

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

Stipe Dumančić, dr. med.

**CD56-POZITIVNE NK STANICE I CD138-POZITIVNE PLAZMA
STANICE U BAZALNOJ DECIDUI I HISTOPATOLOŠKA OBILJEŽJA
POSTELJICA NAKON LIJEČENJA NEPLODNOSTI UZROKOVANE
ENDOMETRIOZOM**

DOKTORSKI RAD

Split, 2025.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

Stipe Dumančić, dr. med.

**CD56-POZITIVNE NK STANICE I CD138-POZITIVNE PLAZMA
STANICE U BAZALNOJ DECIDUI I HISTOPATOLOŠKA OBILJEŽJA
POSTELJICA NAKON LIJEČENJA NEPLODNOSTI UZROKOVANE
ENDOMETRIOZOM**

DOKTORSKI RAD

Mentorica:

Izv. prof. prim. dr. sc. Jelena Marušić, dr. med.

Split, 2025.

Rad je izrađen u Odjelu patologije Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju i Klinici za ženske bolesti i porode Kliničkog bolničkog centra (KBC) Split.

Mentorica: izv. prof. prim. dr. sc. Jelena Marušić, dr. med.

Izrada doktorskog rada temeljena je na rezultatima dvaju primarnih istraživanja:

1. **Dumancic S**, Pehlic M, Mijic P, Mimica MD, Zekic Tomas S, Marusic J. Histopathologic characteristics of term placentas in singleton pregnancies in women with endometriosis-related infertility after ART treatment: case-control study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2024 Aug;37(1):2385451. <https://doi.org/10.1080/14767058.2024.2385451>
- (JIF 2023 1.70, Q1, SCIE), Published: August 11th 2024
2. **Dumancic S**, Bakotin Jakovac M, Mimica MD, Zekic Tomas S, Marusic J. CD56-Positive NK cells and CD138-Positive Plasma Cells in Basal Decidua of Term Placentas in Singleton Pregnancies After Assisted Reproductive Technology Treatment of Endometriosis-Related Infertility. *Life.* 2025; 15(2):240. <https://doi.org/10.3390/life15020240>
- (JIF 2023 3.2, Q1, SCIE), Published February 5th 2025

ZAHVALE

Žene su nepresušan izvor inspiracija od davnina, ali je znanost ponekad lišena njihove prisutnosti. Znanost je poput ženskog roda izvor života, energije i znanja.

Zahvaljujem svojoj mentorici, izv.prof.prim.dr.sc. Jeleni Marušić, Učiteljici struke, znanosti i života. Hvala Vam što su nam se životi presreli u Splitu te otkrili ovaj značajan komadić znanja.

Na prilici. *Adeste amicis.*

Zahvaljujem doc.dr.sc. Sandri Zekić Tomaš, na obojanim savjetima i nesebičnoj požrtvovnosti.

Dvije boje, a bezbroj nijansi!

Zahvaljujem svim kolegama na nesebičnoj potpori prilikom izrade ovog rada:
izv.prof.prim.dr.sc. Marku Draženu Mimici za pojedine znanstveno-stručne detalje, liječnicama Marini Pehlić, dr.med., mr.sc. Marineli Bakotin Jakovac, dr.med., Zdenki Palčić, dr.med., Bruni

Lukšić, dr.med. za tekuće nedoumice te primaljama Rodilišta KBC-a Split.

Posebne zahvale upućujem prof.dr.sc. Ani Marušić poradi svakog poticaja i važnih životnih lekcija kao temelja znanstvenog djelovanja!

Hvala mojoj Obitelji. Izgradili ste me sposobnog za sve izazove.

Hvala mojim Prijateljima. Znate koji ste i što mi značite.

Hvala svim drugim Profesorima i kolegama tijekom školovanja i radnog staža.

Ovo znanje posvećujem svim ženama s endometriozom, s kojima sam se susreo te ću u budućnosti upoznati. Budite snažne!

Na kraju, ovo iskustvo posvećujem svojim mališanima. Sara i Petar, budite sigurni u sebe. Budite snažni pred svakim životnim izazovom. *Budućnost pripada onima koji vjeruju u ljepotu svojih snova*, rekla je Eleanor Roosevelt. Vjerujte također u njihovo izvršenje. Voli vas vaš striko.

POPIS KRATICA

TVS – transvaginalni ultrazvuk	VUE – vilitis nepoznate etiologije (engl. <i>Villitis of unknown etiology</i>)
MRI – magnetna rezonanca	FVM – fetalna vaskularna malperfuzija (engl. <i>Fetal vascular malperfusion</i>)
DIE – duboka infiltrirajuća endometrijoza	MVM – maternalna vaskularna malperfuzija (engl. <i>Maternal vascular malperfusion</i>)
ITM – indeks tjelesne mase	FPWR – feto-placentalni omjer (engl. Fetal-placental ratio)
SHBG – engl. sex hormone binding globulin	GDM – gestacijski dijabetes <i>mellitus</i>
IL – interleukin	CI – engl. coiling index, indeks zavojitosti
TNF – čimbenik nekroze tumora	PAS – engl. <i>Placenta accreta</i> spectrum
USL – uterosakralni ligamenti	PPROM – engl. preterm premature rupture of membranes, prijevremeno predterminsko prsnuće plodovih ovoja
RVS – rektovaginalni septum	CR – carski rez
OMA – ovarijska endometrijoza	T_H – pomagački T limfociti (<i>T_H helper</i>)
SPE – površinska peritonealna endometrijoza	IFN – interferon
PHA / PHD – patohistološka analiza / dijagnoza	HLA – engl. human leukocyte antigens
rASRM – revidirana klasifikacija prema Američkog Društva za Reproductivnu medicinu	MHC – engl. major histocompatibility complex
EFI – engl. endometriosis fertility index	TGF – transformirajući faktor rasta
p/u/d NK – engl. peripheral/uterine/decidual natural killer cells	KIR – engl. killer cell immunoglobulin-like receptors
RIF – engl. repeated implantation failures	VEGF – vaskularni endotelni faktor rasta
RPL – engl. recurrent pregnancy losses / habitualni pobačaji	MMP – metaloproteinaze
CD – engl. cluster of differentiation	IISE – engl. impaired inflammatory state of the endometrium
ESHRE – engl. European Society of Human Reproduction and Embriology	PCOS – sindrom policističnih jajnika
MPO – medicinski potpomognuta oplodnja	DOR – smanjena ovarijska rezerva
KOH – kontrolirana hiperstimulacija jajnika	HE – hemalaun-eozin bojenje
IVF – <i>in vitro</i> fertilizacija	SD – standardna devijacija
ET – embriotransfer	IQR – interkvartilni raspon
FET – engl. frozen embryo transfer	ANOVA – analiza varijance
hCG – humani korionski gonadotropin	ROC – krivulja operativnih karakteristika
HPL – humani placentni laktogen	SGA / LGA – engl. small / large for gestational age
PRL – prolaktin	ICSI – intracitoplazmatska injekcija spermija
Ig – imunoglobulin	NICU – engl. Neonatal Intensive Care Units
CTB / STB – citotrofoblast / sinciotrofoblast	DEG – engl. differentially expressed genes
EVT – ekstravilozni citotrofoblast	ER / PR – estrogenski / progesteronski receptor
DM – dijabetes <i>mellitus</i>	
PE – preeklampsija	
HELLP – engl. Hemolysis, Elevated Liver enzymes and Low Platelets	
PTB – engl. preterm birth / prijevremeni porođaj	
IUZR – intrauterini zastoj u rastu	

SADRŽAJ

1	UVOD.....	1
1.1	ENDOMETRIOZA	2
1.1.1	Epidemiologija i etiologija endometrioze	2
1.1.2	Klinička slika endometrioze	5
1.1.3	Patogeneza neplodnosti uzrokovane endometriozom	7
1.1.4	Liječenje neplodnosti uzrokovane endometriozom	9
1.2	POSTELJICA	11
1.2.1	Fiziologija posteljice.....	11
1.2.2	Razvoj i građa posteljice.....	11
1.2.3	Patologija posteljice.....	15
1.3	TRUDNOĆA	22
1.3.1	Fiziologija trudnoće	22
1.3.2	Fiziologija imunologije trudnoće.....	24
1.3.3	Patologija trudnoće	27
1.4	NK STANICE.....	29
1.4.1	Razvoj uNK stanica	29
1.4.2	Funkcije uNK stanica.....	30
1.5	PLAZMA STANICE	31
1.5.1	Razvoj i funkcije plazma stanica	31
1.5.2	Endometritis.....	32
1.6	TEORIJSKI REZIME	35
1.6.1	Endometrioza i trudnoća	35
1.6.2	Endometrioza i posteljice.....	35
1.6.3	Endometrioza i NK stanice	36
1.6.4	Endometrioza, plazma stanice i endometritis	36
2	CILJEVI I HIPOTEZE	38
2.1	HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA	39
2.2	CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	39
3	MATERIJALI I METODE	41
3.1	USTROJ ISTRAŽIVANJA	42
3.2	MATERIJALI ISTRAŽIVANJA	44
3.2.1	Ispitanice.....	44
3.2.2	Posteljice.....	45
3.3	METODE ISTRAŽIVANJA	45

3.3.1	Patohistološka analiza posteljice.....	45
3.3.2	Imunohistokemijska analiza.....	46
3.3.3	Statistička analiza podataka	46
4	REZULTATI.....	48
4.1	PROCES UKLJUČENJA ISPITANICA	49
4.2	KLINIČKE KARAKTERISTIKE ISPITANICA	51
4.3	PERINATALNE I PORODNIČKE KOMPLIKACIJE.....	53
4.4	HISTOPATOLOŠKE KARAKTERISTIKE POSTELJICA.....	55
4.5	BROJ CD56-POZITIVNIH NK STANICA U BAZALNOJ DECIDUI	61
4.6	BROJ CD138-POZITIVNIH PLAZMA STANICA U BAZALNOJ DECIDUI	64
4.7	ODNOS ENDOMETRIOZE I RAZVOJA HISTOPATOLOŠKIH LEZIJA POSTELJICA	68
4.8	ODNOS BROJA CD56-POZITIVNIH NK STANICA I HISTOPATOLOŠKIH LEZIJA POSTELJICA	69
4.9	ODNOS BROJA CD138-POZITIVNIH PLAZMA STANICA I HISTOPATOLOŠKIH LEZIJA POSTELJICA	71
5	RASPRAVA.....	72
6	ZAKLJUČCI.....	84
7	SAŽETAK	86
8	SUMMARY	89
9	LITERATURA	92
10	ŽIVOTOPIS	112

1.1 ENDOMETRIOZA

Endometrioza je javnozdravstveni problem kao jedan od najčešćih uzroka ženske neplodnosti (1). Obujam znanstvenih istraživanja o endometriozu nije toliko značajan, unatoč složenoj kliničkoj prezentaciji ove bolesti koja doprinosi težim zdravstvenim, psihološkim i socioekonomskim posljedicama u žena generativne dobi (2–4). Pacijentice s endometriozom prezentiraju se problemom cikličke i/ili kronične zdjelične boli te smanjene plodnosti odnosno neplodnosti. Stvaranjem cista na jajnicima, takozvanih endometrioma smanjuje se broj jajnih stanica, a stvaranjem priraslica u trbušnoj šupljini endometrioza oštećuje jajovode i ometa oplodnju. Pritom nije jasno zašto je kod ovih pacijentica poremećena kvaliteta jajnih stanica i sam proces implantacije zametka putem narušavanja komponenti receptivnosti endometrija za zametak (5,6). Osim negativnog utjecaja na plodnost, endometrioza se razmatra i kao rizični faktor razvoja komplikacija trudnoće (7,8).

1.1.1 Epidemiologija i etiologija endometrioze

Endometrioza je kronična bolest koja se primarno pojavljuje u žena reproduktivne (generativne) dobi i karakterizirana je prisutnošću te preživljenjem tkiva sličnog sluznici maternice, takozvanog endometrija, uključujući žlijezde i stromu, izvan maternice. Premda smatrana dobroćudnom bolesti, progresivnost i sklonost invaziji podležućih struktura i organa danas obilježavaju endometrioze kao potencijalno neoplastičan proces (9). Smatra se da prevalencija endometrioze u svijetu iznosi oko 10-15% žena generativne dobi, no raste u skupinama pacijentica s kroničnom zdjeličnom boli (engl. *chronic pelvic pain*) ili neplodnošću (engl. *endometriosis-related infertility*) između 15 i 75% (10–12). U asimptomatskih pacijentica, prevalencija se procjenjuje na oko 23% (10). Točna prevalencija ostaje nepoznata zbog dijagnostičkih poteškoća te postojanja različitih kriterija pri postavljanju dijagnoze, znanstvene metodologije pri istraživanju endometrioze te česte asimptomatske prirode ove bolesti. Istraživanja u kojima je korištena dijagnostička laparoskopija, kao zlatni standard u postavljanju dijagnoze endometrioze, češće prijavljuju više stope prevalencije endometrioze u odnosu na radiološke metode poput transvaginalnog ultrazvuka (engl. *transvaginal ultrasound*, TVS) ili magnetske rezonancije (engl. *magnetic resonance imaging*, MRI). Stoga stvarna prevalencija te incidencija endometrioze mogu biti podcijenjene. Bez obzira na izazove dijagnostike, endometrioza predstavlja značajan javnozdravstveni problem, osobito u zemljama u razvoju u

kojima je prevalencija viša nego u razvijenim zemljama (12,13). Endometrijoza je jedan od najčešćih uzroka ženskog faktora neplodnosti, odnosno smanjene plodnosti u žena generativne dobi, s prevalencijom između 25 do 50% ovisno o težini i lokaciji bolesti, zajedno s adenomiozom kao pridruženim entitetom unutar mišićnog sloja maternice (miometrija) (10–12). Težina endometrijoze negativno korelira s reproduktivnim ishodima, pri čemu je oblik duboke infiltrirajuće endometrijoze (DIE) povezan s najnižim stopama začeca u usporedbi s blažim oblicima bolesti (10).

AI i suradnici podijelili su rizične čimbenike za razvoj i komplikacije endometrijoze, kao i neplodnosti uzrokovane endometriozom, ovisno o životnim dobima žena, uključujući izloženost tijekom *in utero* i rane životne dobi, djetinjstva i adolescencije te odraslog razdoblja života, kao i prema snazi dokazi (1). Tijekom prenatalnog razdoblja i rane životne dobi ženski plodovi mogu biti izloženi dietilstilbestrolu (DES), sintetskom estrogenu putem izloženosti majke, s kojim je povezan povećan rizik razvoja endometrijoze u kasnijem životu žene putem povećane retrogradne menstruacije i imunološke disfunkcije (14). Također, zanimljivi su dokazi smanjenog rizika endometrijoze u plodova u trudnoćama pacijentica izloženih cigaretnom dimu, što može prikazati utjecaj pušenja na smanjenje razine estrogena tijekom trudnoće i važnosti hormonalnog mikrookoliša u etiologiji endometrijoze (15,16). Nekoliko istraživanja pokazalo je povećani rizik endometrijoze u žena s niskom porođajnom masom u odnosu na normalnu i povišenu porođajnu masu, što može pretkazati varijacije u *in utero* hormonalnom mikrookolišu ili dostatnosti krvne opskrbe ploda (15,17), uz nejasne rezultate povezanosti nezrelosti plodova (prematuriteta) i rizika endometrijoze (15,17,18). Tijekom djetinjstva i adolescencije pojavljuju se rizični čimbenici vezani uz menstrualni ciklus te antropometrijske mjere (1). Rana menarha i kraći menstrualni ciklusi (< 26 dana) tijekom kasne adolescencije značajno su povezani s povećanim rizikom endometrijoze, vjerojatno vezani uz utjecaj ranije i produžene izloženosti hormonalnim disbalansima i retrogradnim menstruacijama (19,20). Antropometrijske mjere pretkazane kao rizični čimbenici uključuju tjelesnu veličinu i visinu. Uočena je inverzna povezanost tjelesne veličine u djetinjstvu i adolescenciji s rizikom endometrijoze, kao i povećan rizik endometrijoze u visokih adolescentica i odraslih žena, što može ukazati na izloženost pacijentica faktorima rasta tijekom djetinjstva (21,22). Tijekom generativne dobi žene pojavljuju se drugi značajni rizični čimbenici uključujući kratke menstrualne cikluse, važnost pariteta i dojenja, debljinu, fizičku aktivnost, dijetalne čimbenike, dermatološki čimbenike, izloženost takozvanim okolišnim *endokrinim disruptorima*

uz pušenje, konzumaciju alkohola i kafeina, te noćni rad (1). Kratki menstrualni ciklusi u generativnoj dobi povezani su s većim rizikom endometrioze kao u ranijoj dobi, bez povezanosti s drugim karakteristikama ciklusa (neredoviti ciklusa, obilno krvarenje) (23). Trudnoća je vrijeme potencijalnog otkrivanja endometrioze, s obzirom na asimptomatski tijek bolesti odnosno u slučaju smanjene plodnosti. Međutim, zanimljivi su nalazi inverzne povezanosti pariteta i dojenja na rizik endometrioze, s obzirom na razvoj neplodnosti uzrokovane endometriozom (5,24). Duže razdoblje dojenja povezano je s nižim rizikom endometriozom, potencijalno uzrokovano postpartalnom amenorejom s obzirom na suprimiranje razvoja endometriotičnih žarišta rastućim razinama progesterona i/ili progesterona, uz utjecaj dojenja na smanjenje zdjelice boli uzrokovane endometriozom (25). Promatrajući utjecaj tjelesne težine, istraživanja su pokazala inverznu povezanost indeksa tjelesne mase (ITM) te omjera raspodjele potkožnog masnog tkiva u struku prema kukovima (engl. *waist-to-hip ratio*), s obzirom na značajniju povezanost potkožne masti s većim omjerom estrogena prema androgenima u odnosu na visceralnu mast (26–28). Povećana fizička aktivnost u odrasloj dobi možda je povezana sa smanjenim rizikom endometrioze, zbog utjecaja na sniženje estrogena u lutealnoj fazi te povećanje razine globulina koji veže spolne hormone (engl. *sex hormone binding globulin*, SHBG) (29,30). Dokazi povezanosti dijetalnih čimbenika i razvoja endometrioze su limitirani, ali niži rizik endometrioze prikazan je kod povećanog konzumiranja namirnica s dugolančanim omega-3 masnim kiselinama te povećan rizik s većim unosom trans masnih kiselina, s obzirom na stimulaciju lučenja proupalnih citokina (interleukina, IL-6, čimbenik nekroze tumora, TNF- α) (31,32). Druga istraživanja pokazala su suprotstavljajuće rezultate za druge namirnice (1). Dermatološke karakteristike koje se dovode u svezu s endometriozom uključuju osjetljivost kože i hipopigmentaciju struktura ektoderma, broj nevusa te obiteljsku anamnezu melanoma (33,34). Endokrini disruptori odnosno tvari koje potencijalno izazivaju hormonalne disbalanse te poremećaje imunološkog sustava u sklopu patogeneze endometrioze, danas su u fokusu brojnih istraživanja, a najpoznatiji predstavnici su poliklorirani bifenili (PCB) i dioksini (35–37). Istraživanja su pokazala varijacije utjecaja pušenja između plodnih i neplodnih pacijentica s endometriozom, potencijalno povezanih s varijacijama razina estrogena. Slično tome, pokazane su varijacije utjecaja konzumacije alkohola, kafeina i noćnog rada na rizik endometrioze, uz povezanost s neplodnosti uzrokovane endometriozom (16,26,38–40).

1.1.2 Klinička slika endometrioze

Anatomska raspodjela endometriotičnih lezija može varirati. Najčešće lokalizacije ektopičnog endometriotičnog tkiva su jajnici, jajovodi, peritoneum zdjelice (prednji i stražnji *cul-de-sac*) te uterosakralni ligamenti (engl. *uterosacral ligaments* – USL). Ostale lokalizacije uključuju rektovaginalni septum (engl. *rectovaginal septum/space* – RVS), ureter i mokraćni mjehur, ali se može razviti na površinama izvan zdjelice, primjerice na peritoneumu crijeva. Međutim, endometrioza se može razviti i izvan peritonealne šupljine te je invazija endometrioze opisana na perikardu, pleuri, u ožiljku prethodnih operacija (endometrioza umbilikusa, ožiljka carskog reza i epiziotomije), pa čak i u mozgu (41,42). Endometrioza se pojavljuje u tri osnovne kliničke forme: ovarijska endometrioza (engl. *ovarian endometrioma*, OMA), površinska peritonealna endometrioza (engl. *superficial peritoneal endometriosis*, SPE) te duboka infiltrirajuća endometrioza (engl. *deep infiltrating endometriosis*, DIE) s invazijom mokraćnog mjehura, uretera ili crijeva većom od 5mm (10). Izdvojena forma endometrioze s prisustvom endometriotičnog tkiva u mišićnom sloju maternice, takozvanom miometriju, obilježava adenomiozu (43).

Klinička slika endometrioze izrazito je heterogena. Simptomi variraju od asimptomatske prirode do izraženih oblika kronične zdjelične boli i smanjene plodnosti. Najčešće je zdjelična bol manifestirana dismenorejom (boli pri menstruacijskom krvarenju), dispareunijom (bol tijekom spolnog odnosa) i cikličkom boli (10). Ako se bolest ne prepozna i ne liječi, zdjelična bol poprima kroničan karakter razvojem neuropatske (neuroinflamatorne) podloge te ne prati obrazac menstruacijskog ciklusa i krvarenja (44). Naime, endometrioza je estrogen-ovisna bolest te je rast ektopičnih lezija stimuliran razinama estrogena poput fiziološkog endometrija, što pacijentice čini podložnima hormonskom liječenju (45,46). Ovisno o drugim lokalizacijama bolesti, pacijentice mogu prijaviti simptome boli prednjeg trbušne stijenke, diskezije (bol pri defekaciji) i dizurije (boli pri mokrenju). Najteže komplikacije DIE forme uključuju opstrukciju crijeva, hidronefrozu i bubrežnu insuficijenciju, uključujući ekstraperitonealne komplikacije poput katamenijalne hemoptize i ponavljanih pneumotoraksa (47–49). Osim tjelesnih simptoma, pacijentice s endometriozom učestalije prijavljuju simptome poremećaja mentalnog zdravlja (50,51).

Zlatni standard dijagnoze endometrioze jest vizualizacija endometriotičnih žarišta tijekom laparoskopskog liječenja, uz ekscizijsko liječenje i uzorkovanje istih za potrebe patohistološke

analize (PHA). Vizualizacijom se ektopična žarišta peritoneuma mogu opisati kao crvena, crna ili bijela endometrioza, što označava aktivnost patološkog procesa. Crvena (rana) žarišta najbližnja su eutopičnom endometriju kao prvi stadij bolesti u kojem je endometrioza svježe implantirana, aktivna uz izrazitu vaskularnost unutar strome žarišta. Preživljenjem implantiranih žarišta i daljnjim menstrualnim ljuštenjem potiče se neoangiogeneza te ožiljkavanje žarišta, čime je debris zadržan unutar lumena i čime poprima oznaku crne (uznapredovale) endometrioze. Kronicitetom upale dolazi do daljnje fibroze i devaskularizacije žarišta čime poprimaju obilježja latentne (inaktivne) endometrioze, a prema nekim autorima je oznaka rezolucije patološkog procesa (52–54). S obzirom na varijabilnost opsega (širina i dubina invazije) endometrioze te subjektivnosti procjene operatera pri vizualizaciji, razvijeno je nekoliko klasifikacijskih sustava težine endometrioze i pridruženih simptoma, a danas su najčešće u upotrebi revidirana klasifikacija prema ASRM-e (engl. *American Society for Reproductive Medicine*, rASRM), ENZIAN klasifikacija (#ENZIAN) s boljim opisom DIE-e te prognostički indeks plodnosti nakon kirurškog liječenja endometrioze – EFI (engl. *endometriosis fertility index*) (55–58). Prema rASRM-u, uz notiranje aktivnosti žarišta, endometrioza se prema procjeni zahvaćenosti peritoneuma, jajnika, i stražnjeg *cul-de-sac* klasificira u nekoliko stadija: minimalan stadij I, blagi stadij II, umjeren stadij III, teški stadij III, pri čemu su adhezije (jajnika, jajovoda i obliteracije Douglasovog prostora) označene kao kriterij uznapredovale bolesti (rASRM III/IV) (56). Unatoč jednostavnoj primjeni, rASRM ima ograničena zbog slabije korelacije sa simptomima endometrioze (npr. zdjeličnom boli i neplodnosti), limitiranom opisu opsega izvanzdjelične (retroperitonealne) DIE-e, što u konačnici smanjuje prognostičku vrijednost ishoda kirurškog liječenja, stope trudnoća i relapsa bolesti (59). Zbog razvoja kvalitetnije radiološke obrade endometrioze TVS-om i MRI-om te nedostatnosti procjene ovarijske, peritonealne endometrioze i zdjeličnih priraslica starijom ENZIAN, razvijena je robusna, revidirana #ENZIAN klasifikacija procjene težine endometrioze. Temeljena na primarnoj ENZIAN, #ENZIAN uključuje tri kompartimenta DIE-e (A: rodnic, RVS; B: USL, kardinalni ligamenti, zidovi zdjelice; C: rektum), druge lokacije poput F (engl. *far locations*; adenomiozu – FA, mokraćni mjehur – FB, ureter – FU, sigmoidni kolon i tanko crijevo – FI, druge ekstragenitalne lezije poput ošita, pluća, živaca – FO,), P (peritoneum), O (jajnik) te tubo-ovarijsku jedinicu (T) s procjenom priraslica, motiliteta i prohodnosti jajovoda. Nakon kvalitetne predoperativne radiološke obrade, ovim pristupom dodatno je poboljšana procjena težine endometrioze s nadogradnjom preciznije širine i dubine invazije peritonealnih organa

ustanovljenih pri kirurškom liječenju (57). EFI prediktivni indeks je vrlo koristan u planiranju strategije liječenja pacijentica s neplodnosti uzrokovanom endometrioza nakon kirurškog liječenja, ne isključujući pritom predviđanje spontanih začeca. EFI je kumulativni zbroj ukupne ocjene anamnestičkih čimbenika (dob, trajanje neplodnosti, graviditet) i ukupne ocjene kirurških čimbenika (intraoperativni takozvani „minimalni funkcijski zbroj“ (engl. *least function score*) – zbroj ocjena funkcija obostranih jajovoda, fimbrija i jajnika, uz AFS zbrojeve (engl. *American Fertility Society*, danas ASRM) (58). Pokazano je kako EFI korelira s stopama trudnoće, uključujući spontana začeca i nakon liječenja metodama MPO, nakon kirurškog liječenja uznapredovale endometrioze (rASRM III/IV) (60).

1.1.3 Patogeneza neplodnosti uzrokovane endometrioza

Točna patogeneza endometrioze nije razjašnjena te postoji nekoliko teorija. Najčešća je prihvaćena teorija retrogradne menstruacije prema kojoj se fragmenti endometrija, refluksom kroz jajovode implantiraju na površinu peritoneuma. Smatra se da poremećaji mehanizama imunotolerancije te angiogeneze doprinose preživljavanju i rastu endometrioidnih žarišta kod oboljelih pacijentica od endometrioze (61). Patofiziologija neplodnosti uzrokovane endometrioza je multifaktorska te uključuje negativan utjecaj zdjeličnih priraslica, poremećaj folikulogeneze, ovulacije i implantacije te poremećaj imunološkog odgovora. Poremećaj imunološkog odgovora induciran je djelovanjem endometrioidnih žarištima u peritonealnoj šupljini koje stvaranjem proupalnog (proinflatornog) okoliša stvara poremećaj imunološkog sustava u organizmu čime se remeti plodnost (12). Teorija poremećaja imunotolerancije u sklopu patogeneze endometrioze opisana je poremećajima imunoloških profila različitih tkiva pacijentica s endometrioza, uključujući uzorke periferne krvi, peritonealne i folikularne tekućine, ektopičnog endometrija maternice te ektopičnih endometrioidnih žarišta izvan zdjelice. U sklopu poremećaja imunotolerancije u endometriozi važnu ulogu ima poremećaj funkcije perifernih prirodnoćubilačkih NK stanica (engl. *natural killer cells*, pNK) (62). Mehanički čimbenici poput priraslica u trbušnoj šupljini mogu ometati prihvaćanje oocita te transport oocita i sperme kroz jajovode (63,64), dok biokemijski čimbenici vezani uz poremećaje folikulogeneze poput oksidacijskog stresa i poremećaja razvoja folikula, ovulaciju i implantaciju zametka, također doprinose smanjenju plodnosti (62,65). Teži stadiji (stadiji rASRM III/IV) bolesti povezani su s

većim morfološkim oštećenjima jajovoda i jajnika, što rezultira značajno smanjenim stopama trudnoće (66).

Mogući mehanizmi uzroka reproduktivnih poremećaja pacijentica s neplodnosti uzrokovane endometriozom (implantacijskim poremećajima – engl. RIF, *repeated implantation failures*; habitualnim pobačajima – engl. RPL, *recurrent pregnancy losses*; perinatalnim i/ili porodničkim komplikacijama) mogu biti vezani uz intrauterine promjene endometrijske receptivnosti i miometrija, uz već navedeno stanje kronične peritonealne upale s povećanom razinom proinflammatoryh citokina i direktnim utjecajem na endometrij. Endometrijska receptivnost označava sposobnost decidualiziranog endometrija za prihvaćanje zametka te nije jedinstven etiološki entitet, već je modulirana interakcijama brojnih čimbenika. Premda literatura navodi „čimbenik endometrija“ u razvoju neplodnosti uzrokovane endometriozom, potonji čimbenici uključuju: poremećaj ekspresije gena odnosno proteina tijekom prozora implantacije zaslužnih za različite stanične i upalne procese, poremećaja hormonske signalizacije (progesteronska rezistencija nasuprot estrogenskoj dominaciji), poremećaj imunološkog odgovora u regulaciji implantacije i placentacije, epigenetsku disregulaciju endometrija (DNA hipermetilaciju i redukciju acetilacije histona), uz poremećaj glikozilacije proteina, metabolizma lipida i disregulacije microRNA molekula važnih u unutarstaničnim procesima uspostave materno-embrijske komunikacije (62,67). Promjene unutarnjeg sloja miometrija mogu se razviti tijekom decidualizacije, s defektnim remodeliranjem spiralnih arterija te povišenom vaskularnim otporom, što uzrokuje kasniji izostanak duboke placentacije (43). Unutarnji miometrij ili endometrijsko-miometrijska zona je hormonski ovisni sloj miometrija, biološki različit od vanjskog sloja miometrija te je promijenjen u žena s endometriozom (68). Čimbenici koji utječu na vaskularni otpor spiralnih arterija u miometriju uključuju progesteronsku rezistenciju i poremećeni broj uterinih NK (uNK) stanica, kao komponentama uključenima u poremećaj endometrijske receptivnosti utvrđene u neplodnosti povezanom s endometriozom (43,62,69–71). Ovaj proces uključuje infiltraciju endometrija imunološkim stanicama, prvenstveno decidualnih NK stanica (dNK) kao podvrste uNK stanica obilježene staničnim biljekom CD49a (engl. *cluster of differentiation*) – CD56-pozitivne CD16-negativne CD49a-pozitivne dNK – koje predstavljaju oko 70% imunoloških stanica u decidui tijekom rane trudnoće (72).

1.1.4 Liječenje neplodnosti uzrokovane endometriozom

Brojna nacionalna i međunarodna društva razvila su vlastite smjernice liječenja endometrioze i pripadajuće neplodnosti uzrokovane endometriozom, a Klinika za ženske bolesti i porode KBC-a Split prati smjernice Europskog društva za humanu reprodukciju i embriologiju (engl. ESHRE, *European Society of Human Reproduction and Embriology*) prema zadnjem izdanju 2022. godine (73,74). Liječenje neplodnosti uzrokovane endometriozom uključuje kirurško liječenje te liječenje metodama medicinski potpomognute oplodnje (MPO). Naime, prema ESHRE smjernicama izbjegava se primjena hormonalne i/ili medikamentozne terapije za poboljšanje plodnosti. Iznimka od pravila je preporuka slabih dokaza za primjenu hormonske terapije u pacijentica koje ne mogu zanijeti ili ne planiraju trudnoću nakon kirurškog liječenja, a koja može dodatno doprinijeti regresiji boli (74). Pritom se mora naglasiti kako terapijski pristupi boli ne dovode do poboljšanja fekundibiliteta (75). Premda terapijske opcije doprinose poboljšanju reproduktivnih ishoda, recidivitet endometrioze ostaje izazov kliničke prakse (10,11). Stoga su rana dijagnoza endometrioze i ciljane intervencije presudne u poboljšanju reproduktivnih ishoda u oboljelih pacijentica (11,12). Kod pacijentica s problemima smanjene plodnosti bez radiološkog prikaza lezija endometrioze, laparoskopski zahvat u svrhu isključenja dijagnoze endometrioze nije opravdan (76,77). Suprotstavljeni su rezultati učinka kirurškog liječenja neplodnih pacijentica s blažim oblikom bolesti na stope začeca, ali laparoskopska kirurgija ima prednost pred dijagnostičkom laparoskopijom u kontekstu liječenja neplodnosti (78,79). Kirurško liječenje umjerene do teške endometrioze može pomoći uspostavi normalne anatomije i funkcije jajovoda, a kod neplodnih pacijentica terapijska laparoskopija može služiti kao alternativa ekspektativnom pristupu u svrhu povećanja stopa fizioloških začeca (79,80). Zaključak ESHRE smjernica jest da kirurško liječenje endometrioze treba biti odlučeno prema dobi pacijentice, razini boli, anamnezi prethodnih operacija, prisutnosti drugih čimbenika neplodnosti, ovarijskoj rezervi i procijenjenom EFI zbroju u smislu poboljšanja stopa fizioloških trudnoća. Također, pitanje kirurškog liječenja prethodno liječenju postupcima MPO-e nije preporučljivo, osim opcija usmjerenih regresiji razina boli i poboljšanju pristupa jajnicima za potrebe aspiracije oocita kao odraz dobre prakse, a ne rutinske preporuke. Osim toga, kirurško liječenje DIE jedino je prihvatljivo za potrebe regresije smanjenja boli, s obzirom na manjak randomiziranih istraživanja učinkovitosti u poboljšanju reproduktivnih ishoda (74). Ako primarno kirurško liječenje ne rezultira začecem, preferirani terapijski izbor je postupak MPO-e umjesto reoperacije, uključujući postupke kontrolirane

hiperstimulacije jajnika (KOH, engl. *controlled ovarian hyperstimulation*, COH), *in vitro* fertilizacije (engl. *in vitro fertilization*, IVF) uz svježi embriotransfer (ET) ili FET ciklus (engl. *frozen embryo transfer*), pri čemu se u obzir uzima EFI zbroj te nalaz spermograma (74,80,81). Pitanje korištenja metoda očuvanja plodnosti (engl. *fertility preservation*) u pacijentica s endometriozom još je tema rasprava, a uključuje metode zamrzavanja oocita, embrija ili tkiva jajnika. Prema ESHRE smjernicama još je nejasan benefit ovih metoda u odnosu na druge indikacije (npr. onkofertilitet), zbog manjka jasnih dokaza te uz činjenicu smanjene ovarijske rezerve kod ovarijskih endometrioma (74,82). U kliničkoj praksi se nameće pitanje mogućnosti liječenja endometrioze s pomoću začeca. Međutim, ESHRE smjernice ne preporučuju takvu praksu s isključivom svrhom liječenja endometrioze, s obzirom na to da trudnoće ne dovode do regresije simptoma i/ili bolesti (74).

1.2 POSTELJICA

1.2.1 Fiziologija posteljice

Posteljica je privremeni organ trudnoće, koja nastaje združenim razvojem i diferencijacijom tkiva maternice majke i tkiva zametka te sadržava genetsku osnovu oba roditelja (maternalne i paternalne gene). Posteljica je jedini humani organ koji se porođajem odstranjuje iz tijela, odnosno maternice majke nakon porođaja ploda tijekom trećeg porođajnog doba. Posteljica izvršava nekoliko funkcija koje se dijele u 4 skupine: respiratorne, metaboličke, endokrinološke i imunološke. Najvažnija funkcija posteljice jest respiratorna funkcija, odnosno izmjena kisika (O_2) i ugljikovog dioksida (CO_2) između majke i ploda. Uz potonju, važna je metabolička funkcija posteljice, uz dopremu hranjivih tvari plodu te otpremu otpadnih produkata metabolizma ploda, uz sintezu glikogena, kolesterola i masnih kiselina. Posteljica je endokrini organ koji sintetizira i izlučuje različite hormone, ali i druge tvari koje djeluju autokrino i parakrino. Hormoni koje posteljica izlučuje uključuju humani korionski gonadotropin (hCG), humani korionski somatomamotropin sličan hormonu rasta ili humani placentni laktogen (HPL), humani korionski tireotropin, humani korionski kortikotropin, prolaktin (PRL), relaksin, hormon oslobađanja kortikotropina, endotelin, inzulinu slične čimbenike rasta te steroidne hormone (progesteron odnosno estrogen, posebno estriol). Od posebnog su interesa imunološke funkcije posteljice koje uključuju infekcijske odnosno ne-infekcijske mehanizme. Posteljica zbog svoje selektivne propusnosti omogućava prijenos majčinih protutijela plodu tijekom trudnoće (imunoglobulin G, IgG, i transkobalamin II). Važni imunološki ne-infekcijski mehanizmi unutar tkiva posteljice uključuju nadzor razvoja posteljice posredovan staničnom imunosti i imunomedijatorima. Istovremeno se u tkivu posteljice odvijaju regulacijski mehanizmi za uspostavu i održavanje stanja imunotolerancije majke prema plodu, kako ne bi došlo do odbacivanja ploda. Posteljica također djeluje kao imunološka barijera vertikalnom prijenosu infekcija majke na plod, čemu pridonose različiti mehanizmi u tkivima trofoblasta i maternalne *decidue basalis* (83,84).

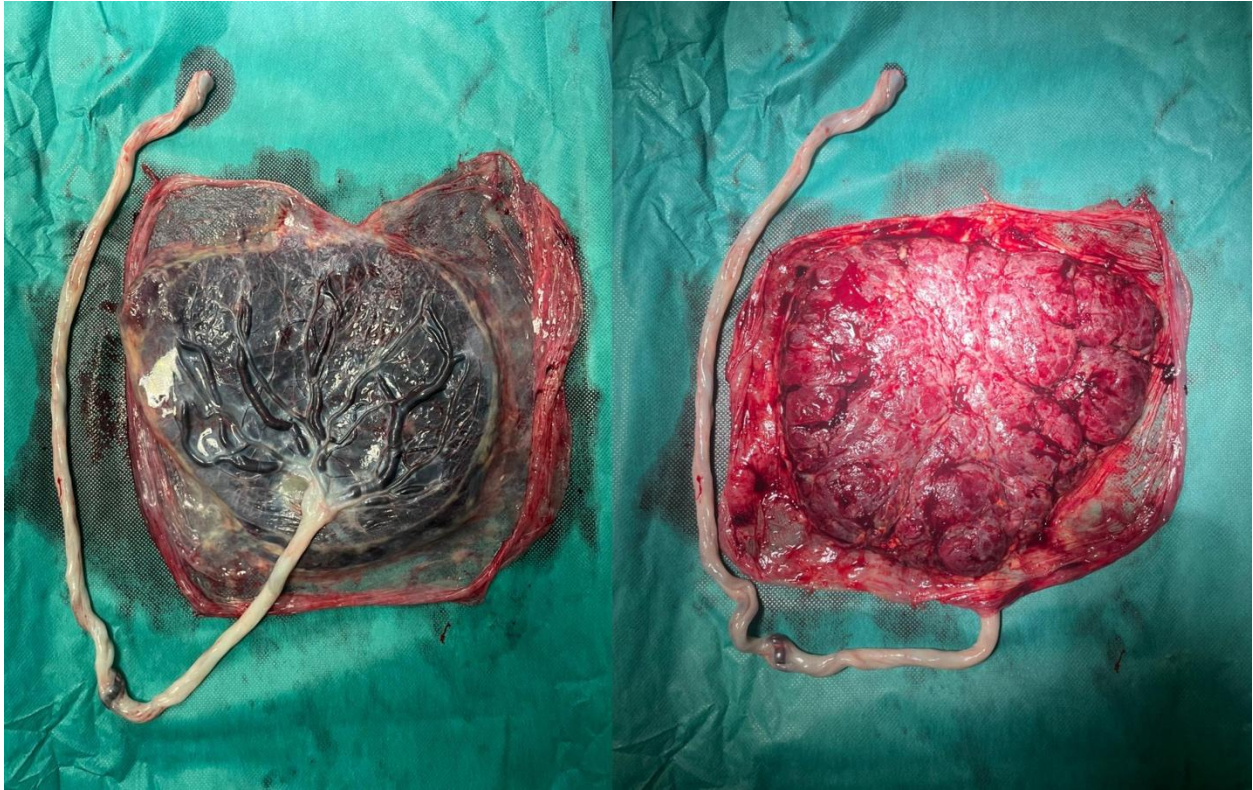
1.2.2 Razvoj i građa posteljice

Razvoj produkata trudnoće započinje diferencijacijom stanica blastociste. Unutarnja nakupina stanica blastociste osnova je razvoja zametka (embrija) odnosno ploda (fetusa), dok se vanjski sloj stanica blastociste diferencira u stanice trofoblasta. Stanice trofoblasta osiguravaju ranu prehranu embrija te čine strukturu posteljičnih resica kao osnovu razvoja glavnog dijela

posteljice. Razlikuju se dva tipa trofoblasta, nediferencirani citotrofoblast (CTB) i diferencirani sinciotrofoblast (STB). Osnova posteljičnog razvoja jest usmjerena diferencijacija stanica CTB. Naime, razlikuje se vilozni CTB i ekstravilozni citotrofoblast (EVT). Upravo su stanice viloznog CTB koje ispunjavaju unutrašnjost resica osnova stvaranju STB tijekom razvoja posteljičnih resica, te se nalazi podno sloja STB. Razlikuje se nekoliko stadija razvoja posteljičnih resica. Tijekom razvoja viloznog CTB, početna skupina stanica CTB brzo se razmnožava i formira primarnu resicu. Invazijom fetalnog mezenhima u primarnu resicu nastaje sekundarna resica. Razvojem fetalnih kapilara unutar mezenhima, sekundarne se razvijaju u tercijarne odnosno terminalne resice, koje se dalje granaju i stvaraju glavninu mase posteljice. Završni razvojni stadiji odnosno terminalne resice su osnovna funkcionalna jedinica maternalno-fetalne komunikacije, putem koje se osigurava izmjena kisika i nutrijenata, kao i zona mehanizama imunotolerancije fetusa. STB je neprekinuti sloj diferenciranih epitelnih stanica koji pokriva čitavu površinu resica i u direktnom je kontaktu s majčinom krvi koja cirkulira interviloznim prostorom. Stanice EVT nisu uključene u stvaranje posteljičnih resica, već se diferenciraju u invazivni trofoblast, migriraju prema deciduiziranom endometriju i invadiraju maternalne spiralne arterije miometrija maternice, čime se postiže vaskularno remodeliranje posteljice (83,84).

Razvoj posteljice prolazi kroz nekoliko faza, uključujući implantaciju, proliferaciju trofoblasta i razvoj stabla resica. Nakon implantacije, sinciotrofoblast formira izdanke koji prodiru u endometrij i spajaju se s kapilarama i venulama majčine cirkulacije, tvoreći sinusoide i intervilozni prostor. Omjer različitih vrsta korionskih resica mijenja se tijekom gestacije, pri čemu se na terminu dominantno nalaze terminalne resice s razvijenim metaboličkim membranama i sincicijskim čvorićima (85). Trofoblast posteljice sastoji se od dva sloja: unutarnjeg citotrofohlasta (CTB) i vanjskog sinciotrofohlasta (STB). STB formira sincicijalne čvoriće, koji se postupno otpuštaju u majčinu cirkulaciju. Osim viloznog trofoblasta koji pokriva resice, prisutan je i ekstravilozni trofoblast, koji urasta u deciduu i preoblikuje spiralne arterije maternice u uteroplacentarne krvne žile (86). Termenska posteljica poprima najčešće diskoidni oblik, s promjerom od 15 do 20 cm, debljinom od 3 do 5 cm i masom između 500 i 600 grama. Strukturno se dijeli na fetalni i maternalni dio, pri čemu fetalnu stranu čini korionska ploča, a maternalnu bazalna ploča (Slika 1). Korionska ploča obuhvaća stanice amniona i koriona, ogranke krvnih žila pupkovine te matične resice (85). Unutar ove ploče nalaze se korionske arterije i vene, koje nastaju

grananjem umbilikalnih arterija i pupčane vene, s daljnjom podjelom na arteriole i venule korionskih resica (86). Bazalna ploča sastoji se od stanica decidue, EVT-a i ogranaka spiralnih arterija majke. Unutar nje se nalaze i posteljične pregrade koje odvajaju uzdignute režnjeve, poznate kao kotiledoni kojih može biti između 10 i 40. Svaki kotiledon sadržava barem jedno stablo resica koje je opskrbljeno krvlju iz pripadajuće spiralne arterije. Unutar posteljičnog stabla razlikuju se različite vrste resica: mezenhimalne resice, zrele i nezrele intermedijarne resice te terminalne resice. Potonje su krajnji ogranci posteljičnih resica i predstavljaju temeljnu funkcionalnu jedinicu posteljice, omogućujući razmjenu plinova i hranjivih tvari između majke i fetusa (86). Svaka resica građena je od strome, koja uključuje fibroblaste, fetalne krvne žile i Hofbauerove stanice, te od pokrovnog epitela kojeg čine CTB i STB (85). Krvotok u posteljici odvija se dvostrukim optokom. Fetalni krvotok čine ogranci umbilikalnih krvnih žila, pri čemu uglavnom dvije umbilikalne arterije prenose vensku krv iz fetusa u posteljicu, dok jedna pupčana vena dovodi arterijsku (oksigeniziranu) krv iz posteljice u fetus. Majčina krv ne prolazi kapilarni bazen, već oplavljuje resice trofoblasta unutar interviloznog prostora, omogućujući razmjenu tvari između fetalnog i majčinog krvožilnog sustava (87).



Slika 1 Makroskopski prikaz terminske posteljice s fetalnom stranom i korionskom pločom (lijevo) te maternalne strane s bazalnom pločom (desno), uz prikaz plodovih ovoja i pupkovine nakon porođaja fiziološke trudnoće (Slika objavljena uz pristanak roditelja).

1.2.3 Patologija posteljice

Trudnoća ne završava isključivo porođajem ploda već i sekundina – posteljice s pupkovinom i plodovim ovojima (posteljice u širem smislu), stoga se u određenim stanjima provode pretrage posteljice. Patohistološka analiza odnosno dijagnostika (PHD) posteljice razvijena je prvenstveno zbog sudsko-medicinskih procesa. Kako je pretraga posteljica svih trudnoća onemogućena materijalnim razlozima, postavljene su indikacije za ciljanu PHA posteljice koje se mogu podijeliti u tri skupine poremećaja: poremećaji trudnoće s istaknutim čimbenikom majke (npr. dijabetes *mellitus* - DM, preeklampsija/eklampsija - PE, prijevremeni porođaj – *preterm birth* PTB, opterećena porodnička anamneza), istaknuti čimbenik ploda ili novorođenčeta (npr. višeplodova trudnoća, intrauterini zastoje u rastu - IUZR, pobačaj/mrtvorodenost te smrt novorođenčeta) te promjene posteljice (npr. infarkti, upalne lezije, abrupcija posteljice i predležuća posteljica) (88–90). Fiziološka se morfologija tijekom trudnoće mijenja, a ponekad su patološke promjene posteljice teško uočljive. Određene lezije posteljice ne moraju biti uzrokom komplikacija trudnoće ili lošijeg stanja novorođenčeta jer mogu nastati i postnatalno, dok druge mogu specifično izazvati hipoksiju, IUZR sve do intrauterine smrti ploda. Otkrivanjem patologije posteljice koja može biti u podlozi perinatalnih i porodničkih komplikacija, čak i u odsustvu poznatih maternalnih rizičnih faktora, perinatolozima je omogućeno razumijevanje patofizioloških procesa trudnoće te dodatna vodilja u nadzoru sljedećih trudnoća pacijentica s opterećenom porodničkom anamnezom (91). Smjernice za patohistološku analizu posteljice (uzorkovanje i definicije lezija) razvila je Radna skupina stručnjaka okupljenih na Amsterdamskom konsenzusu o patologiji posteljica (engl. *Amsterdam Placental Workshop Group Consensus*). Patološke su lezije posteljica podijeljene u skupine anatomskih lezija, upalnih lezija, lezija vilozne zrelosti te lezija vaskularnih malperfuzijskih poremećaja (Tablica 1) (92).

Tablica 1 Podjela lezija prema Amsterdamskom konsenzusu o patologiji posteljice (92) otkrivenih u istraživanju.

Anatomske lezije	Upalne lezije	Lezije vilozne zrelosti	Vaskularni malperfuzijski poremećaji
Jedna umbilikalna arterija (engl. <i>Single umbilical artery</i> , SUA)	Upala plodovih ovoja (lat. <i>Chorioamnionitis</i>)	Nezrelost posteljičnih resica	Perivilozno (intervilozno) nakupljanje fibrina
Predležće krvne žile (lat. <i>Vasa praevia</i>)	Upala pupkovine (lat. <i>Funiculitis</i>)	Povećani broj sincicijalnih čvorića za dob trudnoće	Subkorionsko nakupljanje fibrina
Insercija pupkovine na slobodnom rubu ovoja (lat. <i>Insertio velamentosa funiculi umbilicalis</i>)	Vilitis nepoznate etiologije (engl. <i>Villitis of unknown etiology</i> , VUE)		Intervilozna tromboza (lat. <i>Thrombosis intervillosis</i>)
Hipertorzija odnosno hipotorzija pupkovine (lat. <i>Torsio funiculi umbilicalis</i>)	Kronični vilitis uz bazalnu deciduu (lat. <i>Villitis chronica basalis</i>)		Fetalna vaskularna malperfuzija (engl. <i>Fetal vascular malperfusion FVM</i> , lat. <i>Thrombosis vasorum chorialium</i>)
Ekstrakorionska placenta (lat. <i>Placenta extrachorialis</i>)	Kronični vilitis niskog stupnja (lat. <i>Villitis chronica focalis</i>)		Maternalna vaskularna malperfuzija (engl. <i>Maternal vascular malperfusion, MVM</i>)
Aksesorni režanj posteljice (lat. <i>Lobus accessorius placentae</i>)	Kronični vilitis visokog stupnja (lat. <i>Villitis chronica diffusa</i>)		Angiomatoza
Posteljica građena od dva režnja (lat. <i>Placenta bilobata</i>)	Kronični interviloza (lat. <i>Intervillositis chronica</i>)		
Predležća posteljica (lat. <i>Placenta praevia</i>)	Kronični deciduitis s plazma stanicama (engl. <i>Chronic plasmacytic deciduitis</i>)		

1.2.3.1 Makroskopske promjene posteljice

Opis posteljice započinje određenim *morfometrijskim karakteristikama* posteljice, pupkovine te odnosa prema plodu. Kao procjena prikladnosti mase posteljice prema dobi trudnoće odnosno porođajnoj masi ploda, koristimo se fetoplacentalnim omjerom (engl. *Fetal-placental weight ratio*, FPWR). Ovisno o masi posteljice, razlikujemo malu i veliku posteljicu. Posteljica manja od donje granice za dob trudnoće (10. percentila, hipoplazija posteljice) u pravilu odražava slabiju razvijenost, što može nastati zbog maternalne krvožilne insuficijencije, vilitisa odnosno intrauterine insuficijencije resica, ali ne označava nužnu i posteljičnu insuficijenciju. Posteljica s masom većom od 90. percentile za dob trudnoće smatra se velikom posteljicom te može nastati pri retroplacentalnom hematoma, interviloznim trombozama i fetoplacentalnom krvarenju. Međutim, placentomegalija može nastati pri gestacijskom dijabetesu *mellitusu* (GDM), Rh-imunizaciji, kroničnim intrauterinim infekcijama i edemima. Pri opisu pupkovine služimo se njenom duljinom, odnosno postojanjem kratke ili duge pupkovine, te indeksom zavojitosti (engl. *Coiling index*, CI) prema kojem razlikujemo poremećaje spiralizacije pupkovine (torzije) (90). O *anatomskim lezijama* govorimo u slučaju poremećaja oblika i sijela posteljice, plodovih ovoja i pupkovine. Nepravilnosti oblika posteljice može odražavati poremećaj lokalizacije, atrofiju jednog dijela te poremećaj načina implantacije posteljice, a uključuju vrste posteljica građenih od više režnjeva (lat. *Placenta bilobata, bipartita, succenturiata*). Kod ekstrakorionske posteljice (lat. *Placenta extrachorialis*) rubni dio korionske ploče nije prekriven plodovim obojima, a ovisno o postojanosti prijevoja ovoja i fibrinskog prste razlikujemo cirkumginatni (bez prijevoja i prstena) i cirkumvalatni oblik (s prijevojem i prstenom). Cirkumvalatni oblik posteljice povećava rizik krvarenja u trudnoći (marginalni hematoma, subkorionsko krvarenje, fetalna anemija), prijevremenog porođaja te prijevremene ruptur plodovih ovoja, dok cirkumginatni oblik nema kliničkog značenja. Poremećajima mjesta implantacije i razvoja posteljice pripadaju predležća posteljica (lat. *Placenta praevia*) te prirasla, urasla ili prorasla posteljica (lat. *Placenta accreta, increta, percreta*, engl. *Placenta accreta spectrum* – PAS). Predležća posteljica može biti potpuna ili djelomična ovisno o veličini prekrivanja unutarnjeg cervikalnog ušća, može izazivati krvarenja majke i ploda, a uvjetuje određivanje moda porođaja. Poremećaji PAS-a nastaju na mjestima poremećaja razvoja bazalne decidue (ožiljku prethodnog carskog reza, pri niskom sijelu tj. predležćoj posteljici). Stupanj PAS-a određuje dubina invazije posteljičnih resica kroz debljinu miometrija te indicira operativni način dovršenja trudnoće (90).

1.2.3.2 Histološke promjene posteljice

Upalne lezije posteljice

Upalne lezije posteljice uključuju različite oblike upala plodovih ovoja (lat. *chorioamnionitis*), pupkovine (lat. *funiculitis*) i posteljice u užem smislu, odnosno posteljičnih resica (lat. *vilitis*). Upale plodovih ovoja i pupkovine nastaju različitim mehanizmima, a najčešće ascendentnim širenjem infekcije, predominantno bakterijama, iz rodnice (lat. *vaginitis*) ili materničnog vrata (lat. *colpitis*), dok vilitisi nastaju obično hematogenim putem, širenjem uzročnika skupine TORCH (*Toxoplasma gondii*, *Rubella*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex*) i drugih bakterijskih vrsta iz majčine krvi u posteljicu. Težina upalnih reakcija plodovih ovoja, odnosno pupkovine, opisuje se trajanjem (stadijem, morfološki opseg zahvaćenosti struktura) i izraženosti (stupnjem, gradusom, obujam upalnog infiltrata u strukturama). Patološki nalaz ovih promjena može biti kombinacija različitih stadija i stupnjeva upalne reakcije (90). Razvoj korioamnionitisa očituje se upalnom reakcijom akutnog tipa s neutrofilnim infiltratom unutar plodovih ovoja obično nakon 14. tjedna trudnoće, a reakcija fetusa u obliku marginacije i migracije neutrofila u fetalne krvne žile korionske ploče i pupkovine (lat. *funiculitis acuta*) javlja se kasnije od majčine reakcije, uglavnom nakon 20. tjedna trudnoće. Subakutni i kronični oblici korioamnionitisa su rjeđi od akutnih, s infiltracijom mononukleara (90). Korioamnionitis je povezan s prijevremenim predtermanskim prsnućem plodovih ovoja (engl. *preterm premature rupture of membranes*, PPRM) te je među vodećim uzrocima PTB-a i povećanih stopa perinatalnog morbiditeta i mortaliteta. Kronični oblici upalnih reakcija češći su kod vilitisa (lat. *villitis chronica*) s prisutnosti fibrina i limfocitnog infiltrata, a najčešće se ne može povezati s poznatom majčinom infekcijom – vilitis nepoznate etiologije (engl. *villitis of unknown etiology*, VUE) (90,93). VUE se nalazi u 3-5% terminskih posteljica te rijetko prije 35. tjedna trudnoće. Može biti asimptomatski, ali se najčešće povezuje s IUZR-u ploda, povećanom stopom perinatalnog mortaliteta i recidivizmu u idućim trudnoćama. Ovisno o izraženosti upalne reakcije razlikujemo više oblika kroničnog vilitisa: niski stupanj žarišnog zahvaćanja resica (lat. *villitis chronica focalis/multifocalis*), visokog stupnja difuzne upale (lat. *villitis chronica diffusa*) ili zahvaćanja resica uz bazalnu deciduu (lat. *villitis chronica basalis*). Oblik kroničnog intervillozitisa (lat. *intervillositis chronica*) obilježen je infiltracijom intervillozних prostora makrofazima, a ne strome resica, koja se najčešće vidi kod spontanih pobačaja (90,93). Izdvojeni oblik kroničnog

deciduitisa s plazma stanicama (engl. *chronic plasmacytic deciduitis*) obilježen je infiltracijom plazma stanica i limfocita u bazalnoj ploči, odnosno decidualnom sloju, a povezuje se s PTB-a te postupcima donacije jajnih stanica u liječenju neplodnosti (94,95).

Lezije vilozne zrelosti

Lezije vilozne zrelosti uključuju nezrelost posteljičnih resica te povećani broj sincicijalnih čvorića za dob trudnoće. Nezrelost posteljičnih resica jedna je od promjena koja utječe na opći izgled terminskih resica te se može naći u većini terminskih posteljica, ali se povezuje s IUZR-u pri DM-u, Rh-nepodudarnosti, sifilisu i kromosomopatijama. Nezrele terminske resice su krupne, s užim krvnim žilama smještenim centralno unutar resice i smanjenim brojem sincicijalnih čvorića na površini resica, suprotno od izgleda zrelih resica. Iz nezrelih resica se dodatno proliferacijom razvijaju resice te se nađu pojedinačno ili u nakupinama u kotiledonu (90,92). Povećani broj sincicijalnih čvorića za dob trudnoće jest najčešća histološka promjena posteljičnih resica koja zahvaća trofoblast. Nastaje uslijed Tanney-Parkerove reakcije, odnosno pretjerane proliferacije kapilara terminalnih resica i/ili ubrzanog starenja stanica uzrokovanih hipoksijom zbog maternalnih ili fetalnih čimbenika (90,96). Naime, sincicijalni čvorići u fiziološkim uvjetima su lokalizirane nakupine jezgara sincicotrofoblasta u različitim stadijima apoptoze, a prezentiraju se žarišnim zadebljanjem površine terminalnih resica. Normalna su promjena sazrijevanja resica nakon 32. tjedna trudnoće otkada se njihov broj normalno povećava sukladno dobi trudnoće. U fiziološkim uvjetima nastaju izvijanjem i dilatacijom kapilara resica prateći angiogenezu nakon 26. tjedna trudnoće te zahvaćaju 10-30% terminskih resica, a svaka hipoksična noksa dovodi do povećanja njihovog broja (90,97). Hipoksija je rezultat hipoperfuzije i/ili hipoksemije interviloznih prostora i resica nastalih zbog čimbenika majke (hipertenzija i/ili preeklampsija, dijabetes melitus, trombofilija, bolesti vezivnog tkiva, plućne bolesti i anemija majke) ili čimbenika ploda (anemija bilo kojeg uzroka, tromboza fetalnih arterija, prenošenje, IUZR, intrauterina smrt ploda) (90,96).

Vaskularni malperfuzijski poremećaji

Razlikuju se promjene posteljice nastale poremećajem protoka majčine krvi (odlaganje interviloznog, odnosno periviloznog, fibrina te subkorionskog fibrina, MVM) i fetalne krvi (intervilozna tromboza, FVM) kroz posteljicu (90,92). Odlaganje fibrina u ovim prostorima nastaje

nakon 32. tjedna trudnoće, otkada se količina fibrina povećava s dobi trudnoće, a nastaje zbog staze krvi unutar interviloznog prostora, posebno u hipoksičnim područjima posteljice (izrazito ispod korionske te bazalnoj ploči). Klinički se značaj povećanog interviloznog fibrina moguće uočiti kod prekrivanja više od 30% resica kada se ometa respiratorna i nutritivna funkcija posteljice, što je povezano s hipoksijom, IUZR-u ili intrauterinom smrću. Dolazi do gubitka površinskog sloja STB, obliteracije krvnih žila i fibroze strome. Subkorionsko nakupljanje fibrina ne uključuje oblaganje resica, ali klinički se značaj često uočava u kombinaciji s drugim posteljičnim lezijama. Intervilozna tromboza češće se javlja kod PE-e i IUZR-a. Nastaje nakon fetalnog krvarenja u intervilozni prostor zbog ruptуре tanke vaskulosincicijalne membrane, a ovisno o starosti tromba vidi se različiti udio fibrina (90). Klinički značajnije promjene nastale smanjenom perfuzijom posteljičnih resica uključuju patološke entitete FVM-e i MVM-e, koji se razlikuju patogeneom i histopatološkim prikazom (92,98). Fetalna vaskularna malperfuzija (engl. *fetal vascular malperfusion*, FVM, ili fetalna trombotična vaskulopatija, lat. *thrombosis vasorum chorialium*) naziv je za nalaz tromboze i opstrukcije fetalnih krvnih žila korionske ploče, ponekad uz nalaz tromboze umbilikalnih žila. U slučaju dugotrajne okluzije žila, sekundarno se javlja fibroza strome i atrofija resica. Ovakva promjena nalazi se pri dugim pupkovinama uz stazu i oštećenje žila, hipertorziji pupkovine, pravim čvorovima i velamentoznoj inserciji pupkovine, kromosomopatijama, hiperkoagulabilnosti odnosno trombofiliji, ili srčanim defektima ploda, uz prisutnost hipoksije (90,92). Osim osnovnog oblika FVM-a (engl. *low-grade* FVM), teži oblik FVM-a (engl. *high-grade* FVM) obilježen je nalazom više od jednog žarišta avaskularnih resica s/bez tromboze, ili 2/više trombova u korionskoj ploči ili matičnim resicama (92). Posljedice FVM-e mogu uključivati embolizaciju sistemskih žila ploda u slučaju venske tromboze, odnosno IUZR-a ploda u slučaju arterijske tromboze, uz povećani rizik intrauterine smrti ploda, a mogući je recidivizam FVM-e u idućim trudnoćama (90,92). Maternalna vaskularna malperfuzija (engl. *maternal vascular malperfusion*, MVM) naziv je za skupinu promjena majčinih krvnih žila u decidui. Adekvatna krvna opskrba ležišta posteljice ovisi o nekoliko čimbenika majke koji uključuju udarni volumen srca, krvni tlak, parcijalni tlak kisika te najvažniji – fiziološko remodeliranje spiralnih arterija. Ukoliko ne dođe do adekvatne pretvorbe i plitke invazije trofoblasta, što se očituje najčešće PE-om i IUZR-a, dolazi do poremećaja placentacije u ranoj te malperfuzije i insuficijencije posteljice u kasnijim stadijima trudnoće (90,92). Makroskopske lezije koje opisuju MVM uključuju hipoplaziju posteljice i kratku pupkovinu, infarkte i

retroplacentalno krvarenje (uz hematom ili abrupciju posteljice), kao i histološke lezije akutne ateroze, distalne vilozne hipoplazije ili ubrzanog razvoja resica (92). Angiomatoza je naziv je za difuzno prožetu korionsku ploču čitave posteljice hemangiomatoznim tkivom (lat. *chorangiomas placenta*), građenim od brojnih krvožilnih prostora s obilnom vezivnom stromom unutar kojih može doći do tromboze i infarkcije. Angiomatoza može voditi IUZR-a, fetalnom hidropsu, anemiji i srčanoj dekompenzaciji ploda (90,99,100).

1.3 TRUDNOĆA

Trudnoća, zvana *drugo stanje* žene, jest privremeno razdoblje života žene obilježeno brojnim prilagodbama organizma u svrhu razvoja, prihvaćanja i porođaja ploda. Trudnoća je stanje kompleksnih, postepenih ili usporednih procesa počevši od oplodnje te implantacije zametka, placentacije i razvoja ploda, rasta ploda sve do porođaja ploda, a svaki od navedenih stadija je pravilno reguliran. Razvoj i fiziologija posteljice već su obrađeni u prethodnom poglavlju, a u idućim redovima bit će ukratko obrađena fiziologija trudnoće uključujući fiziologiju ploda, plodove vode, trudnoće u užem smislu s prilagodbama organizma majke i interakcijama s plodom. Posebno je izdvojena fiziologija imunologije trudnoće s obzirom na poseban čimbenik regulacije trudnoće imunološkim odgovorom majke tijekom svih stadija trudnoće, a posebno rane trudnoće s implantacijom ploda i placentacijom. Konačno, u kratkim crtama obradit će se najčešća odstupanja fiziologije u smislu perinatoloških i porodničkih komplikacija trudnoće.

1.3.1 Fiziologija trudnoće

Tijekom trudnoće dolazi do značajnih fizioloških promjena u majčinom organizmu kako bi se osigurali optimalni uvjeti za razvoj ploda i priprema za porođaj. Ove prilagodbe obuhvaćaju promjene reproduktivnih organa, kardiovaskularnog, dišnog, krvotvornog, bubrežnog i endokrinog sustava uz promjene metaboličkih procesa. Od samog začeća dolazi do promjena na dojka i reproduktivnim organima, a potvrda kucaja fetalnog srca označava vijabilnu trudnoću tijekom prvog tromjesečja. Javljaju se prilagodbe vitalnih funkcija. Tijekom drugog tromjesečja nastavlja se daljnji rast maternice izvan zdjelice uz adaptaciju anatomskih odnosa te smanjenje peristaltike crijeva i uretera. Dolazi do promjene kože i mekih tkiva, a sve navedeno prati porast tjelesne težine trudnice uz retenciju tekućina i masti. Tijekom trećeg tromjesečja maternica doseže konačne veličinu uz fazu hipertrofije ploda, praćenu izmjenom građe miometrija s lažnim *Braxton-Hicks* kontrakcijama ili razvojem trudova. Zbog porasta tjelesne težine i anatomskih odnosa značajniji su edemi, varikoziteti vena potkoljenica te konstipacija. Porođajem slijedi regresija majčinog organizma u stanje prije trudnoće, no komplikacije trudnoće ili porođaja mogu uzrokovati dugoročne posljedice, što naglašava važnost prekonceptijske pripreme žena generativne dobi te zdravog životnog stila tijekom trudnoće. Promjene krvotvornog sustava, uslijed povećanja uteroplacentalnog protoka i metaboličkih potreba ploda, prvenstveno uključuju

povećanje volumena krvi, dominantno zbog povećanja volumena plazme, što sprječava ortostatsku hipotenziju. Dolazi do fiziološke hemodilucije uz smanjenje hematokrita i koncentracije plazmatskih proteina. Zbog povećanih potreba ploda za željezom, folatima i drugim vitaminima, nužan je njihov adekvatan nadomjestan unos. Tijekom porođaja majka gubi oko 500 ml krvi pri vaginalnom porođaju i do 1000 ml pri carskom rezu (CR, engl. *Cesarean section*), no prethodne prilagodbe olakšavaju podnošenje gubitaka. Trudnoća je prokoagulabilno stanje uz porast fibrinogena i drugih faktora zgrušavanja te smanjenje fibrinolize, što smanjuje rizik prekomjernog krvarenja pri porođaju. Nastalo hemodinamsko opterećenje organizma majke prate prilagodbe kardiovaskularnog sustava i funkcije bubrega. Kardiovaskularni sustav prilagođava se hipertrofijom miokarda uz povećanje enddiastoličkog volumena ventrikula i minutnog volumena srca, kao i smanjenjem vaskularne rezistencije. Zanimljivo je da je porast minutnog volumena veći od uteroplacentarnog protoka (*shunta*), što može biti posljedica povećane hiperemije drugih organskih sustava. Funkcija bubrega očituje se prvenstveno povećanom reapsorpcijom natrija i tekućine, uz prilagodbe glomerularne filtracije i funkcije tubula. Ove promjene praćene se fiziološkom pojavom razrijeđenog urina, nokturije i stupnja hidronefroze. Dišni sustav prilagođava se relativnim smanjenjem totalnog plućnog kapaciteta zbog elevacije ošita, no povećavaju se minutni respiracijski volumen i inspiracijski kapacitet. Unatoč tome, difuzijski kapacitet alveolokapilarne membrane je nerazjašnjeno smanjen, dok je difuzija ugljikovog dioksida kroz uteroplacentarnu barijeru olakšana. Metaboličke prilagodbe osiguravaju rast i razvoj ploda te energetske potrebe majke tijekom trudnoće, porođaja i babinja. Prva polovina trudnoće obilježena je anaboličkim, a druga kataboličkim procesima, uz povećanu inzulinsku rezistenciju i korištenje masti kao primarnog izvora energije. Trudnoća ima dijabetogeni karakter, što povećava sklonost ketoacidozi pri produljenom gladovanju. Hormonska dinamika uključuje porast estrogena i progesterona. Estrogeni, osobito 17β -estradiol i estriol, sintetiziraju se u STB iz steroidnih prekursora (dihidroepiandrostendion, androstendion, testosteron) iz fetalnih nadbubrežnih žlijezda, dok se progesteron sintetizira iz LDL-kolesterola i acetata u trofoblastu. Ovi hormoni imaju ključnu ulogu u održavanju trudnoće, implantaciji i placencijaciji, ali i u modulaciji metabolizma (ugljikohidrata, masti i kostiju, povećanje koncentracije drugih hormona), funkciji reproduktivnih organa te regulaciji navedenih sistemskih prilagodbi (npr. relaksacija glatkog mišićja crijeva i uretera). Amnijska tekućina (plodova voda, lat. *liquor amnii*) osigurava mehaničku i protuupalnu zaštitu i uvjete za motorički razvoj ploda, regulaciju temperature i

skladište nutrijenata. Izvor i sastav plodove vode predominantno su pokazatelj stanja fetusa te njezine abnormalnosti mogu ukazivati na komplikacije trudnoće (PE, IUZR) ili fetalne anomalije (urogenitalni ili gastrointestinalni sustav, asfiksija, anemija). Praćenje volumena plodove vode važan je pokazatelj fetalne zrelosti i ugroženosti. Konačno, fetalni rast nije ujednačen tijekom trudnoće te je regulacija rasta uvjetovana fetalnim, maternalnim, uteroplacentalnim te okolišnim čimbenicima. Razlikuju se dvije osnovne faze fetalnog rasta: rast hiperplazijom odnosno intenzivnom diobom stanica te faza hipertrofije ploda kada naglo raste težina ploda tijekom trećeg tromjesečja. Nakon 28. tjedna trudnoće počinje razdoblje intenzivnog rasta ploda linearno do 34. tjedna. Završetkom diobe stanica posteljice, a posebice nakon 38. tjedna javlja se usporenje fetalnog rasta (83,84).

1.3.2 Fiziologija imunologije trudnoće

Jedan od ključnih aspekata u razvoju i provođenju trudnoće jest funkcija imunološkog sustava. Imunološki mehanizmi, prvenstveno imunološkog sustava majke uključeni su u sve procese tijekom trudnoće: od ovulacije i oplodnje, decidualizacije i implantacije, placentacije, rasta i razvoja ploda odnosno ploda te konačno – porođaja. Međutim, ovdje se ne isključuje uloga imunološkog sustava fetusa koji svojom imunološkom prezentacijom komunicira s imunološkim sustavom majke u ostvarenju vlastite imunotolerancije (83). Naime, fetus kao alotransplantant zbog prisutnosti paternalnih antigena ne podliježe reakciji odbacivanja (engl. *Graft-versus-host reaction*, GvH) (101). Pedesetih godina 20. stoljeća postavljeni su temelji područja reproduktivske imunologije, kada je Medawar kontempliranjem o temeljnom pitanju “opstojnosti trudnoće” postavio tri hipotetska mehanizma uspješne trudnoće, koja su kasnije opovrgnuta. Nepropusna anatomski barijera između majke i fetusa opovrgnuta je dvosmjernom izmjenom tvari i stanica preko posteljice. Teorija antigenske nezrelosti fetusa opovrgnuta je aktivacijom odnosno modulacijom populacija imunoloških stanica majke zbog antigenske prezentacije fetusa putem posteljice. Također, sazrijevanje imunološkog sustava ploda započinje već u prvom tromjesečju trudnoće. Treća i danas najprominentnija teorija koja objašnjava uspješnost trudnoće jest mehanizam maternalne imunološke tolerancije prema plodu (102). Endometrijski izvan trudnoće posreduje specifične imunološke mehanizme za obranu od intrauterinih infekcija te ne-infekcijske mehanizme u vidu imunološke reakcije tijekom decidualizacije i implantacije. Tijekom trudnoće dolazi do pretvorbe komponenata imunološkog sustava majke, prvotno supresije maternalnog

staničnog odgovora, a potom i humoralnog odgovora te imunomodulacijskih učinaka citokina, što vodi imunološkoj toleranciji fetusa kao genetički semi-alogenog tkiva. Naime, plod zbog prisutnosti paternalnog seta MHC antigena djeluje kao alogenski transplantat. Između ovih dvaju polariteta stoji posteljica kao anatomsko-imunološka polupropusna barijera majke i ploda vođena imunološkom aktivnosti decidue odnosno izvora lokalnog maternalnog imunološkog odgovora u trudnoći. Dakle, u organizmu majke razlikujemo tri mjesta imunološke dinamike: sistemski imunološki odgovor majke, lokalni imunološki odgovor majke u tkivu decidue posteljice te imunološki odgovor ploda, čime se objašnjava kompleksnost funkcije imunološkog sustava u trudnoći. Utjecaj na prilagodbu imunološkog sustava ima fiziološka hemodilucija, praćena padom titra antimikrobnih protutijela te kemotaktične i fagocitne sposobnosti leukocita. Međutim, napredovanjem trudnoće, posebno oko porođaja i u babinju raste broj leukocita, odnosno udio nesegmentiranih formi uz porast razina C-reaktivnog proteina (CRP). Stoga su tijekom trudnoće uslijed djelomične supresije stanične i humoralne imunosti karakteristični regresija simptoma autoimunih bolesti nasuprot povećanoj sklonosti infekcijama (83,102).

1.3.2.1 Modulacija imunološkog sustava majke u trudnoći

Različiti procesi i faze trudnoće zahtijevaju jedinstvene profile imunološkog odgovora te je uspješnost trudnoće ovisna o uspješnoj prilagodbi sistemskog i lokalnog maternalnog imunološkog odgovora. Tijekom trudnoće dolazi do promjena dominacije sistemskih imunoloških mehanizama majke, što je karakterizirano supresijom T_H1 citokinskog odgovora te potenciranjem T_H2 citokinskog odgovora. Citokini su niskomolekularni, topljivi glikoproteini koji djeluju autokrino i parakrino, poglavito aktivno tijekom početnih faza trudnoće. CD4-pozitivni pomagački T_H limfociti dijele se na T_H1 i T_H2 tip limfocita, ovisno o karakterističnom izlučivanju limfocita. T_H1 limfociti posreduju reakcije stanične imunosti poput staničnog odgođenog tipa preosjetljivosti i citotoksičnosti posredovane NK i T stanicama, što je omogućeno djelovanjem IL-2, IL-12, interferona ($IFN-\gamma$) i $TNF-\beta$. Suprotno T_H1 odgovoru, T_H2 limfociti posreduju humoralne mehanizme, odnosno aktivaciju B limfocita te plazmastičnu diferencijaciju uz lučenje protutijela djelovanjem IL-4, IL-5, IL-6 i IL-10. T_H2 dominacija, odnosno supresija stanične imunosti smatra se ključnim imunskim korakom u očuvanju uredne trudnoće, odnosno mehanizmima imunotolerancije čime je osigurano preživljenje fetusa. Osim rezultante imunotolerancije fetusa, T_H2 dominacija u trudnoći pridonosi supresiji stanično-posredovanih poremećaja poput

reumatoidnog artritisa, ali i pogoršanjem sistemskog eritematoznog lupusa, većom incidencijom mikotičkih infekcija te moguće incidencije neoplazmi. Osim komponenti imunološkog sustava u vidu urođenog i stečenog imunološkog odgovora, naglašava se i ravnoteža modaliteta proupalnog i protuupalnog imunološkog odgovora u vidu ne-infekcijskih imunoloških mehanizama posredovanog citokinima, a koji prate modulaciju T_H odgovora. Naime, tijekom rane trudnoće odnosno prvog tromjesečja aktiviraju se proupalni mehanizmi feto-maternalne barijere zaslužni za procese decidualizacije, implantacije i preživljenja zametka. Potom dolazi do pretvorbe proupalnog u stanje protuupalnog stanja u cilju stvaranja imunološke tolerancije majke prema plodu te razvoja i rasta fetusa tijekom većinskog dijela trudnoće. Međutim, krajem trećeg tromjesečja dolazi do reaktivacije i predomnacije proupalnih čimbenika zaslužnih za inicijaciju procesa porođaja. Ovdje je važno naglasiti kako su ne-infekcijski upalni mehanizmi fiziološke prirode, premda mogu pridonijeti pojavi navedenih patoloških stanja u trudnoći (83,84,102).

1.3.2.2 Imunološka aktivnost bazalne decidue – Mehanizmi imunotolerancije

Uspostavom imunotolerancije, zametak odnosno plod ne podliježe reakcijama odbacivanja kao alogenog tkiva. Mehanizmi imunotolerancije uključuju komponente imunomodulacije stanične imunosti i humoralne imunosti, kao i imunosupresivno djelovanje posteljinih hormona. STB je endokrini organ koji luči mnoge hormone posteljice s imunosupresivnim učinkom na maternalno-fetalnom spoju (hCG, hPL, relaksin, progesteron i estrogen, humani placentalni hormon rasta), gdje se nalaze u višim koncentracijama nego u perifernoj majčinoj krvi (83,84). Osnova imunotolerancije leži u različitosti distribucije sustava humanih leukocitnih antigena (engl. *human leukocyte antigens*, HLA) klase I i II glavnog kompleksa tkivne podudarnosti (engl. *major histocompatibility complex*, MHC). Naime, stanice EVT izražavaju neklasične antigene klase I (HLA-G i HLA-E) te klasične HLA-C molekule, koje pokazuju ograničeni polimorfizam. Smatra se kako neklasični antigeni mogu blokirati citolitički učinak NK-stanica. Međutim, stanice STB ne izražavaju HLA molekule. Ovakvom distribucijom HLA molekula imamo fenomen da STB resica čini neprekinuti HLA-negativni sloj fetalnih stanica stvarajući barijeru između HLA-pozitivnih stanica ploda (ploda i EVT unutar resica obloženih STB) i imunokompetentnih stanica majke izloženih u interviloznom prostoru (102,103). Također, decidua sadrži mehanizme koji štite trofoblast od reakcije majčine humoralne imunosti, a posredovane protutijelima i sustavom komplementa putem majčine krvi u interviloznom prostoru. Majčina protutijela vezana za

površinu stanica STB djeluju kao receptor za molekule sustava komplementa i aktiviranje citolize stanica. Međutim, STB izražava proteine koji reguliraju komplement (CRP; poput MCP/CD46, DAF/CD55, MAC inhibitora/CD59). Ovim proteinima inhibira se aktiviranje kaskade komplementa te koči stvaranje citolitičkog kompleksa membrane. Aktivacija komplementa može se razviti putem djelovanja majčinih protutijela na fetalne antigene ili lokalnom aktivacijom (83,84,102,103). Poremećaj imunološke komunikacije majke i ploda ogledno u poremećaju imunotolerancije te aktivaciji imunološkog sustava majke u stanjima infekcija, imunoloških i neoplastičnih stanja, mogu potaknuti razvoj raznih perinatalnih komplikacija poput RPL-a, PTB-a, PE-e i razvoja ne-infekcijskog kroničnog VUE-e (83,84,102).

1.3.3 Patologija trudnoće

Poremećaj fizioloških mehanizama trudnoće može povisiti rizik pojavnosti perinatalnih patologija trudnoće uzrokovanih poremećajem razvoja i funkcije posteljice, čimbenika ploda odnosno majke u vidu utjecaja predgestacijskih kroničnih bolesti. Najznačajnije patologije trudnoće su preeklampsija (PE), gestacijski dijabetes *mellitus* (GDM), intrauterini zastoje u rastu ploda (IUZR), prijevremeni porođaj (engl. *preterm birth*, PTB), poremećaji posteljice (predležeca posteljica, abrupcija posteljice) te intrauterina smrt ploda. Druge komplikacije trudnoće uključuju: poremećaje rane trudnoće (spontani pobačaji, krvarenja u ranoj trudnoći, hidrops ploda), Rh-imunizacija, intrahepatička kolestaza u trudnoći, bolesti štitnjače, infekcije (npr. TORCH sindrom, infekcije mokraćnog sustava), poremećaje količine plodove vode (oligohidramniji i polihidramniji). Adekvatan antenatalni nadzor patoloških trudnoća te pravodobno liječenje komplikacija je nužan preduvjet održavanja niskih stopa perinatalnog morbiditeta i mortaliteta, a u većini slučajeva nužno je planiranje termina i način dovršenja trudnoće. Preeklampsija (PE) je poremećaj karakteriziran razvojem hipertenzije i proteinurije nakon 20. tjedna trudnoće. Smatra se kako PE nastaje uslijed neadekvatne placentacije odnosno remodeliranja spiralnih arterija, praćeno sustavnom endotelnom disfunkcijom i upalom. Komplikacije PE uključuju IUZR, eklampsiju (PE komplicirana eklamptičkim napadajima) i HELLP sindrom (engl. *hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets*). Pravodobno liječenje PE provodi se antihipertenzivnom terapijom, aspirinom, indukcijom porođaja ili dovršenjem carskim rezom. Gestacijski dijabetes *mellitus* (GDM) poremećaj je regulacije glikemije u trudnoći, a posredovan je inzulinskom rezistencijom. Ukoliko se ne prepozna, GDM može povećati rizik makrosomije ploda, porođajnih komplikacija odnosno

povećane stope dovršenja trudnoće carskim rezom, neonatalne hipoglikemije te drugih komorbiditeta djeteta i majke. Učinkovite intervencije u liječenju GDM-a uključuju dijabetičku dijetoterapiju uz promjenu životnog stila, a može se razmotriti primjena oralnih hipoglikemika ili inzulina. Prijevremeni porođaj (PTB) prije navršениh 37. tjedana trudnoće jedan je od vodećih uzroka perinatalnog mortaliteta, a smatra se kako prijevremeni početak trudova (engl. *preterm birth*) odnosno prijevremenog predterminskog prsnuća plodovih ovoja (PPROM) nastaje najčešće zbog infekcija vrata maternice ili intrauterinom infekcijom (1/3 slučajeva) uz hipoksiju ploda, insuficijencije vrata maternice ili ijatrogene procese (1/3 slučajeva), dok je uzrok ostatku slučajeva još nepoznat. Razlikuju se tri forme prijevremenog porođaja: spontani (SPP, bez prsnuća ovoja u 70% slučajeva), PPRM te ijatrogeni PP (nakon indukcije porođaja zbog PE, abrupcije posteljice, IUZR-a ili višeplodove trudnoće). Moguće terapijske opcije u PP uključuju primjenu progesterona, tokolitičke terapije ili serklažu vrata maternice. Intrauterini zastoj u rastu i razvoju ploda (IUZR) definiran je usporenjem rasta ploda čiji je potencijal za rast veći od izmjerenog, u odnosu na dob trudnoće, a može biti uzrokovan kromosomopatijama te infekcijama ploda (simetrični IUZR) ili disfunkcijom posteljice (asimetrični IUZR). IUZR komplicira razvoj ploda zbog pojave hipoksije i moguće intrauterine smrti ploda, te može uzrokovati neurološke poremećaje djece, kao i povećani perinatalni mortalitet. Pravilan nadzor trudnoća kompliciranih IUZR-a uključuje ultrazvučni nadzor ploda i protoka, intenzivniji nadzor srčane akcije kardiografskim (CTG) zapisom, a cilj je pravilno određivanje strategije dovršenja trudnoće. Poremećaji posteljice u užem smislu uključuju predležću posteljicu te poremećaje PAS spektra, koji mogu biti praćeni abrupcijom posteljice odnosno masivnim postpartalnim krvarenjem. Svrha antenatalne skrbi trudnoća s navedenim poremećajima uključuje konzervativno liječenje te planiranje dovršenja trudnoće carskim rezom. Konačno, najznačajnije porodničke komplikacije uključuju neuspješan vaginalni porođaj te operativno dovršenje porođaja, prijeteći (klinički) korioamnionitis, fetalni distress, inerciju i atoniju maternice te distociju ramena ploda pri porođaju (83,84,90).

1.4 NK STANICE

Urođena, poznata kao nativna ili nespecifična imunost je skup imunoloških važnih u ranoj obrani protiv produkata mikroorganizama i oštećenih tjelesnih stanica, a određene sastavnice reaktivne su i prije pojave štetnih čimbenika. To je evolucijski najstariji dio imunosti. Urođena imunost nadalje predstavlja svezu s adaptivnom (stečenom, specifičnom) imunošću koju pobuđuje, kada kapaciteti urođene imunosti u obrani od štetnih učinaka postanu nedostadni jer su adaptivni imunosni odgovori snažniji, a ova dva sustava djeluju i združeno (104). Važno je naglasiti kako sustav urođene imunosti posjeduje ne-infekcijske mehanizme, odnosno također prepoznaje endogene molekule sintetizirane i/ili izlučene iz oštećenih stanica, a nazvane su molekularnim obrascima povezanim s oštećenjem tkiva (engl. *damage-associated molecular patterns*, DAMP), a u određenim slučajevima i zdrave stanice mogu poticati njihovo stvaranje radi poticanja upale. Navedene molekule prepoznaju receptori za prepoznavanje obrazaca (engl. *pattern recognition receptors*, PRR), pronađeni na membrani i unutar stanica urođene imunosti koji aktiviraju unutarstanične signalne puteve za stimulaciju pro-upalnih funkcija stanica. NK stanice su jedne od glavnih sastavnica urođene imunosti. NK stanice najvećim dijelom nastaju u koštanoj srži, prevode rani imunosni odgovor protiv mikroorganizama, zaraženih i oštećenih stanica te luče INF- γ , kojeg luči i podvrsta CD4-pozitivnih izvršnih – limfocita T_H1 (104). U ljudskom organizmu postoje dvije imunofenotipski različite populacije NK stanica: periferne serumske (pNK) i uterine NK stanice (uNK) kao vrsta tkivno-specifičnih NK stanica. Razlikuju se prema izražaju staničnih biljega CD56 i CD16. Periferne NK stanice izražavaju manju gustoću CD56 biljega (CD56 diminished; CD56dim) i pozitivne su za CD16 (CD16+) te obilježene visokom razinom citotoksičnosti, dok uterine NK stanice imaju visoku gustoću izražaja CD56 (CD56 bright) i negativne su za CD16 (CD16-) što odgovara niskoj razini citotoksičnosti (105,106).

1.4.1 Razvoj uNK stanica

Uterine NK stanice imunofenotipski iskazuju različite karakteristike u odnosu na periferne NK (pNK) stanice u serumu i drugim tkivima, što upućuje na specifičan put razvoja uNK stanica u maternici, odnosno endometriju. Osim različite ekspresije CD biljega i lučenja različitih citokinskih profila, različita ekspresija gena je dodatna razdioba prema pNK stanicama. Međutim, točno podrijetlo ovih stanica nije još razjašnjeno te postoji nekoliko hipoteza nastanka i prilagodbe uNK stanica u mikrookolišu endometrija, s obzirom na to da uNK stanica možda predstavljaju

posebnu staničnu lozu ili prolaze diferencijaciju unutar endometrija iz prekursorskih stanica. Tri hipoteze koje opisuju razvoj uNK stanica uključuju: 1) *in situ* diferencijaciju i proliferaciju uNK stanica iz lokalnih CD34+ hematopoetskih prekursora prisutnih unutar decidue, 2) lokalnu diferencijaciju u decidui iz hematopoetskih matičnih stanica regrutiranih iz seruma te 3) regrutaciju serumskih CD56-pozitivnih^{bright} CD16-negativnih ili CD56-pozitivnih^{dim} CD16-pozitivnih pNK stanica iz kojih se posljedično diferenciraju uNK stanice (72,105). Bilo da je riječ o *in situ* ili regrutiranim hematopoetskim progenitorskim ili matičnim stanicama, odnosno pNK stanicama, transformirajući faktor rast (TGF β) i IL-15 unutar decidualiziranog endometrija mogu potaknuti diferencijaciju progenitorskih stanica u uNK stanice. TGF β promovira pretvorbu CD16-pozitivnih pNK stanica u CD16-negativnu formu stanica koje sliče uNK stanicama, dok je IL-15 jedan od ključnih citokina u diferencijaciji progenitorskih NK stanica u uNK stanice čija se razina ekspresije povećava u decidui nakon oplodnje (72,105,106).

1.4.2 Funkcije uNK stanica

Uterine NK stanice dio su urođene imunosti te jedne od glavnih populacija imunoloških stanica u decidualiziranom endometriju. Uspješna trudnoća ovisi o procesima decidualizacije endometrija i implantacije embrija te placentacije, a NK stanice imaju važnu ulogu u navedenim procesima. Za razliku od perifernih, granularnih i citotoksičnih CD56-negativnih CD16-pozitivnih (pNK) stanica, CD56-pozitivne CD16-negativne uNK stanice imaju nisku razinu citotoksičnosti. Niska razina citotoksičnosti uNK stanica u skladu je s prisutnošću neklasičnih HLA molekula (HLA-E, HLA-F, HLA-G) na stanicama EVT i ekspresijom inhibitornih receptora na NK stanicama (engl. *killer cell immunoglobulin-like receptors*, KIRs) kao važnih mehanizama imunotolerancije i preživljenja zametka (107). Decidualizacija je diferencijacija endometrijskih stromalnih stanica u specijalizirane decidualne stanice kao potpora implantaciji i preživljenju zametka (108). Uterine NK stanice olakšavaju decidualizaciju lučenjem IL-8 koji promovira angiogenezu (107). Uspješnu decidualizaciju i implantaciju embrija slijedi placentacija, odnosno rast posteljice koja prati razvoj fetusa putem krvne i nutritivne opskrbe. Uterine NK stanice u placentaciji sudjeluju regulacijom invazije EVT putem IL-8, INF- γ , TNF- α i angiogenih faktora TGF- β i vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF), a infiltracijom oko spiralnih arterija te lučenjem matriks metaloproteinaza (MMP) reguliraju remodeliranje uterinih spiralnih arterija (109,110).

1.5 PLAZMA STANICE

Adaptivna imunost posredovana je dvama vrstama imunskog odgovora – humoralnim i staničnim (celularnim) odgovorom, odnosno izvršnim mehanizmima s pomoću specifičnih protutijela i izvršnih T stanica. Staničnu imunost predvode T limfociti (zvani T stanice) čija je zadaća borba protiv unutarstaničnih mikroorganizama unutar fagocita ili zaraženih stanica, nedostupnih cirkulirajućim protutijelima u sklopu humoralne imunosti. T limfociti prepoznaju antigene, odnosno peptide stranih bjelančevina vezanih za molekule MHC kompleksa na membrani stanica, čime prepoznaju zaražene stanice, a ne topljive antigene. Razlikuje se nekoliko vrsta T stanica: 1) pomagačke T stanice (engl. *helper T cells*) koje citokinima, proizvedenima kao odgovor na stimulaciju antigenom, moduliraju imunodne reakcije urođene i stanične imunosti, 2) citotoksični T limfociti (CTL, engl. *cytotoxic T lymphocytes*) kao efektorske stanice uklanjanja unutarstaničnih patogena i zaraženih stanica, ali i 3) regulacijske T stanice (Treg) koje uglavnom suprimiraju imunodnu reakciju (104). Humoralna imunost uključuje specifična protutijela koja stvaraju B limfociti (zване B stanice) odnosno plazma stanice. Plazma stanice su diferencirane B stanice i nositelji adaptivne imunosti s produkcijom specifičnih protutijela (111). Limfni čvorovi kao sekundarni limfni organi služe razvoju adaptivnog odgovora na antigene dospjele limfom, unutar limfnih žila, a time i limfnih čvorova smještenih uz epitel ili međustaničnu tekućinu raznih tkiva. Limfni čvorovi su prema anatomsko-funkcionalnom građom određeni različitim funkcijama. Germinativne centre kore limfnih čvorova naseljavaju B limfociti u različitom stadiju zriobe, dok T limfociti ispunjavaju parakortikalne tračke bliže središtu čvora, a obje populacije stanica tako su u posebnim kompartmentima u bliskom susretu s odgovarajućom vrstom antigen prezentirajućih stanica (engl. *antigen presenting cells*, APC). Germinativni centri se razvijaju tijekom stvaranja imunskog odgovora na dospjeli antigen, rezultirajući diferencijacijom B limfocita u memorijske B stanice i dugovjeke plazma stanice (104).

1.5.1 Razvoj i funkcije plazma stanica

Nakon antigenske aktivacije, B limfociti proliferiraju i diferenciraju se u plazma stanice koje luče različite razrede protutijela zване imunoglobulinima (IgM, IgG, IgA, IgE). Odgovor B limfocita indirektno je posredovan pomagačkim CD4-pozitivnim T_H stanicama. Endometrijske stromalne plazma stanice (engl. *endometrial stromal plasma cells/plasmacytes*, ESPC) obilježene

su staničnim biljekom CD138 (*syndecan-1*). Upravo plazma stanice imaju važnu ulogu u obrani endometrija od intrauterinih infekcija (112,113). Specifičnost odgovora plazma stanicama u obrani od intrauterinih infekcija jest lučenje protutijela razreda IgA, koji se luče u epitelima poput endometrija. Također, *syndecan-1* (CD138) je proteoglikan s intrauterinim ulogama regulacije izvanstaničnog matriksa u procesima implantacije, invazije trofoblasta i angiogeneze. Oravec i sur. pokazali su sniženu ekspresiju gena za *syndecan-1* (SDC1) u preeklampsiji i intrauterinom zastoju rasta fetusa (114). Također, u kontekstu trudnoće važno je naglasiti kako majčina IgG protutijela aktivno prolaze posteljicu i štite plod do sazrijevanja imunskog sustava.

1.5.2 Endometritis

Endometritis je upala ili infekcija sluznice maternice, odnosno endometrija. U fiziološkim uvjetima izvan trudnoće te tijekom trudnoće uz održane plodove ovoje, endometrij je mikrobiološki sterilan. Razlikuju se dva osnovna etiopatogenetska oblika upale endometrija – infekcijski posredovan endometritis te ne-infekcijski posredovan endometritis (115,116). Endometrij može biti infiltriran imunološkim stanicama i bez invazije mikroorganizama u stanjima ne-infekcijski posredovane upale endometrija. Naime, u podlozi kroničnog endometritisa može i ne mora biti uzročna infekcija. Stoga se predlaže koncept „poremećaja upalnog odgovora endometrija“ (engl. *impaired inflammatory state of the endometrium*, IISE) kao multifaktorski pristup problemu kronične upale endometrija koji obuhvaća infekcijske i ne-infekcijske uzroke, a naglasak stavlja na poremećaj upalnog odgovora (116).

1.5.2.1 Infekcijski posredovana upala endometrija

Endometritis uzrokovan infekcijom uključuje dva osnovna klinička i histopatološka oblika – akutni (simptomatski) i kronični (subklinički) endometritis. *Akutni endometritis* nastaje uzlaznim infekcijom mikrobioloških činitelja putem rodnice i vrata maternice u uterus, posebice u oštećenom endometriju nakon kiretaže, pobačaja, porođaja ili carskog reza (puerperalni endometritis) te u sklopu upalne zdjelične bolesti (engl. *Pelvic inflammatory disease*, PID) (117,118). Klinički se prezentira slabošću, febrilitetom, zdjeličnom boli, pojačanim iscjetkom iz rodnice, nenormalnim krvarenjem iz maternice te mogućim mukopurulentnim cervicitisom prezentiranim osjetljivošću pri palpaciji vrata maternice, kao i znakovima akutnog abdomena (115). Histološki se opisuje prisutnošću neutrofila u stromi i lumenu žlijezda endometrija, uz

stvaranje mikroapscesa te razaranje žlijezda (115). Uzročnici akutnog endometritisa uključuju aerobne i anaerobne bakterije. Endometritis uzrokovan aerobima uključuje najčešće invaziju streptokoka grupe A (*S. pyogenes*) ili B (*S. agalactiae*) te stafilokoka (*S. aureus*), dok anaerobi uključuju sojeve *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Prevotella* (118). Endometritis u sklopu PID-a uključuje uzročnike spolno prenosivih infekcija (SPI) *Neisseria gonorrhoeae* ili *Chlamydia trachomatis*. Liječenje akutnog endometritisa treba započeti u ranoj fazi pojave simptoma, a uključuje potporne mjere i antibiotsku terapiju (119). Osim životno ugrožavajućih komplikacija (septički šok, nekrotizirajući fasciitis), neadekvatno liječenje može izazvati razvoj zdjelčnih priraslica, kao i Ashermanovog sindroma uz posljedičnu sekundarnu amenoreju ili uterini čimbenik neplodnosti (120). *Kronični endometritis* je stanje kronične, subkliničke upale endometrija koja je karakterizirana infiltracijom plazma stanica u endometriju. Subkliničkog je tijeka te uključuje nelagodu u zdjelici, *spotting* i pojačani iscjedak iz rodnice, ali se može prezentirati i hipomenorejom, sekundarnom amenorejom i neplodnosti (121). Histološke značajke kroničnog endometritisa uključuju edem funkcionalne zone endometrija, visoku gustoću stromalnih stanica, disocijaciju sazrijevanja epitela i strome te infiltraciju ESPC-a (122). Najčešći uzročnici kroničnog endometritisa su sojevi streptokoka i stafilokoka, *E. coli*, *E. faecalis*, sojevi mikoplazma i ureaplazma, sojevi proteusa, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Gardnerella*, *Corynebacterium*, ali i gljiva (*Saccharomyces cerevisiae* i *Candida*) (122). U zemljama u razvoju čest uzročnik je *Mycobacterium tuberculosis* s kroničnim granulomatoznim endometritisom (123). Suprotno akutnom, učestalost uzročnika SPI-a *N. gonorrhoeae* ili *C. trachomatis* u kroničnom je endometritisu niska te primjena ciljanih antibiotika nije poboljšala značajke plodnosti u pacijentica s ovim uzročnicima kroničnog endometritisa (122,124). Kronični endometritis je povezan je s reproduktivnim poremećajima poput neplodnosti, implantacijskih neuspjeha i pobačaja te je povezan s pojavom perinatalnih komplikacija u obliku kroničnog decidualitisa (125–127). Detekcija CD138-pozitivnih plazma stanica u endometriju smatra se dijagnostičkim kriterijem kroničnog endometritisa, ali bez standardiziranih kriterija i jasnih smjernica (112,113). Liječenje kroničnog endometritisa uključuje terapiju, prvenstveno antibioticima širokog spektra (doksiciklin, amoksicilin uz klavulansku kiselinu, ciprofloksacin), osim u slučajevima tuberkuloznog endometritisa kad se primjenjuje četverostruka antituberkulozna kemoterapija (121).

1.5.2.2 Ne-infekcijski posredovana upala endometrija

Ravnoteža imunoloških reakcija ima ključnu ulogu u procesima koji omogućuju normalan razvoj i održavanje fizioloških trudnoća. Svako narušavanje takvog mehanizma – bilo u smjeru prekomjerne imunosupresije ili pretjerane aktivacije upalnog odgovora u endometriju – može negativno utjecati na plodnost te povećati rizik od komplikacija u trudnoći (128). Poremećaji upalnog odgovora u endometriju koji nisu uzrokovani infekcijom prepoznati su u brojnim ginekološkim stanjima, uključujući kronični endometritis, endometriozu i obilna menstruacijska krvarenja (129). Navedeni entiteti povezuju se s reproduktivnim poremećajima poput neplodnosti, RPL-a, PTB-a, IUZR-a, PE-e te, u najtežim slučajevima, intrauterine smrti ploda (130–133). Osim toga, ne-infekcijski posredovane upalne promjene endometrija javljaju se u metaboličkim poremećajima (poput dijabetesa melitusa, dislipidemije, hipertenzije i pretilosti) (134), kroničnim imunološkim bolestima (npr. autoimune bolesti i alergije) (133), prisutnošću endometrijskih polipa (135), endometriozom (136), adenomiozom (137) te zloćudnim bolestima endometrija i vrata maternice (138), kao i pri izrazitoj prisutnosti rizičnih okolišnih i antropoloških faktora s oksidativnom stresom (pušenje cigareta, zagađenost zraka, poremećaji spavanja, starija dob) (139). Dolazi do modulacije ravnoteže upalnog odgovora zbog disregulacije različitih komponenti stanične imunosti, primjerice povećanog broja uNK stanica tijekom proliferacijske i rane sekretorne faze ciklusa, povećane ekspresije aktivacijskih antigena na uNK stanicama, prevladavanja T_H1 nad T_H2 imunološkim odgovorom te prekomjerna aktivacija sustava prostaglandina (132,133).

1.6 TEORIJSKI REZIME

Iznošenjem teorijske podloge endometrioze, komponenti imunološkog sustava te procesa u trudnoći, u kratkim crtama predstaviti će se teorijske povezanosti ovih problematika koje je bile temelj hipoteza istraživanja za izradu doktorskog rada. Navedeno obuhvaća dosadašnja literaturna znanja o utjecaju endometrioze u trudnoćama, uz nepoznat utjecaj na komponente imunološkog odgovora (CD56-pozitivne NK stanice i CD138-pozitivne plazma stanice) i patologiju terminskih nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom metodama MPO-e, u odnosu na fiziološke trudnoće.

1.6.1 Endometriozna i trudnoća

Izuzev istraživanja u području neplodnosti uzrokovane endometriozom, posljednjih godina istraživanja pokazuju negativan učinak endometrioze i u trudnoćama, bilo onim fiziološkim ili češće nakon liječenja metodama MPO-e. Literatura navodi povećan rizik perinatalnih i porodničkih komplikacija, uključujući rizik od pobačaja, predležće posteljice, PTB-a i dovršenja porođaja carskim rezom (6,140). Postoji rasprava o tome trebaju li se trudnoće pacijentica s endometriozom smatrati visokorizičnim trudnoćama, neovisno o stadiju endometrioze. Horton i sur. zaključili su kako bi se pacijenticama s endometriozom trebalo ponuditi prenatalno savjetovanje, s postupnom trudnoćom smatranom visokorizičnom do porođaja (6). Prema ESHRE smjernicama, kliničari bi trebali biti oprezni u monitoringu trudnoća, premda nema jasnih preporuka za intenzivniji antenatalni nadzor. Ultrazvučni izgled endometrioma jajnika može se promijeniti tijekom trudnoće kada se pacijentice trebaju uputiti u referentni centar. Također, smjernice naglašavaju svijest o komplikacijama predgestacijske endometrioze koje uključuju poremećaje decidualizacije, krvarenja, spontanih pobačaja i ektopičnih trudnoća u prvom tromjesečju, formiranja/deformacije priraslica i drugih posljedica prisutnosti kronične upale, što ponekad može biti razlogom hitnih kirurških intervencija (74).

1.6.2 Endometriozna i posteljice

Dosadašnja istraživanja su ukazala na histopatološku različitost posteljica roditelja nakon neplodnosti uzrokovane endometriozom u odnosu na posteljice pacijentica nakon neplodnosti bez endometrioze te liječenja metodama MPO-e, ali bez jasno definiranih histoloških kriterija.

Marcellin i sur. utvrdili su promjene parijetalne decidue u smislu razvoja žljezdanih cističnih struktura nalik endometriotičnom tkivu, kao i zadebljanja parijetalne decidue s razvojem *de novo* mikrovaskularizacije, fibrinoidne nekroze s degeneracijom resica (141,142). Volodarsky-Perel i sur. otkrili su kako je endometrioza značajno povezana s predležecom posteljicom, upalnim i vaskularnim malperfuzijskim lezijama posteljice. Upalne lezije posteljice uključivale su korioamnionitis s umjerenim do teškim maternalnim i fetalnim odgovorom, dok su vaskularne malperfuzijske lezije uključivale interviloznu trombozu, povećano nakupljanje subkorionskog fibrina te FVM (143). Ferrero i sur. pronašli su poremećaj morfometrijskih karakteristika posteljica u trudnica s endometriozom u fiziološkim trudnoćama (144). Osim navedenog utjecaja endometrioze, ne smije se zaboraviti ni utjecaj različitih metoda MPO-e na pojavu poremećaja placentacije (145). Nije poznat točan utjecaj endometrioze na patologiju posteljice, ali su predloženi mehanizmi imunološke prirode koji sudjeluju u implantaciji, decidualizaciji i placentaciji te uključuju uNK stanice i plazma stanice, što je osnova razvoja poremećaja trudnoće prvenstveno vezanih uz placentaciju.

1.6.3 Endometrioza i NK stanice

Patogenetski mehanizmi nastanka endometrioze uključuju poremećaj imunološkog odgovora u peritonealnoj šupljini te je posljedično poremećen proces uklanjanja ektopičnog endometriotičnog tkiva (146,147). Poremećaj imunoloških reakcija također je utvrđen u endometriju te uključuje poremećaj NK stanica u pacijentica s neplodnosti uzrokovane endometriozom (71,148). Istraživanja uNK stanica u endometriju pacijentica s endometriozom pokazala su povišen udio uNK stanica tijekom sekretorne faze menstruacijskog ciklusa, te povišen udio citotoksičnog tipa uNK stanica obilježenih staničnim biljekom CD16 kod RPL (148,149). Osim poremećene dinamike NK stanica u ektopičnom tkivu izvan trudnoće, što negativno utječe na endometrijsku receptivnost, poremećena je dinamika NK stanica u eutopičnom endometriju, uz nepoznat odnos uNK stanica u *decidui basalis* u trudnoći (62,106).

1.6.4 Endometrioza, plazma stanice i endometritis

Osim s reproduktivnim poremećajima, istraživanja povezuju kronični endometritis s endometriozom. Evidentirana je povećana učestalost kroničnog endometritisa u pacijentica s endometriozom te povezanost broja CD138-pozitivnih plazma stanica u biopstatima endometrija

neplođnih pacijentica s progresijom kliničke slike endometrioze (150–153). Plazma stanice su u većem obujmu uključene u imunološke reakcije u limfnim čvorovima drenažnog puta maternice i endometriotičnih žarišta te su u većem broju pronađene u endometriomima jajnika (154–156). Ovdje je važno naglasiti kako endometrioza, povezana ne samo s infektivnim oblikom kroničnog endometritisa, može biti model ne-infektivski posredovane upale endometrija putem poremećaja, što bi bilo sukladno konceptu „poremećaja upalnog odgovora endometrija“ uz poremećaje drugih komponenti stanične imunosti koje također moduliraju aktivnosti plazma stanica (116).

2 CILJEVI I HIPOTEZE

Ovaj doktorski rad izrađen je na temelju dvaju publiciranih istraživanja (157,158), stoga su hipoteze i ciljevi podijeljeni sukladno provedenim istraživanjima.

2.1 Hipoteze istraživanja

H0 prvog istraživanja: Termenske posteljice trudnoća nakon neplodnosti uzrokovane endometrioza imaju veću učestalost histopatoloških lezija u odnosu na termenske posteljice trudnoća nakon neplodnosti zbog muškog čimbenika i fizioloških trudnoća.

H0 drugog istraživanja: Broj CD56-pozitivnih NK stanica i CD138-pozitivnih plazma stanica u bazalnoj decidui terminskih posteljica u trudnoćama nakon neplodnosti uzrokovane endometrioza razlikuje se od broja navedenih stanica u bazalnoj decidui terminskih posteljica nakon neplodnosti zbog muškog čimbenika i fizioloških trudnoća.

2.2 Ciljevi istraživanja

Ciljevi prvog istraživanja:

Glavni cilj: Utvrditi učestalost histopatoloških lezija terminskih posteljica jednoplodovih trudnoća nakon neplodnosti uzrokovane endometrioza i liječenja metodama MPO-e u odnosu na dvije kontrolne skupine.

Sporedni ciljevi:

1. Utvrditi učestalost perinatalnih i porodničkih komplikacija u jednoplodovim trudnoćama nakon neplodnosti uzrokovane endometrioza i liječenja metoda MPO-e u odnosu na dvije kontrolne skupine.
2. Ispitati povezanost endometrioze s histopatološkim karakteristikama terminskih posteljica.

Ciljevi drugog istraživanja:

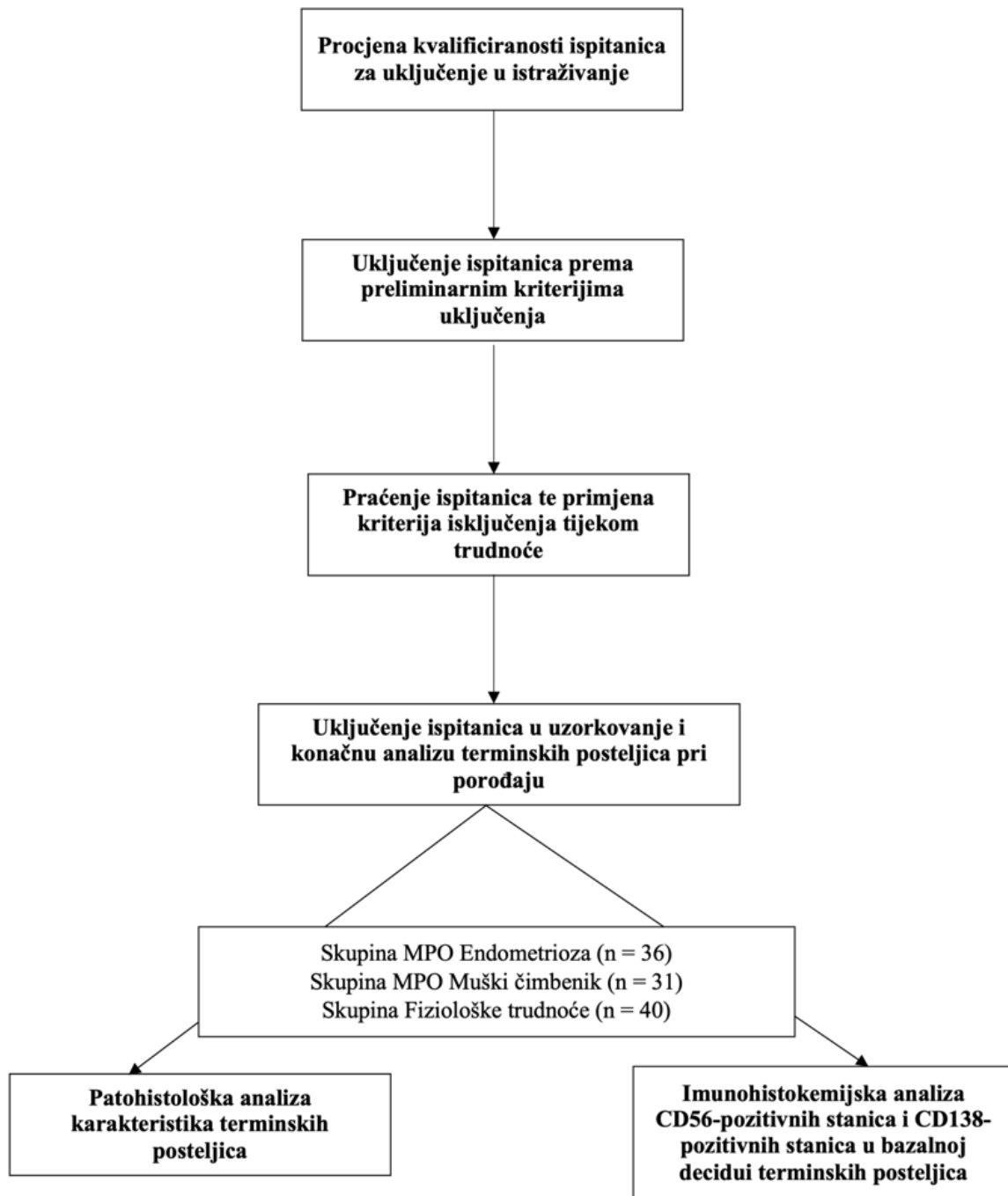
Glavni cilj: Ispitati broj CD56-pozitivnih NK stanica i CD138-pozitivnih plazma stanica u bazalnoj decidui terminskih posteljica u jednoplodovim trudnoćama nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometrioza u odnosu na dvije kontrolne skupine.

Sporedni cilj: Istražiti povezanost broja CD56-pozitivnih NK stanica i CD138-pozitivnih plazma stanica u bazalnoj decidui te histopatoloških lezija terminskih posteljica u jednoplodovim trudnoćama navedenih ispitivanih skupina.

3 MATERIJALI I METODE

3.1 Ustroj istraživanja

Prema vrsti istraživanja, ovo je monocentrično istraživanje slučajeva i kontrola provedeno u bazama KBC-a Split između siječnja 2022. te ožujka 2024. godine. U skupinu slučajeva uključene su neplodne pacijentice s endometriozom, dok su u dvije skupine kontrola uključene pacijentice s neplodnosti zbog muškog faktora, kao i zdrave pacijentice sa spontanom (fiziološkim) trudnoćama. Izvori podataka uključuju kliničke podatke ispitanica liječenih postupcima MPO-e te ispitanica s fiziološkim trudnoćama kao i posteljice uzorkovane iz trudnoća navedenih ispitanica, uz podatke dobivene patohistološkom i imunohistokemijskom analizom histoloških presjeka uzorkovanih posteljica. Tijek faza istraživanja prikazan je hodogramom (Slika 2). Istraživanja su provedena u skladu s Helsinškom deklaracijom. Etičko povjerenstvo KBC-a Split odobrilo je provedbu istraživanja, prema predloženom Planu istraživanja (klasa br. 520-03/24-01/83; ur.br. 15-24-1).



Slika 2 Tijek istraživanja histopatološke i imunohistokemijske analize terminskih posteljica ispitanica u skupinama MPO Endometrioza, MPO Muški čimbenik i Fiziološke trudnoća. *MPO* medicinski potpomognuta oplodnja.

3.2 Materijali istraživanja

3.2.1 Ispitanice

Istraživanje histopatoloških karakteristika terminskih posteljica te broja CD56-pozitivnih NK stanica i CD138-pozitivnih plazma stanica u bazalnoj decidui posteljica iz trudnoća postignutih nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom provedeno je na uzorku ispitanica od 3 skupine: posteljice ispitanica s neplodnosti uzrokovane endometriozom liječene postupcima MPO-e, posteljice ispitanica s neplodnosti uzrokovane muškim čimbenikom liječene postupcima MPO-e te skupinom posteljica zdravih ispitanica sa spontanom trudnoćama (Fiziološke trudnoće).

Ispitanice liječene postupcima MPO-e na Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Split direktno su uključene za procjenu kvalificiranosti u istraživanju. Nakon preliminarnih kriterija isključenja praćene su tijekom trudnoće te odabrane za konačnu analizu posteljica prema navedenim kriterijima uključanja i isključenja (*vidi dolje*). Ispitanice sa fiziološkim trudnoćama uključene su u istraživanje jednostavnim slučajnim odabirom (metodom lutrije) prilikom dolaska u Odjel rađaonice Klinike za ženske bolesti i porode.

Kriteriji uključanja i isključenja ispitanica za uzorkovanje posteljica su (v.d. *Slika 3*):

Kriteriji uključanja:

- Ispitanice sa ženskim čimbenikom neplodnosti (endometriozom) liječene postupcima MPO-e,
- Ispitanice s endometriozom potvrđenom tijekom laparoskopskog zahvata ili ispitanica s cistama jajnika s ultrazvučnim izgledom endometrioma i sumnjom na peritonealne lezije, a koje nisu bile liječene kirurškim metodama,
- Ispitanice s muškim čimbenikom neplodnosti liječene postupcima MPO-e,
- Ispitanice s fiziološkim trudnoćama, a inače zdrave (bez komorbiditeta).

Kriteriji isključenja:

- Ispitanice s idiopatskom neplodnosti, sindromom policističnih jajnika (PCOS), smanjenom ovarijskom rezervom (DOR), čimbenikom jajovoda ili maternice i ispitanice u onkofertilitetnom postupku,
- Trudnoće u ispitanica s postupcima donacije jajnih stanica,
- Ispitanice s autoimunim bolestima (Hashimotov tireoiditis, reumatoidni artritis, upalne bolesti crijeva itd.),
- Ispitanice s trombofilijom,
- Ispitanice s predgestacijskim kroničnim nezaraznim bolestima (arterijska hipertenzija, DM, bolesti jetre itd.),
- Ispitanice s višeplođovim trudnoćama,
- Ispitanice s komplikacijama u trudnoći (pobačaj, Rh-imunizacija, kromosomski ili kongenitalni poremećaji, PTB itd.).

3.2.2 Posteljice

Materijal istraživanja predstavljaju posteljice prikupljene nakon porođaja prema kriterijima uključenja i isključenja ispitanica te poslane u Odjel patologije Kliničkog zavoda za patologiju, citologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC-a Split za potrebe histopatološke te imunohistokemijske analize.

3.3 Metode istraživanja

3.3.1 Patohistološka analiza posteljice

Posteljice su bile prikupljene unutar 30 minuta od porođaja, fiksirane u 4% pufiriranom formalinu, i poslane u Klinički odjel za patologiju KBC-a Split za PHA. Jedan iskusan perinatalni patolog analizirao je sve posteljice, zaslijepljen za pridruženu skupinu ispitanica (uzorka) u istraživanju. Za potrebe istraživanja, jedan je presjek posteljice uzet s mjesta diska posteljice blizu insercije pupkovine te su svi presjeci posteljice sadržavali sloj bazalne decidue. Uzorci posteljica su bili ugrađeni u parafinske blokove, s tkivnim rezom debljine 4 μ m, postavljeni na silanizirana stakalca, osušeni na 37° C te obojani hemalaun-eozin bojiлом (HE).

Za potrebe prvog istraživanja, provedena je patohistološka analiza prema Amsterdam konsenzusu o patologiji posteljica te su dijagnostificirane lezije posteljica podijeljene u anatomske lezije, upalne lezije, lezije vilozne zrelosti te lezije vaskularnih malperfuzijskih poremećaja (92). PHA posteljica te digitalne fotografije posteljičnih lezija su izrađene korištenjem mikroskopa Olympus BX46 te Olympus Image Analyzer programa (s uvećanjem slike 40-200x).

3.3.2 Imunohistokemijska analiza

Za potrebe drugog istraživanja korišten je sljedeći protokol za imunohistokemijsku analizu serijskih presjeka za svaki uzorak posteljice: parafinski presjek postavljen je na *super frost* stakalca (Thermoscientific, Germany) te je procesuiran u automatskom uređaju (Ventana Bench Mark Ultra Autostainer, Ventana Roche, Tucson, Arizona, USA). Za imunohistokemijsku detekciju NK stanica i plazma stanica u bazalnoj decidui korištena su primarna monoklonska mišja protutijela (CD138/syndecan-1/B-A38; CD56/MRQ-42/RO; Ventana Rosche, Tucson, Arizona, USA). Potom će se koristiti sekundarna protutijela Universal Dab detekcijskog kita (Ventana Roche, Tucson, Arizona, USA) prema standardnom protokolu. Pozitivna reakcija za sva primarna protutijela smatrano je difuzno smeđe membranozno i citoplazmatsko obojenje uz uzorak normalne sluznice kolona kao pozitivne kontrole. Stanice koje su imunohistokemijski bile CD56 pozitivne smatrane su NK stanicama, a stanice koje su imunohistokemijski bile CD138 pozitivne smatrane su plazma stanicama. Broj CD56-pozitivnih NK stanica i CD138-pozitivnih plazma stanica u svakom uzorku bile su određene kao broj stanica na 1mm^2 decidue *basalis* uporabom Olympus BX46 mikroskopa te Olympus Image Analyzer programa.

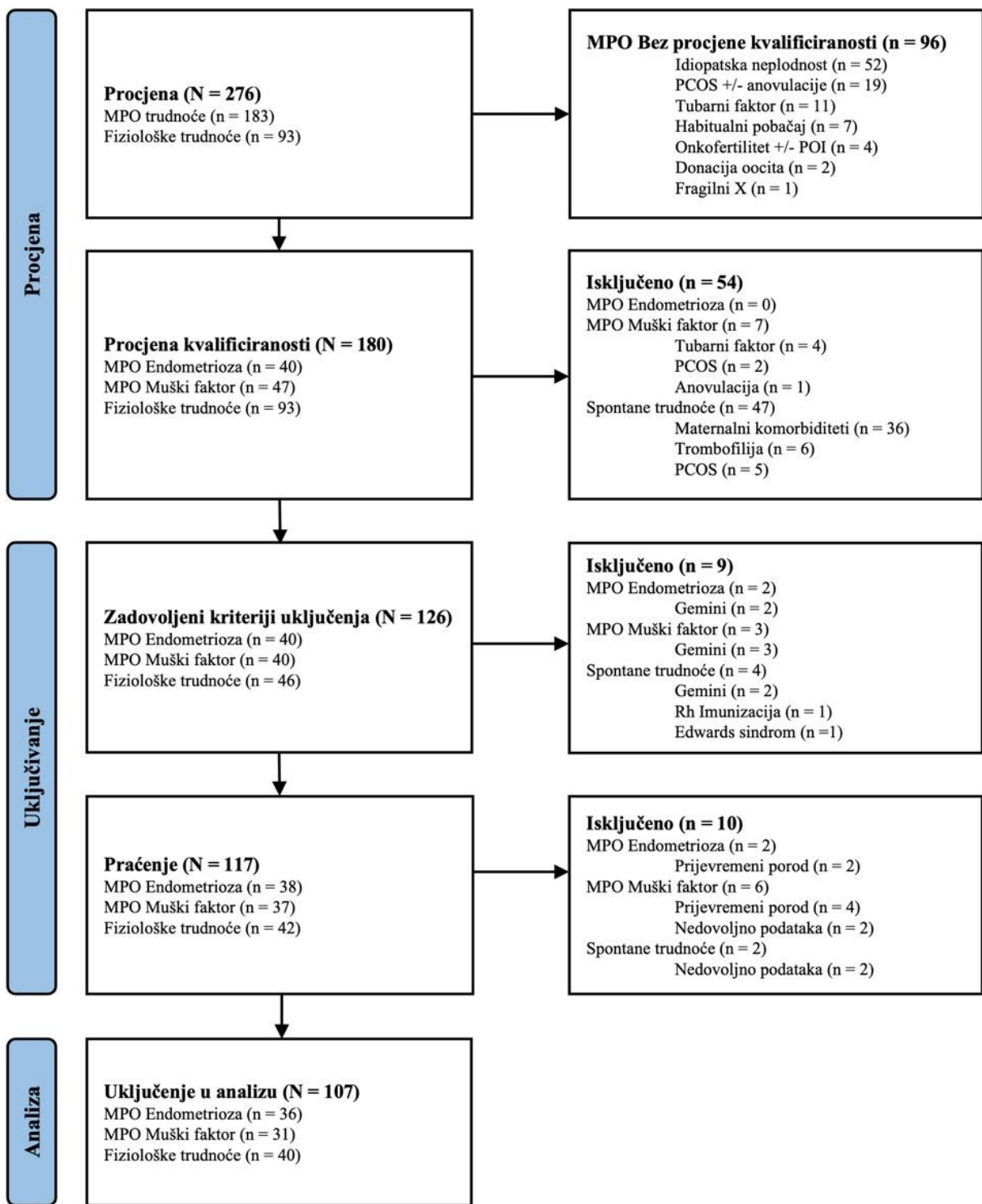
3.3.3 Statistička analiza podataka

Veličina uzorka izračunata je korištenjem G*Power 3.1 programskog alata. Za usporedbu histopatoloških karakteristika terminskih posteljica prema alfa razini (α) od 0.05, 95% snage ($1-\beta$) i veličinom učinka (eng. effect size, $w = 0.5$), odnosno za usporedbu broja CD56-pozitivnih NK stanica i CD138-pozitivnih plazma stanica u bazalnoj decidui između tri skupine istraživanja, a prema α razini od 0.05, 90% snage ($1-\beta$) i w od 0.5, izračunali smo sveukupno minimalno potrebnu veličinu uzorka od 91 posteljice. Normalnost distribucije kontinuiranih podataka analizirana je pomoću Kolmogorov-Smirnov testa. Na temelju distribucije, kontinuirani podatci prijavljeni su prosjekom i standardnom devijacijom (SD) ili medijanom (uz interkvartilni raspon, IQR; te 25. i

75. percentilu). Kategorički podatci prijavljeni su frekvencijom (n) i udjelom (%). Razlike varijabli između skupina istraživanja prema vrsti varijable analizirane su hi-kvadrat (χ^2) ili Fisher egzaktnim testom u pogledu kategoričkih varijabli, dok je analiza varijance (ANOVA) s *post hoc* testom korištena za analizu razlika kontinuiranih varijabli. Dodatno su provedene regresijske analize, premda istraživanja nisu bila razvijena za potrebe takvih analiza. U prvom istraživanju provedena je multivarijatna regresijska analiza (engl. *multivariate logistic regression*) s prilagodbom za zbunjujuće čimbenike (eng. *adjustment for confounding factors*), kako bi se ispitaio odnos endometrioze i lezija posteljice. U drugom istraživanju provedena je regresijska analiza s krivuljom operativnih karakteristika prijemnika (eng. *receiver operating characteristics, ROC*) kako bi se ispitaio odnos broja NK i plazma stanica u bazalnoj decidui te histopatoloških promjena terminskih posteljica. Vrijednost statističke značajnosti u svim analizama postavljena je na razinu $P < 0.05$. Statistička i grafička analiza svih podataka provedena je pomoću GraphPad Prism programskog alata, verzija 10.2.2 (GraphPad Software, Boston, Massachusetts USA).

4.1 Proces uključenja ispitanica

Tijek istraživanja prema kriterijima uključenja i isključenja ispitanica za potrebe uzorkovanja posteljica prikazan je na Slici 3. Ukupno je 276 ispitanica bilo procijenjeno za uključenje u studiju, ali zbog navedenih kriterija isključene su 150 ispitanice. Na početku trudnoće, ukupno je 126 ispitanica zadovoljilo kriterije uključenja u studiju, ali zbog navedenih kriterija tijekom trudnoće isključeno je 19 ispitanica. Konačno je 107 ispitanica s terminskim porođajem te uzorkovanim posteljicama uključeno u završnu analizu istraživanja, uključujući 38 ispitanica u skupini MPO Endometrioza, 31 ispitanicu u skupini MPO Muški čimbenik te 40 ispitanica u skupini Fizioloških trudnoća.



Slika 3 Dijagram uzorkovanja posteljica ispitanica tijekom istraživanja. MPO medicinski potpomognuta oplodnja, PCOS sindrom policističnih jajnika.

4.2 Kliničke karakteristike ispitanica

Kliničke karakteristike uključenih ispitanica uključuju dob, ITM prije trudnoće, graviditet, paritet i broj spontanih pobačaja, trajanje neplodnosti, karakteristike kliničke slike endometriozе (Tablica 2). Ispitanice u skupinama s endometriozom i muškim čimbenikom neplodnosti bile su značajno starije u odnosu na ispitanice s fiziološkim trudnoćama ($P < 0.001$). Navedene skupine ispitanica uključivale su značajno veći udio prvorotki ($P < 0.001$) te starijih prvorotki ($P < 0.001$) u odnosu na ispitanice s fiziološkim trudnoćama. Suprotno, ispitanice u skupini fizioloških trudnoća bile su u značajnije većem udjelu višerotke u odnosu na ispitanice s trudnoćama iz postupaka MPO-e ($P < 0.001$), sa značajnije višim graviditetom ($P = 0.001$) i paritetom ($P < 0.001$). Naime, ispitanice u skupinama endometriozе i muškog faktora neplodnosti liječene su postupcima MPO-e zbog primarne, odnosno sekundarne neplodnosti, sa sličnim udjelima ispitanica među skupinama. Među ispitanicama svih skupina nije bilo razlike u broju spontanih pobačaja. Ispitanice u skupini endometriozе imale su značajnije duže trajanje neplodnosti u odnosu na ispitanice s muškim čimbenikom neplodnosti ($P < 0.001$). Unatoč sličnim vrijednostima ITM-e između skupina, u skupini endometriozе bio je značajnije veći udio ispitanica s pothranjenošću u odnosu na kontrolne skupine ($P < 0.017$). Prema vrsti liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom, 61.1% ispitanica podvrgnuto je laparoskopskom liječenju endometriozе prije liječenja postupcima MPO-e, dok je 38.9% ispitanica liječeno postupcima MPO-e bez prethodnog kirurškog liječenja. Ispitanice su se prezentirale češće unilateralnim endometriomima jajnika nego bilateralnim tvorevinama, a otkriven je samo jedan slučaj izvanzdjeljne endometriozе nakon laparoskopskog liječenja. Medijan vremena od kirurškog liječenja endometriozе do trudnoće bio je 3 godine.

Tablica 2 Kliničke karakteristike uključenih ispitanica.

	MPO Endometrijoza (n=36)	MPO Muški čimbenik (n=31)	Fiziološke trudnoće (n=40)	<i>P</i>
Dob , godine	33 (4.5, 31.75-36.25)	34 (5.5, 31-36.5)	31 (6, 26-32)	< 0.001*
Graviditet , prosjek (SD)	0.3 (0.5)	0.3 (0.5)	1.1 (1.3)	0.001*
Paritet , prosjek (SD)	0.1 (0.4)	0.2 (0.4)	0.8 (1.0)	< 0.001*
Prvorotke	31 (86.1)	25 (80.6)	20 (50)	< 0.001†
Starije prvorotke	14 (41.2)	13 (52)	1 (5)	< 0.001†
Višerotke	5 (13.9)	6 (19.4)	20 (50)	< 0.001†
Spontani pobačaji , prosjek (SD)	0.2 (0.5)	0.1 (0.3)	0.3 (0.8)	0.174
Neplodnost , godine	2.75 (2, 2-4)	2 (1.5, 1.5-3)	Na	< 0.001*
Primarna / Sekundarna (%)	31 (86.1) / 5 (13.9)	25 (80.6) / 6 (19.4)	Na	0.547
ITM prije trudnoće , kg/m ²	21.62 (4.42, 20.03-24.45)	22.49 (5.1, 20.16-25.26)	22.62 (2.64, 20.96-23.60)	0.660
Uredna tjelesna težina (18.5-24.99)	23 (63.9)	23 (74.2)	35 (87.5)	0.055
Pothranjenost (< 18.49)	5 (13.9)	1 (3.2)	0	0.017††
Povećana tjelesna težina (25-29.99)	8 (22.2)	7 (22.6)	3 (7.5)	0.137
Pretilost (> 30)	0	0	2 (5)	0.330
Prezentacija endometrijoze		Np	Np	Np
Unilateralni endometriomi	21 (58.3)			
Bilateralni endometriomi	14 (38.9)			
Izvanzdjelična žarišta	1 (2.8)			
Kirurško liječenje endometrijoze	22 (61.1)	Np	Np	Np
Vrijeme od operacije do trudnoće , godine	3 (4.1, 1.6-5.7)	Np	Np	Np

Np nema podatka, *MPO* medicinski potpomognuta oplodnja.

Podatci opisani medijanom (uz interkvartilni raspon, IQR te 25.-75. percentilom) ili frekvencijom (n) i udjelom (%), te prosjekom i standardnom devijacijom (SD) u navedenim varijablama.

* Kruskal-Wallis ANOVA, † hi-kvadrat test, †† Fisher egzaktni test, *P* < 0.05.

4.3 Perinatalne i porodničke komplikacije

Perinatalne i porodničke komplikacije prikazane su u Tablici 3. Ispitanice u skupini endometrioze imale su značajno učestalije epizode krvarenja u ranoj trudnoći ($P = 0.046$) te znakova prijetecog prijevremenog porođaja ($P = 0.017$) u odnosu na kontrolne skupine. Hipotireoza u trudnoći bila je značajnije učestalija u skupini endometrioze i muškog čimbenika neplodnosti u odnosu na fiziološke trudnoće ($P = 0.047$). U svim skupinama nije bilo slučajeva PE ni intrahepatičke kolestaze u trudnoći. Razlike u prirastu tjelesne težine u trudnoći, učestalosti GDM-a, poremećaja plodove vode (oligohidramnija i polihidramnija), prijevremenog prsnuća plodovih ovoja nakon 37 tjedna trudnoće, znakova kliničkog korioamnionitisa, mekonijske plodove vode, stava ploda te poremećaja trećeg porođajne faze nisu bile statistički značajne. Ispitanice u skupinama endometrioze i muškog čimbenika neplodnosti imale su značajno nižu učestalost vaginalnog porođaja ($P < 0.001$) te učestalije dovršenje porođaja carskim rezom zbog neuspješnog vaginalnog porođaja ($P < 0.001$) u odnosu na fiziološke trudnoće. Ispitanice u skupini muškog čimbenika neplodnosti imale su značajno veću učestalost inercije maternice u odnosu na skupine endometrioze i fizioloških trudnoća ($P = 0.006$). Skupine endometrioze i muškog čimbenika neplodnosti imale su značajno veću učestalost fetalnog distresa u odnosu na fiziološke trudnoće ($P = 0.005$). Unatoč izostanku slučajeva ispitanica sa sumnjom na IUZR i makrosomije ploda u svim skupinama, novorođenčad ispitanica u skupini endometrioze imala je značajno najnižu porođajnu masu ($P = 0.047$). Također, u skupini endometrioze uočena je veća učestalost novorođenčadi s porođajnom masom manjom za dob trudnoće (engl. *small for gestational age*, SGA) te novorođenčadi s porođajnom masom većom za dob trudnoće (engl. *large for gestational age*, LGA) u skupini muškog čimbenika neplodnosti, ali bez statistički značajnih razlika.

Tablica 3 Perinatalne i porodničke komplikacije trudnoća uključenih ispitanica.

	MPO Endometrioza (n=36)	MPO Muški čimbenik (n=31)	Fiziološke trudnoće (n=40)	P
Prirast tjelesne težine u trudnoći, kilogrami	13 (8.5, 11-19.5)	14 (7, 11-18)	13 (9, 9-18)	0.461
Krvarenje u ranoj trudnoći	12 (33.3)	7 (22.6)	4 (10)	0.046 [†]
Hipotireoza u trudnoći	9 (25)	9 (29)	3 (7.5)	0.047 [†]
Gestacijski dijabetes melitus	0	3 (9.7)	1 (2.5)	0.101
Preeklampsija	0	0	0	Na
Intrahepatička kolestaza trudnoće	0	0	0	Na
Oligohidramij	1 (2.8)	1 (3.2)	0	0.527
Polihidramnij	1 (2.8)	0	1 (2.5)	0.988
Prijeteći prijevremeni porodaj	5 (13.9)	1 (3.2)	0	0.017 ^{††}
Prijevremeno prsnuće plodovih ovoja	8 (22.2)	8 (25.8)	4 (10)	0.191
Način porođaja: Vaginalni / CR	16 (44.4) / 20 (55.6)	11 (35.5) / 20 (64.5)	32 (80) / 8 (20)	< 0.001 [†]
Prezentacija ploda^a				
Glava	33 (91.7)	29 (93.5)	39 (97.5)	0.528
Zadak	3 (8.3)	1 (3.2)	1 (2.5)	0.290
Poprečni položaj	0	1 (3.2)	0	0.438
Inercija maternice^a	5 (13.9)	12 (38.7)	4 (10)	0.006 [†]
Prijeteći (klinički) korioamnionitis^a	0	2 (6.5)	0	0.082
Mekonijska plodova voda^a	4 (11.1)	3 (9.7)	3 (7.5)	0.916
Distres ploda^a	6 (16.7)	6 (19.4)	0	0.005 ^{††}
Adherentna posteljica	1 (2.8)	3 (9.7)	0	0.192
Atonija maternice	1 (2.8)	2 (6.5)	0	0.067
Porodajna težina novorođenčeta, grami	3155 (405, 3027.5-3432.5)	3480 (675, 3055-3730)	3380 (497.5, 3175-3672.5)	0.047*
Manje za dob trudnoće	5 (13.9)	0	2 (5)	0.073
Veće za dob trudnoće	1 (2.8)	5 (16.1)	3 (7.5)	0.286
APGAR 1. / 5. minute, prosjek (SD)	9.9 (0.3) / 9.9 (0.3)	9.8 (0.5) / 9.8 (0.4)	9.8 (0.6) / 9.8 (0.4)	0.268 / 0.205

CR Carski rez, MPO medicinski potpomognuta oplodnja.

Podatci opisani medijanom (uz interkvartilni raspon, IQR te 25.-75. percentilom) ili frekvencijom (n) i udjelom (%), te prosjekom i standardnom devijacijom (SD) u navedenim varijablama.

^a Indikacije za dovršenje porođaja carskim rezom nakon neuspješnog vaginalnog porođaja.

* Kruskal-Wallis ANOVA, [†] hi-kvadrat test, ^{††} Fisher egzaktni test, $P < 0.05$.

4.4 Histopatološke karakteristike posteljica

Rezultati histopatološke analize terminskih posteljica prikazani su u Tablici 4 i Slikama 4-9. Unatoč sličnim vrijednostima FPWR-a između skupina, ispitanice u skupini endometrioze imale su najmanji udio FPWR-a primjerenog za dob trudnoće ($P = 0.004$) u odnosu na kontrolne skupine. Skupina endometrioze imala je značajno najmanji medijan dužine pupkovine ($P = 0.012$) te najveću učestalost kratke pupkovine ($P < 0.001$) u odnosu na kontrolne skupine. Razlike u učestalosti ostalih morfoloških karakteristika i anatomskih poremećaja posteljice nisu bile statistički značajne, premda ispitanice s endometriozom imala veću učestalost hipertorzije pupkovine i ekstrakorionskih posteljica. Razlike u učestalosti upalnih lezija posteljice nisu bile statistički značajne. Uočena je veća učestalost teškog korioamnionitisa u ispitanica s muškim čimbenikom neplodnosti, dok je u skupini endometrioze bila veća učestalost VUE (Slika 9), kroničnog vilitisa uz bazalnu deciduu (lat. *Villitis chronica basalis*) i kroničnog vilitisa visokog stupnja (lat. *Villitis chronica diffusa*). Prema učestalosti lezija zrelosti korionskih resica, u istraživanju nisu uočeni slučajevi ubrzanog sazrijevanja korionskih resica (engl. *Accelerated villous maturation*) ili distalne vilozne hipoplazije (engl. *Distal villous hypoplasia*) već samo slučajevi nezrelosti korionskih resica (engl. *Immature villous ramification*), bez značajnih razlika između skupina. Međutim, u ispitanica s endometriozom bila je značajno veća učestalost povećanog stvaranja sincicijalnih čvorića u odnosu na kontrolne skupine ($P = 0.021$), s prikazom na Slici 5. Prema učestalosti vaskularnih malperfuzijskih lezija posteljice (Slike 4-8) nisu pronađene značajne razlike učestalosti angiomatoze i MVM između skupina. Skupina endometrioze imala je značajno veću učestalost nakupljanja subkorionskog fibrina ($P = 0.009$), pojačanog i fokalnog nakupljanja periviloznog (interviloznog) fibrina ($P = 0.015$, $P = 0.031$) te veću učestalost intervilozne tromboze ($P = 0.001$) u odnosu na kontrolne skupine. Učestalost niskog stadija FVM bila je slična između skupina, dok je skupina endometrioze imala značajno veću učestalost visokog stadija FVM-e u odnosu na kontrolne skupine ($P = 0.048$).

Tablica 4 Morfološke i histopatološke karakteristike uzorkovanih posteljica prema Amsterdamskom konsenzusu o patologiji posteljice.

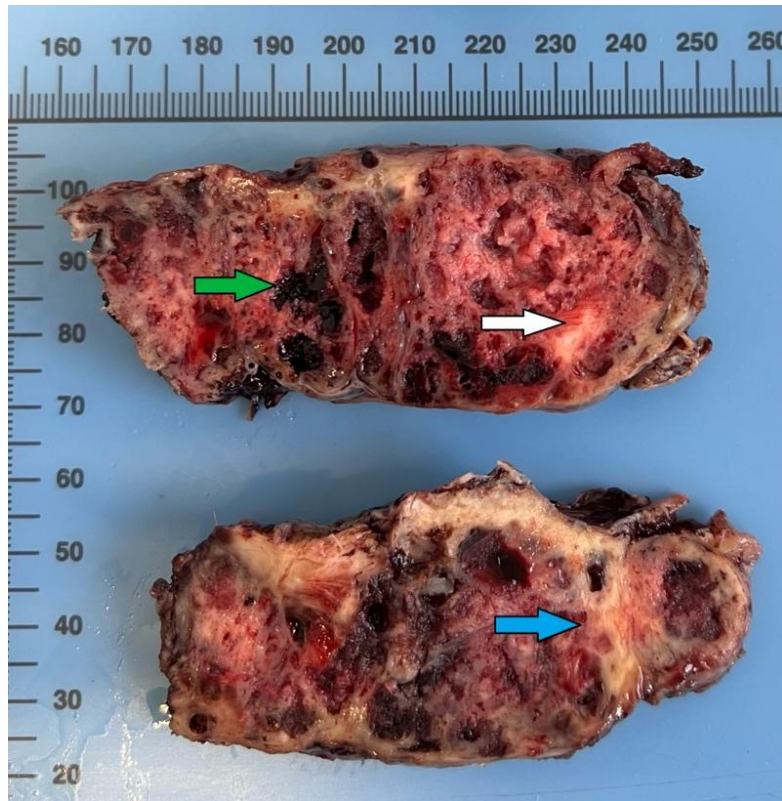
	MPO Endometrijoza (n=36)	MPO Muški čimbenik (n=31)	Fiziološke trudnoće (n=40)	P
FPWR	6.63 (1.50, 5.85-7.35)	6.70 (0.88, 6.22-7.1)	6.95 (1.08, 6.47-7.55)	0.210
Uredan	26 (72.2)	28 (90.3)	39 (97.5)	0.004†
Niži (<10 th percentile)	7 (19.4)	3 (9.7)	1 (2.5)	0.056
Viši (>90 th percentile)	3 (8.3)	0	0	0.058
Disk posteljice				
Debljina, cm	3 (0.5, 2.5-3)	3 (0.5, 2.5-3)	2.5 (1, 2-3)	0.068
Promjer, cm	18 (4.1, 15.9-20)	17 (3.9, 15.1-19)	18 (3, 16-19)	0.413
Masa, g	502 (92.5, 451-543.5)	518 (132.5, 450-582.5)	501 (116.5, 439.5-556)	0.723
Mala posteljica	6 (16.7)	4 (12.9)	2 (5)	0.257
Velika posteljica	5 (13.9)	3 (9.7)	3 (7.5)	0.670
Pupkovina				
Dužina, cm	35.5 (13.5, 31.9-45.4)	38 (23, 26-49)	44 (10.2, 39.8-50)	0.012*
Duga	1 (2.8)	0	2 (5)	0.775
Kratka	14 (38.9)	10 (32.3)	0	<0.001†
Promjer, cm	1.25 (0.5, 1-1.5)	1 (0.25, 1-1.25)	1.15 (0.3, 1-1.3)	0.174
Indeks zavojitosti	0.25 (0.21, 0.18-0.39)	0.21 (0.13, 0.17-0.30)	0.22 (0.1, 0.17-0.27)	0.451
Anatomske lezije posteljica				
Jedna pupčana arterija	1 (2.8)	0	0	0.370
Predležee krvne žile	1 (2.8)	0	0	0.370
Insercija pupkovine na slobodnom rubu ovoja	2 (5.6)	0	0	0.134
Hipertorzija pupkovine	11 (30.6)	8 (25.8)	6 (15)	0.258
Hipotorzija pupkovine	2 (5.6)	1 (3.2)	2 (5)	0.897
Ekstrakorionska posteljica	4 (11.1)	2 (6.5)	2 (5)	0.654
Aksesorni režanj posteljice	1 (2.8)	1 (3.2)	1 (2.5)	0.983
Posteljica građena od dva reznja	1 (2.8)	0	1 (2.5)	0.657
Predležea posteljica	1 (2.8)	0	0	0.370
Upalne lezije posteljica				
Korioamnionitis				
Blagi	4 (11.1)	4 (12.9)	2 (5)	0.491
Umjereni	3 (8.3)	2 (6.5)	1 (2.5)	0.579
Teški	0	2 (6.5)	0	0.082
Funikulitis				
Blagi	1 (2.8)	1 (3.2)	3 (7.5)	0.562
Umjereni	1 (2.8)	1 (3.2)	0	0.539
Teški	0	0	0	Np
Vilitis nepoznate etiologije				
Niski stupanj	4 (11.1)	2 (6.5)	0	0.107
Visoki stupanj	0	1 (3.2)	2 (5)	0.413
Kronični vilitis uz bazalnu deciduu	4 (11.1)	0	1 (2.5)	0.328
Kronični vilitis niskog stupnja	3 (8.3)	3 (9.7)	3 (7.5)	0.947

Kronični vilitis visokog stupnja	3 (8.3)	1 (3.2)	0	0.158
Kronični deciduitis s plazma stanicama	3 (8.3)	2 (6.5)	4 (10)	0.867
Kronični intervlozitis	2 (5.6)	0	0	0.134
Lezije zrelosti korionskih resica posteljica				
Nezrelost posteljičnih resica	7 (19.4)	5 (16.1)	6 (15)	0.899
Povećani broj sincicijalnih čvorića za dob trudnoće	12 (33.3)	4 (12.9)	4 (10)	0.021 [†]
Vaskularne malperfuzijske lezije posteljica				
Intervilozna tromboza	19 (52.8)	8 (25.8)	6 (15)	0.001 [†]
Subkorionsko nakupljanje fibrina	14 (38.9)	6 (19.4)	4 (10)	0.009 [†]
Perivilozno (intervilozno) nakupljanje fibrina				
Pojačano	7 (19.4)	3 (9.7)	0	0.015 ^{††}
Fokalno	14 (38.9)	7 (22.9)	11 (27.5)	0.031 [†]
Angiomatoza	6 (16.7)	2 (6.5)	3 (7.5)	0.346
Fetalna vaskularna malperfuzija				
Niski stadij	2 (5.6)	1 (3.2)	2 (5)	0.897
Visoki stadij	3 (8.3)	0	0	0.048 ^{††}
Maternalna vaskularna malperfuzija	0	0	1 (2.5)	0.429

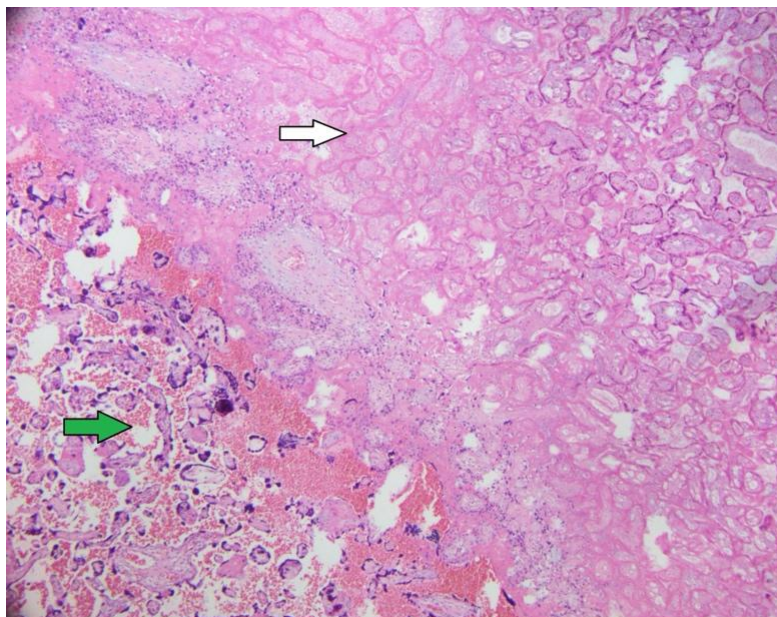
FPWR Feto-placentalni omjer za dob trudnoće (engl. *Fetal-placental weight ratio*), *MPO* medicinski potpomognuta oplodnja, *Np* nema podatka.

Podatci opisani medijanom (uz interkvartilni raspon, IQR te 25.-75. percentilom) ili frekvencijom (n) i udjelom (%).

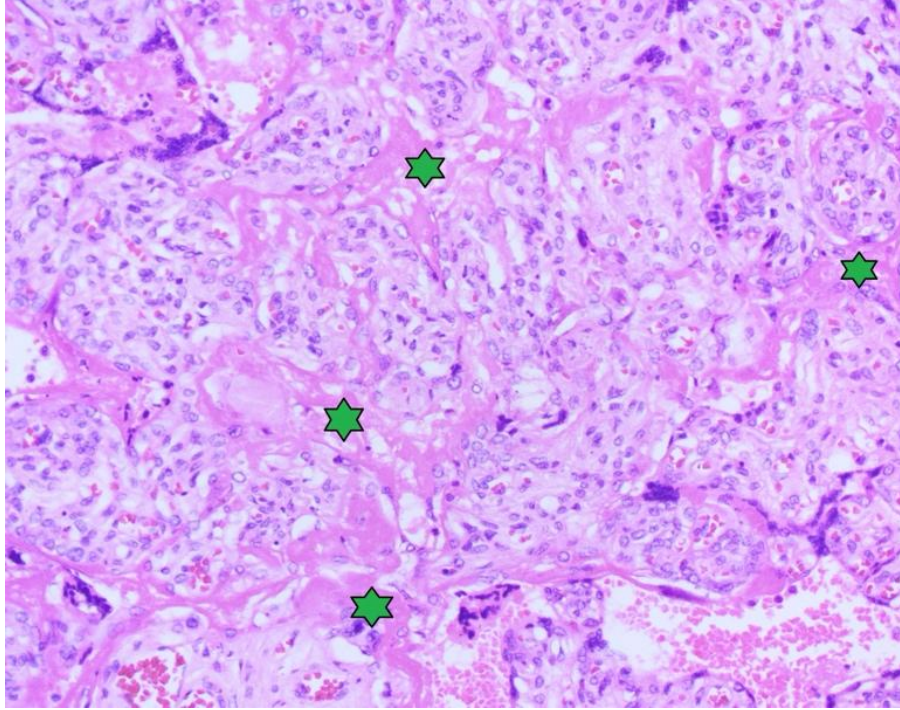
* Kruskal-Wallis ANOVA, † hi-kvadrat test, †† Fisher egzaktni test, $P < 0.05$.



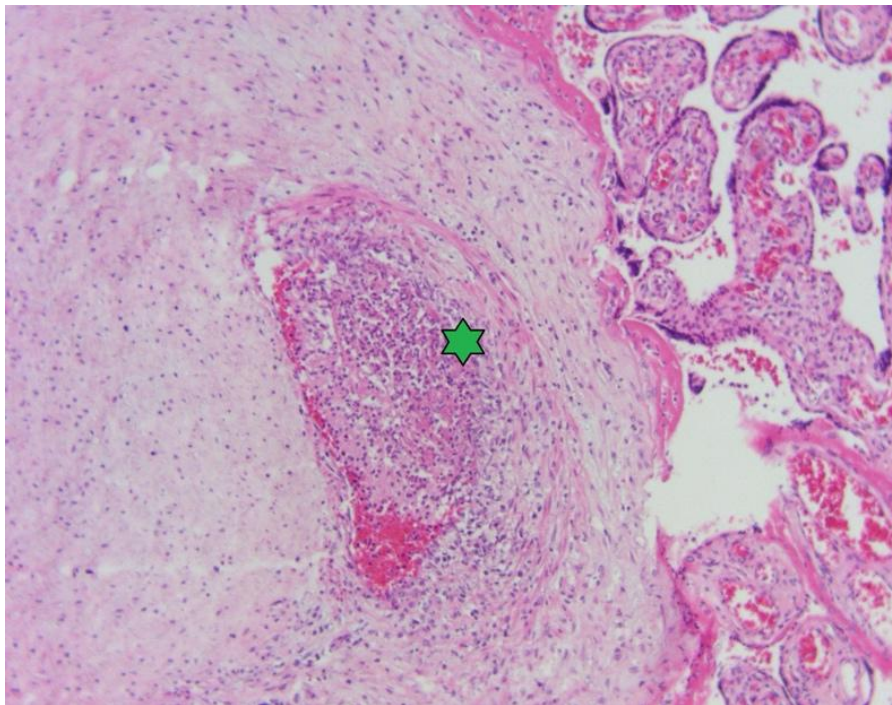
Slika 4 Makroskopski prikaz posteljice nakon porođaja ispitanice s endometriozom. Na posteljičnom rezu vidljiva su područja interviloznog hematoma i tromboze (zelena strelica), kroničnog viloznog infarkta (bijela strelica) i periviloznog nakupljanja fibrina (plava strelica). (Sliku ustupila doc.dr.sc. Zekić Tomaš)



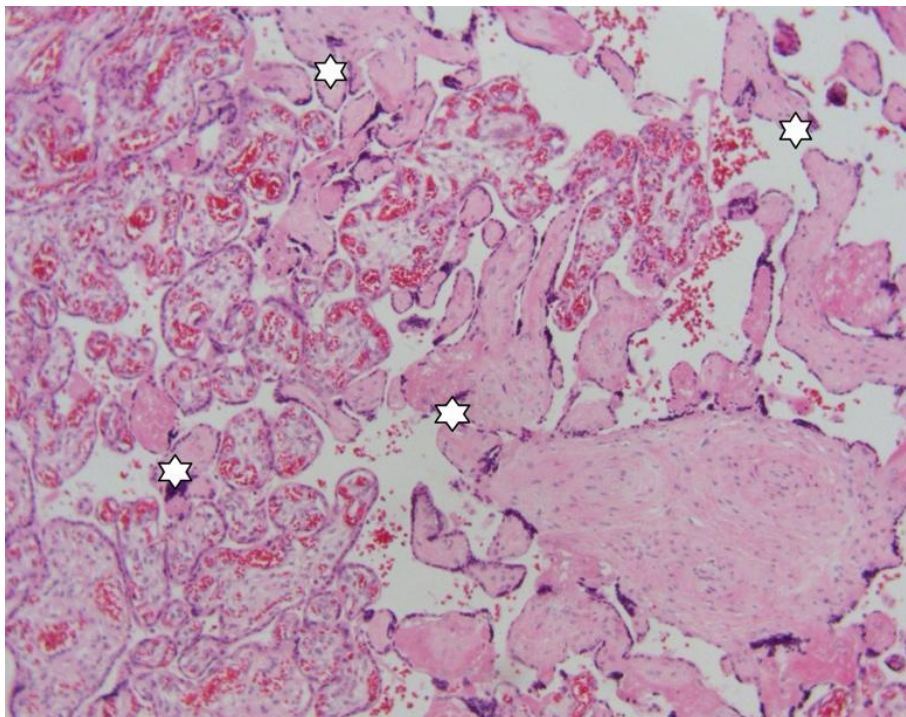
Slika 5 Mikroskopski prikaz posteljice nakon porođaja ispitanice s endometriozom s kroničnim viloznim infarktom. Prikaz takozvanih “shadow villi” resica u zoni infarkta (bijela strelica) te vitalnih resica u zoni lijevo od zone infarkta s povećanim brojem sincicijalnih čvorića (zelena strelica). Povećanje 40x (Olympus Image Analyzer). (Sliku ustupila doc.dr.sc. Zekić Tomaš)



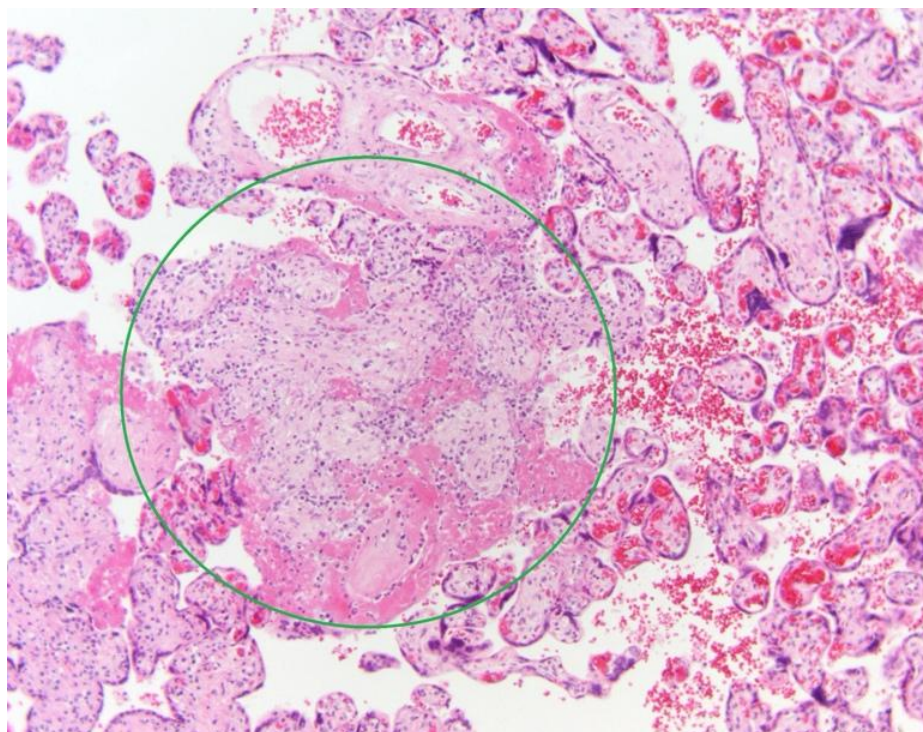
Slika 6 Mikroskopski prikaz posteljice nakon porođaja ispitanice s endometriozom s pojačanim periviloznim (interviloznim) nakupljanjem fibrina, označenim zelenom zvijezdom. Povećanje 200x (Olympus Image Analyzer). (Sliku ustupila doc.dr.sc. Zekić Tomaš)



Slika 7 Mikroskopski prikaz posteljice nakon porođaja ispitanice s endometriozom s fetalnom vaskularnom malperfuzijom, manifestirana muralnim trombom u fetalnom žilama korionske ploče, prikazano zelenom zvijezdom. Povećanje 100x (Olympus Image Analyzer). (Sliku ustupila doc.dr.sc. Zekić Tomaš)



Slika 8 Mikroskopski prikaz posteljice nakon porođaja ispitanice s endometriozom s fetalnom vaskularnom malperfuzijom, manifestirana zonom avaskularnih korionskih resica, prikazano bijelom zvijezdom. Povećanje 100x (Olympus Image Analyzer). (Sliku ustupila doc.dr.sc. Zekić Tomaš)



Slika 9 Mikroskopski prikaz posteljice nakon porođaja ispitanice s endometriozom sa zonom vilitisa nepoznate etiologije visokog stupnja (zeleni krug). Povećanje 100x (Olympus Image Analyzer). (Sliku ustupila doc.dr.sc. Zekić Tomaš)

4.5 Broj CD56-pozitivnih NK stanica u bazalnoj decidui

Rezultati imunohistokemijske analize CD56-pozitivnih NK stanica u bazalnoj decidui terminskih posteljica prikazani su u Tablici 5 i Slici 10. Udjeli pozitivnih uzoraka bazalne decidue obojenih za CD56 biljeg bili su slični između istraživačkih skupina. Međutim, bazalne decidue ispitanica s endometriozom imale su najniži medijan broja CD56-pozitivnih NK stanica ($11.5/\text{mm}^2$, $P = 0.039$) u odnosu na skupine ispitanica s muškim čimbenikom ($25/\text{mm}^2$) i fizioloških trudnoća ($24.5/\text{mm}^2$), (Tablica 5 i Slika 10a).

Ukupan broj CD56-pozitivnih NK stanica kategorizirali smo kao nizak ($0-19/\text{mm}^2$), umjeren ($20-39/\text{mm}^2$) i visok ($> 40/\text{mm}^2$) broj NK stanica. Posteljice ispitanica s endometriozom sadržavale su najveći udio bazalnih decidua s niskom razinom broja CD56-pozitivnih NK stanica, kao i najniže udjele bazalnih decidua s umjerenom i visokom razinom NK stanica u odnosu na posteljice drugih istraživačkih skupina. Međutim, navedene razlike nisu bile statistički značajne (Slika 10b).

Tablica 5 Broj CD56-pozitivnih NK stanica u bazalnoj decidui nakon imunohistokemijske analize uzorkovanih posteljica.

	MPO Endometriozia (n=36)	MPO Muški čimbenik (n=31)	Fiziološke trudnoće (n=40)	P
Udio bazalnih decidua, n (%) [†]	26 (72.2)	21 (67.7)	31 (77.5)	0.652
CD56+ NK cells/mm² BD				
Prosjek (SD)	18.3 (20.6)	39.5 (47.9)	29.8 (36.1)	0.039*
Medijan (IQR, 25-75)	11.5 (29.5, 0-29.5)	25 (55, 0-55)	24.5 (40.75, 3.5-44.25)	
Kirurško liječenje vs MPO[‡]				
Prosjek (SD)	16.8 (18.4) vs 20.6 (24.2)	-	-	0.682
Median (IQR, 25-75)	11.5 (28, 0-28) vs 10.5 (38.5, 3-41.5)	-	-	

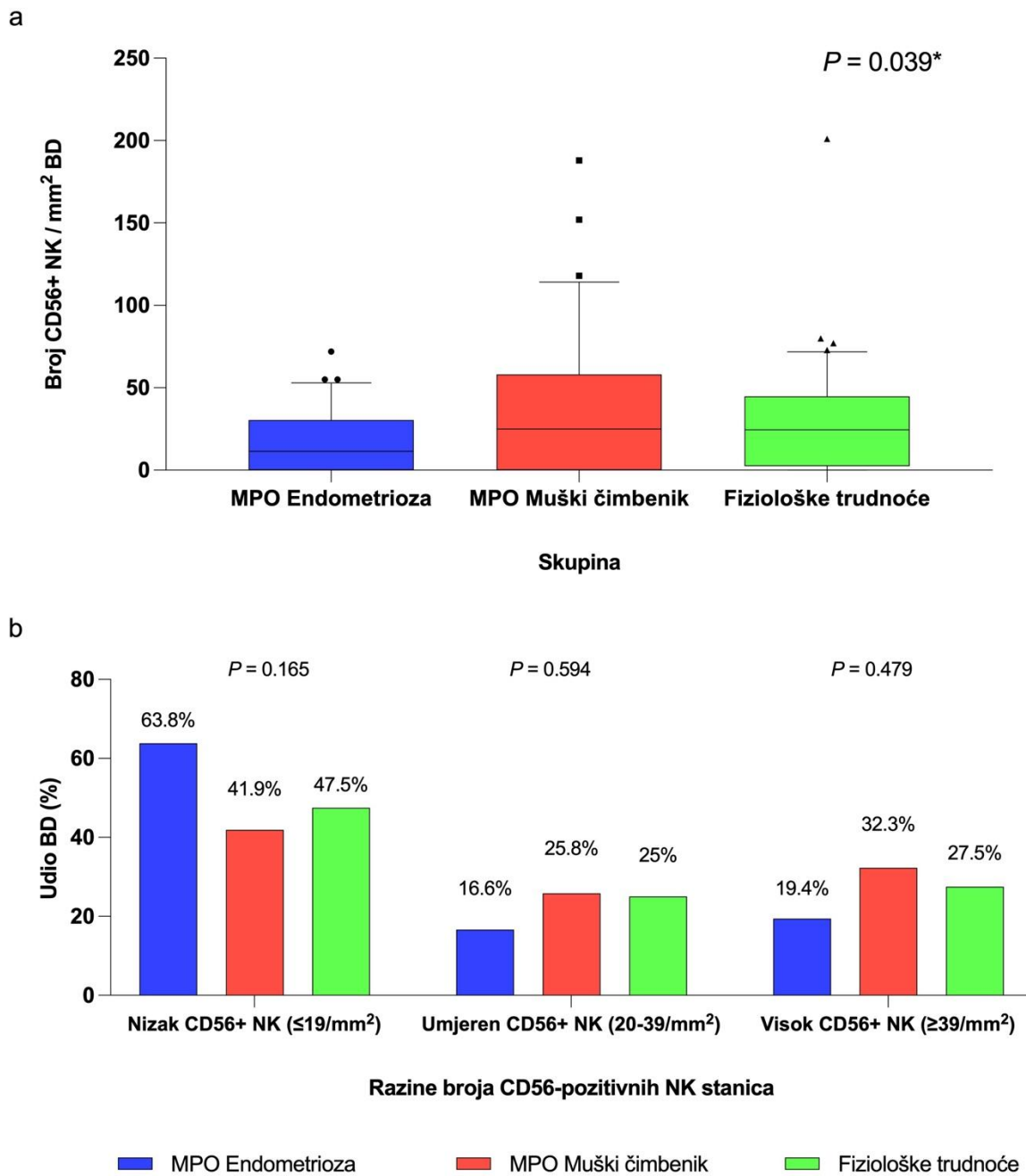
MPO medicinski potpomognuta oplodnja.

[†] Udio bazalnih decidua (BD) pozitivno obojenih za CD56 biljeg.

[‡] Broj CD56-pozitivnih NK stanica u ispitanica s endometriozom – uz kirurško liječenje (n=22) u odnosu na liječenje postupcima MPO-e (n=14).

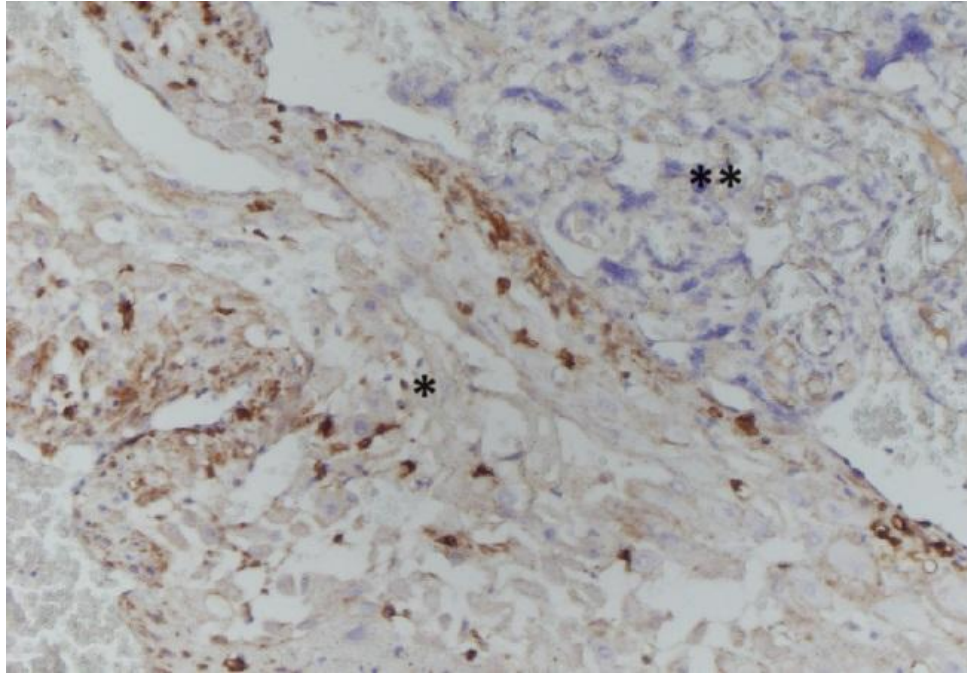
Podatci opisani prosjekom i standardnom devijacijom (SD) ili medijanom (uz interkvartilni raspon, IQR te 25.-75. percentilom).

* Welch analiza varijance (ANOVA) s Levenovim testom i Tukey *post hoc* testom, $P < 0.05$.



Slika 10 Raspodjela CD56-pozitivnih NK stanica (CD56+ NK) po mm² bazalne decidue (BD) u terminskim posteljicama prema skupinama ispitanica (a); raspodjela udjela pozitivno obojanih BD za CD56 biljeg prema razinama broja CD56+ NK (b). *MPO* medicinski potpomognuta oplodnja, $P < 0.05$.

Slike 11 i 14H prikazuju imunohistokemijsko obojenje bazalne decidue za CD56 biljeg koje označava smeđe membranozno i citoplazmatsko obojenje NK stanica u bazalnoj decidui posteljice u ispitanice skupine MPO Endometrioza.



Slika 11 Imunohistokemijsko obojenje za CD56 biljeg označava smeđe membranozno i citoplazmatsko obojenje NK stanica u bazalnoj decidui (označeno *) u posteljici ispitanice s endometrizom. Prikazane su i posteljične resice (označene **). Povećanje 400x (Olympus Image Analyzer). (Sliku ustupila doc.dr.sc. Zekić Tomaš)

Prema modalitetu liječenja neplodnosti uzrokovane endometrizom, nije pronađena razlika u broju CD56-pozitivnih NK stanica u bazalnoj decidui između posteljica ispitanica koje su podvrgnute kirurškom liječenju endometrioze prije liječenja postupcima MPO-e, u odnosu na ispitanice koje su podvrgnute isključivo liječenju postupcima MPO-e ($11.5/\text{mm}^2$ prema $10.5/\text{mm}^2$, $P = 0.682$), navedeno u Tablici 5.

4.6 Broj CD138-pozitivnih plazma stanica u bazalnoj decidui

Rezultati imunohistokemijske analize CD138-pozitivnih plazma stanica u bazalnoj decidui terminskih posteljica u istraživačkim skupinama prikazani su u Tablici 6 i Slici 12. Analiza je pokazala slične udjele uzoraka bazalne decidue pozitivno obojene za CD138 biljeg u svim skupinama, te su udjeli bazalnih decidua bili niži u odnosu na rezultate imunohistokemijske analize za CD56 biljeg. Nisu pronađene značajne razlike u ukupnom broju CD138-pozitivnih plazma stanica između istraživačkih skupina (Slika 12) niti prema modalitetu liječenja endometriozom (Tablica 6).

Tablica 6 Broj CD56-pozitivnih NK stanica u bazalnoj decidui nakon imunohistokemijske analize uzorkovanih posteljica.

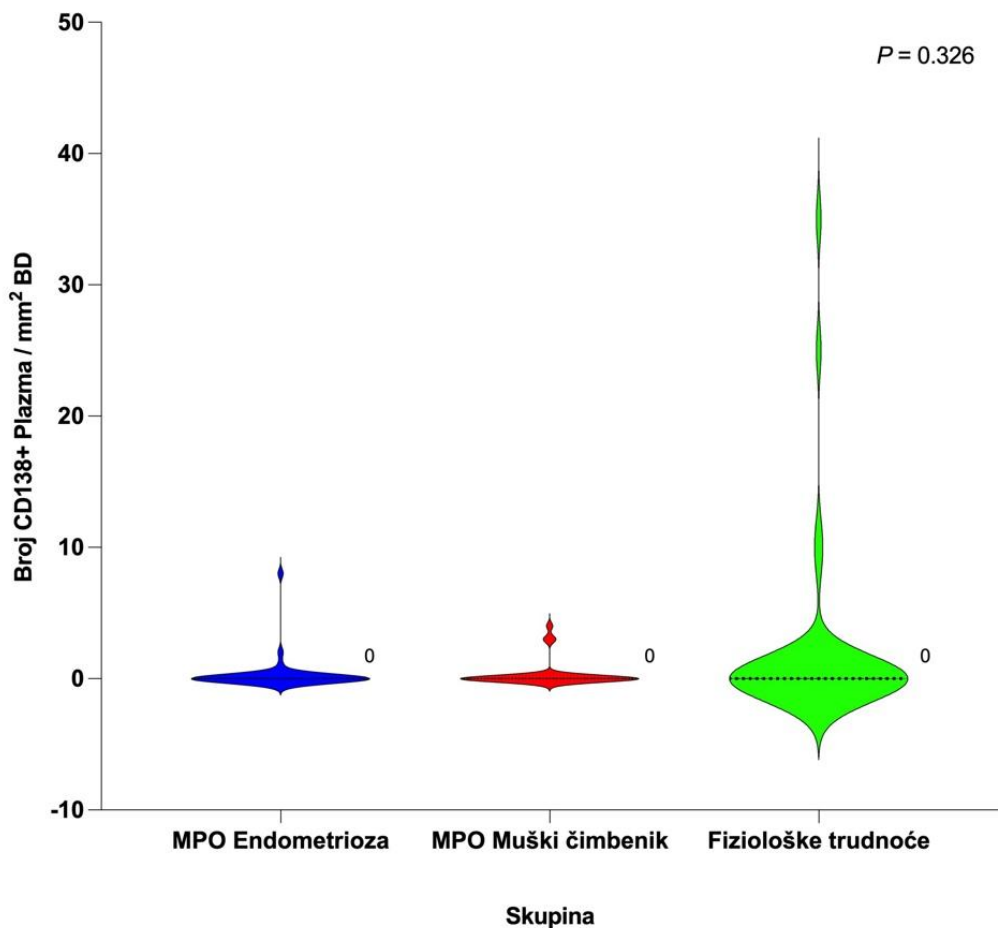
	MPO Endometrijoza (n=36)	MPO Muški čimbenik (n=31)	Fiziološke trudnoće (n=40)	P
Udio bazalnih decidua, n (%) [†]	3 (8.3)	3 (9.7)	4 (10)	0.967
CD138+ NK cells/mm² BD				
Prosjek (SD)	0.3 (1.4)	0.3 (1)	2 (7)	0.326
Medijan (IQR, 25-75)	0 (0, 0-0)	0 (0, 0-0)	0 (0, 0-0)	
Kirurško liječenje vs MPO[‡]				
Prosjek (SD)	0.5 (1.7) vs 0.1 (0.3)	-	-	0.813
Median (IQR, 25-75)	0 (0, 0-0) / 0 (0, 0-0)	-	-	

MPO medicinski potpomognuta oplodnja.

[†] Udio bazalnih decidua (BD) pozitivno obojenih za CD138 biljeg.

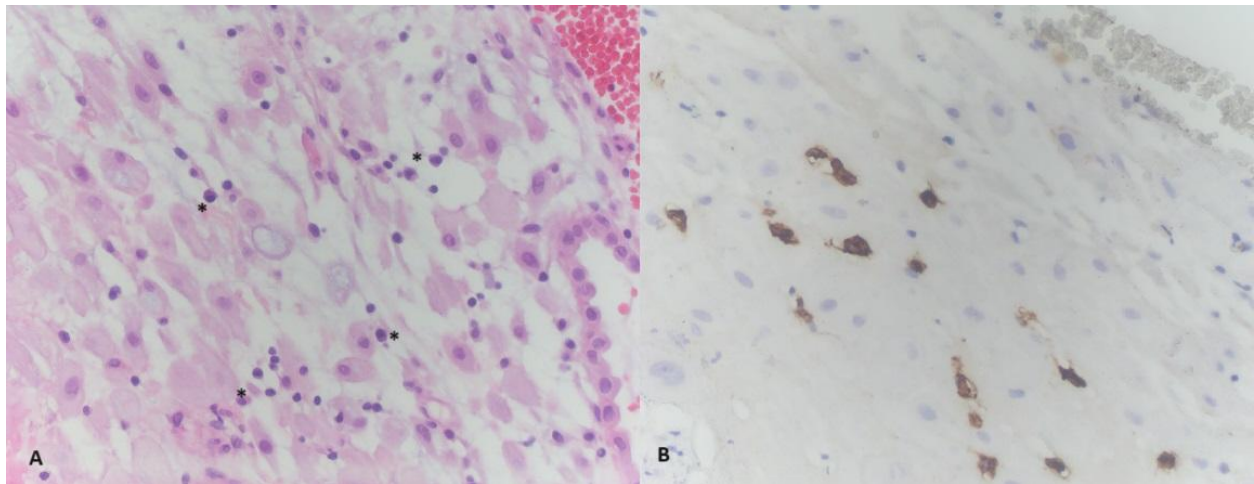
[‡] Broj CD138-pozitivnih NK stanica u ispitanica s endometriozom – uz kirurško liječenje (n=22) u odnosu na liječenje postupcima MPO-e (n=14).

Podatci opisani prosjekom i standardnom devijacijom (SD) ili medijanom (uz interkvartilni raspon, IQR te 25.-75. percentilom).



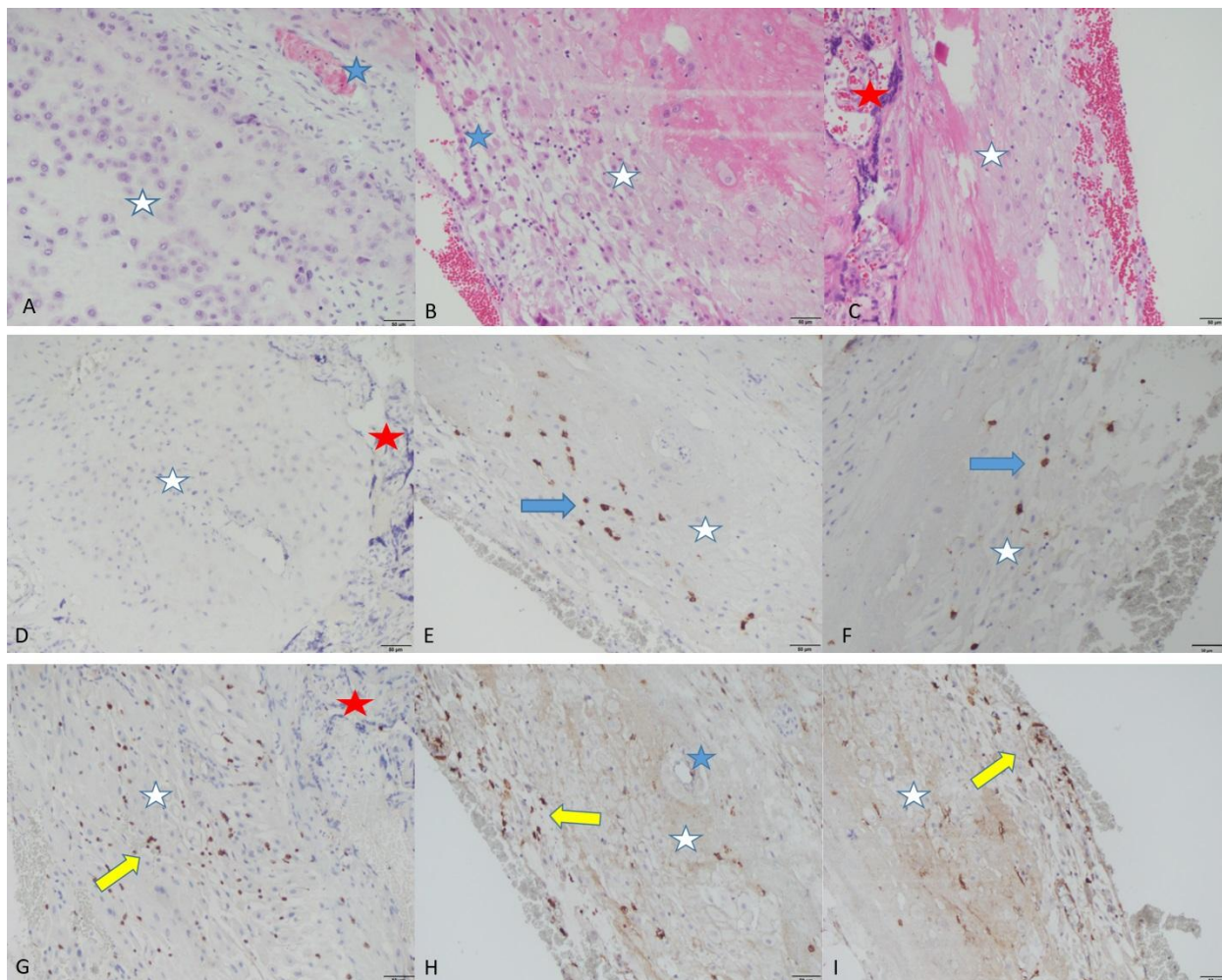
Slika 12 Raspodjela CD138-pozitivnih plazma stanica (CD138+ NK) po mm² bazalne decidue (BD) u terminskim posteljicama prema skupinama ispitanica. MPO medicinski potpomognuta oplodnja, $P < 0.05$.

Slike 13A i 14B prikazuju prisutnost plazma stanica u bazalnoj decidui posteljici ispitanice skupine MPO Endometriozna prema HE bojanju, dok slike 13B i 14E prikazuju imunohistokemijsko obojenje bazalnih decidua za CD138 biljeg u uzorku posteljice iste ispitanice, pritom označavajući smeđe citoplazmatsko i membransko obojenje plazma stanica.



Slika 13 HE obojenje označava bazalnu deciduu posteljice u ispitanice s endometriozom s plazma stanicama (označeno *) (A). CD138 imunohistokemijsko obojenje označava plazma stanice (smeđe membransko i citoplazmatsko obojenje) (B). Povećanje 400x (Olympus Image Analyzer). (Sliku ustupila doc.dr.sc. Zekić Tomaš)

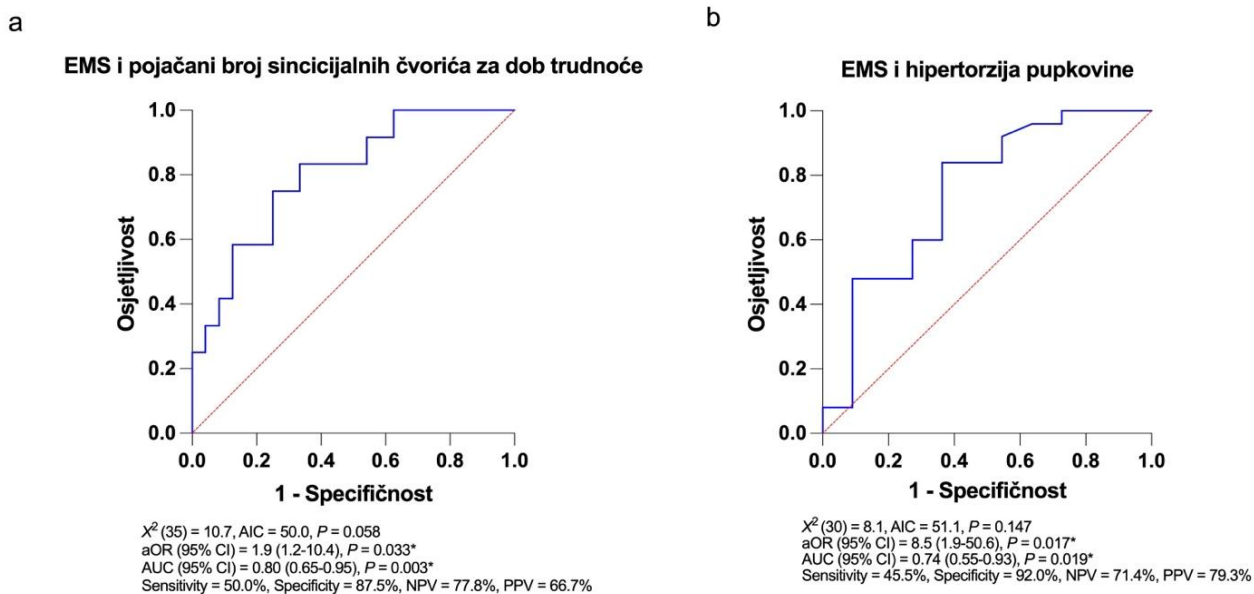
Zbog kvalitetnijeg usporednog prikaza infiltracije uzoraka bazalnih decidua CD56-pozitivnim NK stanicama i CD138-pozitivnim plazma stanicama, prikazali smo posteljične rezove, koji sadrže bazalnu deciduu, iz posteljica pojedinih ispitanica svih istraživačkih skupina (Slika 14).



Slika 14 Mikroskopski prikazi uzoraka bazalne decidue posteljica ispitanica Fizioloških trudnoća (A, D, G), MPO Endometrioze (B, E, H) i MPO Muškog faktora (C, F, I). Slike prvog reda prikazuju HE obojenja posteljičnih rezova, dok drugi i treći red prikazuju imunohistokemijska obojenja posteljičnih rezova za CD138, odnosno CD56 biljeg. Bijele zvijezde na prikazima označavaju bazalnu deciduu, plave zvijezde označavaju decidualne krvne žile, dok crvene zvijezde označavaju sidrene posteljične resice. Na slikama E i F plava strelica označava plazma stanice prikazane pozitivnim smeđim obojenjem citoplazme stanica za CD138, dok slika D prikazuje negativno CD138 imunohistokemijsko obojenje zbog izostanka plazma stanica u tom sloju. Žuta strelica (slike G, H, I) označava NK stanice prikazane pozitivnim smeđim citoplazmatskim obojenjem za CD56. Povećanje svih rezova je 200x (Olympus Image Analyzer), a mjerna ljestvica je postavljena na 50µm. (Slike ustupila doc.dr.sc. Zekić Tomáš)

4.7 Odnos endometriozе i razvoja histopatoloških lezija posteljica

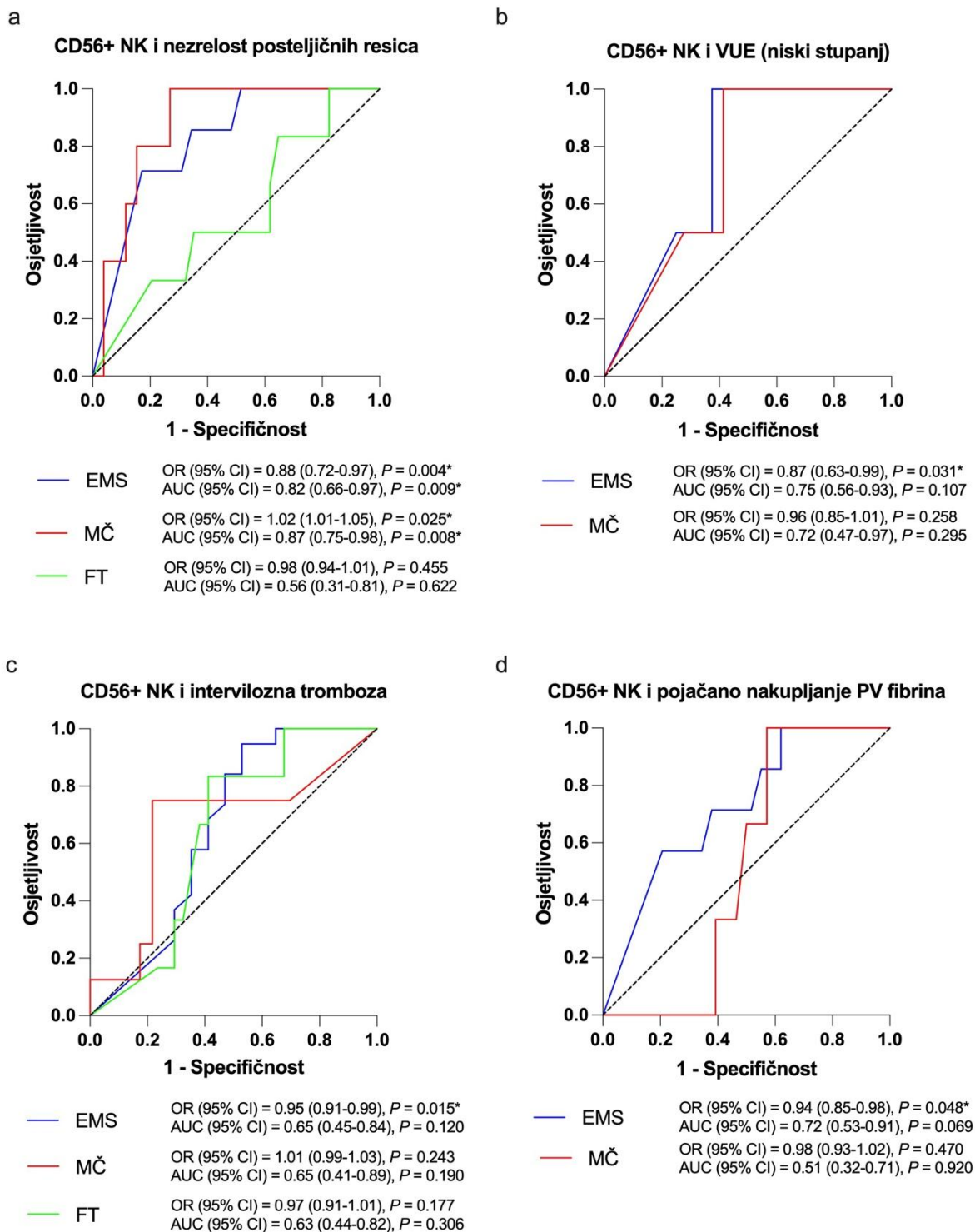
U prvom istraživanju histopatoloških lezija posteljica u trudnoćama nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom razmatrali smo moguću utjecaj dobi ispitanica, ITM-e prije trudnoće, graviditeta, utjecaja različitih postupaka MPO-e (konvencionalna IVF sa svježim ET u odnosu na intracitoplazmatsku injekciju spermija, ICSI) te prisutnost lezija endometriozе na učestalost histopatoloških lezija posteljica. Multivarijatna logistička regresijska analiza s prilagodbom za prethodno spomenute zbunjujuće čimbenike, a koji bi potencijalno imali utjecaj na patologiju posteljica. Analiza je pokazala kako je endometriozа značajno povezana s 1.9 puta višim rizikom povećanog stvaranja sincicijalnih čvorića (aOR [95% CI] = 1.9, 1.2 – 10.4, $P = 0.033$, Slika 15a) te 8.5 puta višim rizikom hipertorzije pupkovine (aOR [95% CI] = 8.5, 1.9 – 50.6, $P = 0.017$, Slika 15b).



Slika 15 Krivulja operativnih karakteristika (ROC) prikazuje značajnu poveznosti endometriozе (EMS) i pojačanog broja sincicijalnih čvorića za dob trudnoće (a) i hipertorzija pupkovine (b) nakon prilagodbe za potencijalne zbunjujuće čimbenike: dob, ITM prije trudnoće, graviditet, postupci MPO-e – konvencionalni IVF (ET) odnosno ICSI, i prisutnost lezija endometriozе. Modeli multivarijantne logističke regresije (χ^2) prijavljeni prilagođenim omjerom rizika (aOR) i površinom ispod krivulje (AUC) s 95%-nim intervalom pouzdanosti, osjetljivosti, specifičnosti, negativnom prediktivnom vrijednosti (NPV) i pozitivnom prediktivnom vrijednosti (PPV); $P < 0.05$. (GraphPad Prism verzija 10.2.3)

4.8 Odnos broja CD56-pozitivnih NK stanica i histopatoloških lezija posteljica

U drugom istraživanju željeli smo ispitati odnos pojavnosti histopatoloških lezija posteljica s brojem CD56-pozitivnih NK stanica i CD138-pozitivnih plazma stanica u bazalnoj decidui, ovisno o prisutnosti endometrioze u odnosu na druge istraživačke skupine. Regresijska analiza prema ROC krivulji pokazala je značajan odnos broja CD56-pozitivnih NK stanica i određenih posteljičnih lezija (Slika 16a-d). Pronađeni su značajni odnosi sniženog broja CD56-pozitivnih NK stanica u bazalnim deciduama posteljica ispitanica s endometriozom te rizika razvoja nezrelog grananja posteljičnih resica (OR [95% CI] = 0.88 [0.72-0.97], $P = 0.004$, Slika 16a), razvoja vilitisa nepoznate etiologije niskog gradusa (OR [95% CI] = 0.87 [0.63-0.99], $P = 0.031$, Slika 16b), razvoja intervilozne tromboze (OR [95% CI] = 0.95 [0.91-0.99], $P = 0.015$, Slika 16c) i pojačanog nakupljanja periviloznog (interviloznog) fibrina (OR [95% CI] = 0.94 [0.85-0.98], $P = 0.048$, Slika 16d). U ispitanica s muškim čimbenikom neplodnosti jedini je značajan odnos broja NK stanica pronađen prema razvoju nezrelog grananja posteljičnih resica (OR [95% CI] = 1.02 [1.01-1.05], $P = 0.025$, Slika 16a). Drugi navedeni odnosi nisu uočeni u skupinama ispitanica s muškim čimbenikom neplodnosti niti u ispitanica s fiziološkim trudnoćama.



Slika 16 Značajni rizici lezija posteljice sa sniženim brojem CD56-pozitivnih NK stanica (CD56+ NK) u bazalnoj decidui posteljica ispitanica s endometriozom (EMS) u odnosu na skupine muškog čimbenika (MČ) i fizioloških trudnoća (FT): nezrelost posteljičnih lezija (a), vilitis nepoznate etiologije (VUE) niskog stupnja (b), intervilozna tromboza (c) i pojačano nakupljanje periviloznog fibrina (d). Krivulje operativnih karakteristika (ROC) s površinom ispod krivulje (AUC) te 95%-nim intervalom pouzdanosti (CI), $P < 0.05$. (GraphPad Prism verzija 10.2.3)

4.9 Odnos broja CD138-pozitivnih plazma stanica i histopatoloških lezija posteljica

Regresijska analiza prema ROC krivulji nije pokazala značajan odnos nastanak posteljičnih lezija prema broju CD138-pozitivnih plazma stanica u bazalnoj decidui terminskih posteljica između istraživačkih skupina. Kada smo promotrili udio bazalnih decidua prema imunohistokemijskom obojenju za CD138 biljeg, provedena je analiza histopatoloških lezija posteljica. Analiza podskupina je pokazala značajne razlike u učestalosti posteljičnih lezija (Tablica 7), u vidu učestalosti vilitisa nepoznate etiologije niskog gradusa ($P = 0.034$), razvoja povećanog broja sincicijalnih čvorića za dob trudnoće ($P = 0.045$), intervilozne tromboze ($P = 0.009$) i povećanog nakupljanja subkorionskog fibrina ($P = 0.016$).

Tablica 7 Odnos broja CD138-pozitivnih plazma stanica i histopatoloških lezija posteljica ovisno o pozitivnom imunohistokemijskom obojenju bazalne decidue u ispitanica između skupina istraživanja.

	MPO Endometrijoza		MPO Muški čimbenik		Fiziološke trudnoće		<i>P</i>
	CD138(+) (n=3)	CD138(-) (n=33)	CD138(+) (n=3)	CD138(-) (n=28)	CD138(+) (n=4)	CD138(-) (n=36)	
Vilitis nepoznate etiologije niskog stupnja	1 (33.3)	3 (9.1)	1 (33.3)	1 (3.6)	0	0	0.034†
Povećani broj sincicijalnih čvorića za dob trudnoće	0	12 (36.4)	1 (33.3)	3 (10.7)	0	4 (11.1)	0.045†
Intervilozna tromboza	1 (33.3)	18 (54.5)	0	8 (28.6)	0	6 (16.7)	0.009*
Subkorionsko nakupljanje fibrina	1 (33.3)	13 (39.4)	2 (66.7)	4 (14.3)	0	4 (11.1)	0.016*

MPO medicinski potpomognuta oplodnja.

Podatci opisani frekvencijom (n) i udjelom (%).

* hi-kvadrat test, † Fisher egzaktni test, $P < 0.05$

Endometrioza je bolest nejasne etiologije i danas je jedan od najčešćih uzroka ženske neplodnosti, čime se smatra važnim javnozdravstvenim problemom (1). Osim izmijenjenog imunološkog odgovora u peritonealnoj šupljini, endometrioza pokazuje utjecaj na eutopični endometrij u vidu reducirane endometrijske receptivnosti (62). Dosadašnja istraživanja su ukazala na patohistološku različitost posteljica pacijentica nakon neplodnosti uzrokovanom endometriozom u odnosu na posteljice pacijentica nakon neplodnosti bez endometrioze te liječenja metodama MPO-e, ali bez jasno definiranih histoloških kriterija (143). Nije poznat točan utjecaj endometrioze na patologiju posteljice i trudnoća, ali su predloženi mehanizmi endometrioze – imunološke prirode koji sudjeluju u implantaciji, decidualizaciji i placenciji, a posredovane su uterinim NK stanicama i plazma stanicama. Poremećaj ovih stanica uključen je u reproduktivne poremećaje (105). Objavljena istraživanja provedena je s primarnim ciljevima ispitivanja histopatoloških karakteristika terminskih posteljica te broja CD56-pozitivnih NK stanica i CD138-pozitivnih plazma stanica u bazalnoj decidui istih posteljica u ispitanica nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom (*ženski čimbenik neplodnosti*) postupcima MPO-e u odnosu na dvije kontrolne skupine ispitanica bez endometrioze: terminske posteljice u ispitanica nakon liječenja neplodnosti uzrokovane muškim čimbenikom s pomoću postupcima MPO-e te ispitanica s fiziološkim trudnoćama. U istraživanjima su primijenjeni strogi kriteriji isključenja ispitanica s određenim maternalnim komorbiditetima kako bi se smanjio njihov potencijalan negativan učinak na razvoj i funkciju posteljice, što je rezultiralo ispravnijim tumačenjem prikazanih rezultata histopatološke analize posteljica u ispitanica s endometriozom (Slika 3). Isključenjem posteljica ispitanica s autoimunim oboljenjima i prijevremenim porođajima namjeravali smo uzorkovati isključivo razvojno zrele posteljice s bazalnim deciduama u kojima bismo promatrali utjecaj endometrioze na komponentu imunološkog sustava u trudnoćama, odnosno maternalni imunološki odgovor.

Povezanost neplodnosti uzrokovane endometriozom i kliničkih karakteristika

U pogledu kliničkih karakteristika pronađene su razlike u tjelesnoj težini i dobi u ispitanica između istraživačkih skupina. Ispitanice u skupini endometrioze bile su češće pothranjene prema ITM-e. Kako je endometrioza karakterizirana estrogenskom dominacijom, time je pretilost u istraživanjima povezana s endometriozom zbog djelovanja metabolički aktivnog masnog tkiva (159). Međutim, istraživanja su također pokazala kako ITM-e ne može biti surogat biljeg

endometriozе jer se pacijentice s endometriozom mogu prezentirati antropometrijski različitim tjelesnim tipovima, prvenstveno zbog djelovanja estrogena na redistribuciju masnog tkiva (159,160). Ispitanice s neplodnosti uzrokovanom endometriozom i muškim čimbenikom neplodnosti liječenima metodama MPO-e bile su značajnije starije u odnosu na ispitanice s fiziološkim trudnoćama. Međutim, analiza podskupina endometriozе i muškog čimbenika nije pokazala značajne razlike u dobi, premda su otkrivene učestalije lezije posteljica, nakon isključenja ispitanica s fiziološkim trudnoćama. Ispitanice s endometriozom su imale duže trajanje neplodnosti. Razlike u dobi te duže trajanje neplodnosti u ispitanica s endometriozom mogu se objasniti na temelju nekoliko razloga. Prevalencija endometriozе je visoka u neplodnih pacijentica u zemljama u razvoju te iznosi 31% (95% CI: 15-48) (10). U Republici Hrvatskoj nije otkrivena točna incidencija endometriozе, ali se u kliničkoj praksi uočavaju trendovi endometriozе u pacijentica u trećem desetljeću života slični onima u drugim razvijenim zemljama. Razlozi ovakvoj pojavi endometriozе uključuju odgađanje odnosno kasno postavljanje dijagnoze endometriozе čak do 9 godina te odgodu odluke liječenja endometriozе te kasnijeg zanošenja u ispitanica s endometriozom (161). Poteškoće i komplikacije kirurškog liječenja endometriozе u kombinaciji te povezanosti endometriozе s RIF-a nakon liječenja metodama MPO-e uzrokuje daljnje odgađanje zanošenja (162,163). Nadalje, maternalna dob nezavisno ne utječe na pojavnost vaskularnih lezija posteljica. Rizik MVM-e povećan je u trudnoćama kompliciranim PE ili HELLP sindromom, koje nismo uočili u trudnoćama ispitanica uključenih u istraživanje, dok je FVM porijekla ploda te nastanak ove posteljice lezije nije povezan s maternalnom dobi (164).

Povezanost neplodnosti uzrokovane endometriozom te perinatalnih komplikacija i histopatoloških lezija posteljice

U ispitanica s endometriozom uočena je najmanja učestalost normalnih FPWR-a prema dobi trudnoće i kratkih pupkovina, kao i učestalijih vaskularnih malperfuzijskih lezija posteljica poput FVM-e visokog gradusa, intervilozne tromboze, pojačanog stvaranja sincicijalnih čvorića, pojačanog fokalnog periviloznog fibrina i subkorionskog fibrina. Endometriozа također povisuje rizik pojačanog nastanka sincicijalnih čvorića i hipertorzije pupkovine prema regresijskoj analizi. Rezultati ovog istraživanja mogu se usporediti s istraživanjem Volodarsky-Perel i suradnika koja je ispitivala histopatološke karakteristike posteljica u 75 ispitanica nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom u odnosu na MPO kontrole. Autori su pokazali kako endometriozа

može biti povezana s akutnim korioamnionitisom s umjerenim do teškim maternalnim upalnim odgovorom, predležecom posteljicom, depozitima subkorionskog fibrina, interviloznom trombozom, FVM-om te neuspješnom indukcijom porođaja (143). U navedenom istraživanju uključene su isključivo trudnoće nakon liječenja neplodnosti metodama MPO-e, zbog čega smo u našem istraživanju uključili fiziološke trudnoće kao kontrolna skupina MPO čimbeniku. Stoga možemo zaključiti kako se trudnoće u ispitanica s endometriozom mogu prezentirati vaskularnim malperfuzijskim poremećajima u odsutnosti perinatalnih poremećaja povezanih s posteljičnom hipoksijom poput IUZR-a i PE-e (165,166). U istraživanju smo uočili učestalije PROM i klinički korioamnionitis u MPO trudnoćama, bez obzira na izostanak statističke značajnosti, što bi se moglo usporediti s rezultatima istraživanja Volodarsky-Perel i suradnika. Navedeni poremećaji bili su razlogom neuspješnog vaginalnog i dovršenja porođaja carskim rezom u MPO trudnoćama (83,84). Marcellin i sur. utvrdili su promjene parijetalne decidue u smislu razvoja žljezdanih cističnih struktura nalik endometriotičnom tkivu, kao i zadebljanja parijetalne decidue s razvojem *de novo* mikrovaskularizacije, fibrinoidne nekroze i degeneracijom resica (141,142). Ove promjene mogle bi biti podloga sniženoj tenzijskoj otpornosti plodovih ovoja i uzrokom PPROM-a u trudnoćama pacijentica s endometriozom (142). Ferrero i suradnici su ukazali na smanjenju težinu i volumen posteljica u ispitanica s endometriozom te povišen CI-e u fizioloških trudnoća ispitanica s adenomiozom. Uz povećanu debljinu stijenje arteriola, smanjenu poprječnu površinu i volumen resica u obje skupine, ispitanice s adenomiozom uočen je povećan volumen interviloznog prostora i višestruka polja ispunjena resicama u odnosu na zdrave kontrole. Osim navedenih promjena, endovaskularni trofoblast matičnih resica pokazivao je reduciranu mitotičku aktivnost u odnosu na trofoblasta zdravih kontrola. Posteljice u skupini adenomioze također su opisane s pojačanim depozitima fibroze (144). Navedene promjene posteljica naglašavaju mogućnost pojave vaskularnih poremećaja u pacijentica s endometriozom i razvoja poremećaja posteljične perfuzije (8,167,168).

Unatoč izostanku znakova kliničkog sindroma IUZR-u, novorođenčad ispitanica u skupini endometrioze bila je učestalije smanjene porođajne težine za dob trudnoće (SGA), što nije bilo statistički značajno. Međutim, ista novorođenčad imala je značajno najmanji medijan porođajne težine u odnosu na kontrolne skupine. Ispitanice u skupini endometrioze imale su značajno veći broj epizoda znakova prijetećeg prijevremenog porođaja (engl. *imminent preterm birth*) u odnosu na kontrolne skupine. Stoga se rezultati ovog istraživanja mogu usporediti s postojećim dokazima

o potencijalnoj povezanosti endometrioze s IUZR-u, SGA novorođenčadi i prijevremenog porođaja (6,169). Horton i suradnici u meta-analizi 104 istraživanja ukazali su na povećan rizik reproduktivnih poremećaja i perinatalnih komplikacija u trudnoćama pacijentica s endometrioziom. Opisali su negativan utjecaj blažih stadija endometrioze (ASRM stadij I/II) na plodnost i ranu implantaciju, dok su uznapredovali oblici (ASRM stadiji III/IV) imali negativan utjecaj na čitav raspon stadija reprodukcije, sa smanjenjem ovarijske rezerve i broja zrelih oocita djelovanjem endometrioma ovarija, povećan rizik spontanih pobačaja te razvoja porodničkih komplikacija uključujući prijevremeni porođaj, porođaja carskim rezom i većom stopom nadzora novorođenčadi u jedinicama intenzivnog liječenja novorođenčadi (engl. *Neonatal Intensive Care Units*, NICU) (6). Rabaglino i Conrad ukazali su kako PE i poremećaji endometrija, uključujući endometrioziu imaju potencijalno slične molekularne mehanizme poremećene decidualizacije zbog sličnog izražaja *diferencijalno izraženih gena* (engl. *differentially expressed genes*, DEG) (170), unatoč suprotstavljajućim rezultatima rizika PE u pacijentica s endometrioziom (171). Konačno, nekoliko istraživanja ukazalo je na povišen rizik prijevremenog porođaja (168), predležće posteljice i abrupcije posteljice (172) te dovršenja trudnoće carskim rezom u pacijentica s endometrioziom (6).

Prema navedenim rezultatima prvog istraživanja histopatoloških promjena posteljica i perinatalnih komplikacija zaključeno je kako endometrioza možda djeluje dvojno – izmijenjenim maternalnim imunološkim odgovorom, prezentiranih u bazalnoj decidui u obliku ne-infekcijskih mehanizama koji negativno utječu na vaskulogenezu posteljice. Naime, poremećaj imunološkog mikrookoliša već je predstavljen kao patogenetski mehanizam neplodnosti-uzrokovane endometrioziom, a djeluje u interakciji s drugim mehanizmima sadržanim u endometriozi: promjene miometrijsko-endometrijske prijelazne (engl. *junctional*) zone (173,174), dominacijom estrogena (175) i progesteronske rezistencije (176), sistemskim upalnim odgovorom s oksidacijskim stresom (177,178), poremećajem produkcije citokina (179,180), kao i poremećenom funkcijom uNK stanica (148,181). Međutim, još ne postoji jasno objašnjenje zbog čega se, odnosno u kojem stupnju, pacijentice s endometrioziom prezentiraju rasponom reproduktivnih ishoda od RIF-a/RPL-a do uspješnog začeća nakon liječenja postupcima MPO-e ili pak fizioloških trudnoća, a time i jasnog uzroka navedenih nepovoljnih ishoda u trudnoći.

Povezanost neplodnosti uzrokovane endometrioziom i maternalnog imunološkog odgovora u bazalnoj decidui: broj CD56-pozitivnih NK stanica i CD-138 pozitivnih stanica

Trenutačno u literaturi ne postoje istraživanja broja CD56-pozitivnih NK stanica i CD138-pozitivnih plazma stanica u bazalnim deciduama terminskih posteljica u trudnoćama nakon neplodnosti uzrokovane endometriozom, osim ispitivanja uloge ovih stanica u RIF-a/RPL-a u pacijentica s neplodnosti uzrokovane endometriozom. Predloženo istraživanje ukazalo je na značajno snižen broj CD56-pozitivnih NK stanica u bazalnim deciduama terminskih posteljica u trudnoćama nakon neplodnosti uzrokovane endometriozom u odnosu na kontrolne skupine. Međutim, nije utvrđena statistički značajna razlika broja CD138-pozitivnih plazma stanica u istim uzorcima. Nekoliko čimbenika je uključeno u raspravu vezanu uz ulogu NK stanica u eutopičnom endometriju odnosno bazalnoj decidui u pacijentica s endometriozom, razmatrajući pritom dinamiku NK stanica, povezanost endometrioze i reproduktivnih poremećaja (RIF/RPL), utjecaj liječenja postupcima MPO-e te disfunkcija NK stanica u kompliciranim trudnoćama.

Udio uterinih NK stanica povećava se od proliferativne do kasne sekretorne faze menstrualnog ciklusa u eutopičnom endometriju, dok ektopične endometriotične lezije pokazuju niski broj uNK stanica (149). Analiza menstrualnog sekreta u pacijentica s endometriozom otkrila je snižen broj uNK stanica, posebice CD56-pozitivnih CD16-negativnih NK stanica sa smanjenom citotoksičnosti u odnosu na pNK stanice (182,183). Neplodnost uzrokovana endometriozom karakterizirana je negativnim utjecajem na kvalitetu zametaka i endometrijsku receptivnost, rezultirajući implantacijskim poremećajima (162). Bioinformatičke analize ukazale su na smanjen udio inaktiviranih NK stanica i povišen udio stimuliranih NK stanica u eutopičnom endometriju kod uznapredovalih stadija (r-ASRM III/IV), u usporedbi s blažim stadijima (r-ASRM I/II) endometrioze (184). Također, endometriju tijekom sekretorne faze pacijentica s RIF-a povezanima s endometriozom pokazuje povišen udio citotoksičnih CD16-pozitivnih uNK stanica (148). Navedeni poremećaji izražaja NK stanica mogli bi biti uključeni u poremećaj imunološkog odgovora usmjerenog prema uklanjanju endometriotičnih lezija izvan maternice, uz stimulaciju pro-upalnog stanja koje remeti uspješnu implantaciju zametka (148,184).

Cikličnost uNK stanica u endometriju u ovisnosti je o fazama menstrualnog ciklusa te time implicira njihovu hormonalnu regulaciju. Uterine NK stanice pronađene tijekom urednog menstrualnog ciklusa u decidui u žena bez endometrioze izražavaju estrogenski receptor β (ER β) i glukokortikoidni receptor (GR), s izostankom izražaja mRNA za sintezu ER α i progesteronskog receptora (PR). Ovakva ekspresija receptora ukazuje na direktnu regulaciju uNK stanica

estrogenima i glukokortikoidima (185). Utjecaj rastućih koncentracija progesterona tijekom rane trudnoće posredovan je lučenjem IL-15 putem endometrijskih stromalnih stanica u decidualiziranom endometriju, koji stimulira proliferaciju uNK stanica (186,187). Endometrioza je karakterizirana stanjem progesteronske rezistencije, što označava stanje endometrija u kojem nije sposoban pravilno odgovoriti na rastuće koncentracije progesterona, što rezultira poremećajem decidualizacije, suprotno epitelnoj proliferaciji pri stanju estrogenske dominacije (188). Pritom su endometrijske stromalne stanice u eutopičkom endometriju praćene deficijencijom izražaja gena osjetljivih na progesteron (engl. *progesterone-sensitive genes*), kao i *down*-regulacije gena za sintezu IL-15 (182,189). Niska citotoksičnost uNK stanica tijekom rane trudnoće odgovorna je za imunološku toleranciju zametka, što je povezano s interakcijom KIRs receptora i ne-klasičnih HLA molekula na stanicama ekstraviloznog trofoblasta (107). Međutim, eutopični endometrij u pacijentica s endometriozom pokazuje sniženu ekspresiju HLA-G liganda (190,191). Navedeni procesi mogu implicirati poremećene imunološke mehanizme uključene u poremećaj endometrijske receptivnosti za zametak, kao i poremećaja decidualizacije što rezultira RIF-a i RPL-a u pacijentica s neplodnosti uzrokovanom endometriozom (162). Može se pretpostaviti kako bi poremećaj regulacije NK stanica putem progesterona također mogao biti uključen u razvoju smanjenja broja CD56-pozitivnih NK stanica pronađenih u predloženom istraživanju, premda nismo ispitivali učinak progesterona i ekspresiju progesteronskih receptora.

Hormonska stimulacija tijekom KOH-e utječe na raspodjelu uNK stanica tijekom prozora implantacije, čime može biti smanjuje proinvazivno djelovanje uNK stanica tijekom rane trudnoće. Kanter i suradnici ukazali su na smanjenje broja CD56-pozitivnih uNK stanica u stimuliranom endometriju i izostanka invazije EVT-a (192). Glover i suradnici prikazali su povećanje populacija CD34-pozitivnih uNK progenitorskih stanica prediktorom uspješne implantacije, s istodobnim povećanjem izražaja CD56 biljega za NK stanice u endometriozi (71). Međutim, Rudenko i suradnici prikazali su bazalne decidue nakon implantacije alogenih zametaka s povećanom infiltracijom uNK, CD-138 pozitivnih plazma stanica i CD8-pozitivnih T limfocita u odnosu na implantaciju autogenih zametaka, što ukazuje na poremećaj imunološkog odgovora i posljedične tolerancija zametka, uz povećanu učestalost upalnih posteljičnih lezija (193). Stoga je ovo dodatni pokazatelj izmijenjene aktivacije ne-infekcijskih imunoloških mehanizama u fetomaternalnoj interakciji. Osim navedenih postupaka, FET ciklusi također pokazuju utjecaj na broj NK stanica, koji su provedeni u jednom udjelu ispitanica u predloženom istraživanju. FET ciklusi kao “prirodni

ciklusi” ne uključuju hormonsku stimulaciju čime se ne mijenja debljina endometrija (194). Biopsije endometrija lutealne faze neplodnih pacijentica ukazale su na smanjene razine CD16-pozitivnih uNK stanica prije FET ciklusa u gravidnih pacijentica u odnosu na ne-gravidne neplodne pacijentice, što je prikazano pozitivnim prognostičkim faktorom (195). U predloženom istraživanju nisu ispitivani utjecaji različitih MPO postupaka na broj CD56-pozitivnih NK stanica, ali naglašavamo kako stimulirani ciklusi mogu utjecati na broj CD56-pozitivnih NK stanica u odnosu na ne-stimulirane FET cikluse (71,192). Stoga se liječenje različitih postupcima MPO-e te povezane povišene razine estrogena u ranoj trudnoći mogu predstaviti kao zbunjujući faktor. Razlike u razinama estrogena očigledne su između „svježih“ stimuliranih ciklusa i FET ciklusa, čime je stupanj hiperestrogenizma povezan s razlikama u posteljničnom razvoju tijekom rane trudnoće (196,197). FET ciklusi u predloženom istraživanju provedeni su u 3 ispitanice MPO Endometrioza te 4 ispitanice skupine MPO Muški čimbenik. Ganer Herman i suradnici uočili su isključivo povišene stope velamentozne insercije pupkovine povezano s višim razinama estrogena (197). Međutim, potencijalni utjecaj razina estrogena u ranoj trudnoći na decidualizaciju, odnosno broj CD56-pozitivnih stanica u bazalnoj decidui terminskih posteljica još nije istraživano. Premda se ne može bezrazložno zanemariti utjecaj FET-a, buduća istraživanja trebaju istražiti povezanost razina estradiola na broj CD56-pozitivnih NK stanica tijekom svih razdoblja trudnoće prema različitim MPO postupcima.

Broj pNK i uNK stanica u uzorcima decidue smanjuje se prema terminu porođaja tijekom fizioloških trudnoća u pacijentica bez endometrioze (198,199). Međutim, u fiziološkim trudnoćama također je otkriven povišen izražaj CD69 biljega u populaciji CD56-pozitivnih CD16-pozitivnih pNK stanica u serumu, što može implicirati mogućnost citotoksičnosti i usmjerene lize trofoblasta (198). Istraživanja trudnoća kompliciranih PE-om ili IUZR-om ukazuju na poremećaj NK stanica (170,200). Preeklampsija i endometrioza pokazuju slične molekularne mehanizme putem izražaja DEG gena u endometriju, posebice gena uključenih u funkciju NK stanica i decidualizaciju (170). Trudnoće komplicirane IUZR-om također su obilježene smanjenom gustoćom CD56-pozitivnih NK stanica (200).

U posteljicama ispitanica s neplodnosti uzrokovanom endometrioza sa smanjenim brojem CD56-pozitivnih stanica uočen je značajan odnos s pojačanim stvaranjem sincicijalnih čvorića, niskom stadiju VUE-e, interviloznom trombozom i pojačanim nakupljanjem periviloznog

fibrina, što nije uočeno s brojem CD138-pozitivnih plazma stanica. Udio bazalnih decidua pozitivnih za CD138 bio je nizak u svim skupinama, bez statistički značajne razlike, premda je uočena značajna razlika u pojavnosti niskog stadija VUE-e, pojačanog stvaranja sincicijalnih čvorića, intervilozne tromboze i nakupljanja subkorionskog fibrina pri stratifikaciji skupina prema CD138 pozitivitetu. Ovi rezultati mogu biti u skladu s kroničnim upalnim odgovorom posteljica prezentiranih s značajno povećanom učestalosti kroničnog histiocitnog intervilozitisa, limfoplastičnog deciduitisa, kroničnog korioamnionitisa, kroničnog vilitisa i periviloznog fibrina s limfocitima u navedenom istraživanju Rudenka i suradnika (193).

Literatura ne predlaže jasne kriterije dijagnostičke upotrebe razina pNK niti uNK stanica, s obzirom na nejasne dokaze prognostičke valjanosti razina broja uNK stanica za uspješnu implantaciju (71). Samo su povišene vrijednosti uNK stanica ispitivane u reproduktivnim poremećajima, bez ispitivanja uloge niskih razina uNK stanica (105,201). U predloženom istraživanju nije pronađena statistički značajna razlika u udjelima bazalnih decidua pozitivnih za CD56 prema rasponima NK stanica između ispitivanih skupina (Slika 10). Kombinirani pristup IHC-om detekcijom biljega CD56, CD138 i BCL-6 pokazuje dobru dijagnostičku i prognostičku vrijednost kod idiopatske neplodnosti i odluke o ciljanoj terapiji u reproduktivnim poremećajima (112). Unatoč neutvrđenim referentnim vrijednostima CD56-pozitivnih NK stanica tijekom trudnoće i reproduktivnim poremećajima, trudnoće komplicirane stanjima koji nastaju uslijed disfunkcije endometrija ili posteljičnog uzroka (npr. PE, IUZR) mogu ukazati na poremećaj izražaja i funkcije NK stanica. Stoga je potreban standardizirani protokol dijagnostičke uporabe i procjene imunološkog odgovora u endometriju (71,202,203).

Potencijalni imunomodulacijski pristupi u terapiji endometrioze usmjereni na disfunkciju NK stanica uključuju: glukokortikoide, intravenske imunoglobuline (IVIG) i intralipide (105), anti-TNF α lijekove (pentoxifilin, rekombinantni antagonisti) (106), *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG) (204), histeroskosalpingografijsku (HSG) intrauterinu infuziju lipiodola (205), protopanaxadiol (205), infuziju NK stanica ili modulacija receptora NK stanica (204,206,207). Ovi pristupi imaju direktan ili indirektan učinak na broj i funkciju NK stanica (204,207). Treba li imunoterapiju endometrioze usmjeriti korekciji poremećaja funkcije uNK stanica, prije nego broja uNK stanica kao što je riječ u imunoterapiji zloćudnih bolesti ostaje tema budućih istraživanja zbog kompleksnosti interakcija uNK stanica s drugim imunološkim stanicama i medijatorima.

Zbog uloge NK stanica kao nositelja urođene imunosti i ranih upalnih reakcija, supresija povećanog broja uNK stanica može poremetiti funkciju drugih imunoloških stanica, primjerice adaptivne imunosti s dalekosežnim štetnim učincima (201). Različiti algoritmi imunoterapije usmjereni na NK stanice trebali bi biti razvijeni za liječenje ektopičnih endometriotičnih lezija u odnosu na terapiju neplodnosti uzrokovane endometriozom, s obzirom na citotoksičnost pNK stanica pri preživljenju endometriotičnih lezija odnosno svrsishodne uloge uNK stanica u eutopičnom endometriju. U potonjem bi slučaju stimulacija pNK stanica mogla uzrokovati daljnji poremećaj deciduliziranog endometrija (105,201).

U predloženim istraživanjima nismo ispitivali pojavnost kroničnog endometritisa, premda literatura pokazuje povezanost entiteta s endometriozom. Osada i sur. u istraživanju kroničnog endometritisa u neplodnih žena podvrgnutih laparoskopskom liječenju predlažu teoriju o mogućem utjecaju citokina otpuštenih iz ektopičnih endometriotičnih žarišta u peritonealnoj šupljini na razvoj kroničnog endometritisa (208). Povezanost dvaju entiteta, uz ulogu CD138-pozitivnih plazma kao nositelja adaptivne imunosti, ne-infekcijski posredovanog mehanizma upale te dijagnostičkog kriterija kroničnog endometritisa usmjerila je istraživanje prema ispitivanju broja ovih stanica kao ogledom maternalnog adaptivnog imunološkog odgovora u bazalnoj decidui u ispitanica s neplodnosti uzrokovanom endometriozom (102,116,150,151,209).

Jerman i suradnici evidentirali su prisutnost znakova stimulacije i aktivacije imunološke reakcije u limfnim čvorovima povezanima s lezijama DIE-e crijeva prema detekciji B stanica i plazma stanica, a uključenima u lokalni imunološki odgovor posredovan efektorskim T stanicama (154). Berbic i suradnici u pacijentica s endometriozom opazili su sniženje broja plazma stanica u između menstrualne i proliferativne faze menstruacijskog ciklusa, ali i u obturatornim limfnim čvorovima povezanima s lezijama endometrioze (155). Hever i suradnici pronašli su značajno veći broj plazma stanica s produkcijom IgM-a u endometriomima, kao i više razine mRNA za produkciju *BLyS* citokina odnosno stimulatora limfocita B (engl. *B lymphocyte stimulator*) (156).

Holzer i suradnici otkrili su slabu korelaciju broja CD138-pozitivnih plazma stanica i stadija endometrioze prema rASRM-u, dok su pacijentice s uznapredovalom endometriozom imali češće povišeni broj CD138-pozitivnih plazma stanica (152). Freitag i suradnici evidentirali su moguću povezanost kroničnog endometritisa u neplodnih pacijentica s endometriozom prema

riziku povećanog broja plazma stanica u biopsijama endometrija u neplodnih pacijentica s endometriozaom (153,210). Cicinelli i suradnici pronašli su 2.7 puta veći rizik razvoja kroničnog endometritisa u skupini uzorcima histerektomiranih žena s endometriozaom prema prisutnosti CD138-pozitivnih plazma stanica (151), dok su Takebayashi i suradnici pronašli povezanost endometrioze i kroničnog endometritisa prema IHC detekciji CD138-pozitivnih plazma stanica u skupini histerektomiranih pacijentica s endometriozaom (150).

Rezultati predloženih istraživanja ukazuju broj CD56-pozitivnih NK stanica vjerojatno imaju ključnu ulogu u decidualizaciji i placencijaciji kao nositeljima urođenog imunološkog odgovora važnog u uspješnoj implantaciji zametka, kao što reakcija presatka prema domaćinu tipa IV uključuju T-limfocite i NK stanice bez uloge plazma stanica (162,211).

Zaključak

Ukoliko patogenetski promatramo endometriozaom kao stanje kronične sistemske upale, s progresijom kliničke slike ovisno o razinama stanične imunosti te citokinskog okoliša u perifernoj cirkulaciji, stvara se i specifičan poremećaj imunološkog odgovora u tkivima u obliku lokalne upale. Literatura ne daje jasne dokaze razlikovanja endometrija pacijentica s uspješnim trudnoćama i onog u pacijentica s neplodnosti uzrokovane endometriozaom. Žarište lokalne upale u trudnoći predstavlja *decidua basalis* u tkivu posteljice, kao odraz razvoja decidualiziranog endometrija i mjesto izražaja maternalnog imunološkog odgovora, a stanje upale prikazano je brojem CD56-pozitivnih NK i CD138-pozitivnih plazma stanica. Točnije, ispitan je utjecaj endometrioze na maternalni upalni odgovor u *decidui basalis*, kao odraz maternalne komponente posteljice. Trudnoća je stanje *imunosupresije* majčinog organizma, kao jedan od faktora uspješnog preživljenja zametka odnosno ploda te razvoja uspješne trudnoće, a NK stanice su jedan od medijatora decidualizacije, implantacije i pravilne vaskulogeneze. Istraživanja pokazuju kako se broj NK stanica tijekom trudnoće smanjuje prema terminskom porođaju, ali njihov točan broj još nije poznat. Plazma stanice su glavni nosioc adaptivne imunosti, prvenstveno u pogledu obrane od intrauterinih infekcija izvan trudnoće, te njihova prisutnost u endometriju izvan trudnoće označava stanje kroničnog endometritisa. Nadalje, literatura opisuje povezanost endometrioze i kroničnog endometritisa, posebno u vidu reproduktivnih poremećaja. Izborom NK i plazma stanica time su obuhvaćeni specifični imunološki (*ne-infekcijski*) odgovori u smislu stanične, odnosno humoralne

imunosti u trudnoći. Istraživanja su pokazala kako terminske posteljice u pacijentica s endometriozom pokazuju patohistološke različitosti u odnosu na izabrane kontrolne skupine. Također, ukupan broj CD56-pozitivnih NK stanica u *decidui basalis* terminskih posteljica je smanjen, dok nisu pronađene razlike u ukupnom broju CD138-pozitivnih plazma stanica. Rezultati predložene disertacije naglašavaju poremećaj maternalnog imunskog odgovora u bazalnoj decidui ispitanica nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom. Izmijenjena imunološka reakcija majke može otežati pravilnu invaziju trofoblasta, remodeliranje spiralnih žila miometrija i razvoj posteljice. Ovim promjenama kompromitirana je posteljična perfuzija koja pridonosi nepovoljnim perinatalnim ishodima u trudnoćama nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom. S druge strane, adaptivna imunost, predstavljena infiltracijom plazma stanica, nije prikazana značajnom u patogenezi endometrioze. Navedeni rezultati mogu služiti kao osnova budućih istraživanja utjecaja endometrioze na razvojne procese u trudnoći te istražiti točnu dinamiku broja pNK i uNK stanica tijekom svih trudnoće. Konačno, trudnoće pacijentica s endometriozom, posebno nakon liječenja postupcima MPO-e mogu se smatrati visoko rizičnim trudnoćama. Na temelju rezultata imunoloških istraživanja mogu se predlagati usmjerene imunološke terapije (157,158).

6 ZAKLJUČCI

1. Ispitanice s trudnoćama nakon liječenja MPO-e neplodnosti uzrokovane endometriozom ili muškim čimbenikom bile su značajno starije prvorođanke u odnosu na ispitanice s fiziološkim trudnoćama, dok su ispitanice s endometriozom imale duže trajanje neplodnosti.
2. Trudnoće nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom imale su veću učestalost krvarenja u ranoj trudnoći i prijetjećeg prijevremenog porođaja, veću stopu carskih rezova te češću pojavu novorođenčadi s najnižom porođajnom masom u odnosu na kontrolne skupine.
3. Termenske posteljice trudnoća s endometriozom pokazale su veću učestalost posteljičnih lezija u odnosu na kontrolne skupine, uključujući pojačano stvaranje sincicijalnih čvorova, kraće pupkovine i veću učestalost poremećaja vaskularne malperfuzije: subkorijalno i perivilozno taloženje fibrina, interviloznu trombozu te fetalnu vaskularnu malperfuziju visokog stupnja.
4. Uzorci bazalnih decidua posteljica trudnoća s endometriozom pokazali su najnižu medijalnu vrijednost CD56-pozitivnih NK stanica u odnosu na kontrolne skupine. Nisu uočene značajne razlike u broju CD138-pozitivnih plazma stanica između ispitivanih skupina.
5. U prilagođenom regresijskom modelu čimbenik endometrioze bio je povezan s pojačanim stvaranjem sincicijalnih čvorova i hipertorzijom pupkovine, dok je snižen broj CD56-pozitivnih NK stanica u skupini endometrioze bio povezan s određenim posteljičnim lezijama: nezrelosti resica, vilitisom nepoznate etiologije niskog stupnja, interviloznom trombozom i pojačanim perivilozno taloženje fibrina.
6. Rezultati upućuju na moguću izmijenjenu imunološku reakciju majke, temeljenu na sniženoj infiltraciji NK stanica, što može otežati pravilnu invaziju trofoblasta, remodeliranje spiralnih žila miometrija i razvoj posteljice. Ovim promjenama kompromitirana je posteljična perfuzija koja pridonosi nepovoljnim perinatalnim ishodima u trudnoćama nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom. S druge strane, adaptivna imunost, predstavljena infiltracijom plazma stanica, nije prikazana značajnom u patogenezi endometrioze.

Uvod: Endometrioza je kroničan, estrogen-ovisan poremećaj povezan s neplodnošću, ponajprije zbog štetnog učinka na ovarijsku rezervu i receptivnost endometrija. Slično ektopičnim endometriotičnim lezijama, eutopični endometrij kod endometrioze pokazuje izmijenjene imunološke odgovore, uključujući poremećen broj prirodnoćeljskih stanica (NK) i plazma stanica. Postupci medicinski potpomognute oplodnje (MPO) predstavljaju mogućnost liječenja neplodnosti kod zahvaćenih žena, no dostupna literatura ukazuje na višu učestalost nepovoljnih perinatalnih ishoda u trudnoćama s endometriozom. Ipak, histopatološke značajke posteljice i imunološki odgovori u trudnoćama kod pacijentica s neplodnošću uzrokovanom endometriozom, a koji mogu pridonijeti tim ishodima, nisu dovoljno istraženi.

Cilj: Cilj ove disertacije bio je istražiti histopatološke promjene posteljica, uz analizu ukupnog broja CD56-pozitivnih NK stanica i CD138-pozitivnih plazma stanica u uzorcima bazalne decidue (BD) jednoplodovih trudnoća nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom. Sekundarni ishodi uključivali su učestalost perinatalnih komplikacija te povezanost faktora endometrioze s brojem imunoloških stanica decidue i histopatološkim karakteristikama posteljice.

Materijali i metode: Ova disertacija objedinjuje rezultate dviju monocentričnih istraživanja slučaja i kontrola, koje su obuhvatile histopatološku analizu posteljica te imunohistokemijsku (IHC) analizu CD56 i CD138 biljega u BD uzorcima trudnoća nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom, muškog faktora neplodnosti te fizioloških trudnoća. Minimalna potrebna izračunata veličina uzorka iznosila je 91 posteljicu. Lezije posteljice kategorizirane su prema Amsterdamskom konsenzusu o patologiji posteljica te su podijeljene u anatomske, upalne, lezije vilozne zrelosti i poremećaje vaskularne perfuzije. IHC analiza provedena je primjenom primarnih monoklonskih mišjih protutijela za CD56 i CD138, uz sekundarna protutijela prema standardiziranom protokolu. CD56 i CD138 pozitivne stanice prijavljene su kao ukupan broj stanica po 1 mm² BD uz pomoć mikroskopa Olympus BX46 i Olympus Image Analyzer sustava.

Rezultati: U istraživanja je bilo uključeno 107 sudionica s terminskim posteljicama, raspoređenih u tri skupine: MPO Endometrioza (n=36), MPO muški čimbenik (n=31) i fiziološke trudnoće (n=40). Posteljice iz trudnoća s endometriozom pokazale su veću učestalost posteljičnih lezija u odnosu na kontrolne skupine, uključujući pojačano stvaranje sincicijalnih čvorova, skraćene pupkovine i višu učestalost poremećaja vaskularne malperfuzije (subkorijalno i perivilozno

taloženje fibrina, interviloznu trombozu te fetalnu vaskularnu malperfuziju visokog stupnja). U prilagođenom regresijskom modelu čimbenik endometrioze bio je povezan s pojačanim stvaranjem sincicijalnih čvorova i hipertenzijom pupkovine. Trudnoće povezane s endometriozom imale su veću učestalost krvarenja u ranoj trudnoći i prijetućeg prijevremenog porođaja, kao i veću stopu carskih rezova te češću pojavu novorođenčadi s najnižom porođajnom masom. Uzorci BD posteljica iz trudnoća s endometriozom pokazali su najnižu medijalnu vrijednost CD56-pozitivnih NK stanica u usporedbi s kontrolnim skupinama, pri čemu je njihova smanjena prisutnost bila povezana s određenim posteljičnim lezijama (nezrelost resica, vilitis nepoznate etiologije niskog stupnja, intervilozna tromboza i pojačano perivilozno taloženje fibrina). S druge strane, nisu uočene značajne razlike u broju CD138-pozitivnih plazma stanica između ispitivanih skupina.

Zaključak: Dobiveni rezultati upućuju na moguću izmijenjenu imunološku reakciju majke, temeljenu na sniženoj infiltraciji NK stanica, što može otežati pravilnu invaziju trofoblasta, remodeliranje spiralnih žila miometrija i razvoj posteljice, a čime je kompromitirana posteljična perfuzija koja pridonosi nepovoljnim perinatalnim ishodima u trudnoćama nakon liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom. S druge strane, adaptivna imunost, predstavljena infiltracijom plazma stanica, nije prikazana značajnom u patogenezi endometrioze. Uočeni poremećaji posteljične perfuzije naglašavaju potrebu za povećanim nadzorom funkcije posteljice u trudnoćama nakon MPO liječenja neplodnosti uzrokovane endometriozom. Buduća istraživanja trebala bi biti usmjerena na otkrivanje molekularnih mehanizama endometrioze na disfunkciju posteljice i razvoja perinatalnih komplikacija. Identifikacija potencijalnih biomarkera ili terapijskih intervencija usmjerenih na poremećaj imunološkog odgovora i vaskularno remodeliranje mogla bi poboljšati ishode trudnoća s endometriozom.

Title: CD56-positive NK cells and CD138-positive plasma cells in the basal decidua and histopathological characteristics of placentas after treatment of the endometriosis-related infertility

Introduction: Endometriosis is a chronic, estrogen-dependent condition linked to infertility, primarily due to its detrimental effects on ovarian reserve and endometrial receptivity. Comparable to ectopic endometriotic lesions, the eutopic endometrium in endometriosis patients shows exhibits immune response irregularities, including alterations in natural killer (NK) and plasma cell activity. Assisted reproductive technology (ART) offers a viable fertility treatment for these patients, yet literature show endometriosis pregnancies are associated with a heightened risk of adverse perinatal outcomes. Despite this, here remains a data scarcity on the histopathologic characteristics of placenta and immunological responses in term pregnancies of patients with endometriosis-related infertility, which could contribute to these adverse outcomes.

Aim: This dissertation aimed to explore histopathologic alterations of term placentas, and to investigate total counts of CD56-positive NK cells and CD138-positive plasma cells in the basal decidua (BD) samples in singleton pregnancies after ART treatment of endometriosis-related infertility. Secondary outcomes encompassed the incidence of perinatal complications and examining the potential relationship of endometriosis factor on the decidual immune cell counts and placental pathology.

Materials and methods: This dissertation integrates data from two case-control studies which provided placental histopathologic examination alongside immunohistochemical (IHC) analysis of CD56 and CD138 immune cell markers in term BD samples from pregnancies after ART treatment of endometriosis-related infertility, male factor infertility and physiological pregnancies. The minimum required samples size was calculated to be 91 placentas. Placental lesions were reported according to the Amsterdam Placental Workshop Group Consensus as anatomic, inflammatory, villous maturation and vascular malperfusion disorders. IHC study was conducted using primary monoclonal mouse antibodies for CD56 and CD138, followed by secondary antibody application under a standardized protocol, while CD56 and CD138 positive cells were quantified as the total cell count for each studied antibody per 1mm² of BD (Olympus BX46 and Olympus Image Analyzer).

Results: Studies examined term placentas with BD of 107 participants, according to ART Endometriosis (n=36), ART Male factor (n=31) and Physiological (n=40) pregnancies' group. Endometriosis placentas yielded higher incidence of placental lesions compared to control groups including increased syncytial knot formation, shortened placental cords, and a higher frequency of vascular malperfusion disorders (subchorionic and perivillous fibrin deposition, intervillous thrombosis, and high-grade fetal vascular malperfusion). Endometriosis factor was associated with increased syncytial knots' formation and placental cord hypercoiling in adjusted regression model. Endometriosis pregnancies experienced higher number of early pregnancy bleeding and imminent preterm labor events, as well as higher cesarean delivery with newborns frequently presenting with lowest birthweight. The BD from endometriosis placentas exhibited the lowest median CD56-positive NK cells' count compared to control groups, associated with odds for several placental lesions (immature villous ramification, low grade villitis of unknown etiology, intervillous thrombosis and increased perivillous fibrin). Conversely, no significant differences were observed in CD138-positive plasma cell counts across the study groups.

Conclusions: These findings could suggest potential impaired maternal immune response based on altered NK cell infiltration, which may hinder proper trophoblast invasion, vascular remodeling and placental development, with compromised placental perfusion contributing to adverse perinatal outcomes in pregnancies after ART treatment of endometriosis-related infertility. However, adaptive immunity with plasma cell infiltration did not show potential influence associated with endometriosis pathogenesis. The observed placental malperfusion lesions highlight the need for increased surveillance of placental function in pregnancies complicated by endometriosis, even in cases conceived through ART. Future research should aim to elucidate the molecular pathways linking endometriosis to placental dysfunction and perinatal complications. Identifying potential biomarkers or therapeutic interventions targeting immune dysregulation and vascular remodeling in endometriosis-related pregnancies may improve maternal and fetal outcomes.

Keywords: endometriosis-related infertility; assisted reproductive technology; natural killer cells; plasma cells; placenta.

9 LITERATURA

1. Al S, Lv F, Dk S, Hr H, M K, K Z, et al. Risk for and consequences of endometriosis: A critical epidemiologic review. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* [Internet]. 2018 Aug [cited 2024 Sep 3];51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30017581/>
2. Kirk UB, Bank-Mikkelsen AS, Rytter D, Hartwell D, Marschall H, Nyegaard M, et al. Understanding endometriosis underfunding and its detrimental impact on awareness and research. *Npj Womens Health* [Internet]. 2024 Dec 21 [cited 2025 Feb 16];2(1):1–4. Available from: <https://www.nature.com/articles/s44294-024-00048-6>
3. Ellis K, Munro D, Clarke J. Endometriosis Is Undervalued: A Call to Action. *Front Glob Womens Health* [Internet]. 2022 May 10 [cited 2025 Feb 16];3. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/global-womens-health/articles/10.3389/fgwh.2022.902371/full>
4. Gao X, Outley J, Botteman M, Spalding J, Simon JA, Pashos CL. Economic burden of endometriosis. *Fertil Steril* [Internet]. 2006 Dec 1 [cited 2025 Feb 16];86(6):1561–72. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028206030329>
5. Prescott J, Farland LV, Tobias DK, Gaskins AJ, Spiegelman D, Chavarro JE, et al. A prospective cohort study of endometriosis and subsequent risk of infertility. *Hum Reprod* [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2024 Sep 3];31(7):1475–82. Available from: <https://doi.org/10.1093/humrep/dew085>
6. Horton J, Sterrenburg M, Lane S, Maheshwari A, Li TC, Cheong Y. Reproductive, obstetric, and perinatal outcomes of women with adenomyosis and endometriosis: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2019 Sep 11;25(5):592–632.
7. Warzecha D, Pietrzak B, Szymusik I, Smiech Z, Wielgos M. Should the patients with endometriosis be treated as a risk group of pregnancy complications? Single center experience and literature review and literature review. *Ginekol Pol*. 2020;91(7):383–8.
8. Kobayashi H, Kawahara N, Ogawa K, Yoshimoto C. A Relationship Between Endometriosis and Obstetric Complications. *Reprod Sci Thousand Oaks Calif*. 2020 Mar;27(3):771–8.
9. Takeuchi M, Matsuzaki K, Harada M. Endometriosis, a common but enigmatic disease with many faces: current concept of pathophysiology, and diagnostic strategy. *Jpn J Radiol* [Internet]. 2024 Aug 1 [cited 2025 Feb 16];42(8):801–19. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11604-024-01569-5>
10. Moradi Y, Shams-Beyranvand M, Khateri S, Gharahjeh S, Tehrani S, Varse F, et al. A systematic review on the prevalence of endometriosis in women. *Indian J Med Res* [Internet]. 2021 Sep [cited 2024 Jul 21];154(3):446–54. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9131783/>
11. Bayoumi RR, Hurt L, Zhang N, Law YJ, Venetis C, Fatem HM, et al. A critical systematic review and meta-analyses of risk factors for fertility problems in a globalized world. *Reprod Biomed Online*. 2024 Mar;48(3):103217.

12. Nik Hazlina NH, Norhayati MN, Shaiful Bahari I, Nik Muhammad Arif NA. Worldwide prevalence, risk factors and psychological impact of infertility among women: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2022 Mar 30;12(3):e057132.
13. Buck Louis GM, Hediger ML, Peterson CM, Croughan M, Sundaram R, Stanford J, et al. Incidence of endometriosis by study population and diagnostic method: the ENDO study. *Fertil Steril*. 2011 Aug;96(2):360–5.
14. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Michels KB, Hunter DJ. In utero exposures and the incidence of endometriosis. *Fertil Steril*. 2004 Dec;82(6):1501–8.
15. Wolff EF, Sun L, Hediger ML, Sundaram R, Peterson CM, Chen Z, et al. In utero exposures and endometriosis: the Endometriosis, Natural History, Disease, Outcome (ENDO) Study. *Fertil Steril* [Internet]. 2013 Mar 1 [cited 2025 Mar 7];99(3):790–5. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028212024089>
16. Baron JA, La Vecchia C, Levi F. The antiestrogenic effect of cigarette smoking in women. *Am J Obstet Gynecol*. 1990 Feb;162(2):502–14.
17. Vannuccini S, Lazzeri L, Orlandini C, Tosti C, Clifton VL, Petraglia F. Potential influence of in utero and early neonatal exposures on the later development of endometriosis. *Fertil Steril* [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2025 Mar 7];105(4):997–1002. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028215023079>
18. Upson K, Sathyanarayana S, Scholes D, Holt VL. Early-life factors and endometriosis risk. *Fertil Steril*. 2015 Oct;104(4):964-971.e5.
19. Matalliotakis IM, Cakmak H, Mahutte N, Fragouli Y, Arici A, Sakkas D. Women with advanced-stage endometriosis and previous surgery respond less well to gonadotropin stimulation, but have similar IVF implantation and delivery rates compared with women with tubal factor infertility. *Fertil Steril*. 2007 Dec;88(6):1568–72.
20. Nnoaham KE, Webster P, Kumbang J, Kennedy SH, Zondervan KT. Is early age at menarche a risk factor for endometriosis? A systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Fertil Steril*. 2012 Sep;98(3):702-712.e6.
21. Vitonis AF, Baer HJ, Hankinson SE, Laufer MR, Missmer SA. A prospective study of body size during childhood and early adulthood and the incidence of endometriosis. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2010 May;25(5):1325–34.
22. Shah DK, Correia KF, Vitonis AF, Missmer SA. Body size and endometriosis: results from 20 years of follow-up within the Nurses' Health Study II prospective cohort. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2013 Jul;28(7):1783–92.
23. Darrow SL, Vena JE, Batt RE, Zielezny MA, Michalek AM, Selman S. Menstrual cycle characteristics and the risk of endometriosis. *Epidemiol Camb Mass*. 1993 Mar;4(2):135–42.

24. Peterson CM, Johnstone EB, Hammoud AO, Stanford JB, Varner MW, Kennedy A, et al. Risk factors associated with endometriosis: importance of study population for characterizing disease in the ENDO Study. *Am J Obstet Gynecol*. 2013 Jun;208(6):451.e1-11.
25. Farland LV, Eliassen AH, Tamimi RM, Spiegelman D, Michels KB, Missmer SA. History of breast feeding and risk of incident endometriosis: prospective cohort study. *BMJ* [Internet]. 2017 Aug 29 [cited 2025 Mar 7];358:j3778. Available from: <https://www.bmj.com/content/358/bmj.j3778>
26. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Marshall LM, Hunter DJ. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors. *Am J Epidemiol*. 2004 Oct 15;160(8):784–96.
27. Liu Y, Zhang W. Association between body mass index and endometriosis risk: a meta-analysis. *Oncotarget* [Internet]. 2017 Jan 31 [cited 2025 Mar 7];8(29):46928–36. Available from: <https://www.oncotarget.com/article/14916/text/>
28. McCann SE, Freudenheim JL, Darrow SL, Batt RE, Zielezny MA. Endometriosis and body fat distribution. *Obstet Gynecol*. 1993 Oct;82(4 Pt 1):545–9.
29. Vitonis AF, Hankinson SE, Hornstein MD, Missmer SA. Adult physical activity and endometriosis risk. *Epidemiol Camb Mass*. 2010 Jan;21(1):16–23.
30. An P, Rice T, Gagnon J, Hong Y, Leon AS, Skinner JS, et al. A genetic study of sex hormone—Binding globulin measured before and after a 20-week endurance exercise training program: The HERITAGE Family Study. *Metabolism* [Internet]. 2000 Aug 1 [cited 2025 Mar 7];49(8):1014–20. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026049500477395>
31. Missmer SA, Chavarro JE, Malspeis S, Bertone-Johnson ER, Hornstein MD, Spiegelman D, et al. A prospective study of dietary fat consumption and endometriosis risk. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2010 Jun;25(6):1528–35.
32. Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, Rifai N, Joshipura K, Willett WC, et al. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am J Clin Nutr*. 2004 Apr;79(4):606–12.
33. Kvaskoff M, Mesrine S, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC. Endometriosis risk in relation to naevi, freckles and skin sensitivity to sun exposure: the French E3N cohort. *Int J Epidemiol* [Internet]. 2009 Aug 1 [cited 2025 Mar 7];38(4):1143–53. Available from: <https://doi.org/10.1093/ije/dyp175>
34. Kvaskoff M, Han J, Qureshi AA, Missmer SA. Pigmentary traits, family history of melanoma and the risk of endometriosis: a cohort study of US women. *Int J Epidemiol*. 2014 Feb;43(1):255–63.
35. Smarr MM, Kannan K, Buck Louis GM. Endocrine disrupting chemicals and endometriosis. *Fertil Steril*. 2016 Sep 15;106(4):959–66.

36. Hoffman CS, Small CM, Blanck HM, Tolbert P, Rubin C, Marcus M. Endometriosis Among Women Exposed to Polybrominated Biphenyls. *Ann Epidemiol* [Internet]. 2007 Jul 1 [cited 2025 Mar 7];17(7):503–10. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1047279707000579>
37. Eskenazi B, Mocarelli P, Warner M, Samuels S, Vercellini P, Olive D, et al. Serum dioxin concentrations and endometriosis: a cohort study in Seveso, Italy. *Environ Health Perspect*. 2002 Jul;110(7):629–34.
38. Grodstein F, Goldman MB, Ryan L, Cramer DW. Relation of female infertility to consumption of caffeinated beverages. *Am J Epidemiol*. 1993 Jun 15;137(12):1353–60.
39. Grodstein F, Goldman MB, Cramer DW. Infertility in women and moderate alcohol use. *Am J Public Health*. 1994 Sep;84(9):1429–32.
40. Schernhammer ES, Vitonis AF, Rich-Edwards J, Missmer SA. Rotating nightshift work and the risk of endometriosis in premenopausal women. *Am J Obstet Gynecol*. 2011 Nov;205(5):476.e1-8.
41. Paola VD, Manfredi R, Castelli F, Negrelli R, Mehrabi S, Mucelli RP. Detection and localization of deep endometriosis by means of MRI and correlation with the ENZIAN score. *Eur J Radiol* [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2025 Feb 17];84(4):568–74. Available from: [https://www.ejradiology.com/article/S0720-048X\(15\)00006-6/abstract](https://www.ejradiology.com/article/S0720-048X(15)00006-6/abstract)
42. Elefante C, Brancati GE, Oragvelidze E, Lattanzi L, Maremmanni I, Perugi G. Psychiatric Symptoms in Patients with Cerebral Endometriosis: A Case Report and Literature Review. *J Clin Med* [Internet]. 2022 Dec 4 [cited 2025 Feb 17];11(23):7212. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9738496/>
43. Brosens I, Pijnenborg R, Benagiano G. Defective myometrial spiral artery remodelling as a cause of major obstetrical syndromes in endometriosis and adenomyosis. *Placenta*. 2013 Feb;34(2):100–5.
44. Maddern J, Grundy L, Castro J, Brierley SM. Pain in Endometriosis. *Front Cell Neurosci* [Internet]. 2020 Oct 6 [cited 2025 Feb 17];14:590823. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7573391/>
45. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril* [Internet]. 2012 Sep 1 [cited 2025 Feb 17];98(3):511–9. Available from: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(12\)00682-6/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(12)00682-6/fulltext)
46. Kitawaki J, Kado N, Ishihara H, Koshihara H, Kitaoka Y, Honjo H. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2002 Dec;83(1–5):149–55.
47. Ruffo G, Scopelliti F, Manzoni A, Sartori A, Rossini R, Ceccaroni M, et al. Long-term outcome after laparoscopic bowel resections for deep infiltrating endometriosis: a single-center experience after 900 cases. *BioMed Res Int*. 2014;2014:463058.

48. Knabben L, Imboden S, Fellmann B, Nirgianakis K, Kuhn A, Mueller MD. Urinary tract endometriosis in patients with deep infiltrating endometriosis: prevalence, symptoms, management, and proposal for a new clinical classification. *Fertil Steril*. 2015 Jan;103(1):147–52.
49. Haga T, Kataoka H, Ebana H, Otsuji M, Seyama K, Tatsumi K, et al. Thoracic endometriosis-related pneumothorax distinguished from primary spontaneous pneumothorax in females. *Lung*. 2014 Aug;192(4):583–7.
50. Szyplowska M, Tarkowski R, Kułak K. The impact of endometriosis on depressive and anxiety symptoms and quality of life: a systematic review. *Front Public Health*. 2023;11:1230303.
51. Sherwani S, Khan MWA, Rajendrasozhan S, Al-Motair K, Husain Q, Khan WA. The vicious cycle of chronic endometriosis and depression—an immunological and physiological perspective. *Front Med [Internet]*. 2024 Sep 6 [cited 2025 Feb 17];11. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/medicine/articles/10.3389/fmed.2024.1425691/full>
52. Nisolle M, Donnez J. Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertil Steril*. 1997 Oct;68(4):585–96.
53. Stegmann BJ, Sinaii N, Liu S, Segars J, Merino M, Nieman LK, et al. Using Location, Color, Size, and Depth to Characterize and Identify Endometriosis Lesions in a Cohort of 133 Women. *Fertil Steril [Internet]*. 2008 Jun [cited 2025 Mar 7];89(6):1632–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2505050/>
54. Khan KN, Kitajima M, Hiraki K, Fujishita A, Nakashima M, Masuzaki H. Visible and occult microscopic lesions of endometriosis. *Gynecol Minim Invasive Ther [Internet]*. 2014 Nov 1 [cited 2025 Mar 7];3(4):109–14. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213307014000550>
55. International Working Group of AAGL, ESGE, ESHRE and WES, Zondervan KT, Missmer S, Abrao MS, Einarsson JI, Horne AW, et al. Endometriosis classification systems: an international survey to map current knowledge and uptake. *Hum Reprod Open*. 2022;2022(1):hoac002.
56. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril*. 1997 May;67(5):817–21.
57. Keckstein J, Saridogan E, Ulrich UA, Sillem M, Oppelt P, Schweppe KW, et al. The #Enzian classification: A comprehensive non-invasive and surgical description system for endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2021 Jul;100(7):1165–75.
58. Adamson GD, Pasta DJ. Endometriosis fertility index: the new, validated endometriosis staging system. *Fertil Steril*. 2010 Oct;94(5):1609–15.
59. Vercellini P, Fedele L, Aimi G, De Giorgi O, Consonni D, Crosignani PG. Reproductive performance, pain recurrence and disease relapse after conservative surgical treatment for

- endometriosis: the predictive value of the current classification system. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2006 Oct;21(10):2679–85.
60. Rodrigues DM, de Ávila I, Amorim LVC, Carneiro MM, Ferreira MCF. Endometriosis fertility index predicts pregnancy in women operated on for moderate and severe symptomatic endometriosis. *Women Health*. 2022 Jan;62(1):3–11.
 61. Mikuš M, Goldštajn MŠ, Brlečić I, Dumančić S, Laganà AS, Chiantera V, et al. CTLA4-Linked Autoimmunity in the Pathogenesis of Endometriosis and Related Infertility: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 18;23(18).
 62. Shan J, Li DJ, Wang XQ. Towards a Better Understanding of Endometriosis-Related Infertility: A Review on How Endometriosis Affects Endometrial Receptivity. *Biomolecules*. 2023 Feb 24;13(3):430.
 63. De Wilde RL, Alvarez J, Brölmann H, Campo R, Cheong Y, Lundorff P, et al. Adhesions and endometriosis: challenges in subfertility management. *Arch Gynecol Obstet* [Internet]. 2016 [cited 2025 Feb 17];294:299–301. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4937065/>
 64. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine in collaboration with Society of Reproductive Surgeons. Pathogenesis, consequences, and control of peritoneal adhesions in gynecologic surgery: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013 May;99(6):1550–5.
 65. Stilley JAW, Birt JA, Sharpe-Timms KL. Cellular and molecular basis for endometriosis-associated infertility. *Cell Tissue Res*. 2012 Sep;349(3):849–62.
 66. Daniilidis A, Angioni S, Di Michele S, Dinas K, Gkrozou F, D’Alterio MN. Deep Endometriosis and Infertility: What Is the Impact of Surgery? *J Clin Med* [Internet]. 2022 Nov 14 [cited 2025 Feb 17];11(22):6727. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9693611/>
 67. Boucher A, Brichant G, Gridelet V, Nisolle M, Ravet S, Timmermans M, et al. Implantation Failure in Endometriosis Patients: Etiopathogenesis. *J Clin Med* [Internet]. 2022 Sep 13 [cited 2024 Jul 21];11(18):5366. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9505862/>
 68. Brosens I, Derwig I, Brosens J, Fusi L, Benagiano G, Pijnenborg R. The enigmatic uterine junctional zone: the missing link between reproductive disorders and major obstetrical disorders? *Hum Reprod Oxf Engl*. 2010 Mar;25(3):569–74.
 69. King A, Hiby SE, Gardner L, Joseph S, Bowen JM, Verma S, et al. Recognition of trophoblast HLA class I molecules by decidual NK cell receptors--a review. *Placenta*. 2000;21 Suppl A:S81-85.
 70. Wallace AE, Fraser R, Cartwright JE. Extravillous trophoblast and decidual natural killer cells: a remodelling partnership. *Hum Reprod Update*. 2012 Jul;18(4):458–71.

71. Glover LE, Crosby D, Thiruchelvam U, Harmon C, Chorcora CN, Wingfield MB, et al. Uterine natural killer cell progenitor populations predict successful implantation in women with endometriosis-associated infertility. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. 2018 Mar;79(3).
72. Zhang X, Wei H. Role of Decidual Natural Killer Cells in Human Pregnancy and Related Pregnancy Complications. *Front Immunol*. 2021;12:728291.
73. Kalaitzopoulos DR, Samartzis N, Kolovos GN, Mareti E, Samartzis EP, Eberhard M, et al. Treatment of endometriosis: a review with comparison of 8 guidelines. *BMC Womens Health*. 2021 Nov 29;21(1):397.
74. Becker CM, Bokor A, Heikinheimo O, Horne A, Jansen F, Kiesel L, et al. ESHRE guideline: endometriosis. *Hum Reprod Open*. 2022;2022(2):hoac009.
75. Hughes E, Brown J, Collins JJ, Farquhar C, Fedorkow DM, Vanderkerchove P. Ovulation suppression for endometriosis for women with subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2007 [cited 2025 Feb 17];(3). Available from: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD000155.pub2/abstract>
76. Endometriosis and infertility: a committee opinion. *Fertil Steril* [Internet]. 2012 Sep 1 [cited 2025 Feb 17];98(3):591–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028212005857>
77. Kalaitzopoulos DR, Samartzis N, Kolovos GN, Mareti E, Samartzis EP, Eberhard M, et al. Treatment of endometriosis: a review with comparison of 8 guidelines. *BMC Womens Health* [Internet]. 2021 Nov 29 [cited 2025 Feb 17];21:397. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8628449/>
78. Al-Inany H. Laparoscopic ablation is not necessary for minimal or mild lesions in endometriosis associated subfertility. *Acta Obstet Gynecol Scand* [Internet]. 2001 [cited 2025 Feb 17];80(7):593–5. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1600-0412.2001.800701.x>
79. Bafort C, Beebejaun Y, Tomassetti C, Bosteels J, Duffy JM. Laparoscopic surgery for endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020 Oct 23;10(10):CD011031.
80. Dunselman GAJ, Vermeulen N, Becker C, Calhaz-Jorge C, D’Hooghe T, De Bie B, et al. ESHRE guideline: management of women with endometriosis †. *Hum Reprod* [Internet]. 2014 Mar 1 [cited 2025 Feb 17];29(3):400–12. Available from: <https://doi.org/10.1093/humrep/det457>
81. Pagidas K, Falcone T, Hemmings R, Miron P. Comparison of reoperation for moderate (stage III) and severe (stage IV) endometriosis-related infertility with in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 1996 Apr;65(4):791–5.
82. Lantsberg D, Fernando S, Cohen Y, Rombauts L. The Role of Fertility Preservation in Women with Endometriosis: A Systematic Review. *J Minim Invasive Gynecol*. 2020 Feb;27(2):362–72.

83. Đelmiš J, Orešković S. Fetalna medicina i opstetricija. Zagreb: Medicinska naklada; 2014.
84. Cunningham FG, Leveno KJ, Dashe JS, Hoffman BL, Spong CY, Casey BM. Williams Obstetrics. New York, NY: McGraw Hill; 2022.
85. Sun C, Groom KM, Oyston C, Chamley LW, Clark AR, James JL. The placenta in fetal growth restriction: What is going wrong? *Placenta* [Internet]. 2020 Jul [cited 2025 Feb 9];96:10–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0143400420301363>
86. Jansen CHJR, Kastelein AW, Kleinrouweler CE, Van Leeuwen E, De Jong KH, Pajkrt E, et al. Development of placental abnormalities in location and anatomy. *Acta Obstet Gynecol Scand* [Internet]. 2020 Aug [cited 2025 Feb 9];99(8):983–93. Available from: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aogs.13834>
87. Acharya G, Sonesson S, Flo K, Räsänen J, Odibo A. Hemodynamic aspects of normal human fetoplacental (umbilical) circulation. *Acta Obstet Gynecol Scand* [Internet]. 2016 Jun [cited 2025 Feb 9];95(6):672–82. Available from: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aogs.12919>
88. Langston C, Kaplan C, Macpherson T, Mancini E, Peevy K, Clark B, et al. Practice guideline for examination of the placenta: developed by the Placental Pathology Practice Guideline Development Task Force of the College of American Pathologists. *Arch Pathol Lab Med*. 1997 May;121(5):449–76.
89. Roberts DJ, Baergen RN, Boyd TK, Carreon CK, Duncan VE, Ernst LM, et al. Criteria for placental examination for obstetrical and neonatal providers. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2023 May [cited 2025 Feb 10];228(5):497-508.e4. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002937822022955>
90. Kos M, Leniček T. Osnove patologije posteljice. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.
91. Roberts DJ, Oliva E. Clinical significance of placental examination in perinatal medicine. *J Matern Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2006 Jan [cited 2025 Feb 10];19(5):255–64. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14767050600676349>
92. Khong TY, Mooney EE, Ariel I, Balmus NCM, Boyd TK, Brundler MA, et al. Sampling and Definitions of Placental Lesions: Amsterdam Placental Workshop Group Consensus Statement. *Arch Pathol Lab Med*. 2016 Jul;140(7):698–713.
93. Kim CJ, Romero R, Chaemsaihong P, Kim JS. Chronic inflammation of the placenta: definition, classification, pathogenesis, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Oct;213(4 Suppl):S53-69.
94. Feist H, Schaumann N, Bajwa S, Hager T, von Kaisenberg C, Pecks U. Chronic Deciduitis With Plasma Cells: A Quantitative and Clinicopathological Analysis Concerning Different Trimesters. *Pediatr Dev Pathol Off J Soc Pediatr Pathol Paediatr Pathol Soc*. 2022 Aug;25(4):452–7.

95. Khong TY, Bendon RW, Qureshi F, Redline RW, Gould S, Stallmach T, et al. Chronic deciduitis in the placental basal plate: definition and interobserver reliability. *Hum Pathol*. 2000 Mar;31(3):292–5.
96. Fogarty NME, Ferguson-Smith AC, Burton GJ. Syncytial Knots (Tenney-Parker Changes) in the Human Placenta: Evidence of Loss of Transcriptional Activity and Oxidative Damage. *Am J Pathol* [Internet]. 2013 Jul 1 [cited 2025 Feb 22];183(1):144–52. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002944013002733>
97. Huppertz B, Kaufmann P, Kingdom J. Trophoblast turnover in health and disease. *Fetal Matern Med Rev* [Internet]. 2002 May [cited 2025 Feb 22];13(2):103–18. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/fetal-and-maternal-medicine-review/article/abs/trophoblast-turnover-in-health-and-disease/46DF5097005701AFF6A5DD3BDF2CDD2>
98. Parks WT. Placental hypoxia: the lesions of maternal malperfusion. *Semin Perinatol*. 2015 Feb;39(1):9–19.
99. Mackay CA, Abeysuriya D, Dickinson JE, Shipton S, Athalye-Jape G. Localised chorioangiomas associated with fetal right-sided cardiac dilatation. *J Paediatr Child Health*. 2023 Feb;59(2):377–80.
100. Russell RT, Carlin A, Ashworth M, Welch CR. Diffuse placental chorioangiomas and fetal hydrops. *Fetal Diagn Ther*. 2007;22(3):183–5.
101. Hoozemans DA, Schats R, Lambalk CB, Homburg R, Hompes PGA. Human embryo implantation: current knowledge and clinical implications in assisted reproductive technology. *Reprod Biomed Online*. 2004 Dec;9(6):692–715.
102. Weng J, Couture C, Girard S. Innate and Adaptive Immune Systems in Physiological and Pathological Pregnancy. *Biology* [Internet]. 2023 Mar 3 [cited 2024 Oct 13];12(3):402. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-7737/12/3/402>
103. PrabhuDas M, Bonney E, Caron K, Dey S, Erlebacher A, Fazleabas A, et al. Immune mechanisms at the maternal-fetal interface: perspectives and challenges. *Nat Immunol* [Internet]. 2015 Apr [cited 2024 Oct 13];16(4):328–34. Available from: <https://www.nature.com/articles/ni.3131>
104. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. *Stanična i molekularna imunologija*. 8. izdanje. Medicinska naklada; 2018.
105. Díaz-Hernández I, Alecsandru D, García-Velasco JA, Domínguez F. Uterine natural killer cells: from foe to friend in reproduction. *Hum Reprod Update*. 2021 Jun 22;27(4):720–46.
106. Mahajan D, Sharma NR, Kancharla S, Kolli P, Tripathy A, Sharma AK, et al. Role of Natural Killer Cells during Pregnancy and Related Complications. *Biomolecules* [Internet]. 2022 Jan [cited 2023 Oct 15];12(1):68. Available from: <https://www.mdpi.com/2218-273X/12/1/68>

107. Hanna J, Goldman-Wohl D, Hamani Y, Avraham I, Greenfield C, Natanson-Yaron S, et al. Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nat Med*. 2006 Sep;12(9):1065–74.
108. Ng SW, Norwitz GA, Pavlicev M, Tilburgs T, Simón C, Norwitz ER. Endometrial Decidualization: The Primary Driver of Pregnancy Health. *Int J Mol Sci*. 2020 Jun 8;21(11):4092.
109. Choudhury RH, Dunk CE, Lye SJ, Harris LK, Aplin JD, Jones RL. Decidual leucocytes infiltrating human spiral arterioles are rich source of matrix metalloproteinases and degrade extracellular matrix in vitro and in situ. *Am J Reprod Immunol [Internet]*. 2019 [cited 2024 Sep 3];81(1):e13054. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/aji.13054>
110. Robson A, Harris LK, Innes BA, Lash GE, Aljunaidy MM, Aplin JD, et al. Uterine natural killer cells initiate spiral artery remodeling in human pregnancy. *FASEB J [Internet]*. 2012 [cited 2024 Sep 3];26(12):4876–85. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fj.12-210310>
111. Marshall JS, Warrington R, Watson W, Kim HL. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy Asthma Clin Immunol [Internet]*. 2018 Sep 12 [cited 2024 Sep 3];14(2):49. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13223-018-0278-1>
112. Ekemen S, Comunoglu C, Kayhan CK, Bilir E, Cavusoglu I, Etiler N, et al. Endometrial Staining of CD56 (Uterine Natural Killer), BCL-6, and CD138 (Plasma Cells) Improve Diagnosis and Clinical Pregnancy Outcomes in Unexplained Infertility and Recurrent IVF Failures: Standardization of Diagnosis with Digital Pathology. *Diagn Basel Switz*. 2023 Apr 26;13(9):1557.
113. Cicinelli E, Haimovich S, De Ziegler D, Raz N, Ben-Tzur D, Andrisani A, et al. MUM-1 immunohistochemistry has high accuracy and reliability in the diagnosis of chronic endometritis: a multi-centre comparative study with CD-138 immunostaining. *J Assist Reprod Genet*. 2022 Jan;39(1):219–26.
114. Oravec O, Balogh A, Romero R, Xu Y, Juhasz K, Gelencser Z, et al. Proteoglycans: Systems-Level Insight into Their Expression in Healthy and Diseased Placentas. *Int J Mol Sci*. 2022 May 21;23(10).
115. Singh N, Sethi A. Endometritis - Diagnosis, Treatment and its impact on fertility - A Scoping Review. *JBRA Assist Reprod*. 2022 Aug 4;26(3):538–46.
116. Drizi A, Djokovic D, Laganà AS, van Herendael B. Impaired inflammatory state of the endometrium: a multifaceted approach to endometrial inflammation. Current insights and future directions. *Przegląd Menopauzalny Menopause Rev*. 2020 Jul;19(2):90–100.
117. Karsnitz DB. Puerperal infections of the genital tract: a clinical review. *J Midwifery Womens Health*. 2013;58(6):632–42.

118. Sweet RL. Treatment of acute pelvic inflammatory disease. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2011;2011:561909.
119. Workowski KA, Bolan GA. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep Morb Mortal Wkly Rep Recomm Rep* [Internet]. 2015 Jun 5 [cited 2025 Feb 7];64(RR-03):1–137. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5885289/>
120. Frock-Welnak DN, Tam J. Identification and Treatment of Acute Pelvic Inflammatory Disease and Associated Sequelae. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2022 Sep;49(3):551–79.
121. Kitaya K, Takeuchi T, Mizuta S, Matsubayashi H, Ishikawa T. Endometritis: new time, new concepts. *Fertil Steril*. 2018 Aug;110(3):344–50.
122. Cicinelli E, De Ziegler D, Nicoletti R, Colafiglio G, Saliani N, Resta L, et al. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. *Fertil Steril* [Internet]. 2008 Mar 1 [cited 2025 Feb 7];89(3):677–84. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028207007492>
123. Kumar P, Shah NP, Singhal A, Chauhan DS, Katoch VM, Mittal S, et al. Association of tuberculous endometritis with infertility and other gynecological complaints of women in India. *J Clin Microbiol*. 2008 Dec;46(12):4068–70.
124. Wiesenfeld HC, Hillier SL, Meyn LA, Amortegui AJ, Sweet RL. Subclinical pelvic inflammatory disease and infertility. *Obstet Gynecol*. 2012 Jul;120(1):37–43.
125. Edmondson N, Bocking A, Machin G, Rizek R, Watson C, Keating S. The Prevalence of Chronic Deciduitis in Cases of Preterm Labor without Clinical Chorioamnionitis. *Pediatr Dev Pathol* [Internet]. 2009 Jan 1 [cited 2024 Sep 1];12(1):16–21. Available from: <https://doi.org/10.2350/07-04-0270.1>
126. Vitagliano A, Saccardi C, Noventa M, Sardo ADS, Saccone G, Cicinelli E, et al. Effects of chronic endometritis therapy on in vitro fertilization outcome in women with repeated implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2024 Sep 1];110(1):103-112.e1. Available from: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(18\)30270-X/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(18)30270-X/fulltext)
127. Bouet PE, El Hachem H, Monceau E, Gariépy G, Kadoch IJ, Sylvestre C. Chronic endometritis in women with recurrent pregnancy loss and recurrent implantation failure: prevalence and role of office hysteroscopy and immunohistochemistry in diagnosis. *Fertil Steril*. 2016 Jan;105(1):106–10.
128. Robertson SA, Jin M, Yu D, Moldenhauer LM, Davies MJ, Hull ML, et al. Corticosteroid therapy in assisted reproduction – immune suppression is a faulty premise. *Hum Reprod* [Internet]. 2016 Oct [cited 2025 Feb 9];31(10):2164–73. Available from: <https://academic.oup.com/humrep/article-lookup/doi/10.1093/humrep/dew186>

129. Chen Y qing, Fang R li, Luo Y na, Luo C qiao. Analysis of the diagnostic value of CD138 for chronic endometritis, the risk factors for the pathogenesis of chronic endometritis and the effect of chronic endometritis on pregnancy: a cohort study. *BMC Womens Health* [Internet]. 2016 Dec [cited 2025 Feb 9];16(1):60. Available from: <http://bmcwomenshealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12905-016-0341-3>
130. Faas MM, de Vos P. Uterine NK cells and macrophages in pregnancy. *Placenta*. 2017 Aug;56:44–52.
131. Bashiri A, Halper KI, Orvieto R. Recurrent Implantation Failure-update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions. *Reprod Biol Endocrinol RBE*. 2018 Dec 5;16(1):121.
132. de Ziegler D, Pirtea P, Galliano D, Cicinelli E, Meldrum D. Optimal uterine anatomy and physiology necessary for normal implantation and placentation. *Fertil Steril*. 2016 Apr;105(4):844–54.
133. Carp HJA, Selmi C, Shoenfeld Y. The autoimmune bases of infertility and pregnancy loss. *J Autoimmun*. 2012 May;38(2–3):J266-274.
134. Andersen CJ, Murphy KE, Fernandez ML. Impact of Obesity and Metabolic Syndrome on Immunity. *Adv Nutr Bethesda Md*. 2016 Jan;7(1):66–75.
135. L R, E C, T L. Possible Inflammatory Origin of Endometrial Polyps. *Arch Reprod Med Sex Health* [Internet]. 2018 Aug 20 [cited 2025 Feb 9];1(2):8–16. Available from: <https://sryahwapublications.com/article/abstract/2639-1791.0102003>
136. Symons LK, Miller JE, Kay VR, Marks RM, Liblik K, Koti M, et al. The Immunopathophysiology of Endometriosis. *Trends Mol Med*. 2018 Sep;24(9):748–62.
137. Stanekova V, Woodman RJ, Tremellen K. The rate of euploid miscarriage is increased in the setting of adenomyosis. *Hum Reprod Open*. 2018;2018(3):hoy011.
138. Goswami B, Rajappa M, Sharma M, Sharma A. Inflammation: its role and interplay in the development of cancer, with special focus on gynecological malignancies. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc*. 2008;18(4):591–9.
139. Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reprod Biol Endocrinol* [Internet]. 2012 Jun 29 [cited 2025 Feb 9];10(1):49. Available from: <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-49>
140. Huang Y, Zhao X, Chen Y, Wang J, Zheng W, Cao L. Miscarriage on Endometriosis and Adenomyosis in Women by Assisted Reproductive Technology or with Spontaneous Conception: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BioMed Res Int*. 2020;2020:4381346.
141. Marcellin L, Santulli P, Gogusev J, Lesaffre C, Jacques S, Chapron C, et al. Endometriosis also affects the decidua in contact with the fetal membranes during pregnancy. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2015 Feb;30(2):392–405.

142. Marcellin L, Méhats C, Gogusev J. Histopathological Alterations in Fetal Membranes of Women With Endometriosis. *Reprod Sci* Thousand Oaks Calif. 2018 May;25(5):782–7.
143. Volodarsky-Perel A, Nu TNT, Mashiach R, Berkowitz E, Balayla J, Machado-Gedeon A, et al. The effect of endometriosis on placental histopathology and perinatal outcome in singleton live births resulting from IVF. *Reprod Biomed Online* [Internet]. 2022 Oct 1 [cited 2023 Nov 15];45(4):754–61. Available from: [https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(22\)00290-5/fulltext](https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(22)00290-5/fulltext)
144. Ferrero S, Scala C, Roberti Maggiore UL, Bogliolo S, Barra F, Vellone VG. MACROSCOPIC AND MICROSCOPIC FINDINGS OF THE PLACENTA IN WOMEN WITH ENDOMETRIOSIS AND ADENOMYOSIS. *Fertil Steril* [Internet]. 2021 Sep [cited 2024 May 1];116(3):e51–2. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028221007469>
145. Sacha CR, Mortimer RM, James K, Harris AL, Yeh J, Toth TL, et al. Placental pathology of term singleton live births conceived with fresh embryo transfer compared with those conceived without assisted reproductive technology. *Fertil Steril*. 2022 Apr;117(4):758–68.
146. Laganà AS, Garzon S, Götte M, Viganò P, Franchi M, Ghezzi F, et al. The Pathogenesis of Endometriosis: Molecular and Cell Biology Insights. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019 Nov 10 [cited 2023 Sep 9];20(22):5615. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6888544/>
147. Matsuoka S, Maeda N, Izumiya C, Yamashita C, Nishimori Y, Fukaya T. Expression of inhibitory-motif killer immunoglobulin-like receptor, KIR2DL1, is increased in natural killer cells from women with pelvic endometriosis. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. 2005 May;53(5):249–54.
148. Giuliani E, Parkin KL, Lessey BA, Young SL, Fazleabas AT. Characterization of uterine NK cells in women with infertility or recurrent pregnancy loss and associated endometriosis. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. 2014 Sep;72(3):262–9.
149. Drury JA, Parkin KL, Coyne L, Giuliani E, Fazleabas AT, Hapangama DK. The dynamic changes in the number of uterine natural killer cells are specific to the eutopic but not to the ectopic endometrium in women and in a baboon model of endometriosis. *Reprod Biol Endocrinol RBE*. 2018 Jul 18;16(1):67.
150. Takebayashi A, Kimura F, Kishi Y, Ishida M, Takahashi A, Yamanaka A, et al. The association between endometriosis and chronic endometritis. *PLoS One*. 2014;9(2):e88354.
151. Cicinelli E, Trojano G, Mastromauro M, Vimercati A, Marinaccio M, Mitola PC, et al. Higher prevalence of chronic endometritis in women with endometriosis: a possible etiopathogenetic link. *Fertil Steril*. 2017 Aug;108(2):289-295.e1.
152. Holzer I, Ott J, Kurz C, Hofstetter G, Hager M, Kuessel L, et al. Is Chronic Endometritis Associated with Tubal Infertility? A Prospective Cohort Study. *J Minim Invasive Gynecol*. 2021 Nov;28(11):1876–81.

153. Freitag N, Pour SJ, Fehm TN, Toth B, Markert UR, Weber M, 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):1487–94.
154. Jerman LF, Anderson L, Markham R, Hey-Cunningham AJ. The Lymphatic System in Endometriosis: a Pilot Study of Endometrial-Like Cells and Immune Cell Populations in Lymph Nodes Associated with Deep Infiltrating Bowel Lesions. *Reprod Sci Thousand Oaks Calif*. 2020 Apr;27(4):977–87.
155. Berbic M, Ng CHM, Black K, Markham R, Russell P, Basten A, et al. A novel pilot study of endometrial stromal cells and immune cell populations in sentinel uterine-draining lymph nodes during the menstrual cycle and in endometriosis. *Reprod Sci Thousand Oaks Calif*. 2013 Nov;20(11):1339–48.
156. Hever A, Roth RB, Hevezi P, Marin ME, Acosta JA, Acosta H, et al. Human endometriosis is associated with plasma cells and overexpression of B lymphocyte stimulator. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Jul 24;104(30):12451–6.
157. Dumancic S, Bakotin Jakovac M, Mimica MD, Zekic Tomas S, Marusic J. CD56-Positive NK Cells and CD138-Positive Plasma Cells in Basal Decidua of Term Placentas in Singleton Pregnancies After Assisted Reproductive Technology Treatment of Endometriosis-Related Infertility. *Life [Internet]*. 2025 Feb [cited 2025 Mar 7];15(2):240. Available from: <https://www.mdpi.com/2075-1729/15/2/240>
158. Dumancic S, Pehlic M, Mijic P, Mimica MD, Zekic Tomas S, Marusic J. Histopathologic characteristics of term placentas in singleton pregnancies in women with endometriosis-related infertility after ART treatment: case-control study. *J Matern Fetal Neonatal Med [Internet]*. 2024 Jan 2 [cited 2024 Aug 28];37(1):2385451. Available from: <https://doi.org/10.1080/14767058.2024.2385451>
159. Pantelis A, Machairiotis N, Lapatsanis DP. The Formidable yet Unresolved Interplay between Endometriosis and Obesity. *Sci World J [Internet]*. 2021 Apr 20 [cited 2024 Jun 15];2021:6653677. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8079185/>
160. Hong J, Yi KW. What is the link between endometriosis and adiposity? *Obstet Gynecol Sci [Internet]*. 2022 May [cited 2024 Jun 15];65(3):227. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9119730/>
161. Requadt E, Nahlik AJ, Jacobsen A, Ross WT. Patient experiences of endometriosis diagnosis: A mixed methods approach. *BJOG Int J Obstet Gynaecol [Internet]*. 2024 [cited 2024 Jul 21];131(7):941–51. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1471-0528.17719>
162. Boucher A, Brichant G, Gridelet V, Nisolle M, Ravet S, Timmermans M, et al. Implantation Failure in Endometriosis Patients: Etiopathogenesis. *J Clin Med*. 2022 Sep 13;11(18).

163. Zhong C, Gao L, Shu L, Hou Z, Cai L, Huang J, et al. Analysis of IVF/ICSI Outcomes in Endometriosis Patients With Recurrent Implantation Failure: Influence on Cumulative Live Birth Rate. *Front Endocrinol*. 2021;12:640288.
164. Zur RL, McLaughlin K, Aalto L, Jiang Y, Huszti E, Parks WT, et al. Phenotypes of maternal vascular malperfusion placental pathology and adverse pregnancy outcomes: A retrospective cohort study. *BJOG Int J Obstet Gynaecol* [Internet]. [cited 2024 Jul 21];n/a(n/a). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1471-0528.17837>
165. Ravikumar G, Liza V. Clinical and Histological Associations of Chronic Inflammatory Lesions in Preterm Placentas: Uncovering the Hidden Dangers. *Pediatr Dev Pathol Off J Soc Pediatr Pathol Paediatr Pathol Soc*. 2024;27(1):59–66.
166. Carbillon L, Benbara A, Fermaut M. Maternal vascular malperfusion of the placental bed is a common pathophysiological process that underlies fetal death, early fetal growth restriction, and related hypertensive disorders. *Am J Obstet Gynecol*. 2022 Aug;227(2):362–3.
167. Borisova AV, Konnon SRD, Tosto V, Gerli S, Radzinsky VE. Obstetrical complications and outcome in patients with endometriosis. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2022 Jul;35(14):2663–77.
168. Pérez-López FR, Villagrasa-Boli P, Muñoz-Olarte M, Morera-Grau Á, Cruz-Andrés P, Hernandez AV. Association Between Endometriosis and Preterm Birth in Women With Spontaneous Conception or Using Assisted Reproductive Technology: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies. *Reprod Sci Thousand Oaks Calif*. 2018 Mar;25(3):311–9.
169. Glavind MT, Forman A, Arendt LH, Nielsen K, Henriksen TB. Endometriosis and pregnancy complications: a Danish cohort study. *Fertil Steril*. 2017 Jan;107(1):160–6.
170. Rabaglino MB, Conrad KP. Evidence for shared molecular pathways of dysregulated decidualization in preeclampsia and endometrial disorders revealed by microarray data integration. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2019 Nov;33(11):11682–95.
171. Pérez-López FR, Calvo-Latorre J, Alonso-Ventura V, Bueno-Notivol J, Martínez-Domínguez SJ, Chedraui P. Systematic review and meta-analysis regarding the association of endometriosis and preeclampsia in women conceiving spontaneously or through assisted reproductive technology. *Pregnancy Hypertens*. 2018 Oct;14:213–21.
172. Gasparri ML, Nirgianakis K, Taghavi K, Papadia A, Mueller MD. Placenta previa and placental abruption after assisted reproductive technology in patients with endometriosis: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2018 Jul;298(1):27–34.
173. Kunz G, Herbertz M, Beil D, Huppert P, Leyendecker G. Adenomyosis as a disorder of the early and late human reproductive period. *Reprod Biomed Online* [Internet]. 2007 Jan [cited 2024 Jun 15];15(6):681–5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1472648310605354>

174. Xavier P, Beires J, Barros H, Martinez-de-Oliveira J. Subendometrial and intraendometrial blood flow during the menstrual cycle in patients with endometriosis. *Fertil Steril*. 2005 Jul;84(1):52–9.
175. Paskulin DD, Cunha-Filho JS, Paskulin LD, Souza CAB, Ashton-Prolla P. ESR1 rs9340799 Is Associated with Endometriosis-Related Infertility and In Vitro Fertilization Failure. *Dis Markers* [Internet]. 2013 [cited 2024 Jun 15];35(6):796290. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1155/2013/796290>
176. Kim HI, Kim TH, Yoo JY, Young SL, Lessey BA, Ku BJ, et al. ARID1A and PGR proteins interact in the endometrium and reveal a positive correlation in endometriosis. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2021 Apr 23 [cited 2024 Jun 15];550:151–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X21003715>
177. Polak G, Barczyński B, Kwaśniewski W, Bednarek W, Wertel I, Derewianka-Polak M, et al. Low-density lipoproteins oxidation and endometriosis. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:624540.
178. Li J, Gao Y, Guan L, Zhang H, Sun J, Gong X, et al. Discovery of Phosphatidic Acid, Phosphatidylcholine, and Phosphatidylserine as Biomarkers for Early Diagnosis of Endometriosis. *Front Physiol* [Internet]. 2018 Jan 23 [cited 2024 Jun 15];9. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/physiology/articles/10.3389/fphys.2018.00014/full>
179. Matteo M, Serviddio G, Massenzio F, Scillitani G, Castellana L, Picca G, et al. Reduced percentage of natural killer cells associated with impaired cytokine network in the secretory endometrium of infertile women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2010 Nov;94(6):2222–7, 2227.e1-3.
180. Matteo M, Cicinelli E, Neri M, Carrubba R, Carpagnano FA, Romeo F, et al. Pro-inflammatory M1/Th1 type immune network and increased expression of TSG-6 in the eutopic endometrium from women with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2024 Jun 15];218:99–105. Available from: [https://www.ejog.org/article/S0301-2115\(17\)30384-6/abstract](https://www.ejog.org/article/S0301-2115(17)30384-6/abstract)
181. Ma Y, Yu X, Zhang L, Liu J, Shao X, Li Y xia, et al. Uterine decidual niche modulates the progressive dedifferentiation of spiral artery vascular smooth muscle cells during human pregnancy†. *Biol Reprod* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2024 Jun 15];104(3):624–37. Available from: <https://doi.org/10.1093/biolre/ioaa208>
182. Shih AJ, Adelson RP, Vashistha H, Khalili H, Nayyar A, Puran R, et al. Single-cell analysis of menstrual endometrial tissues defines phenotypes associated with endometriosis. *BMC Med* [Internet]. 2022 Sep 15 [cited 2023 Sep 27];20(1):315. Available from: <https://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-022-02500-3>
183. Schmitz T, Hoffmann V, Olliges E, Bobinger A, Popovici R, Nößner E, et al. Reduced frequency of perforin-positive CD8+ T cells in menstrual effluent of endometriosis patients. *J Reprod Immunol*. 2021 Nov;148:103424.

184. Zhong Q, Yang F, Chen X, Li J, Zhong C, Chen S. Patterns of Immune Infiltration in Endometriosis and Their Relationship to r-AFS Stages. *Front Genet.* 2021;12:631715.
185. Henderson TA, Saunders PTK, Moffett-King A, Groome NP, Critchley HOD. Steroid receptor expression in uterine natural killer cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Jan;88(1):440–9.
186. Okada S, Okada H, Sanezumi M, Nakajima T, Yasuda K, Kanzaki H. Expression of interleukin-15 in human endometrium and decidua. *Mol Hum Reprod [Internet].* 2000 Jan 1 [cited 2024 Sep 3];6(1):75–80. Available from: <https://doi.org/10.1093/molehr/6.1.75>
187. Verma S, Hiby SE, Loke YW, King A. Human decidual natural killer cells express the receptor for and respond to the cytokine interleukin 15. *Biol Reprod.* 2000 Apr;62(4):959–68.
188. Pei T, Liu C, Liu T, Xiao L, Luo B, Tan J, et al. miR-194-3p Represses the Progesterone Receptor and Decidualization in Eutopic Endometrium From Women With Endometriosis. *Endocrinology [Internet].* 2018 Jul 1 [cited 2024 Sep 18];159(7):2554–62. Available from: <https://doi.org/10.1210/en.2018-00374>
189. Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, Yang JP, Taylor RN, et al. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology.* 2003 Jul;144(7):2870–81.
190. Rached MR, Coelho V, Marin MLC, Pincerato K, Fujita A, Kalil JE, et al. HLA-G is upregulated in advanced endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol [Internet].* 2019 Apr 1 [cited 2024 Sep 18];235:36–41. Available from: [https://www.ejog.org/article/S0301-2115\(19\)30057-0/abstract](https://www.ejog.org/article/S0301-2115(19)30057-0/abstract)
191. Barrier BF, Kendall BS, Ryan CE, Sharpe-Timms KL. HLA-G is expressed by the glandular epithelium of peritoneal endometriosis but not in eutopic endometrium. *Hum Reprod [Internet].* 2006 Apr 1 [cited 2024 Sep 18];21(4):864–9. Available from: <https://doi.org/10.1093/humrep/dei408>
192. Kanter J, Gordon SM, Mani S, Sokalska A, Park JY, Senapati S, et al. Hormonal stimulation reduces numbers and impairs function of human uterine natural killer cells during implantation. *Hum Reprod [Internet].* 2023 Jun 1 [cited 2024 May 1];38(6):1047–59. Available from: <https://doi.org/10.1093/humrep/dead069>
193. Rudenko EE, Kogan EA, Demura TA, Zharkov NV, Trifonova NS, Zhukova EV, et al. Immunomorphological Features of the Placenta in Allogeneic Pregnancy as the Background for the Development of Obstetric Complications. *Pathobiology [Internet].* 2020 May 20 [cited 2024 Feb 5];87(4):232–43. Available from: <https://doi.org/10.1159/000506776>
194. Mahutte N, Hartman M, Meng L, Lanes A, Luo ZC, Liu KE. Optimal endometrial thickness in fresh and frozen-thaw in vitro fertilization cycles: an analysis of live birth rates from 96,000 autologous embryo transfers. *Fertil Steril.* 2022 Apr;117(4):792–800.

195. Sauerbrun-Cutler MT, Huber WJ, Krueger PM, Sung CJ, Has P, Sharma S. Do endometrial natural killer and regulatory T cells differ in infertile and clinical pregnancy patients? An analysis in patients undergoing frozen embryo transfer cycles. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. 2021 Jun;85(6):e13393.
196. Galanti F, Riccio S, Giannini A, D’Oria O, Buzzaccarini G, Scudo M, et al. Placentation and complications of ART pregnancy. An update on the different possible etiopathogenic mechanisms involved in the development of obstetric complications. *J Reprod Immunol* [Internet]. 2024 Mar 1 [cited 2025 Jan 20];162:104191. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165037823003972>
197. Ganer Herman H, Volodarsky-Perel A, Ton Nu TN, Machado-Gedeon A, Cui Y, Shaul J, et al. The effect of higher estradiol levels during stimulation on pregnancy complications and placental histology. *Placenta*. 2022 Aug;126:114–8.
198. Mosimann B, Wagner M, Shehata H, Poon LCY, Ford B, Nicolaidis KH, et al. Natural killer cells and their activation status in normal pregnancy. *Int J Reprod Med*. 2013;2013:906813.
199. Williams PJ, Searle RF, Robson SC, Innes BA, Bulmer JN. Decidual leucocyte populations in early to late gestation normal human pregnancy. *J Reprod Immunol*. 2009 Oct;82(1):24–31.
200. El-Ghannam MAMED, Mohamed MEM, El-Safty MSED. Assessment of Decidual Natural Killer Cells CD56+ Population in Placental Bed in Fetal Growth Restriction. *Egypt J Hosp Med* [Internet]. 2017 Jul [cited 2023 Oct 15];68(2):1189–95. Available from: <http://platform.almanhal.com/MNHL/Preview/?ID=2-106060>
201. Von Woon E, Greer O, Shah N, Nikolaou D, Johnson M, Male V. Number and function of uterine natural killer cells in recurrent miscarriage and implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2022 Jun 30;28(4):548–82.
202. Donoghue JF, Paiva P, Teh WT, Cann LM, Nowell C, Rees H, et al. Endometrial uNK cell counts do not predict successful implantation in an IVF population. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2019 Dec 1;34(12):2456–66.
203. Lash G. Reproductive immunology: Time to look forward. *J Reprod Immunol*. 2017 Feb;119:61.
204. Hoogstad-van Evert J, Paap R, Nap A, van der Molen R. The Promises of Natural Killer Cell Therapy in Endometriosis. *Int J Mol Sci*. 2022 May 16;23(10):5539.
205. Johnson NP. Review of lipiodol treatment for infertility - an innovative treatment for endometriosis-related infertility? *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2014 Feb;54(1):9–12.
206. Reis JL, Rosa NN, Ângelo-Dias M, Martins C, Borrego LM, Lima J. Natural Killer Cell Receptors and Endometriosis: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2022 Dec 25;24(1):331.

207. Artemova D, Vishnyakova P, Gantsova E, Elchaninov A, Fatkhudinov T, Sukhikh G. The prospects of cell therapy for endometriosis. *J Assist Reprod Genet.* 2023 May;40(5):955–67.
208. Osada H, Seto M, Nakase K, Ezoe K, Miyauchi O, Fujita H, et al. Prevalence of chronic endometritis in patients with infertility due to hydrosalpinx or pelvic peritubal adhesions and effect of laparoscopic surgical correction on pregnancy rates post in vitro fertilization. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2023 May;284:143–9.
209. Murtinger M, Wirleitner B, Spitzer D, Bralo H, Miglar S, Schuff M. Diagnosing chronic endometritis: when simplification fails to clarify. *Hum Reprod Open* [Internet]. 2022 Jun 7 [cited 2024 Oct 2];2022(3):hoac023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9202642/>
210. Freitag N, Baston-Buest DM, Kruessel JS, Markert UR, Fehm TN, Bielfeld AP. Eutopic endometrial immune profile of infertility-patients with and without endometriosis. *J Reprod Immunol.* 2022 Mar;150:103489.
211. Cai S, Dai S, Lin R, Huang C, Zeng Y, Diao L, et al. The effectiveness and safety of intrauterine infusion of autologous regulatory T cells (Tregs) in patients with recurrent pregnancy loss and low levels of endometrial FoxP3⁺ cells: A retrospective cohort study. *Am J Reprod Immunol* [Internet]. 2023 Aug [cited 2024 Oct 2];90(2):e13735. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aji.13735>

OSOBNI PODATCI

Ime i prezime: Stipe Dumančić

Datum i mjesto rođenja: 20. prosinca 1992., Split, Hrvatska

Državljanstvo: hrvatsko

Narodnost: Hrvat

Elektronička pošta: stipe.dumancic@gmail.com , sdumancic@kbsplit.hr

ORCID: [0000-0002-4005-5394](https://orcid.org/0000-0002-4005-5394)

OBRAZOVANJE

2021. – 2025. Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu: Poslijediplomski doktorski studij

Translacijska istraživanja u biomedicine (TRIBE)

2020. – 2024. *Metalingua* jezični studio, Kaštela

2011. – 2019. Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu: Integrirani studij medicine

2008. – 2010. *Hrvatsko-francuska alijansa*, Split

2007. – 2011. IV gimnazija *Marko Marulić*, Split

1999. – 2007. Osnovna škola *Knez Trpimir*, Kaštel Gomilica

RADNO ISKUSTVO

2022. – danas Klinika za ženske bolesti i porode KBC-a Split: specijalizant ginekologije i porodništva

2020. – 2022. Zavod za hitnu medicinu Splitsko dalmatinske županije: doktor medicine u TIM1

2019. – 2020. Opća bolnica *dr. Ivo Pedišić* Sisak: pripravnički staž doktora medicine

2018. – 2019. Katedra za pedijatriju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu: demonstrator

JEZICI

- hrvatski jezik (materinski jezik)
- engleski jezik (aktivno korištenje u govoru i pisanju, B2)
- talijanski (A2), francuski (A1) i njemački (A1) jezik (pasivno korištenje)

ZNANSTVENI INTERESI

- ginekologija i porodništvo
- reproduksijska imunologija
- zdravstvena ekonomika

POZNAVANJE RAČUNALNIH PROGRAMA

- *Microsoft Office* paket (*Word, Excel, PowerPoint*)
- Statistički alati (*GraphPAD Prism, SPSS, JASP, R software*), *Metaboanalyst*
- Ostali: bibliometrijski alati (*Zotero, EndNote*), *Inkscape*

ČLANSTVO U PROFESIONALNIM ORGANIZACIJAMA

2019. – danas Hrvatska liječnička komora

NAGRADE

2022. Nagrada za najbolje stručno predavanje, 5. Hrvatski kongres menopauzalne medicine, 6.-7. listopada 2022., Hotel Westin, Zagreb, Hrvatska; *Uloga tradicionalnih medija u zdravstvenoj skrbi menopauzalnih žena* – pozvani predavač

2014. Posebna rektorova nagrada: „Koncert W. A. Mozart: Velika misa u c-molu, KV 427“ - Zagrebački orkestar mladih i Akademski zbor Filozofskog fakulteta „Concordia discors“ (2014./2015.)

CERTIFIKACIJE

2024. GESEA4EU Basic Laparoscopy / Hysteroscopy Course (6.-7. lipnja 2024, Heart and Brain Center of Clinical Excellence, Pleven, Bulgaria)

RAD NA PROJEKTIMA

2019. *Epidemiologija Arterijske Hipertenzije u Hrvatskoj* (EHUH): suradnik na projektu

2016. – 2019. *Medicinar*, časopis Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu: urednik, novinar

2017. – 2019. EMSA Zagreb: koordinator projekta *Bolnica za medvjediće* Zagreb

2013. – 2016. CroMSIC Zagreb: *mRak* kampanja: *peer-to-peer* edukator spolnog i reproduktivnog zdravlja

PUBLIKACIJE U ČASOPISIMA / [Google Scholar](#), [ORCiD](#)

1. **Dumancic S**, Bakotin Jakovac M, Mimica MD, Zekic Tomas S, Marusic J. CD56-Positive NK cells and CD138-Positive Plasma Cells in Basal Decidua of Term Placentas in Singleton Pregnancies After Assisted Reproductive Technology Treatment of Endometriosis-Related Infertility. *Life*. 2025; 15(2):240. <https://doi.org/10.3390/life15020240>

2. Pehlić M, **Dumančić S**, Radan M, Galić J, Gruica B, Marijan S, Vulić M. Untargeted Urinary Volatilomics Reveals Hexadecanal as a Potential Biomarker for Preeclampsia. *Int J Mol Sci.* **2024**, 25, 12371. <https://doi.org/10.3390/ijms252212371>
3. **Dumancic S**, Pehlic M, Mijic P, Mimica MD, Zekic Tomas S, Marusic J. Histopathologic characteristics of term placentas in singleton pregnancies in women with endometriosis-related infertility after ART treatment: case-control study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2024 Aug;37(1):2385451. <https://doi.org/10.1080/14767058.2024.2385451>
4. **Dumančić S**, Mikuš M, Palčić Z, Habek D, Tešanović M, Mimica MD, Marušić J. Severe Early-Onset Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy Following Ovarian Hyperstimulation Syndrome with Pulmonary Presentation after In Vitro Fertilization: Case Report and Systematic Review of Case Reports. *Life.* 2024; 14(1):129. doi: <https://doi.org/10.3390/life14010129>
5. Mikuš M, Vrbanić A, **Dumančić S**, Šprem Goldštajn M. Stress urinary incontinence and conservative treatment modalities: what is the effect on sexual function? *Maturitas.* 2023 Jul;173, 88 – 89. doi: 10.1016/j.maturitas.2023.04.185
6. Mikuš M, Šprem Goldštajn MŠ, Brlečić I, **Dumančić S**, Laganà AS, Chiantera V, Vujić G, Ćorić M. CTLA4-Linked Autoimmunity in the Pathogenesis of Endometriosis and Related Infertility: A Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2022, 23, 10902. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms231810902>
7. Glavinic R, Marcic L, **Dumancic S**, Pavicic Ivelja M, Jeličić I, Kalibovic Govorko D, Medvedec Mikić I. Acute Arterial Thrombosis of Lower Extremities in COVID-19 Patients. *J Clin Med.* 2022 Mar 11;11(6):1538. doi: 10.3390/jcm11061538
8. Mikuš M, Sokol Karadjole Vesna, **Dumančić S**, Vrbanić A, Zajec V, Kalafatić D, Orešković S, Buzzaccarini G. Readability and reliability of Wikipedia articles in high-risk pregnancy and birth control options. *Ital J Gynaecol Obstet.* 2022;34(2):126-133 doi:10.36129/jog.2022.31
9. Mikuš M, Ostroški M, Beljan P, Karadža M, **Dumančić S**, Šprem Goldštajn M, Ćorić M, Kalafatić D, Orešković S. Validation of the Croatian Version of the 8-Item Overactive

Bladder Questionnaire (OAB-V8). *Female Pelvic Med Reconstr Surg.* 2021 Nov 1;27(11):e687-e690. doi: 10.1097/SPV.0000000000001098

10. Šprem Goldštajn M, Mikuš M, Ćorić M, Orešković S, **Dumančić S**, Noventa M, Buzzaccarini G, Andrisani A, Laganà AS. The pharmacoeconomic impact of follitropin alpha biosimilars in IVF therapy in Europe: a report of the literature. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 2021 Aug;21(4):553-558. doi: 10.1080/14737167.2021.1910026
11. Šprem Goldštajn M, **Dumančić S**, Mikuš M. Retrospective analysis of the use of two recombinant follitropin alfa injections in patients undergoing in vitro fertilization treatment with the gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol. *J Obstet Gynaecol Res.* 2021 Mar;47(3):992-1001. doi: 10.1111/jog.14626

PREZENTACIJE NA KONGRESIMA

1. Matulić V, **Dumančić S**, Štrbić AM, Baumgartner T, Čikeš Botić M, Ćubelić Odrlić M, Odak Z, Mimica MD. Trendovi liječenja preinvazivnih lezija vrata maternice u Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Split između 2021. godine do danas: razlike konizacije hladnim nožem i LLETZ metode [abstract]. In: 7th Croatia Congress on Prevention and Treatment of Early Cervical Cancer.; 30.01.-01.02.2025; Hotel Sheraton, Zagreb.
2. **Dumancic S**, Luksic B, Cikes Botic M, Mimica MD, Marusic J. Maternal weight as a predictor of operative delivery in pregnancies after ART treatment of endometriosis-related infertility: secondary analysis of case-control study, 9th BIRTH Congress: Clinical Challenges in Labor and Delivery, Istanbul, Turkey (December 5th – 7th, 2024) – poster presentation
3. **Dumancic S**, Marusic J. Mediterranean diet in women with endometriosis, 2nd International Lifestyle Medicine Conference, School of Medicine, University of Split, Croatia (April 26th-28th, 2024) – poster presentation
4. Pehlić M, **Dumančić S**, Štrbić AM, Marušić J, Vulić M, Kosović I, Mimica MD. Placenta Succenturiata – Additional problem prior to or after birth?; XXXIV Ante Dražančić Perinatal Days, Šibenik, Croatia (May 26th-28th, 2023) – oral presentation

5. **Dumancic S.** The role of traditional media in the health care of menopausal women; 5th Croatian Congress of Menopausal Medicine, 6th 7th October 2022, Hotel Westin, Zagreb, Croatia
6. **Dumančić S,** Smajo A, Čuk M. Can Genetic counseling and Preimplantation Genetic Diagnosis prevent fatal infantile-onset Pompe disease. *Liječ Vjesn.* 2019;141(Supl.1):S46.
7. Smajo A, **Dumančić S,** Čuk M. Inborn metabolic disorders in differential diagnosis of cyclic syndrome in children. *Liječ Vjesn.* 2019;141(Supl.1):S46.
8. **Dumančić S,** Džakula A. New dimension of ‘Teddy Bear Hospital’ project – opportunity for medical students to develop managerial skills. *Liječ Vjesn.* 2018;S21.