidação e as fases importantes nesse processo para o blastocisto se aderir à mucosa uterina. Fonte: Ojonegros, 2021.

Esse fenômeno acontece em três importantes fases: aposição, adesão e invasão. Na fase de Aposição, que ocorre de 6-7 dias após a fecundação (Ojosnegros *et al.*, 2021), o blastocisto eclode da zona pelúcida e há um reconhecimento entre o pólo embrionário do blastocisto com as proteínas específicas do endométrio por meio de interações químicas (Guillomot *et al.*, 1993).

Na fase de Adesão há uma intensa comunicação do Blastocisto com o útero e ocorrem modificações na mucosa uterina como:

1. Diminuição das microvilosidades uterinas, que irá expor as proteínas específicas do pólo apical das células endometriais permitindo um melhor reconhecimento do blastocisto no pólo embrionário;
2. Diminuição da espessura dos componentes da célula endometrial, que irá diminuir o muco produzido pelo útero durante o período fértil;
3. Perda das características do epitélio uterino, as células ficam menos justapostas, uma vez que sofrem apoptose e aumenta a quantidade de vasos sanguíneos (Guillomot *et al.*, 1993).

Na fase de invasão, o trofoblasto começa a invadir o endométrio em direção ao tecido conjuntivo, se proliferando e se diferenciando em sinciciotrofoblasto e citotrofoblasto. O sinciciotrofoblasto produz a enzima colagenase que quebra o colágeno da matriz do tecido conjuntivo, a fim de alcançar as artérias espiraladas para nutrição (Ojosnegros *et al.*, 2021).

Essas três fases da implantação são vitais para o desenvolvimento do embrião e qualquer perturbação neste processo pode levar a complicações na gravidez, como por exemplo a falha de implantação. Também é importante ressaltar o papel que o sistema imunológico possui no sucesso da implantação, com a tolerância ao próprio através do HLA-G e as células natural killers uterinas.

5. PROTEÍNA HLA-G

Um embrião pode ser caracterizado como um aloenxerto, ou seja, além de apresentar antígenos da mãe também apresenta antígenos do pai que podem ser identificados como corpos estranhos para o organismo materno. No entanto, em uma gestação saudável, o embrião não será atacado pelo sistema imune da mãe.

Algumas proteínas ligadas ao sistema imune estão envolvidas justamente nessa tolerância materno fetal, como por exemplo as moléculas do sistema antígeno leucocitário humano (HLA). Os genes de HLA são encontrados e agrupados em três regiões, subdivididas em classes I, II, III, e é localizado no braço curto do cromossomo 6 sendo componentes do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC). Na classe I, essas proteínas atuam apresentando moléculas às células TCD8, como por exemplo o HLA-E, F e G, os quais vão receber denominação de moléculas não clássicas de classe Ib (Palone *et al.*, 2019). Dentro desse grupo, o HLA-G já foi estudado e rendeu resultados interessantes sobre controle de perda gestacional.

O HLA-G possui mecanismos que ajudam a manter a tolerância materno-fetal, através da modulação do padrão de citocinas, da inibição da atividade lítica causada pelas células Natural Killers uterinas (uNK), do impedimento da fagocitose e da apresentação de peptídeos para as células T (Palone *et al.*, 2019), além de possuir um efeito imunossupressor quando inibe a maturação das células dendríticas (Pazmany *et al.*, 1996).

Essa proteína pode ser encontrada no soro, líquido amniótico, sangue e cordão umbilical e identificar essa molécula é considerado um bom prognóstico da gestação já que ele atua na tolerância materno-fetal. Essa ideia de um bom prognóstico deriva de resultados como os descritos por Radwan e colaboradores (2022).

Radwan *et al.* (2022) queriam descobrir se o HLA-G solúvel teria relação com a qualidade do embrião, com o sucesso da implantação e com o desenvolvimento do feto. Para isso, eles recrutaram 72 casais de homens e mulheres, trabalharam com 344 embriões após fertilização *in vitro*/injeção intracitoplasmática de espermatozoides (FIV/ICSI) e testaram o nível de HLA-Gs através do imunoensaio enzimático sanduíche (ELISA). Eles descobriram que os embriões que firmaram a

gravidez, secretaram mais HLA-Gs do que aqueles que a transferência embrionária não deu certo (Figura 2). Também analisaram que a estimulação ovariana pelo protocolo de agonista longo faz com que o embrião secrete mais HLA-Gs do que os estimulados pelo protocolo curto antagonista. Por isso, os autores trazem a ideia de que apesar de existir variáveis como a quantidade de material coletado, a estimulação ovariana com medicamentos e o dia da medição do parâmetro; quanto maior o nível do HLA-G solúvel, maior o sucesso da gravidez, podendo ser um possível indicador de gravidez bem-sucedida.

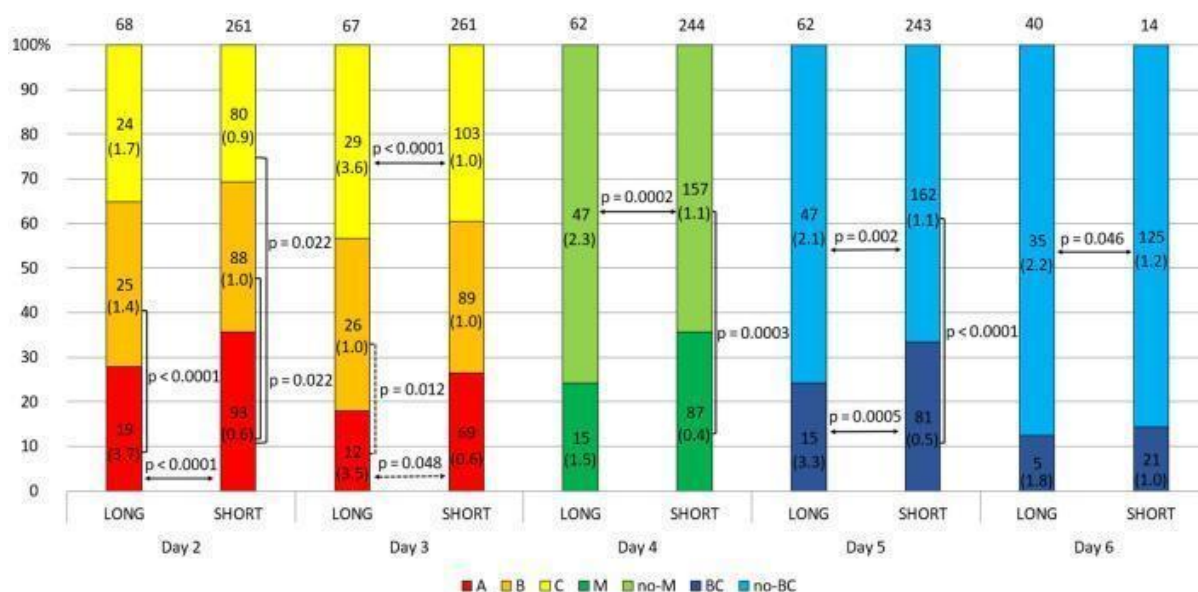


Figura 2. Efeito da qualidade embrionária na concentração de HLA-G secretado no protocolo de estimulação longa e curta. Os resultados do estudo de Radwan estão apresentados neste gráfico onde A, B e C representam a classe morfológica do embrião, M representa embrião no estágio de Mórula (verde) e BC em estágio de Blastocisto (azul). Entre parênteses é a quantidade de HLA-G secretado, então os embriões de classe A secretam mais HLA-Gs em relação aos demais embriões, também é possível observar que a estimulação ovariana estimulada pelo protocolo de agonista longo faz com que o embrião secrete mais HLA-G em relação ao protocolo antagonista. Fonte: Radwan, 2022.

Radwan e colaboradores (2022) mostraram seus resultados através desse gráfico (Figura 2). Os embriões foram se desenvolvendo ao longo de 6 dias, comparando a utilização do protocolo de estimulação ovariana agonista longo e curto antagonista. As cores têm relação com a classe do embrião A, B e C; M seria o embrião em estágio de mórula e BC em estágio de blastocisto. A mediana da concentração de sHLA-G foi apresentada entre parênteses.

A importância do HLA-G solúvel também foi demonstrada por outros autores, como por exemplo Kotze *et al.* (2013) que realizaram um estudo multicêntrico com embriões obtidos de 2040 pacientes, confirmando a importância do HLA-G no sucesso da gravidez; e também citado por Nowak *et al.* (2020) que avaliaram o papel do HLA-G solúvel e o polimorfismo dessa estrutura no êxito da implantação através de um grupo controle de mulheres com gravidez saudável e outro grupo que apresentou falha de implantação recorrente (RIF), descobrindo que existem haplótipos específicos que atuam na secreção de HLA-G solúvel influenciando no desfecho da gestação.

Em consonância com os resultados relatados até aqui, uma variação do código genético 14pb na UTR 3'UTR do gene HLA-G pode influenciar na expressão dessa proteína ocorrendo a falha da implantação. Para confirmar isso, Nardi *et al.* (2016) utilizaram um grupo controle com 34 mulheres férteis e outro grupo com 49 mulheres com falha de implantação, para quantificar a concentração de HLA-G solúvel foi empregado o imunoenensaio enzimático sanduíche (ELISA) e realizaram a genotipagem do polimorfismo em estudo através da extração do DNA do sangue periférico através da precipitação salina. Foi observado que as mulheres com falha de implantação tinham concentrações elevadas de HLA-G solúvel e o alelo 14pb era mais frequente, então eles sugeriram que o polimorfismo 14pb pode influenciar no processo de liberação e expressão do HLA-G, mostrando como essa molécula é importante para a tolerância materno fetal e no sucesso da gravidez.

Conforme as informações abordadas sobre as funções do HLA-G e como são importantes para uma gestação bem sucedida, gerando a tolerância materno-fetal, também existem outros elementos os quais vão exercer um papel importante para o processo de tolerância, como por exemplo as células Natural Killers uterinas.

6. AÇÃO DAS CÉLULAS NATURAL KILLER UTERINAS

Outro mediador importante para que ocorra o sucesso na gravidez e mantenha a tolerância materno-fetal é a célula Natural Killer uterina (uNK). Ainda é incerto a origem dessas células, não é bem esclarecido na literatura se acontece uma diferenciação no útero da célula NK em uNK ou se é recrutada uma célula precursora pelo endométrio (Bulmer *et al.*, 2019).

Inicialmente, essas células eram descritas com o potencial de matar células cancerígenas e células infectadas com patógenos (Kock *et al.*, 2013). Atualmente sabe-se que suas funções também são para remodelação das arteríolas espiraladas, em que haverá produção de fatores angiogênicos como sendo um fator de crescimento endotelial vascular, criando um ambiente pró-invasivo para o Trofoblasto (Freitag *et al.*, 2020). Essa importância das células uNK no desenvolvimento das artérias espiraladas é visto nos resultados como os descritos por Fraser e colaboradores (2012).

Fraser *et al.* (2012) queriam descobrir o impacto das células uNK no estabelecimento de uma gravidez saudável e no remodelamento prejudicado das artérias espiraladas. Para isso, eles isolaram células natural killers da decídua de mulheres que interromperam a gravidez entre a 9^o e 14^o semanas, realizaram a ultrassonografia Doppler para verificar a quantidade do fluxo sanguíneo nas artérias e separaram os grupos em casos de alto e baixo índices de resistências na artérias uterinas. Utilizaram o Doppler para classificar as gestações em normais e com resistência aumentada, pois ele consegue visualizar o fluxo sanguíneo, já que durante uma gestação sem complicações, a remodelação dos vasos gera um aumento desse fluxo, diminuindo a resistência. Eles descobriram que em uma gestação com desafios, as células uNK possuem dificuldade em induzir a motilidade do trofoblasto e também têm obstáculos em revestir as artérias espiraladas, já que ocorre um desregulamento da apoptose desses vasos.

Essas células são consideradas uma força positiva para a gravidez saudável, expressando uma variedade de receptores incluindo os receptores semelhantes à imunoglobulina leucocitária (LILRs) que vão reconhecer o HLA- E, G e C, os quais são expressos pelo Trofoblasto (Bulmer *et al.*, 2019), levando ao processo de tolerância.

Em uma gravidez saudável, as células uNK são capazes de tolerar antígenos paternos ao mesmo tempo que devem eliminar qualquer ameaça de patógenos, como por exemplo do Citomegalovírus e *Toxoplasma gondii* (Bulmer *et al.*, 2019). Existem alguns mecanismos que impedem a célula uNK de se tornarem citotóxica, um exemplo disso é citado no estudo de El Costa e colaboradores (2008).

El costa *et al.* (2008) queriam descobrir como as células uNK não se tornam citotóxicas para a gravidez, apesar de possuir citocinas. Para entender como isso é controlado, eles analisaram quais receptores nas dNK, um subtipo das uNK, contribuem para sua capacidade citotóxica. Utilizaram uma técnica de citometria de fluxo e identificaram um conjunto único de receptores inibidores nas dNK de todos os doadores testados. Eles descobriram que nas dNK recém-isoladas, a ativação específica dos receptores NKp46 desencadeou o aumento do cálcio intracelular, mobilização da proteína perforina, liberação de grânulos citotóxicos e destruição eficaz de células-alvo. Além disso, observaram que a capacidade citotóxica mediada pelo receptor NKp46 era reforçada pelo receptor CD2, mas consideravelmente inibida quando NKG2A estava envolvido. Por outro lado, descobriram que o engajamento do receptor NKp30, nas dNK, estimulou a produção de moléculas pró-inflamatórias, como IFN-gama e TNF-alfa. Esses resultados apontam para a importância diferenciada dos receptores ativadores NKp46 e NKp30 nas dNK, controlando aspectos cruciais da gravidez e a resposta a patógenos nas células uterinas.

Descobertas interessantes a respeito da capacidade de memória das células uNK foram descritas por Gamliel e colaboradores (2018). Eles levantaram a hipótese de que as células uNK conseguiriam alcançar um resultado mais rápido e eficiente nas futuras gestações. Para isso, isolaram linfócitos da decídua de mulheres na primeira gestação e de mulheres em subseqüentes gestações e marcaram o CD56. Eles descobriram que as mulheres que estavam nas suas seguintes gestações, apresentaram maior quantidade de células uNK, podendo ser um indicativo de maior sucesso na gravidez.

Diante dessas informações, as células uNK são cruciais para manter a tolerância materno-fetal, desempenhando papéis na remodelação das arteríolas espiraladas, na produção de fatores angiogênicos, na tolerância materno-fetal e na eliminação de patógenos. Existem mecanismos de controle que impedem que as uNK se tornem citotóxicas durante a gravidez, como a interação com o HLA-G,

inibindo essa célula. Além disso, as uNK possuem capacidade de memória, o que pode contribuir para o sucesso em futuras gestações, como indicado pelo aumento na quantidade de células uNK em mulheres em gestações subsequentes.

Além das células uNK que ajudam no processo de tolerância, o linfócito T-helper também contribui para o sucesso gestacional através de uma resposta inflamatória.

7. RESPOSTA INFLAMATÓRIA DURANTE A IMPLANTAÇÃO

As células T são linfócitos, pertencentes ao sistema imune adaptativo, que vão amadurecer no Timo e são ativadas por meio da apresentação de antígenos realizado pelas células Dendríticas nas células T *naive*, ou também chamadas de células T virgens, ocorrendo, logo após a apresentação, expansão clonal e secreção de citocinas (Figueiredo, 2016).

Quando as células *naive* são estimuladas pela IL-12 e Interferon-gama, elas se diferenciam em células Th1. Em contrapartida, se houver estimulação pela IL-4 vai induzir a resposta de células Th2 e também quando houver estimulação do TGF-Beta nas células T *naive* vai induzir a resposta de células Treg. Se a estimulação for de TGF-Beta junto com a presença do IL-6 a resposta, nesse caso, será de células Th17 (Figueiredo, 2016). Esse mecanismo de diferenciação celular é representado na figura 3 abaixo.

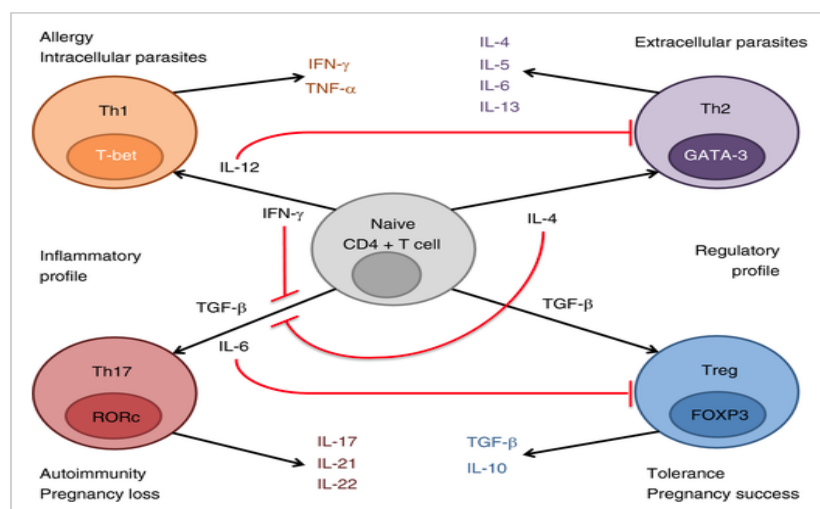


Figura 3. Diferenciação das células T helper (Th) em Th1, Th2, Th17 e T regulador (Treg) a partir da célula *naive*. Regulação imunológica na gestação: Células *naive* estimuladas por IL-12 e Interferon-gama diferenciam-se em Th1, enquanto IL-4 induz Th2. TGF-Beta leva a células Treg e TGF-Beta com IL-6 resulta em células Th17. O equilíbrio entre perfis inflamatórios e anti-inflamatórios é crucial para uma gestação saudável. A desregulação pode afetar a tolerância ao feto e citocinas pró-inflamatórias como TNF-alfa, IL-6, IL-8 e IL-15 desempenham papel na receptividade do blastocisto e invasão do trofoblasto. Fonte: Figueiredo, 2016.

Para que aconteça uma gestação saudável deve haver um balanço entre as células de perfis inflamatórias e de perfil anti-inflamatório e quando há uma desregulação nesse equilíbrio, pode prejudicar a tolerância ao feto (Ribeiro, 2021). A liberação de mediadores inflamatórios, notadamente citocinas pró-inflamatórias como TNF-alfa, IL-6, IL-8 e IL-15, desempenha um papel significativo na regulação da receptividade do blastocisto e na invasão do trofoblasto (Norwitz *et al.*, 2015). Um exemplo da importância das citocinas no sucesso da implantação, principalmente da IL-15 e do LIF (Fator Inibidor de Leucemia), é descrito no estudo da Mariee e colaboradores (2012).

Mariee *et al.* queriam descobrir a relevância do IL-15 e do LIF na falha de implantação recorrente. Para isso, as mulheres foram separadas em dois grupos e realizado uma biópsia endometrial; o grupo controle seriam 15 mulheres férteis, com ciclo menstrual regulado, uma gestação de sucesso e nenhum histórico de perda gestacional e o outro grupo seriam 45 mulheres com RIF. Para verificar a expressão de IL-15 e LIF foi realizado imunoistoquímica, utilizando uma análise de escore H para quantificar a quantidade e intensidade da coloração. Os resultados mostram que houve uma significativa diminuição na expressão de LIF e um aumento na expressão de IL-15 em mulheres com problemas de fertilidade, já que a IL-15 desempenha um papel importante no controle da proliferação e função das células uNK.

A importância do TNF-alfa na inflamação materna também foi demonstrada no estudo de Kwon e colaboradores (2023), eles queriam associar certos polimorfismos genéticos com a falha de implantação recorrente. Para isso, investigaram 151 mulheres com falha de implantação e 321 mulheres saudáveis e realizaram a genotipagem dos DNA dos leucócitos. Eles descobriram que

principalmente os polimorfismos STAT3 rs1053004, IL-6 rs1800796 e TNF- α rs1800629 estão associados com a prevalência de RIF, já que o STAT3 normalmente está associado a diminuição do risco de falha de implantação e o polimorfismo do genótipo IL-6 e TNF- α induzem inflamação (Figura 4).

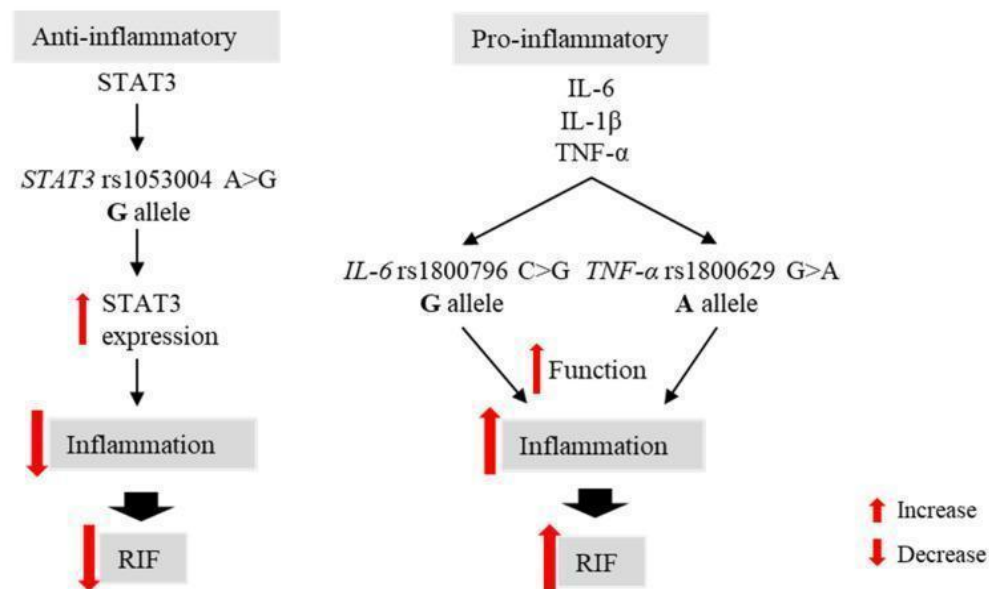


Figura 4. Polimorfismos STAT3, IL-1 β , IL-6 e TNF- α na inflamação e falha recorrente de implantação. Essa imagem destaca o papel crucial do TNF-alfa na inflamação materna, especialmente em casos de falha de implantação recorrente (RIF). Polimorfismos genéticos, como STAT3 rs1053004, IL-6 rs1800796 e TNF- α rs1800629, foram associados à prevalência de RIF. Enquanto STAT3 está vinculado à redução do risco de falha de implantação, os polimorfismos IL-6 e TNF- α são relacionados à indução de inflamação. Fonte: Kwon, 2023.

A conquista de uma gestação bem-sucedida está intrinsecamente vinculada a um equilíbrio entre as respostas imunes Th1 e Th2 (Norwitz *et al.*, 2015). Ao longo do primeiro trimestre gestacional, prevalece uma resposta inflamatória de perfil Th1, que é fundamental para permitir a diferenciação e a invasão do trofoblasto na decídua. Essa fase também testemunha a remodelação das arteríolas espiraladas e a regeneração do epitélio uterino, ajustes essenciais durante os processos de Nidação e invasão (Silva, 2022).

Uma vez estabelecido no tecido, o ambiente se modifica para favorecer uma resposta anti-inflamatória de natureza Th2 (Abu-Raya B., 2020). Durante o período

gestacional, a resposta Th2 é conduzida pela síntese e liberação de citocinas como Interleucina-4 (IL-4), Interleucina-5 (IL-5), Interleucina-10 (IL-10) e TGF-Beta. Essa mudança de perfil proporciona um mecanismo de feedback negativo em relação à resposta Th1 que predominou inicialmente. A influência dos hormônios gestacionais, como o aumento dos níveis de estrogênio e progesterona, contribui para a inibição da resposta Th1 e para a intensificação da produção de citocinas associadas à resposta Th2, como por exemplos as citocinas IL-10 e IL-4 (Vianna et al., 2007).

Enquanto a IL-4 está associada a doenças alérgicas e infecções por helmintos, dado o seu papel na switch de classe de linfócitos B para a produção de IgE e na ativação de eosinófilos via IL-5, também desempenha um papel crucial no feedback positivo para a via Th2. Por sua vez, a IL-10 inibe a atividade dos macrófagos e suprime a resposta Th1 (Abbas AK., 2021).

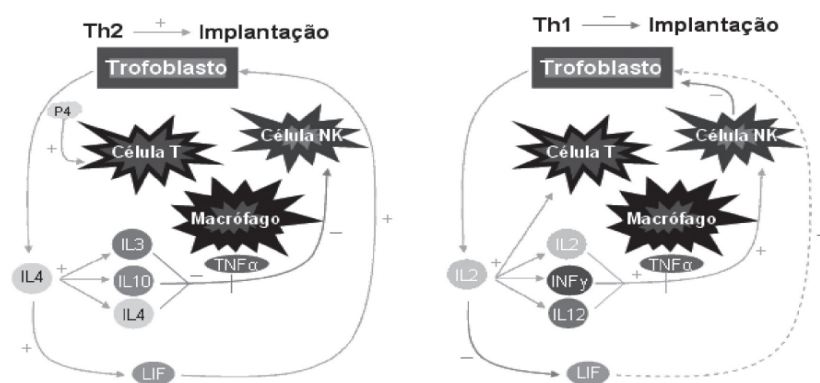


Figura 5. Citocinas liberadas pelas células T relacionadas a implantação do blastocisto. No processo de implantação do blastocisto, as citocinas Th2 (IL-3, 4 e 10), liberadas pelas células T, desempenham um papel crucial ao favorecer o crescimento do trofoblasto, inibindo, assim, a atividade das células NK. Em contraste, as citocinas Th2 (IL-2, IL-12 e INF γ), também liberadas pelas células T, atuam de forma contrária, impedindo a gestação ao danificar o trofoblasto por meio da estimulação das células NK.

As citocinas IL-3, 4 e 10, liberadas pelo Th2, ajudam na implantação do Blastocisto, promovendo o crescimento do Trofoblasto por meio da inibição da atividade das células uNK e também os macrófagos também contribuem para essa inatividade das uNK ao liberar o TNF-alfa. Além disso, o trofoblasto também induz a a ativação do perfil anti-inflamatório através da citocina IL-4 (Figura 5) (Neves et al., 2007).

Estudos em modelos murinos têm demonstrado que a predominância das citocinas envolvidas na resposta Th2 é crucial para prevenir complicações como abortos e o desenvolvimento de distúrbios como o Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) durante a gestação. Portanto, um padrão de expressão Th2 mais proeminente em relação à resposta Th1 está associado a um desfecho gestacional bem-sucedido (Figura 6) (Santo, J. 2015).

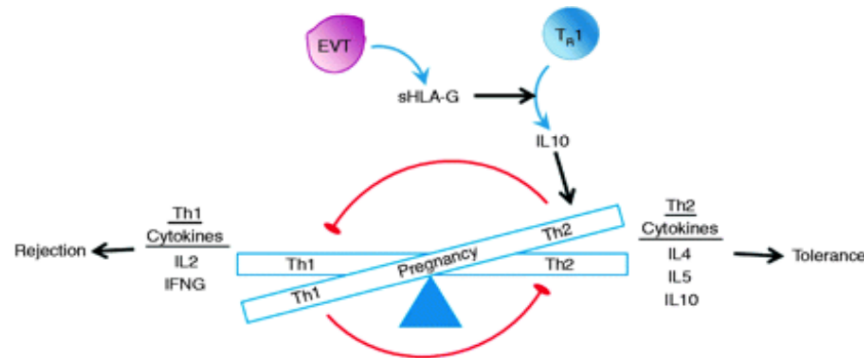


Figura 6. Balanço dos linfócitos Th1 e Th2 durante a gravidez associado ao sucesso ou rejeição gestacional, mostrando uma tendência a um perfil de resposta Th2. Equilíbrio de citocinas na implantação: Citocinas liberadas pelo Th2 facilitam a implantação do Blastocisto, inibindo as células uNK e também os macrófagos, ao liberar TNF-alfa, contribuem para a inatividade das uNK. Em modelos murinos, predominância de citocinas Th2 previne complicações gestacionais, destacando a importância do padrão Th2 para um desfecho gestacional bem-sucedido. Fonte: Warning, 2011.

Os linfócitos Th17 são um subtipo de células do sistema imune adaptativo que desempenham um papel crucial na resposta imune mediada por citocinas. Tem sido um objeto de estudo no contexto gestacional devido a sua possível influência na manutenção da gravidez. Os Th17 desempenham um papel duplo nesse cenário que podem estar envolvidos na defesa de infecções durante a gravidez, porém como apresenta secreção de IL-17, citocina relacionada a processo inflamatório, pode levar a complicações gestacionais como Pré Eclâmpsia e parto prematuro (SAITO, 2010).

Linfócitos Th17 terão sua diferenciação, a partir das células T *naive*, induzida pela IL-6 junto com o TGF-Beta, assim começará a expressar citocinas da família IL-17, ou seja, inflamatórias (Yu,N., 2012).

Esse balanço de células anti-inflamatórias/ células inflamatórias, também conta com a presença de Linfócitos Treg, as quais são diferenciadas com a ação da TGF-Beta. Assim vão secretar a IL-10, citocina anti-inflamatória, a qual vai promover um feedback negativo de citocinas pró inflamatórias. Estas células Treg são em maior número durante o primeiro e segundo trimestre, que ao longo da gestação vão diminuindo até o final da gravidez (Lu, H., 2019).

O equilíbrio entre células Th17 e Treg é o que vai, também, mediar a tolerância materno-fetal sem ter o comprometimento causado por infecções e doenças durante a gravidez e a expressão de Treg vai permitir que haja supressão da resposta imune efetora materna (Figueiredo, 2016).

Com base nas informações citadas anteriormente, o HLA-G, as células uNK e a resposta inflamatória são elementos essenciais para que haja uma gestação bem sucedida desde o momento da implantação até o processo de tolerância imunológica. No entanto, se houver algum desses fatores do sistema imune desregulados ou até mesmo interferência de fatores externos como o tabagismo e a idade materna avançada podem influenciar no processo gestacional ou até mesmo levar à falha da Implantação.

8. FALHA DE IMPLANTAÇÃO

A falha de implantação é definida quando ocorrem 3 tentativas fracassadas de Fertilização *in vitro* em um casal saudável (Orvieto *et al.*, 2015). Alguns fatores podem contribuir para a falha de implantação como a idade materna, o IMC, o tabagismo e o sistema imunológico, como explicado anteriormente.

O aumento da idade da mulher também foi associado à qualidade do embrião e à diminuição da taxa de parto (Salumets *et al.*, 2006). À medida que a idade avança, observa-se uma queda significativa na taxa de fertilização, quantidade e viabilidade embrionária (Tan *et al.*, 2014). A idade materna avançada influencia a qualidade dos embriões e a quantidade de mutações cromossômicas que poderão ocorrer e essa importância no sucesso da gravidez é visto no estudo de Taranissi e colaboradores (2005).

Taranissi *et al.* queriam descobrir se a idade materna poderia interferir nas aneuploidias e na falha de implantação recorrente. Para isso, foram verificados 130 ciclos e dividiram as mulheres em dois grupos: grupo A com mulher até 40 anos e

grupo B com mulheres acima de 41 anos. Os resultados nos mostram que o grupo A obteve uma melhor qualidade de óvulos e altas taxas de transferência de embriões, já o grupo B tiveram taxas de sucesso mais baixas. Dito isso, concluíram que mulheres mais velhas têm uma probabilidade maior de enfrentar desafios e possuem taxas de falha de implantação maiores.

O índice de massa corporal elevado também contribui para a falha de implantação, como mostrado no estudo de Orvieto e colaboradores (2009). Eles verificaram que em 516 ciclos, separados em grupos de mulheres com $IMC < 30$ e $IMC > 30$, a taxa de gestação foi de 27,9% para mulheres não obesas e 15,4% para mulheres obesas e as mulheres obesas precisam de um estímulo hormonal maior e apresenta taxas de fertilização menores.

Apesar dos resultados dos estudos mostrarem que o IMC tem relação com o não sucesso da gravidez, Goldman e colaboradores (2015) mostraram que o IMC elevado não influenciou na aneuploidia embrionária. Haghghi e colaboradores (2012) realizaram um estudo com 230 mulheres no seu primeiro ciclo de Fertilização *in vitro* e mostraram que o IMC alto não teve influência nesse procedimento. Apesar de descobrirem uma diferença significativa na espessura do endométrio, concluíram que o IMC não influencia na taxa de gestação clínica, mas a perda de peso em mulheres obesas pode prevenir possíveis complicações.

O tabagismo pode aumentar a restrição de crescimento intrauterino do feto e aumentar as chances de ocorrer um parto prematuro (Hammoud *et al.*, 2005), pois os elementos nocivos presentes no cigarro podem interferir no desenvolvimento do corpo lúteo e na eficácia da implantação do embrião (Cnattingius *et al.*, 2004). O monóxido de carbono e a nicotina podem ser os principais responsáveis pelos abortos espontâneos, pois o monóxido de carbono diminui o oxigênio disponível para o feto e a nicotina leva à constrição dos vasos sanguíneos, consequentemente diminuindo os nutrientes do feto (Anblagan *et al.*, 2013).

Assim, a falha na implantação recorrente é uma preocupação em comum na maioria das mulheres, levando-as a procurarem, por meio de investigações diagnósticas, maneiras de tratamento e terapia para esse problema a fim de garantir uma gestação bem sucedida.

9. TRATAMENTO E TERAPIA PARA FALHA DE IMPLANTAÇÃO

A falha na Implantação Recorrente (RIF) é uma preocupação enfrentada por vários casais que vão buscar tratamentos para melhorar a probabilidade de uma gravidez. A sua ocorrência levanta necessidade de investigações diagnósticas aprimoradas e o desenvolvimento de tratamento alternativos para aumentar a chance de sucesso, incluindo uso de gonadotrofina coriônica humana intrauterina (hCG), teste genético pré-implantacional para aneuploidia (PGT-A), ferramentas "Omics" (como Genômica, Transcriptômica, Proteômica, Metabolômica) e outras técnicas. No entanto, os resultados encontrados precisam de mais análises em ciclos de FIV/ICSI (Dieamant *et al.*, 2019).

As terapias e intervenções propostas para RIF podem ser agrupadas nessas categorias:

1. Tecnologias e intervenções laboratoriais: envolve técnicas laboratoriais, como a transferência embrionária sequencial, meio de cultura enriquecido com ácido hialurônico, cocultura de células embriões-cúmulos autólogas, injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionado (IMSI), estágio de blastocisto TE, transferência intrafalópica de zigoto para trompa de Falópio (ZIFT), eclosão assistida (AH) e teste genético pré-implantacional para aneuploidias (PGT-A).
2. Terapias Imunomoduladoras: Mononucleares do Sangue Periférico (PBMC), Tacrolimus, Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos (G-CSF), infusão intrauterina de Plasma Rico em Plaquetas (PRP) autólogo, injeção intrauterina de Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG), Heparina de Baixo Peso Molecular (HBPM) e Aspirina.
3. Tratamentos que melhoram a Receptividade Endometrial ou Identificam a Janela de Implantação Endometrial: Hormônio de Crescimento (GH) intramuscular, Sildenafil vaginal e o Conjunto de Receptividade Endometrial (ERA). (Busnelli *et al.*, 2021)

As intervenções mencionadas anteriormente são consideradas promissoras, porém os médicos enfrentam desafios ao orientar pacientes devido à uma variedade de opções e à falta de comprovação de eficácia em muitos casos (Busnelli *et al.*, 2021).

Três terapias tem se destacado como promissoras para os casos de RIF, como o Plasma Rico em Plaquetas (PRP), Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos (G-CSF) e a Infusão Intrauterina de Células Mononucleares do sangue Periférico (PBMC).

O PRP é derivado do sangue total fresco e contém fatores de crescimento e citocinas que podem melhorar a receptividade endometrial, regulando a migração, fixação, proliferação, diferenciação e neoangiogênese das células endometriais. Estudos indicam que o PRP pode melhorar os resultados clínicos em pacientes com endométrio fino e também sugerem que a aplicação de PRP antes do processo de implantação pode potencialmente melhorar a receptividade endometrial, enquanto outros estudos estão explorando a aplicação durante o ciclo menstrual. (Busnelli *et al.*, 2021).

O G-CSF é uma citocina produzida por células do tecido reprodutivo e promove a imunomodulação endometrial, otimizando a interação entre o embrião e o endométrio (Dieamant *et al.*, 2019). Estudos sugerem que o G-CSF está associado a maiores taxas de gravidez e menores taxas de aborto espontâneo (AREFI *et al.*, 2018).

Kamath e colaboradores (2020) demonstraram que em mulheres com duas ou mais falhas de fertilização *in vitro*, a administração de G-CSF pode melhorar a RCP versus placebo. Foi observado que das duas possíveis vias de administração, a única potencialmente eficaz parece ser a sistêmica. É importante ressaltar que a magnitude do efeito foi considerável e, como consequência, atualizamos a qualidade da evidência para moderada. Infelizmente, nenhum dado sobre a taxa de nascidos vivos pode ser extraído dos estudos incluídos que investigaram esta via de administração, o que pode prejudicar o convencimento da análise. As razões para as discrepâncias entre os efeitos da administração sistêmica e intrauterina ainda não foram totalmente elucidadas. Pode-se especular que, quando administrado sistemicamente, o G-CSF tem um efeito positivo na maturação dos oócitos e no desenvolvimento embrionário, enquanto em aplicações locais na cavidade endometrial, os oócitos e os embriões são privados desse suporte positivo.

A PBMC também mostrou-se eficaz para a RIF, melhorando a chance de gravidez e nascimento vivo (Busnelli *et al.*, 2021). Pourmoghadam e colaboradores (2020) demonstraram em uma meta-análise o efeito benéfico em mulheres que apresentaram pelo menos três falhas e ainda o Nobijari e colaboradores (2019)

conseguiram fortalecer as evidências ao relatar as chances de nascidos vivos com essa técnica.

Embora todas essas técnicas sejam promissoras para aumentar a chance de ocorrer uma gravidez, estas precisam ensaios clínicos de alta qualidade a fim de relatar a gravidez em curso ou taxa de nascidos vivos como desfecho primário e evidenciar efeitos adversos com maiores e menores administrações no paciente (Busnelli *et al.*, 2021).

10. CONCLUSÃO

O processo de implantação e a gestação apresenta vários fatores que podem influenciar no sucesso ou na perda do feto. O sistema imune é um dos principais elementos que pode acarretar, já desde no início, no sucesso gestacional com o processo de tolerância materno-fetal pela ação do HLA-G, células uNK e resposta inflamatória mediada por Linfócitos T.

Dessa forma, o HLA-G presente nas células do trofoblasto contribuem para a tolerância materno fetal através da modulação no padrão de citocinas, inibindo a atividade lítica causada pelas células Natural Killers uterinas (uNK), impedindo a fagocitose e a apresentação de peptídeos para as células T. Essas ações foram demonstradas por experimentos de Radwan (2022) e Kotze (2013), através dos testes de ELISA, que com a presença dessa molécula em mulheres que não apresentavam falha na implantação, houve uma garantia de uma gestação bem sucedida.

Além disso, as células uNK vão tolerar os antígenos paternos, remodelar as artérias espiraladas e também manter o equilíbrio entre células de perfis anti-inflamatórias, isso também foi demonstrado em experimentos de Fraser (2012) utilizando a ultrassonografia Doppler para verificar a quantidade do fluxo sanguíneo nas artérias descobrindo que essas células numa gestação sem complicações, leva a remodelação dos vasos. Além disso, em outro experimento foi mostrado que as células uNK não se tornam citotóxicas para a gravidez, apesar de possuir citocinas.

Os perfis inflamatórios, também, são essenciais para ajudar na implantação durante a gestação, onde para ter uma garantia de sucesso gestacional é necessário um equilíbrio entre células de perfis anti-inflamatórias, como o Th2 e

Treg, e células de perfis inflamatórias, como a Th1 e Th17, porém tendo maior tendência de perfil anti-inflamatório.

Se houver uma falha no sistema imunológico, na tolerância materno-fetal ou até mesmo em fatores externos como o tabagismo e a idade materna elevada podem acarretar na falha na implantação recorrente, precisando que a mãe necessite de tratamentos para ter uma maior chance de ter uma gestação saudável. Diante disso, como tratamentos mais eficazes podem incluir o Plasma Rico em Plaquetas (PRP), Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos (G-CSF) e a Infusão Intrauterina de Células Mononucleares do sangue Periférico (PBMC).

11. REFERÊNCIAS

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. **Cellular and Molecular Immunology**. 10th ed. Editora Saunders; 2021 Feb.

Abu-Raya B, Michalski C, Sadarangani M, Lavoie PM. **Maternal Immunological Adaptation During Normal Pregnancy**. *Front Immunol*. 2020 Oct 7;11:575197. doi: 10.3389/fimmu.2020.575197. PMID: 33133091; PMCID: PMC7579415. <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/247990/TCC%20Modula%20Imunol%20na%20Gesta%20-%20Completo%20%282%29%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

AREFI, S. et al. **Granulocyte-colony stimulating factor may improve pregnancy outcome in patients with history of unexplained recurrent implantation failure: An RCT**. *International journal of reproductive biomedicine*, v. 16, n. 5, p. 299–304, 2018.

Bahrami-Asl Z, *et al*. **Tacrolimus Improves the Implantation Rate in Patients with Elevated Th1/2 Helper Cell Ratio and Repeated Implantation Failure (RIF)**. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2020 Aug;80(8):851-862. doi: 10.1055/a-1056-3148. Epub 2020 Aug 14. PMID: 32817992; PMCID: PMC7428373.

BARBIERI, R. L. **The endocrinology of the menstrual cycle**. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), v. 1154, p. 145–169, 2014.

Bashiri, A. Halper, K.I. & Orvieto, R. **Recurrent Implantation Failure-update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions**. *Reprod Biol Endocrinol* 16, 121 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0414-2>

Bulmer JN, Lash GE. **Uterine natural killer cells: Time for a re-appraisal?** *F1000Res*. 2019 Jul 2;8:F1000 Faculty Rev-999. doi: 10.12688/f1000research.19132.1. PMID: 31316752; PMCID: PMC6611138.

BUSNELLI, A. et al. Efficacy of therapies and interventions for repeated embryo implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, 18 jan. 2021.

Busnelli A, Reschini M, Cardellicchio L, Vegetti W, Somigliana E, Vercellini P. **How common is real repeated implantation failure? An indirect estimate of the prevalence**. *Reprod Biomed Online*. 2020 Jan;40(1):91-97. doi: 10.1016/j.rbmo.2019.10.014. Epub 2019 Oct 29. PMID: 31924493.

CNATTINGIUS, S. **The epidemiology of smoking during pregnancy: Smoking prevalence, maternal characteristics, and pregnancy outcomes.** *Nicotine & Tobac*

Conforti-Andreoni C, Spreafico R, Qian HL, Riteau N, Ryffel B, Ricciardi-Castagnoli P, Mortellaro A. Uric acid-driven Th17 differentiation requires inflammasome-derived IL-1 and IL-18. *J Immunol.* 2011; 187:5842-5850.

Curigliano, G et al. Molecular pathways: Human Leukocyte Antigen G (HLA-G) *Clin Cancer Res*, v. 19, n. 20, p. 5564 - 5571, 2013.

Darmochwal-Kolarz D, Kludka-Sternik M, Tabarkiewicz J, Kolarz B, Rolinski J, LeszczynskaGorzela B, Oleszczuk J. The predominance of Th17 lymphocytes and decreased number and function of Treg cells in preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2012; 93:75-81.

DIEAMANT, F. et al. **New therapeutic protocol for improvement of endometrial receptivity (PRIMER) for patients with recurrent implantation failure (RIF) - A pilot study.** *JBRA Assisted Reproduction*, 2019.

DIEAMANT, F. et al. **New therapeutic protocol for improvement of endometrial receptivity (PRIMER) for patients with recurrent implantation failure (RIF) - A pilot study.** *JBRA Assisted Reproduction*, 2019.

EL COSTA, H. *et al.* **Critical and differential roles of NKp46- and NKp30-activating receptors expressed by uterine NK cells in early pregnancy.** *Journal of Immunology*, v. 181, n. 5, p. 3009–3017, 1 set. 2008.

Farren J, Mitchell-Jones N, Verbakel JY, Timmerman D, Jalnbrand M, Bourne T. **The psychological impact of early pregnancy loss.** *Hum Reprod Update.* 2018 Nov 1;24(6):731-749. doi: 10.1093/humupd/dmy025. PMID: 30204882.

Figueiredo AS, Schumacher A. The T helper type 17/regulatory T cell paradigm in pregnancy. *Immunology.* 2016; 148:13-21.

FRASER, R. *et al.* **Impaired decidual natural killer cell regulation of vascular remodelling in early human pregnancies with high uterine artery resistance.** *The Journal of Pathology*, v. 228, n. 3, p. 322–332, 18 jul. 2012.

Freitag N, *et al.* **Are uterine natural killer and plasma cells in infertility patients associated with endometriosis, repeated implantation failure, or recurrent pregnancy loss?** *Arch Gynecol Obstet.* 2020 Dec;302(6):1487-1494. doi:

10.1007/s00404-020-05679-z. Epub 2020 Jul 14. PMID: 32666129; PMCID: PMC7584523.

GAMLIEL, M. *et al.* **Trained Memory of Human Uterine NK Cells Enhances Their Function in Subsequent Pregnancies.** *Immunity*, v. 48, n. 5, p. 951-962.e5, 15 maio 2018.

GOLDMAN, K. N. *et al.* **Association of body mass index with embryonic aneuploidy.** *Fertility and Sterility*, v. 103, n. 3, p. 744–748, 1 mar. 2015.

Guillomot, *et al.* **Blastocyst development and implantation.** In *Reproduction in Mammals and Man*, pp 387–411. Eds. C Thibault, MC Levasseur & RHF Hunter. Paris: Ellipses. 1993

HAGHIGHI, Z.; REZAEI, Z.; ES-HAGHI ASHTIANI, S. **Effects of women's body mass index on in vitro fertilization success: a retrospective cohort study.** *Gynecological Endocrinology: The Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, v. 28, n. 7, p. 536–539, 1 jul. 2012.

HAMMOUD, A. O. *et al.* **Smoking in pregnancy revisited: Findings from a large population-based study.** *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, v. 192, n. 6, p. 1856–1862, jun. 2005.

Hosseini A, Dolati S, Hashemi V, Abdollahpour-Alitappeh M, Yousefi M. Regulatory T and T helper 17 cells: Their roles in preeclampsia. *J Cell Physiol.* 2018; 233: 6561-6573.

Kamath, M.S., Kirubakaran, R. & Sunkara, S.K. **Granulocyte-colony stimulating factor administration for subfertile women undergoing assisted reproduction.** *Cochrane Database Syst. Rev.* 1, CD013226 (2020). [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]

KAJIHARA, T. *et al.* **Androgens modulate the morphological characteristics of human endometrial stromal cells decidualized in vitro.** *Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, v. 21, n. 3, p. 372–380, 1 mar. 2014.

KOTZE, D. *et al.* **The effect of the biochemical marker soluble human leukocyte antigen G on pregnancy outcome in assisted reproductive technology—a multicenter study.** v. 100, n. 5, p. 1303–1309, 1 nov. 2013.

KWON, M. J. *et al.* **Genetic Association between Inflammatory-Related Polymorphism in STAT3, IL-1 β , IL-6, TNF- α and Idiopathic Recurrent Implantation Failure.** *Genes*, v. 14, n. 8, p. 1588, 1 ago. 2023.

Lu, H. Q., Hu, R. 2019. **The role of immunity in the pathogenesis and development of preeclampsia**. Scand J Immunol. 90, e12756.
https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/204965/ribeiro_vr_dr_bot_int.pdf?sequence=4&isAllowed=y

MARIEE, N.; LI, T. C.; LAIRD, S. M. **Expression of leukaemia inhibitory factor and interleukin 15 in endometrium of women with recurrent implantation failure after IVF; correlation with the number of endometrial natural killer cells**. Human Reproduction, v. 27, n. 7, p. 1946–1954, 26 abr. 2012.

Nancy, A., *et al.* **Embryo Implantation: War in Times of Love**. Endocrinology, Volume 159, Issue 2, February 2018, Pages 1188–1198,
<https://doi.org/10.1210/en.2017-03082>

NARDI, F. DA S. *et al.* **High Amounts of Total and Extracellular Vesicle-Derived Soluble HLA-G are Associated with HLA-G 14-bp Deletion Variant in Women with Embryo Implantation Failure**. American Journal of Reproductive Immunology, v. 75, n. 6, p. 661–671, 9 mar. 2016.

Neves, C. Medina, J. Delgado, J. **Alterações endócrinas e Imuno-modulação na Gravidez**. Serviço de Endocrinologia, Unidade de Investigação e Desenvolvimento Cardiovascular, Hospital de São João, Porto, Serviço de Imunologia. ISSN 0871-3413. 2007. Disponível em: <https://scielo.pt/pdf/am/v21n5-6/v21n5-6a07.pdf>

Nobijari FF, *et al.* **Endometrium immunomodulation by intrauterine insemination administration of treated peripheral blood mononuclear cell prior frozen/thawed embryos in patients with repeated implantation failure**. *Zygote*. 2019;**27**:214–218. doi: 10.1017/S0967199419000145. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

NORWITZ, E. R. *et al.* **Molecular Regulation of Parturition: The Role of the Decidual Clock**. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, v. 5, n. 11, p. a023143, 27 abr. 2015.

NOWAK, I. *et al.* **Association of Soluble HLA-G Plasma Level and HLA-G Genetic Polymorphism With Pregnancy Outcome of Patients Undergoing in vitro Fertilization Embryo Transfer**. Frontiers in Immunology, v. 10, 14 jan. 2020.

OJOSNEGROS, S. *et al.* **Embryo implantation in the laboratory: an update on current techniques**. Human Reproduction Update, v. 27, n. 3, p. 501–530, 21 abr. 2021.

OKADA, H.; TSUZUKI, T.; MURATA, H. **Decidualization of the human endometrium.** *Reproductive Medicine and Biology*, v. 17, n. 3, p. 220–227, 1 fev. 2018.

ORVIETO, R.; BRENGAUZ, M.; FELDMAN, B. **A novel approach to normal responder patient with repeated implantation failures – a case report.** *Gynecological Endocrinology*, v. 31, n. 6, p. 435–437, 3 mar. 2015.

ORVIETO, R. *et al.* **The influence of body mass index on in vitro fertilization outcome.** *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, v. 104, n. 1, p. 53–55, 28 out. 2008.

Palone, M.R.T. **Caracterização da expressão fisiológica do antígeno leucocitário humano G em órgãos humanos fetais e adultos.** Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2019. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17143/tde-12072019-093301/publico/MARCOSROBERTOTOVANIPALONEco.pdf>

Pazmany L, Mandelboim O, Valés-Gómez M, Davis DM, Reyburn HT, Strominger JL. **Protection from natural killer cell-mediated lysis by HLA-G expression on target cells.** *Science*. 1996 Nov 1;274(5288):792-5. doi: 10.1126/science.274.5288.792. PMID: 8864122.

Pourmoghadam Z, *et al.* **Efficacy of intrauterine administration of autologous peripheral blood mononuclear cells on the pregnancy outcomes in patients with recurrent implantation failure: A systematic review and meta-analysis.** *J. Reprod. Immunol.* 2020;137:103077. doi: 10.1016/j.jri.2019.103077. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

Radwan P, Tarnowska A, Piekarska K, Wiśniewski A, Krasiński R, Radwan M, Nowak I. **The impact of soluble HLA-G in IVF/ICSI embryo culture medium on implantation success.** *Front Immunol.* 2022 Nov 24;13:982518. doi: 10.3389/fimmu.2022.982518. PMID: 36505440; PMCID: PMC9730522.

RIBEIRO, V. R. UNESP. **Efeito imunomodulador da vitamina D e silibinina sobre subpopulações de células T CD4+ em gestantes portadoras de pré-eclâmpsia.** repositório.unesp.br, 26 maio 2021.

SAITO, S **Citokine Network at the feto-maternal interface.** *Journal of Reproductive Immunology*, 47(2):87-103, 2000
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0198885907001231>

SALUMETS, A. **Frozen embryo transfers: implications of clinical and embryological factors on the pregnancy outcome.** Human Reproduction, v. 21, n. 9, p. 2368–2374, 3 jun. 2006.

Santos J. Gravidez e sistema imunitário [Dissertação]. Porto: Universidade Fernando Pessoa; 2015

https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4829/1/PPG_17734.pdf

Silva, M. C. **Produção de citocinas inflamatórias e indução da transição epitelial-mesenquimal de células amnióticas no cenário de infecção polimicrobiana.** Repositório Institucional UNESP. 2022. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/236564>>.

TAN, T. *et al.* **Female ageing and reproductive outcome in assisted reproduction cycles.** Singapore Medical Journal, v. 55, n. 6, 30 jun. 2014.

TARANISSI, M.; EL-TOUKHY, T.; VERLINSKY, Y. **Influence of maternal age on the outcome of PGD for aneuploidy screening in patients with recurrent implantation failure.** Reproductive BioMedicine Online, v. 10, n. 5, p. 628–632, jan. 2005.

Vianna P, Dalmáz CA, Veit TD, Tedoldi C, Roisenberg I, Chies JAB.

Immunogenetics of pregnancy: Role of a 14-bp deletion in the maternal HLA-G gene in primiparous pre-eclamptic Brazilian women. Human Immunology [Internet]. 2007 Aug 01 [acesso em 2023 May 19]; 68(8):668–74. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0198885907001231>

Vianna P. Imunorregulação da gestação: rumo ao sucesso [tese de doutorado].

Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2011

<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/28434>

VERÍSSIMO, L. **A Modulação Imunológica da Gestação: uma revisão bibliográfica.** 29 jun. 2023. Disponível em:

<<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/247990>>

WANG, H.; DEY, S. K.; MACCARRONE, M. **Jekyll and Hyde: Two Faces of Cannabinoid Signaling in Male and Female Fertility.** Endocrine Reviews, v. 27, n. 5, p. 427–448, ago. 2006.

Yu, N., *et al.*, 2012. **CD4(+)CD25 (+)CD127 (low/-) T cells:** a more specific Treg population in human peripheral blood. Inflammation, 35, 1773-1780.

https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/204965/ribeiro_vr_dr_bot_int.pdf?sequence=4&isAllowed=y

Warning, J. C., Mccracken, S. A. e Morris, J. M. (2011). **A balancing act: mechanisms by which the fetus avoids rejection by the maternal immune system.** *Reproduction*, 141, pp. 715-724.

https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4829/1/PPG_17734.pdf