Hofbauerove stanice placentalnih resica

Zelenika, Marina

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:650637

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

Sveučilište u Zagrebu

Medicinski fakultet

Marina Zelenika

Hofbauerove stanice placentalnih resica

Diplomski rad



Zagreb, 2015.

Sveučilište u Zagrebu

Medicinski fakultet

Marina Zelenika

Hofbauerove stanice placentalnih resica

Diplomski rad

Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Đurđice Grbeša i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2014./2015.

Mentor: Prof. dr. sc. Đurđica Grbeša

POPIS I OBJAŠNJENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU

ADCC - o protutijelima ovisna, stanicama posredovana citotoksičnost (engl. *antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*)

c-Cbl - ubikvitin ligaza

CD - diferencijacijski biljezi (engl. *cluster of differentiation*)

CMV - citomegalovirus (engl. *cytomegalovirus*)

COX 1 - ciklooksigenaza 1 (engl. *cyclooxygenase 1*)

COX 2 - ciklooksigenaza 2 (engl. *cyclooxygenase 2*)

FGF - fibroblastni čimbenik rasta (engl. *fibroblast growth factor*)

FIRS - sindrom fetalnog upalnog odgovora (engl. *fetal inflammatory response syndrome*)

FR-β - folatni receptor β (engl. *folate receptor beta*)

HBV - virus hepatitisa B (engl. *hepatitis B virus*)

HCA - histološki korioamnionitis (engl. *histological chorioamnionitis*)

hCG - humani korionski gonadotropin (engl. *human chorionic gonadotropin*)

HELLP (HELLP, engl. *hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count*)

HIV - virus humane imunodeficijencije (engl. *human immunodeficiency virus)*

HIV-1 - virus humane imunodeficijencije tip 1 (engl. *human immunodeficiency virus type 1*)

HLA - humani leukocitni antigen (engl. *human leukocyte antigen*)

hPL - humani placentalni laktogen (engl. *human placental lactogen)*

IFN-γ - interferon γ (engl. *interferon gamma*)

Ig G - imunoglobulin G

IL (IL-1, IL-4, IL-6,IL- 8, IL-10, IL- 12, IL-13, IL- 23,IL-33) - interleukin (engl. *interleukine*)

IUGR - intrauterini zastoj rasta (engl. *intrauterine growth restriction*)

MCP-1 - čimbenik koji privlači monocite (engl. *monocyte chemoattractant protein-1*)

M-CSF - čimbenik koji potiče stvaranje kolonija makrofaga (engl. *macrophage colony-stimulating factor*)

MHC - glavni sustav tkivne podudarnosti (engl. *major histocompatibility complex*)

mRNA - glasnička RNA (engl. *messenger RNA*)

NK-stanice - prirodno ubilačke stanice (engl. *natural killer cells*)

NO - dušični oksid (engl. *nitrous oxide*)

PAS - perjodni Shiffov reagens (engl. *periodic acid Schiff reaction*)

PGE - prostaglandin (engl. *prostaglandin*)

RTK - receptor tirozin kinaze (RTK, engl. *receptor tyrosine kinase*)

Spry - sprouty proteini

TGF-α - transformacijski čimbenik rasta α (engl. *transforming growth factor alpha)*

TGF-β - transformacijski čimbenik rasta β (engl. *transforming growth factor beta*)

TLR - „carinski" receptori (engl. *toll-like receptors*)

TNF-α - čimbenik nekroze tumora α (engl. *tumor necrosis factor α*)

TXA - tromboksan (engl. *tromboxane*)

TXS - tromboksan sintetaza (engl. *thromboxane synthase*)

VEGF - čimbenik rasta žilnog endotela (engl. *vascular endothelial growth factor*)

VUE - vilitis nepoznatog podrijetla (engl. *villitis of unknown etiology*)

SADRŽAJ :

SAŽETAK

SUMMARY

1. UVOD…….....1

2. POVIJEST OTKRIĆA HOFBAUEROVIH STANICA I NJIHOVO NAZIVLJE……3

3. POLOŽAJ HOFBAUEROVIH STANICA……5

4. GRAĐA HOFBAUEROVIH STANICA……9

5. FENOTIP HOFBAUEROVIH STANICA……12

6. FUNKCIJA HOFBAUEROVIH STANICA U NORMALNOJ TRUDNOĆI…….....14

6.1. IZLUČIVANJE CITOKINA I ČIMBENIKA RASTA**.....14**

6.2. ULOGA HOFBAUEROVIH STANICA U DIFERENCIJACIJI TROFOBLASTA**..16**

7. HOFBAUEROVE STANICE I KOMPLIKACIJE U TRUDNOĆI……..18

7.1. KOMPLIKACIJE UZROKOVANE VIRUSNIM INFEKCIJAMA**……18**

7.1.1. Virus humane imunodeficijencije**…….....18**

7.1.2. Virus hepatitisa B**……..19**

7.1.3. Citomegalovirus**……19**

7.2. GESTACIJSKI DIJABETES**……20**

7.3. PREEKLAMPSIJA**……...21**

7.4. HELLP sindrom**…….22**

7.5. KOMPLIKACIJE UZROKOVANE UPALOM**……..23**

7.5.1. Histološki korioamnionits**…….23**

7.5.2. Vilitis nepoznatog podrijetla**…….25**

7.6. DRUGE KOMPLIKACIJE U TRUDNOĆI PRAĆENE POVEĆANJEM BROJA HOFBAUEROVIH STANICA**……...25**

8. ZAHVALE……..26

9. LITERATURA……...27

10. ŽIVOTOPIS……..34

SAŽETAK:

HOFBAUEROVE STANICE PLACENTALNIH RESICA

Marina Zelenika

Hofbauerove stanice, u literaturi poznatije kao placentalni makrofazi, smještene su u stromi placentalnih resica. Pleomorfnog su izgleda, a najlakše se prepoznaju po vakuoliziranoj i zrnatoj citoplazmi. Uporaba histokemijskih metoda i elektronske mikroskopije omogućila je velik napredak u prepoznavanju Hofbauerovih stanica te u opisu njihove morfologije i funkcije. Prisutne su u stromi resica tijekom cijele trudnoće, ali ih je u zreloj posteljici teže uočiti jer su komprimirane dilatiranim krvnim kapilarama i gušćom stromom. Najbolji imunohistokemijski biljeg za prepoznavanje Hofbauerovih stanica je antikimotripsin, a stanice pokazuju i pozitivnost za CD68 i CD163.

Hofbauerove stanice izlučuju brojne čimbenike rasta i citokine te obavljaju različite funkcije tijekom normalne i poremećene trudnoće. Sudjeluju u regulaciji angiogeneze, reguliraju grananje korionskih resica te potiču diferencijaciju mezenhima placentalnih resica. Na svojoj površini Hofbauerove stanice izražavaju receptore za HIV-1 i receptor za Fc fragment IgG. Indukcija imunoregulacijskih citokina u Hofbauerovim stanicama uzrokuje smanjenje replikacije i širenje HIV-1, a time i smanjenje prijenosa HIV-1 s majke na fetus. Pretpostavlja se da snižen broj Hofbauerovih stanica ima ulogu u infekciji fetusa HBV-om. Dijabetes u trudnoći, tj. hiperglikemija izaziva promjenu fenotipa Hofbauerovih stanica od M2 prema M1 proupalnom fenotipu što doprinosi sistemskoj upali i inzulinskoj rezistenciji. Smanjenje broja Hofbauerovih stanica ima važnu ulogu u poticanju proupalnih i anti-angiogenih procesa karakterističnih za posteljice iz trudnoća kompliciranih preeklampsijom. U sindromu HELLP, u HCA i u VUE broj Hofbauerovih stanica značajno je povećan u usporedbi s posteljicama kontrolne skupine.

Iako su poznate više od 120 godina funkcija Hofbauerovih stanica u normalnoj i poremećenoj trudnoći nije do kraja poznata. Moderne metode za njihovo prepoznavanje će olakšati razumijevanje uloge Hofbauerovih stanica u normalnoj i poremećenoj trudnoći.

Ključne riječi: Hofbauerove stanice, placentalni makrofazi, posteljica, trudnoća, komplikacije trudnoće.

SUMMARY:

PLACENTAL HOFBAUER CELLS

Marina Zelenika

Hofbauer cells, also known as placental macrophages are located within the placental villous stroma. Their shape is pleomorphic and their cytoplasm is vacuolated and granular. The use of histochemical methods and electronic microscopy have improved the recognition and the description of the morphology and function of Hofbauer cells. They are present in the stromal villi throughout the entire pregnancy, but they are more difficult to detect in the mature placenta due to the fact that they are compressed by dilated capillaries and dense stroma. The most specific marker for detection of Hofbauer cells is antichymotrypsine. Hofbauer cells also exhibit positive immunostain reaction for CD68 and CD163.

Hofbauer cells produce numerous growth factors and cytokines and play a role in normal and complicated pregnancy. They have a role in regulation of vasculogenesis, development of the placental villous tree and they promote differentiation of the placental mesenchyme. On their surface Hofbauer cells express HIV-1 receptors and Fc IgG receptors. Induction of immunoregulatory cytokines limits HIV-1 replication and decreases mother to child transmission. It is noted that decreased count of Hofbauer cells lead to fetal HBV infection. Diabetes during pregnancy can change Hofbauer cell phenotype from M2 to M1 which leads to increased expression of pro-inflammatory cytokines and consequentual systemic inflammation and insulin resistance. Lower Hofbauer cell count induces pro-inflammatory and anti-antiogenic processes which are found in placentas from pregnancies complicated with preeclampsia. HELLP syndrome, HCA and VUE are associated with increased number of Hofbauer cells in the placental villous.

Although they have been known for more than 120 years the function of Hofbauer cells in normal and complicated pregnancy is still not completely understood. The modern methods for their recognition will contribute to improved understanding of their role in normal and abnormal pregnancy.

Key words: Hofbauer cells, placental macrophages, placenta, pregnancy, pregnancy complications.

1.UVOD

Posteljica je privremeni organ prisutan tijekom trudnoće kojim se uspostavlja i odvija komunikacija između majke i zametka. Glavne funkcije posteljice su opskrba zametka kisikom, glukozom i drugim za zametak neophodnim tvarima, odvodnja produkata metabolizma i štetnih tvari te izlučivanje hormona. Razvoj posteljice je složen, a uključuje: implantaciju blastociste, diferencijaciju trofoblasta, razvoj korionskih resica, invaziju trofoblasta u krvne žile endometrija te vaskulogenezu i angiogenezu u resicama. Posteljica se morfološkim promjenama korionskih resica prilagođava potrebama rastućeg zametka tijekom cijele trudnoće.

U ovom radu dob zametka je fertilizacijska ili koncepcijska dob koja se računa od oplodnje. Menstruacijska dob koristi se u ginekologiji za određivanje dobi trudnoće i termina porođaja (od prvog dana posljednje menstruacije). Razvoj korionskih resica započinje oko 13. dana embrionalnog razvoja i zbiva se kroz nekoliko stadija. U ranom stadiju urastanjem citotrofoblasta u tračke sinciciotrofoblasta koji se nalazi između lakunarnih prostora koriona nastaju primarne korionske resice (Kos i Leniček, 2011). One su građene isključivo od trofoblasta. Urastanjem mezenhimskih stanica izvanembrionalnog mezoderma u središnji dio primarne korionske resice, resica dobiva stromu i postaje sekundarna korionska resica. Interakcijom trofoblasta, koji izlučuje čimbenik rasta žilnog endotela (VEGF, engl. *vascular endothelial growth factor)* i mezenhima izvanembrionalnog mezoderma vaskulogenezom se razvijaju prve krvne žile pa sekundarna korionska resica postaje tercijarna resica. Tercijarna resica sposobna je za izmjenu tvari i plinova između majke i fetusa, a ujedno je preteča svih ostalih oblika resica posteljice (Challier i suradnici, 2001).

Vaskulogeneza je proces razvoja prvih krvnih žila, tj. stvaranje krvnih žila iz hemangioblasta, stanica mezodermalnog porijekla, nizom stadija proliferacije i diferencijacije (Koblizek i suradnici, 1998).

Stroma korionskih resica građena je od vezivnih stanica, Hofbauerovih stanica, krvnih žila, kolagenih i retikulinskih vlakana te amorfne osnovne tvari (Baergen, 2005).

Iako su opisane prije više od 120 godina, Hofbauerove stanice, u literaturi poznatije kao makrofazi placentalnih resica, i dalje su predmet istraživanja mnogih znanstvenika. Hofbauerove stanice imaju veliki broj još uvijek nedovoljno razjašnjenih različitih funkcija tijekom normalne i poremećene trudnoće. Hofbauerove stanice kao tkivni makrofazi

fagocitiraju apoptotična tjelešca i ostatke stanica, a također imaju i ulogu stanica koje predočuju antigen kao odgovor na upalu ili na uzročnika infekcije (Wynn i Barron , 2010). Nadalje, novija istraživanja ukazuju da Hofbauerove stanice izlučuju i VEGF i imaju važnu ulogu u ranoj vaskulogenezi u posteljici (Seval i suradnici, 2007), a reguliraju i grananje korionskih resica (Anteby i suradnici, 2005) te potiču diferencijaciju mezenhima placentalnih resica (Khan i suradnici, 2000).

2. POVIJEST OTKRIĆA HOFBAUEROVIH STANICA I NJIHOVO NAZIVLJE

Od sredine 19. stoljeća u svjetlosnomikroskopskim istraživanjima u stromi korionskih resica spominju se „velike ili lutajuće stanice“. Točan smještaj tih stanica u stromi prvi je opisao Katschenko (Kashchenko, 1885). Chaletsky i Neumann su prvi opisali prisutnost velikih stanica u hidatiformnoj moli pa su neki istraživači „velike stanice“ resica prozvali Chaletsky-Neumannove stanice (Boyd i Hamilton, 1970).

Analizirajući humanu posteljicu svjetlosnim mikroskopom američki ginekolog J. Isfred Isidore Hofbauer je 1903. godine u mezenhimskoj stromi korionskih resica zamijetio posebnu vrstu stanica. Opisao ih je kao stanice okruglo-ovalnog, rjeđe nepravilnog oblika, okrugle jezgre oštrih kontura s tamnom mrežom kromatina. Citoplazma im je vakuolizirana, a vakuole su međusobno odvojene iako se mogu stapati (Boyd i Hamilton, 1970). U svojoj monografiji iz 1905. godine Hofbauer je opisao da su ove stanice prisutne od četvrtog tjedna trudnoće, češće u nezreloj nego u zreloj posteljici. Smatrao je da ove stanice imaju lokalni imunološki učinak u posteljici. Zbog svega navedenog njemu u čast ove su stanice nazvane Hofbauerovim stanicama.

Nakon otkrića Hofabuerovih stanica, znanstvenike je zanimalo njihovo podrijetlo. Chaletzky, je smatrao da su Hofbauerove stanice decidualnog (majčinog) podrijetla. Nasuprot tome, Neumann je tvrdio da su Hofbauerove stanice sincicijskog (fetalnog) podrijetla i da su znak malignosti (Boyd i Hamilton, 1970).

Meyer i Lewis su dokazali da Hofabuerove stanice prisutne u tkivu posteljice pripadaju vezivnom tkivu te različitim mehanizmima sudjeluju u fagocitozi i u fetalnoj hematopoezi (Boyd i Hamilton, 1970).

Sredinom 20. stoljeća, uporabom histokemijskih metoda i elektronske mikroskopije postignut je veliki napredak u prepoznavanju Hofbauerovih stanica te u opisu njihove morfologije i funkcije. Dokazana je njihova enzimatska aktivnost, prisutnost glikoproteina i glikozaminoglikana u njihovoj citoplazmi pa je prihvaćena njihova metabolička uloga (Boyd i Hamilton, 1970). Više je znanstvenika pretpostavljalo da Hofbauerove stanice imaju ulogu u prijenosu tvari između interviloznog prostora i endotela kapilara korionskih resica. Najraniji stadij razvoja u kojem su identificirane Hofbauerove stanice je placenta osamnaestodnevnog embrija. Zbog poteškoća u prepoznavanju Hofbauerovih stanica u trećem tromjesečju

trudnoće, mnogi su znanstvenici smatrali da su Hofbauerove stanice prisutne u resicama samo do petoga ili šestoga mjeseca trudnoće. Prisutnost Hofbauerovih stanica u zreloj posteljici smatrali su znakom zaostalog rasta ploda jer je u posteljicama trudnoća kompliciranih gestacijskim dijabetesom ili intrauterinim zastojem rasta (IUGR, engl. *intrauterine growth restriction*) broj Hofbauerovih stanica povećan (Demir i Erbengi, 1984). Uporabom trikromatskog bojenja i korištenjem imunohistokemijskih metoda dokazano je da su Hofbauerove stanice fiziološki prisutne i u zreloj placenti. Međutim, teško ih je uočiti jer su komprimirane zbog sinusoidne dilatacije krvnih kapilara i građe strome resica koja napredovanjem trudnoće postaje sve gušća (Challier i suradnici, 2001).

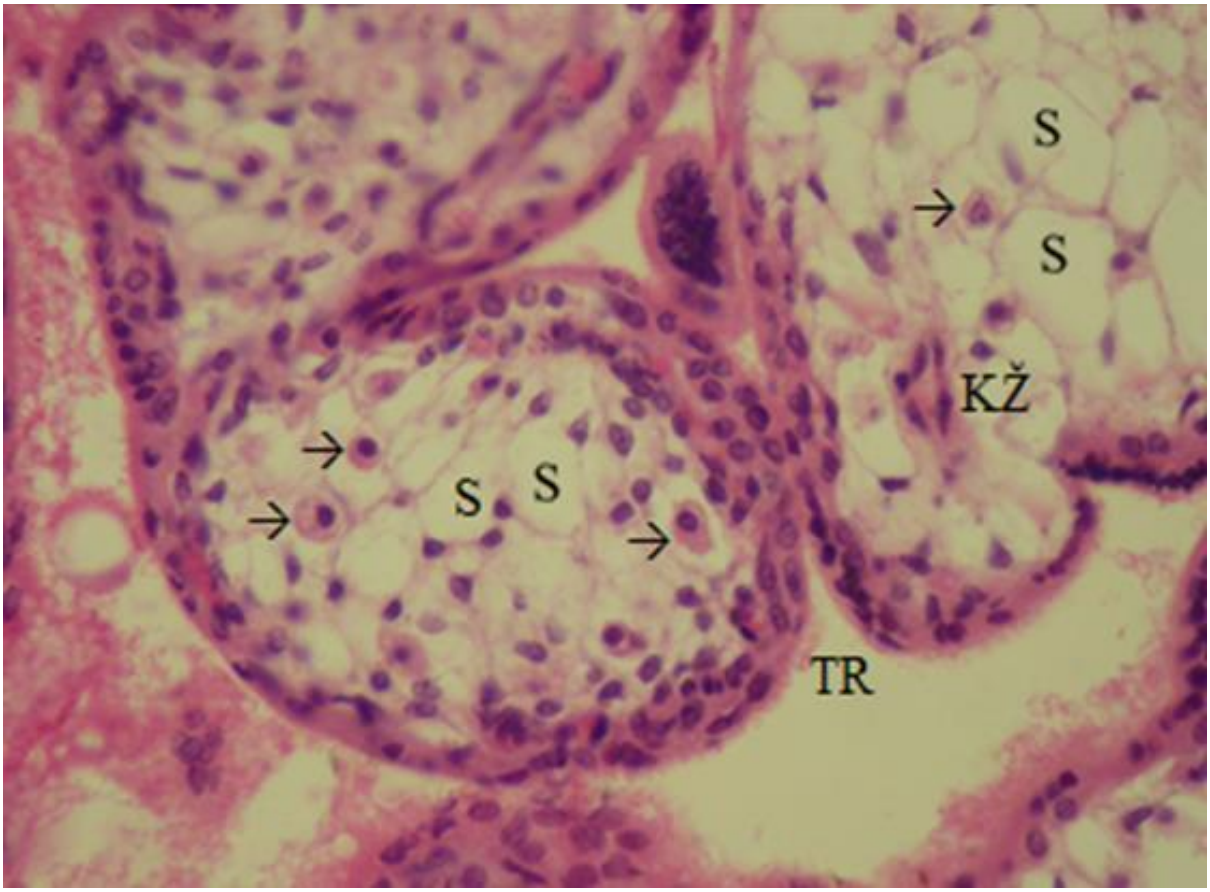
Wynn je istraživanjem iz 1967. godine razjasnio podrijetlo Hofbauerovih stanica. Na temelju bojenja spolnog kromatina utvrdio je da su Hofbauerove stanice fetalnog podrijetla te da potječu od izvanembrionalnog mezoderma koriona (Wynn, 1967).

Novija istraživanja su potvrdila da u ranim stadijima trudnoće, prije nego je uspostavljen optok fetalne krvi kroz placentu, Hofbauerove stanice potječu od izvanembrionalnog mezoderma koriona. Zanimljivo je da kasnije u trudnoći Hofbauerove stanice nastaju diferencijacijom monocita iz fetalne koštane srži, slično makrofazima u drugim organima. Zbog toga je prihvaćeno da su Hofbauerove stanice heterogena skupina stanica čije podrijetlo ovisi o stadiju trudnoće (King, 1987).

3. POLOŽAJ HOFBAUEROVIH STANICA

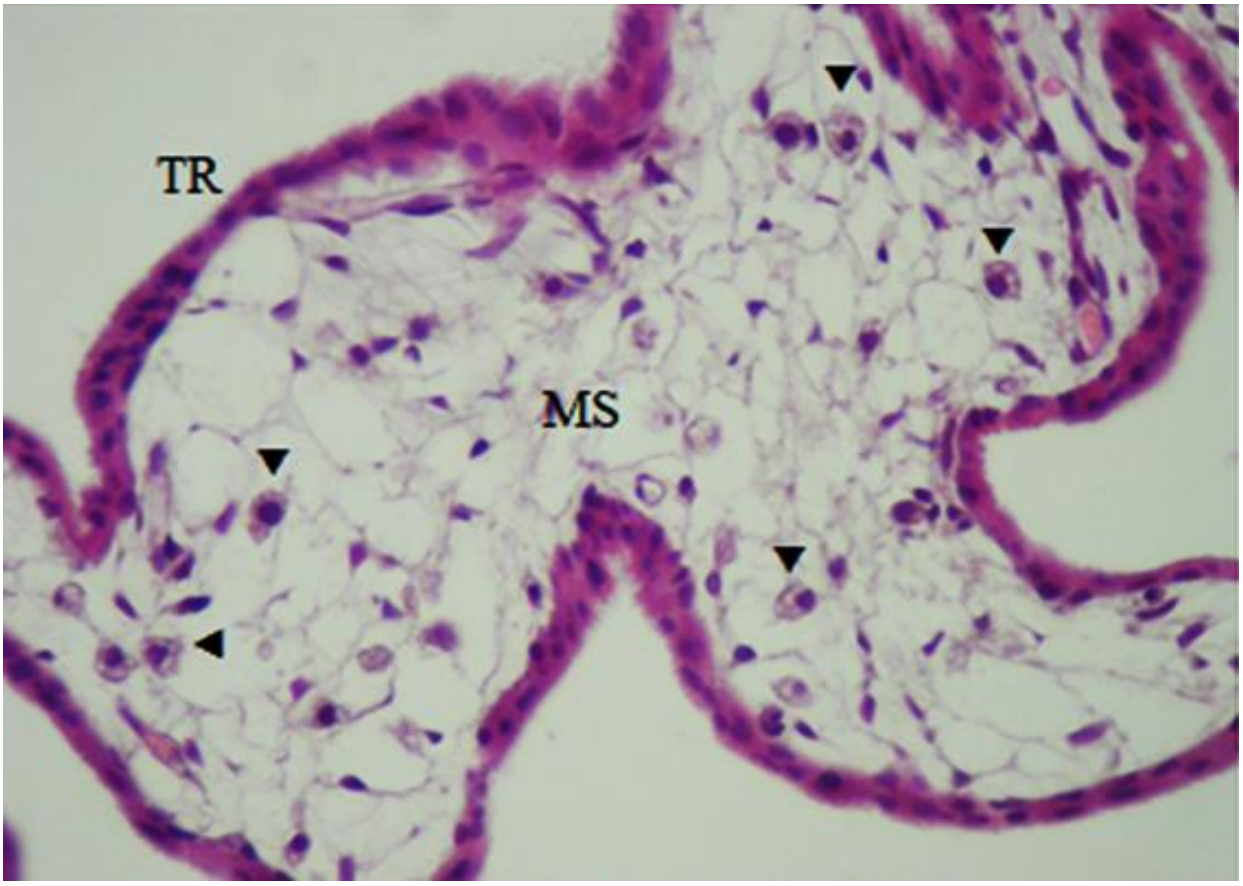
Hofbauerove stanice smještene su u stromi placentalnih resica, a njihove morfološke osobitosti ovise o diferencijaciji tercijarnih resica i o dobi trudnoće (Ingman i suradnici, 2010). Prema histološkoj građi, tercijarne korionske resice se dijele u pet razreda: mezenhimske resice, nezrele intermedijarne resice, matične resice, zrele intermedijarne resice i terminalne resice.

Do kraja petoga tjedna trudnoće sve korionske resice su **mezenhimske resice** (slika 1). Stroma mezenhimskih resica je obilna, rahla i nezrela do desetoga tjedna trudnoće. U njoj se nalazi pokoja Hofbauerova stanica i slabo razvijene fetalne kapilare (Baergen, 2005).



Slika 1. Mezenhimske resice nezrele humane placente. Trofoblast - TR. Krvna žila resice - KŽ. Hofbauerove stanice - strelice. Bojenje karminom, x200.

Od šestog tjedna trudnoće do kraja drugog tromjesečja trudnoće mezenhimske resice diferenciraju se u **nezrele intermedijarne resice**. One su većeg promjera od mezenhimskih resica. Imaju obilniju stromu u kojoj se nalazi više vrsta vezivnih stanica i uzdužno postavljena kolagena vlakanca (slika 2). U prvom i drugom tromjesečju trudnoće u stromi nezrelih intermedijarnih resica uočavaju se stromalni kanali, koji stvaraju efekt pčelinjih saća (Ingman i suradnici, 2010). U stromalnim kanalima smještene su Hofbauerove stanice. Broj Hofbauerovih stanica u nezrelim intermedijarnim resicama veći je od onog u mezenhimskim resicama do osamnaestoga tjedna trudnoće, a u pozitivnoj je korelaciji s dobi trudnoće (Ingman i suradnici, 2010).



Slika 2. Korionska resica nezrele placente. Trofoblast - TR. Mezenhim strome - MS. Hofbauerove stanice - ▼. Bojenje HE, x200.

Postupnim sazrijevanjem nezrelih intermedijarnih resica nastaju **matične resice**. Glavna im je funkcija da služe kao skelet koji podupire periferne ogranke resičnog stabla. One čine 20-30%

volumena posteljice. Nastaju zgušnjavanjem vezivnog tkiva strome nezrelih intermedijarnih resica, sadrže arterije, arteriole, venule i vene s tunikom medijom i tunikom adventicijom. U gustoj stromi matičnih resica, Hofbauerove stanice i fibroblasti su malobrojni (Catellucci i suradnici, 1990).

U trećem tromjesečju trudnoće prestaje diferencijacija nezrelih intermedijarnih resica te se pojavljuju **zrele intermedijarne resice** koje čine 25% svih resica zrele posteljice (Baergen, 2005). One su izdužene i tanke, na površini sadrže manje stanica citotrofoblasta, a količina strome je manja. Kapilare su izdužene i nerazgranate. Njihov rast u duljinu nadmašuje dužinu resica, lateralno dolazi do izbočenja kapilarnih petlji i potiskivanja strome pa postepeno nastaju terminalne resice.

Terminalne resice predstavljaju posljednje grananje resičnog stabla. Grozdastog su oblika i bogato prokrvljene, a pojavljuje se sinusoidna dilatacija krvnih kapilara. Površina terminalnih resica raste do 34. tjedna trudnoće, a nakon 36. tjedna povećanje njihove površine je usporeno.

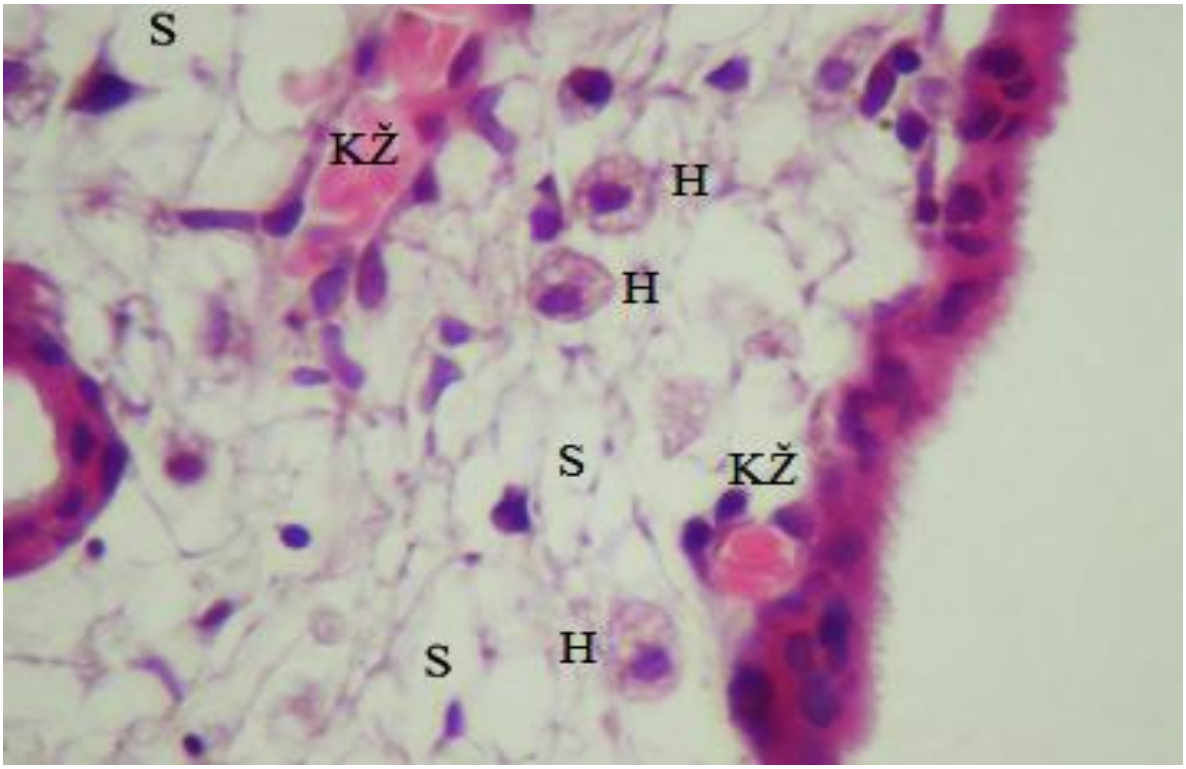
Istraživanja su pokazala da je Hofbauerove stanice intermedijarnih resica lako dokazati hemalaun-eozinskim bojenjem i imunohistokemijskim metodama (slika 3). Prisutnost ovih stanica u resicama zrelih posteljica teže je dokazati hemalaun-eozinskim bojenjem zbog njihove kompresije stromom. To ukazuje na veliko značenje imunohistokemijskih metoda za prepoznavanje Hofbauerovih stanica u zrelim posteljicama (Grigoriadis i suradnici, 2013).

Usavršavanjem metoda za prepoznavanje Hofbauerovih stanica, znanstvenici su počeli istraživati gustoću Hofbauerovih stanica. Gustoća se definira kao broj Hofbauerovih stanica po resici. Postoje tri stupnja gustoće: žarišna (1-3 stanice u resici), srednja (3-6 stanica u resici) i difuzna (>6 stanica u resici). Postoji značajna razlika u gustoći Hofbauerovih stanica ovisno o dobi fiziološke trudnoće.

U ranoj trudnoći gustoća Hofbauerovih stanica je difuzna pa se može pretpostaviti da Hofbauerove stanice imaju važnu ulogu u razvoju resica, poticanju i inhibiranju proliferacije drugih mezenhimskih stanica, izlučivanju angiogenih citokina i preobrazbi trofoblasta.ž

U kasnoj trudnoći, gustoća Hofbauerovih stanica je žarišna. To ukazuje da se tijekom trudnoće gustoća Hofbauerovih stanica postupno smanjuje, ali su ove stanice ipak prisutne u placenti tijekom cijele trudnoće (Grigoriadis i suradnici, 2013).

U kompliciranim trudnoćama veća gustoća Hofbauerovih stanica uočena je u placentalnim resicama iz trudnoća prekinutih u prvom tromjesečju (dominira srednja gustoća).

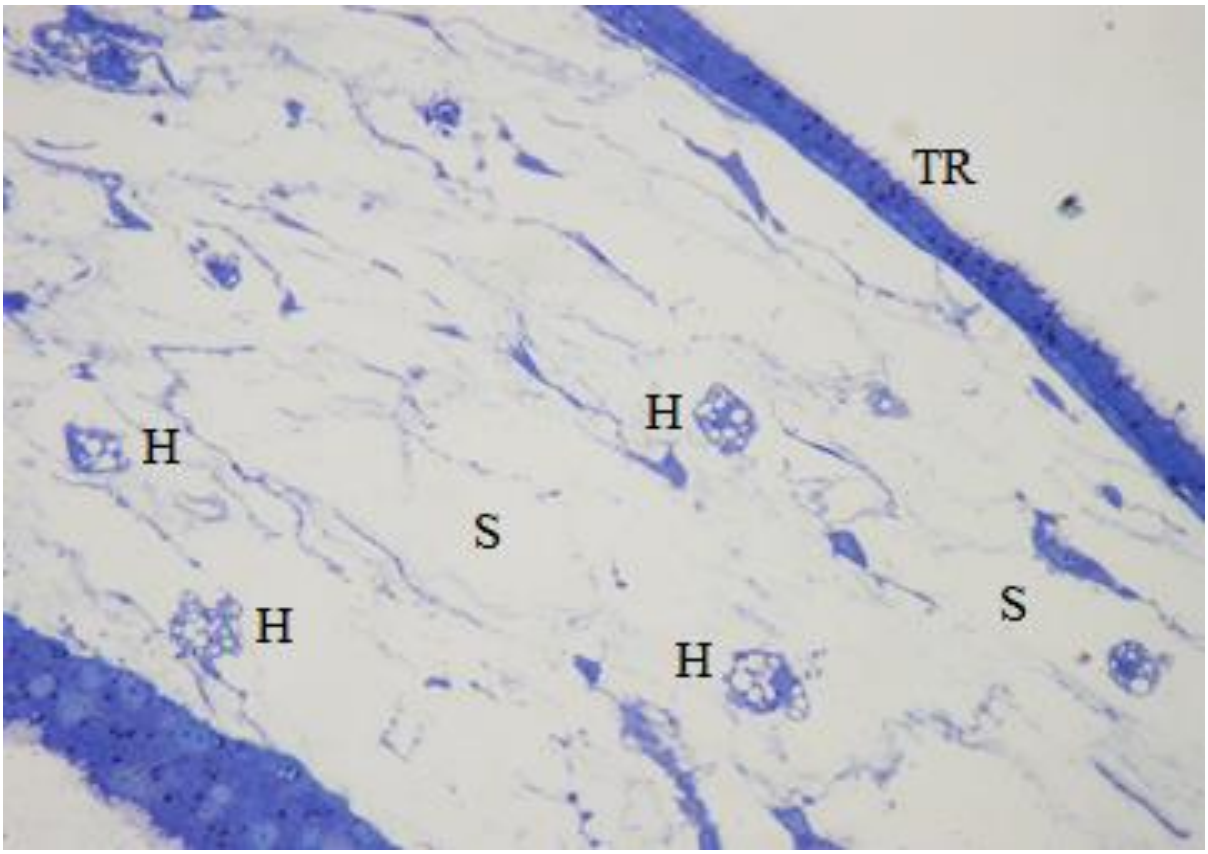


Slika 3. Stroma resice nezrele placente. Krvna žila - KŽ. Hofbauerova stanica - H. Kanali strome - S. Bojenje HE, x400.

U trudnoća prekinutih između 13. i 23. tjedna zbog kromosomskih anomalija fetusa dominira žarišna gustoća Hofbauerovih stanica. U poremećenim trudnoćama praćenim edemom placentalnih resica Hofbauerove stanice se lakše uočavaju (Grigoriadis i suradnici, 2013).

4. GRAĐA HOFBAUEROVIH STANICA

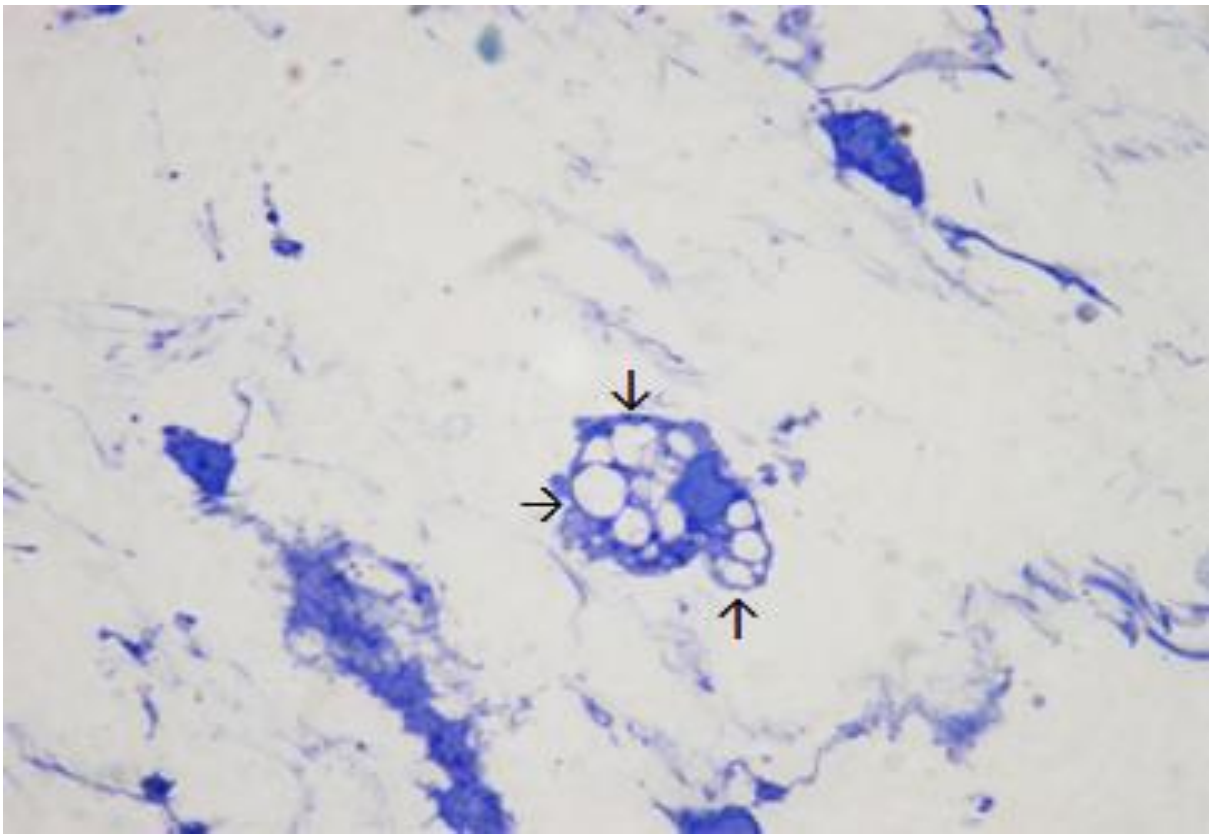
Hofbauerove stanice su pleomorfne stanice strome placentalnih resica. Mogu biti okruglog, vretenastog ili zvjezdolikog oblika. Promjera su od 10 do 30μm. Pojavljuju se pojedinačno ili u skupinama od šest do osam stanica. Najlakše se prepoznaju po vakuoliziranoj i zrnatoj citoplazmi koja se boji eozinom (Enders i King, 1970). Citoplazma je obilna, nepravilnih rubova, s tankim citoplazmatskim izdancima (slika 4). Histokemijska analiza sadržaja vakuola pokazuje različitu zastupljenost lipida i perjodnog Shiffovog reagensa (PAS engl. *periodic acid Schiff reaction*) otpornog na amilazu. Nedostatak bazofilije u citoplazmi dokazuje da Hofbauerove stanice imaju malo citoplazmatske ribonukleinske kiseline. Jezgra im je smještena ekscentrično, okruglog je oblika, a mitoze su rijetke (Boyd i Hamilton, 1970).



Slika 4. Stroma resice nezrele placente. Trofoblast - TR. Kanali strome - S. Hofbauerove stanice - H. Bojenje toluidinskim modrilom, x200

Tijekom trudnoće Hofbauerove stanice mijenjaju svoj izgled. U prvom tromjesečju trudnoće Hofbauerove stanice okruglog su oblika, a citoplazma im se boji solima pikrinske kiseline. Napredovanjem trudnoće Hofbauerove stanice postaju ovalne, a njihova je citoplazma zrnata (Grigoriadis i suradnici, 2013).

Najizraženija elektronskomikroskopska osobitost Hofabauerovih stanica je prisutnost brojnih vakuola. Vakuole su različite veličine, a tvari u njima različite gustoće (slika 5). Na površini Hofbauerovih stanica, osobito u ranijim stadijima razvoja, prisutni su filopodijski izdanci. Neobičnih su oblika, međusobno se preklapaju, a smatra se da predstavljaju dijelove stanice u kojima se pinocitozom apsorbira tekućina iz interviloznog prostora. Izdanci omogućuju blizak kontakt Hofabuerovih stanica s izduljenim nastavcima susjednih fibroblasta i fibrocita (Boyd i Hamilton, 1970).



Slika 5. Hofbauerova stanica u stromi resice nezrele placente. Citoplazma stanice ispunjena je brojnim vakuolama - strelica. Bojenje toluidinskim modrilom, x400.

Hofbauerove stanice se razlikuju od fibrocita strome po tome što ne sadržavaju hrapavu endoplazmatsku mrežicu. Golgijev aparat se teško uočava i rijetko je prisutan. Na temelju

toga što su organele zadužene za sintezu složenih sekrecijskih produkata slabo razvijene Wynn je zaključio da je malo vjerojatno da su Hofbauerove stanice uključene u sintezu proteina. Mitohondriji su često prisutni, izduženi, dobro razvijenih grebena. Osmiofilne lipidne kapljice nalaze se u citoplazmi i u vakuolama Hofbauerovih stanica. Mnoštvo tamnih tjelešaca u citoplazmi Hofbauerovih stanica su lizosomi. Elektronskomikroskopska analiza pokazuje veliku sličnost Hofbauerovih stanica i makrofaga (Chapman i suradnici, 1970).

5. FENOTIP HOFBAUEROVIH STANICA

Najbolji imunohistokemijski biljeg za prepoznavanje Hofbauerovih stanica je antikimotripsin. Pozitivan je u slučajevima kad je standardno histološko bojenje ovih stanica hemalaun-eozinom negativno. Više je istraživanja pokazalo da antikimotripsin inhibira dvije važne podvrste stanične imunosti, prirodno ubilačke stanice (NK-stanice, engl. *natural killer cells*) i o protutijelima ovisnu, stanicama posredovanu citotoksičnost (ADCC, engl. *antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*) (Gravagna i suradnici, 1982). To bi mogao biti mehanizam kojim Hofbauerove stanice sprečavaju majčin imunosni odgovor na alogeno tkivo fetusa, tj. sprečavaju odbacivanje fetusa (Grigoriadis i suradnici, 2013). U stromi resica placenti iz kasne trudnoće nalaze se male stanice vretenastog oblika, s dugim citoplazmatskim nastavcima. Po morfološkim karakteristikama smatrane su fibroblastima. Na temelju prisutnosti antikimotripsina u njihovoj citoplazmi dokazano je da su to Hofbauerove stanice, koje su pritiskom krvnih žila resica izgubile svoje tipične morfološke karakteristike i postale slične fibroblastima strome (Braunhut i suradnici, 1984).

Hofbauerove stanice su u značajnom postotku imunohistokemijski pozitivne na marker monocit-makrofaga CD68 (CD, engl. *cluster of differentiation*) i na marker CD163. Zbog njihovog smještaja i sposobnosti fagocitoze ovo su potencijalno idealne stanice za borbu protiv infekcija u placenti. Međutim, potrebno je tek istražiti koja je uloga Hofbauerovih stanica u patogenezi placentalnih infekcija. Zanimljivo je da ove stanice kao nezreli makrofazi mogu fagocitirati brojne uzročnike infekcije placente kao što su bakterije, klamidije, toksoplazme te citomegalovirus. Međutim, nedostaju im tvari kojima bi ove uzročnike inaktivirale ili uništile. Na površini Hofbauerovih stanica dokazana je prisutnost CD14 antigena. Ovaj antigen je dio nespecifičnog imunosnog sustava koji veže bakterijske lipopolisaharide (Kitchens, 2000).

Za razliku od drugih makrofaga Hofbauerove stanice imunohistokemijskim bojenjem pokazuju slabo pozitivan lizozim, što zahtijeva daljnja istraživanja. Ona će dati odgovor na pitanje je li to karakteristika Hofbauerovih stanica ili su sinteza i izlučivanje lizozima promjenjivi i inducirani infekcijom. U slučaju bakterijskog uzročnika infekcije lizozim bi imao snažan baktericidan učinak.

Hofbauerove stanice su imunohistokemijski negativne na biljeg stanične proliferacije (Ki-67). To potvrđuje tvrdnju da Hofbauerove stanica ne pokazuju mitotsku aktivnost (Grigoriadis i suradnici, 2013). Nadalje, ove stanice izražavaju antigene oba razreda glavnog sustava tkivne

podudarnosti (MHC, engl. *major histocompatibility complex*) (Castelucci i Kaufmann, 1992). Hofbuerove stanice su HLA-DR, HLA-DP i HLA-DQ pozitivne što dokazuje da su stanice koje predočuju antigen. Njihova ekspresija HLA-DR i HLA-DP antigena u prvom tromjesečju trudnoće je slaba, a u trećem tromjesečju je jača. To može biti pokazatelj funkcionalnog sazrijavanja ovih stanica, jer je dokazana zavisnost pojačane ekspresije HLA-II antigena i učinkovitosti predočavanja antigena (Rhodes i suradnici, 1986). U Hofbauerovim stanicama ekspresija HLA-DQ i CD11c u prvom je tromjesečju trudnoće negativna, a u trećem tromjesečju pozitivna. Suprotno tome, ekspresija CD16 antigena u ovim je stanicama tijekom prvog tromjesečja pozitivna, dok je u trećem tromjesečju trudnoće negativna (Goldstein i suradnici, 1988). Varijacije u ekspresiji HLA-II antigena tijekom trudnoće i održavanje eskpresije tih antigena ispod granične vrijednosti mogao bi biti mehanizam kojim fetus stječe toleranciju na vlastite antigene koji se pojavljuju u svim tkivima tijekom njihove diferencijacije (Lu i Unanue, 1985).

Uporabom monoklonskih protutijela dokazana je prisutnost receptora za imunoglobulin G (IgG) i receptora za C3 komponentu komplementa (C3bi, engl. *complement receptor type 3*) u stromi resica. Wood i suradnici koristili su različite metode za detekciju receptora za IgG na Hofbauerovim stanicama koje su placentalni makrofazi (Wood i suradnici, 1978). Receptor za IgG veže majčina protutijela na fetalne antigene. Ekspresija receptora C3bi dokazuje da Hofbauerove stanice hvataju komplementom obloženi kompleks majčino protutijelo - fetalni antigen (Goldstein i suradnici, 1988).

CD4 antigen je antigen pomoćnih T-limfocita. Ovaj antigen dokazan je u nekim vrstama dendritičkih stanica, monocita i makrofaga, a osobito u makrofazima strome placentalnih resica. Zanimljivo je da virus humane imunodeficijencije (HIV, engl. *human immunodeficiency virus*) koristi CD4 antigen kao membranski receptor da bi zarazio stanicu. Zbog činjenice da placentalni makrofazi sadržavaju na svojoj površini CD4 antigen, smatra ih se stanicama koje omogućuju ulazak i pohranjivanje HIV-a s viremičnih majki u zametak.

6. FUNKCIJA HOFBAUEROVIH STANICA U NORMALNOJ TRUDNOĆI

6.1. IZLUČIVANJE CITOKINA I ČIMBENIKA RASTA

Makrofazi sintetiziraju veliki broj citokina, kemokina i čimbenika rasta. Neki citokini, kao što su interleukin 1 (IL-1, *engl. interleukine 1*), interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8) i čimbenik nekroze tumora α (TNF-α, *engl. tumor necrosis factor α*) sudjeluju u regulaciji trudnoće. Više je autora ukazalo na promjene koncentracije ovih citokina tijekom trudnoće. Pretpostavlja se da citokini djeluju kao okidači (pokretači) i regulatori spontanih kontrakcija maternice (Pavlov i suradnici, 2008). Na temelju do danas provedenih istraživanja malo se zna o mehanizmima kojim placentalni makrofazi reguliraju te procese. Suprotno tome, karakteristike decidualnih (majčinih) makrofaga dobro su poznate (Singh i suradnici, 2005). Placentalni makrofazi su stanice vrlo osjetljive na različite endogene i egzogene signale na koje odgovaraju (Zhang i Mosser, 2008).

Pretpostavlja se da tijekom fiziološke i poremećene trudnoće dolazi do aktiviranja makrofaga različitim mehanizmima. Zbog toga se pojavljuju kvantitativne i kvalitativne razlike u stvaranju citokina. U *in vitro* istraživanju placentalnih makrofaga koje su proveli Pavlov i suradnici, sinteza citokina IL-1α i IL-1β dokazana je u trećini stanica, dok je udio stanica koje sintetiziraju IL-6 i TNF-α značajno manji (<5%). Glavna funkcija citokina je prijenos signala na ciljne stanice. Prvi uvjet za to je otpuštanje citokina u međustanični prostor. Sintetska aktivnost stanice ne korelira s koncentracijom citokina u međustaničnom prostoru. Tako je koncentracija TNF-α i IL-6 izvan stanica 20 do 25 puta veća u odnosu na koncentraciju IL-1β.

Egzogeno stimuliranje placentalnih makrofaga lipopolisaharidom uzrokuje porast broja stanica koje sintetiziraju citokine. Manji je porast broja stanica koje sintetiziraju IL-1, a mnogo je veći porast broja stanica koje sintetiziraju IL-6 i TNF-α. Stimuliranje placentalnih makrofaga bakterijskim endotoksinom *in vitro* oponaša interakciju makrofaga i infektivnog uzročnika *in vivo*. Uočena je povećana sinteza IL-6 i TNF-α. Time se došlo do spoznaje da je sinteza IL-1α i IL-1β temeljna (bazalna), a sinteza IL-6 i TNF-α potaknuta je signalom izvana. To bi moglo objasniti porast ovih citokina tijekom intrauterinih infekcija. Protuupalni citokin

IL-10 smatra se ključnim citokinom u održavanju trudnoće. U placentalnim makrofazima je dokazan u značajnim koncentracijama (Pavlov i suradnici, 2008).

Istraživanja pokazuju da makrofazi imaju sposobnost adaptacijske plastičnosti tj. ovisno o signalima iz mikrookoline mogu mijenjati svoj fenotip (Biswas i Mantovani, 2010). Makrofazi se aktiviraju u M1 ili M2 fenotip. M1 makrofazi predstavljaju makrofage aktivirane klasičnim putem. Oni predočuju antigene, izlučuju IL-12, IL-23, stvaraju slobodne radikale kisika i potiču staničnu imunost. Vanjski signali koji potiču M1 fenotip su TLR (TLR4, engl *toll-like receptor*), lipopolisaharid, interferon γ (IFN-γ, engl. *interferon gamma*), TNF-α i čimbenik koji potiče stvaranje kolonija granulocit-makrofaga (GM-CSF, engl. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*). M2 makrofazi sudjeluju u tkivnom remodeliranju, imaju imunosupresivnu funkciju i potiču humoralnu imunost. Signali koji ih potiču su interleukin 4 (IL-4), interleukin 10 (IL-10), interleukin 13 (IL-13), interleukin 33 (IL-33), transformacijski čimbenik rasta β (TGF-β , engl. *transforming growth factor beta*) i čimbenik koji potiče stvaranje kolonija makrofaga (G-CSF, engl. *macrophage colony-stimulating factor*) (Brown i suradnici, 2014).

Mantovani i suradnici (Mantovani i suradnici, 2004) su makrofage M2 podijelili na podvrste M2a, M2b i M2c. Makrofage M2a induciraju IL-4 i IL-13, makrofage M2b aktiviraju agonisti TLR ili imuni kompleksi, a makrofage M2c induciraju IL-10 i glukokortikoidni hormoni. Među decidualnim makrofazima dominiraju makrofazi M2. Hofbauerove stanice, koje su makrofazi placentalnih resica, u fiziološkim trudnoćama pokazuju M2 fenotip (Kim i suradnici, 2012). U prilog tomu ide njihova pozitivnost na CD209, CD163, CD45, hijaluronski receptor LYVE-1, HLA-I, IL-10 i TGF-β (Bockle i suradnici, 2008). Istaživanja *in vivo* i *in vitro* dokazala su da hiperglikemija uzrokuje smanjenje fiziološkog M2 fenotipa placentalnih makrofaga, a povećava M1- proupalni fenotip placentalnih makrofaga (Sisino i suradnici, 2013).

Hofbauerove stanice izlučuju angiogeni čimbenik rasta VEGF. Receptore za ovaj čimbenik rasta sadrže stanice trofoblasta i endotelne stanice. Broj tih receptora osobito je velik u prvom tromjesečju trudnoće (Clark i suradnici, 1996). To ukazuje da u placentalnim resicama tijekom rane trudnoće Hofbauerove stanice imaju ulogu u regulaciji angiogeneze.

Imunohistokemijskim metodama dokazano je da Hofbauerove stanice sadrže enzime ciklooksigenazu 1 (COX 1, engl. *cyclooxygenase 1*), ciklooksigenazu 2 (COX 2) i tromboksan sintetazu (TXS, engl. *thromboxane synthase*). Ovi enzimi potrebni su za sintezu

prostaglandina (PGE, engl. *prostaglandin*) i tromboksana (TXA, engl. *tromboxane*). U fiziološkim uvjetima u posteljici progesteron potiče Hofbauerove stanice na sintezu PGE2, a one ga sintetiziraju dvostruko više nego TXA2. PGE2 je vazodilatator, a TXA2 vazokonstriktor. Hipoksični uvjeti u placenti smanjuju izlučivanje PGE2, dok izlučivanje TXA2 ostaje nepromijenjeno. U posteljicama trudnoća kompliciranih preeklampsijom i placentalnom insuficijencijom pojavljuju se vazospazam i hipoksija pa je potrebno istražiti kako PGE2 i TXA utječu na mehanizme vazoregulacije (Wetzka i suradnici, 1997).

6.2. ULOGA HOFBAUEROVIH STANICA U DIFERENCIJACIJI TROFOBLASTA

Rast i diferencijacija trofoblasta predmet su brojnih istraživanja. U placentalnim resicama rane trudnoće uočena je posebna vrsta stanica citotrofoblasta - Langhansove stanice. One su matične stanice za razvoj sinciciotrofoblasta, dijele se i stapaju u sincicij. Nakon petoga mjeseca trudnoće broj ovih stanica se smanjuje. Sinciciotrofoblast je multinuklearno epitelno tkivo. Zbog njegove sincicijske prirode sve tvari koje ulaze u krv zametka ili izlaze iz nje prolaze kroz sinciciotrofoblast. Sinciciotrofoblast je glavni regulator prijenosa tvari te sinteze steroidnih i peptidnih hormona posteljice. U prisutnosti prekursora hormona, citotrofoblast izlučuje estrogene i progesteron te glikoproteinske hormone: humani korionski gonadotropin (hCG, engl. *human chorionic gonadotropin*) i humani placentalni laktogen (hPL, engl. *human placental lactogen)* (Kliman i suradnici, 1986). Morfološku diferencijaciju trofoblasta prati porast izlučivanja hCG i hPL. Hibridizacijom *in situ* dokazana je hCG glasnička RNA (mRNA, engl. *messenger RNA*) u stanicama citotrofoblasta, a hPL mRNA u sinciciotrofoblastu (Hoshina i suradnici, 1984).

Uspoređujući rast i diferencijaciju stanica trofoblasta u prisutnosti placentalnih makrofaga, peritonealnih makrofaga i placentalnih fibroblasta u *in vitro* istraživanjima znanstvenici su došli do spoznaje da su rast i diferencijacija sinciciotrofoblasta te izlučivanje hCG i hPL najizraženije u prisutnosti placentalnih makrofaga. To je dovelo do pretpostavke da placentalni makrofazi izlučuju specifične tvari koje djeluju parakrino i utječu na rast i diferencijaciju trofoblasta te na izlučivanje hormona specifičnih za trofoblast (Khan i suradnici, 2000). Korištenjem rekombinantnog M-CSF i VEGF u *in vitro* istraživanjima potvrđeno je da oni potiču proliferaciju stanica citotrofoblasta i stvaranje sinciciotrofoblasta. Budući da Hofbauerove stanice izlučuju M-CSF i VEGF, dokazano je da upravo ove stanice

imaju važnu ulogu u proliferaciji i diferencijaciji trofoblasta. U razvoj posteljice također su uključeni brojni citokini koje izlučuju Hofbaureove stanice. Daljnja istraživanja trebala bi odgovoriti koji su to citokini i na koji način sudjeluju u razvoju posteljice i u diferencijaciji trofoblasta (Khan i suradnici, 2000).

Granajuća morfogeneza u placenti podrazumijeva razvoj resičastog stabla u složenu i ograniziranu mrežu resica. U taj proces uključeno je više vrsta stanica. One mijenjaju oblik, migriraju, proliferiraju i u interakciji su s međustaničnom tvari. Istraživanja o molekularnim procesima uključenima u granajuću morfogenezu placentalnih resica pokazala su da važnu ulogu u regulaciji granajuće morfogeneze i prijenosu signala čimbenika rasta imaju Sprouty proteini (Spry). Spry su membranski proteini, modulatori receptora tirozin kinaze (RTK, engl. *receptor tyrosine kinase*) (Sasaki i suradnici, 2001). Postoje četiri izotipa ovih proteina, Spry 1-4, od kojih je za posteljicu najvažniji Spry-2 (Hanafusa i suradnici, 2002). Spry-2 je regulator signalnog puta fibroblasnog čimbenika rasta (FGF, engl. *fibr*oblast growth factor) koji je tijekom razvoja u različitim tkivima uključen u grananje. Dokazano je da Spry-2 inhibira FGF-2 signalni put.

Korištenjem RT-PCR i imunohistokemijskih metoda Spry 1, 2 i 3 dokazani su u posteljicama tijekom cijele cijele trudnoće. Protutijelima anti-CD68 i anti-Spry te anti-CD163 i anti-c-Cbl utvrđeno je da su upravo Hofbauerove stanice glavni izvor Spry proteina i c-Cbl u posteljici (Anteby i suradnici , 2005).

FGF je porodica multifunkcionalnih mitogenih polipeptida koji svoju aktivnost ostvaruju vezanjem za receptore, FGFR 1-4. U posteljici je FGF važan čimbenik rasta. FGF-2 izlučuju stanice trofoblasta i stanice strome resica koje sadrže receptore (Metzger i Krasnow, 1999). Vezanje FGF-4 i FGF-10 na FGF receptore Hofbauerovih stanica aktivira gen-*Spry* i sintezu proteina Spry. Ovo je aktiviranje osobito pojačano između 8. i 12. tjedna trudnoće kad u interviloznom prostoru vlada hipoksija (Anteby i suradnici, 2005).

Pretpostavlja se da je tijekom grananja resica uloga proteina Spry prijenos signala na susjedne stanice trofoblasta i endotelne stanice. Smještaj Hofbauerovih stanica tik uz citotrofoblast ukazuje da mezenhimske i epitelne stanice uzajamnim interakcijama omogućuju pravilan razvoj resica (Anteby i suradnici , 2005).

7. HOFBAUEROVE STANICE I KOMPLIKACIJE U TRUDNOĆI

7.1. KOMPLIKACIJE UZROKOVANE VIRUSNIM INFEKCIJAMA

7.1.1. Virus humane imunodeficijencije (HIV, engl. *human immunodeficiency virus*)

Tijekom trudnoće HIV-pozitivna majka može zaraziti zametak preko posteljice. Rizik je najveći tijekom trudova i porođaja (WHO i UNAIDS, 2009). Također, u posteljici HIV može prijeći iz majčine krvi u interviloznom prostoru u fetalne kapilare resica. Kada virus dosegne trofoblast dolazi u kontakt s Hofbauerovim stanicama strome resica. Hofbauerove stanice posjeduju receptore za virus humane imunodeficijencije tip 1 (HIV-1, engl. *human immunodeficiency virus type 1*) CD4, CCR5, CXCR4 i DC-SIGN te receptor za Fc IgG. Na ove receptore mogu se vezati protutijela i protutijelo-virion imuni kompleksi (Simister, 1998). Zbog toga se smatra da su Hofbauerove stanice idealne za olakšani prijenos HIV-1. Histološki je u Hofbauerovim stanicama dokazana prisutnost HIV-1 (Fox i suradnici, 1990). Unatoč fenotipskim pogodnostima za prijenos HIV-1 stvarni rizik prijenosa HIV-a s majke na zametak manji je od 7%. Naime, Johnson i Chakraborty (2012) su u *in vitro* istraživanjima dokazali da indukcija imunoregulacijskih citokina u Hofbauerovim stanicama uzrokuje smanjenje replikacije i širenja HIV-1. Stoga se pretpostavlja da i same Hofbauerove stanice smanjuju mogućnost prijenosa HIV-1 s majke na zametak. U Hofbauerovim stanicama IL-10 inhibira replikaciju HIV-1. Hofbauerove stanice izlučuju visoke koncentracije TGF-β koji zajedno s IL-10 potiče diferencijaciju i aktivaciju CD4 i CD25 pozitivnih T-limfocita posteljice .

TNF-α je glavni čimbenik tijekom porođaja, a izlučuju ga Hofbauerove stanice. On ima suprotan učinak od IL-10 i TGF-β. Prekomjerno izlučivanje TNF-α može oštetiti placentalnu membranu te omogućiti prijenos i umnažanje HIV-1. Johnson i Chakraborty (2012) su potvrdili da egzogeni TNF-α značajno povećava replikaciju HIV-1 u Hofbauerovim stanicama. To bi moglo biti objašnjenje zašto se većina vertikalnih prijenosa HIV-1, tj. prijenosa s majke na zametak događa baš tijekom porođaja. Tijekom fiziološke trudnoće mijenja se razina citokina, a Hofbauerove stanice su medijatori koji ograničavaju odgovor proupalnih citokina, a pojačavaju odgovor regulacijskih citokina. Narušavanje ove ravnoteže olakšava i povećava vertikalni prijenos HIV-1.

Tijekom trudnoće majčina protutijela pasivno prelaze u posteljicu. U HIV-pozitivnih majki u posteljicu ulaze majčina neutralizirajuća protutijela te virioni, sami ili vezani za protutijelo ili stanicu (Palmeira i suradnici, 2012).

Ulazak i otpuštanje HIV-1 događa se na staničnoj membrani T-limfocita, a nakupljanje u vakuolama makrofaga periferne krvi (Finzi i suradnici, 2007). Hofbauerove stanice sadrže unutarstanične odjeljke koji sadrže virus. Odjeljci su CD9 i CD81 pozitivni, a pH u njima nizak. HIV-1 je osjetljiv na niski pH i proteaze. Pretpostavlja se da nakon ulaska virusa u stanicu u kiselom mediju unutarstaničnih odjeljaka dolazi do sekvestriranja virusa i sprječavanja njegova prijenosa u fetalnu krv.

Odjeljci su povezani s površinom stanice i mogu biti cilj egzogenih molekula i HIV-1 specifičnih neutralizirajućih protutijela. To dokazuje da Hofbauerove stanice olakšavaju sekvestriranje HIV-1 pa mogu poslužiti za unutarstaničnu neutralizaciju i anti-retrovirusnu terapiju kojom se *in vivo* smanjuje prijenos HIV-1 s majke na fetus.

7.1.2. Virus hepatitisa B (HBV, engl. *hepatitis B virus*)

Infekcija fetusa HBV-om povezana je s infekcijom posteljice. Važan čimbenik intrauterine infekcije je infekcija stanica amniona HBV-om. Posteljica čini barijeru i djelomično štiti fetus od HBV infekcije. Histopatološke promjene posteljice kao što su fibrinoidna nekroza, hiperemija koriona i smanjen broj Hofbauerovih stanica vjerojatno imaju ulogu u infekciji fetusa HBV-om (Liu i suradnici, 2002).

U Hofbauerovim stanicama dokazana je prisutnost HBV-DNA. U takvim je Hofbauerovim stanicama zabilježena povećana ekspresija CD16 mRNA. Stupanj inficiranosti Hofbauerovih stanica povezan je s replikacijom virusa *in vivo* (Zhou i Wang, 2015).

7.1.3. Citomegalovirus (CMV, engl. *cytomegalovirus*)

Citomegalovirus je široko rasprostranjen virus koji u odraslih zdravih osoba uzrokuje asimptomatsku infekciju. U nekim slučajevima infekcija trudnica ovim virusom uzrokuje prijenos CMV na fetus. Vjerojatnost prijenosa virusa s majke na fetus iznosi 40% u slučajevima kad je infekcija trudnice primarna, tj. kad virus po prvi put za života napada

organizam trudnice. Ponovno aktiviranje infekcije CMV-om u trudnoći uzrokuje prijenos CMV na fetus samo u 2% slučajeva (Demmler, 1996). Težina fetalnog oštećenja ovisi o titru majčinih neutralizirajućih protutijela, o gestacijskoj dobi te o vremenu između primarne infekcije i začeća (Revello i suradnici, 2002). Teža fetalna oštećenja nastaju tijekom prve polovice trudnoće, ali je rizik za prijenos virusa prisutan tijekom cijele trudnoće (Stagno i suradnici, 1986). Sinciciotrofoblast sadrži Fc receptor za koji se veže majčin IgG za pasivnu imunost. U posteljici širenje infekcije ovim virusom obrnuto je proporcionalno razini majčinih neutralizirajućih IgG. U sinciciotrofoblastu kompleks IgG-virion veže se na Fc receptor. Kompleks IgG-virion neutraliziran u mjehurićima citoplazme sinciciotrofoblasta transcitozom dospijeva u makrofage resica. Ukoliko se radi o IgG niske aktivnosti kompleks IgG-virion ipak zarazi stanice citotrofoblasta iz kojih se infekcija širi na fibroblaste i krvne žile strome resica te u fetus (Maidji i suradnici, 2006).

7.2. GESTACIJSKI DIJABETES

Gestacijski dijabetes je čest u trudnoći, a definira se kao poremećaj tolerancije glukoze bilo kojeg stupnja koji je prvi put dijagnosticiran tijekom trudnoće (Metzger i suradnici, 2010). Postoje mišljenja da je gestacijski dijabetes upalno stanje obilježeno poremećenom sintezom citokina (Li i suradnici, 2013). Dijabetes utječe na razvoj fetusa i povećava rizik oboljenja od metaboličkih bolesti u odrasloj dobi. Štetan učinak dijabetesa na posteljicu očituje se u promjeni ekspresije gena stanica vezanih uz upalne reakcije (Radeali i suradnici, 2003). Placentalni makrofazi zajedno s drugim čimbenicima imunosnog sustava imaju ključnu ulogu održavanja imuno-suprimirajućeg stanja. To postižu svojim dominatno M2 fenotipom tj. moduliranjem protuupalnih molekula (Gustafsson i suradnici, 2008).

U posteljicama iz trudnoća kompliciranih gestacijskim dijabetesom zabilježen je značajno povećan broj CD68+ i CD14+ stanica u usporedi s posteljicama kontrolne grupe. To ukazuje da povećan broj aktiviranih makrofaga doprinosi sistemskoj upali i inzulinskoj rezistenciji. (Yu i suradnici, 2013).

Istraživanja na ljudskom i štakorskom modelu pokazala su da dijabetes u trudnoći povećava broj proupalnih makrofaga u odnosu na protupalne makrofage. Hiperglikemija izaziva promjenu fenotipa Hofbauerovih stanica prema M1 proupalnom fenotipu. U *in vitro* istraživanju Hofbauerovih stanica štakorske placente uočeno je da hiperglikemija aktivira

signalne puteve ovisne o TLR koji pojačavaju ekspresiju proupalnih citokina (Moynagh, 2005). Hiperglikemija izaziva oksidacijski stres koji aktivira gen *Hif1-α.* On uzrokuje povećanu ekspresiju gena *NOS2* i sintezu dušičnog oksida (NO, engl. *nitrous oxide*) (Li i suradnici, 2012). Kao proizvod M1 makrofaga NO potvrđuje promjenu Hofbauerovih stanica prema M1 fenotipu (Takeda i suradnici, 2010).

Sisino i suradnici (2013) postavili su hipotezu da Hofbauerove stanice *in vivo* mogu mijenjati funkcijski fenotip i sudjelovati u razvoju upale u posteljici što predstavlja štetan okoliš za razvoj fetusa. Promjenu fenotipa M2 u fenotip M1 i njezine štetne posljedice za fetus može spriječiti regulacija glikemije u majke. Činjenica da TLR signalni putevi imaju značajnu ulogu u promjeni fenotipa Hofbauerovih stanica ukazuje da bi molekule TLR signalnog puta mogle biti ciljane molekule novih terapijski istraživanja (Sisino i suradnici 2013).

7.3. PREEKLAMPSIJA

Simptomi preeklampsije su hipertenzija i proteinurija nakon 20. tjedna trudnoće u žene koja je do tada bila normotenzivna. Ovaj poremećaj pojavljuje se u 5% svih trudnoća i među vodećim je uzrocima majčina i fetalnog morbiditeta i mortaliteta (Cetin i suradnici, 2011). Točan uzrok preeklampsije je nepoznat. Pretpostavlja se da glavnu ulogu ima nemogućnost pretvorbe spiralnih arterija maternice u uteroplacentalne žile niskog otpora i visokog kapaciteta u prvom tromjesečju trudnoće (Redman i Sargent, 2005). Poremećena invazija izvanresičnog trofoblasta te imunosna i decidualna disfunkcija potiču hipoksično-ishemično oštećenje posteljice i nepravilno aktiviranje endotela majčinih krvnih žila (Cetin i suradnici, 2011). U krvi trudnice s preeklampsijom povišena je razina prostanoida, lipoperoksida i upalnih citokina, što ukazuje na upalnu prirodu ovog poremećaja (Vince i suradnici, 1995). U preeklampsiji su povišeni sinteza i izlučivanje posteljičnih proteina u majčinu krv. Neki od njih su topljivi anti-angiogeni čimbenici koji blokiraju vezanje VEGF i TGF-β na membranske receptore (Gu i suradnici, 2008). Tang i suradnici dokazali su da je u posteljicama trudnica s preeklampsijom snižena ekspresija folatnog receptora β (FR-β, engl. *folate receptor bet*a), CD163 i CD68 tj. markera makrofaga. FR-β i CD16 glavni su regulatori funkcije makrofaga jer sudjeluju u prijenosu folata i vezanju slobodnog hemoglobina. Imunohistokemijski je pokazano da je i broj Hofbauerovih stanica snižen 28 - 40%. Preeklampsija je patološko stanje u kojem u placenti dolazi do povećane apoptoze citotrofoblasta i sinciciotrofoblasta (Crocker i suradnici, 2003). Smanjeni broj Hofbauerovih

stanica razlog je poremećenog uklanjanja apoptotičnih tjelešaca što uzrokuje veća oštećenja placentalnih resica i otpuštanje staničnih ostataka u majčinu krv (Knight i suradnici, 1998). Zbog smanjenog broja Hofbauerovih stanica i o njima ovisnog vezanja slobodnog hemoglobina u posteljicama i u krvi trudnica s preeklampsijom zabilježena je povećana koncentracija slobodnog hemoglobina koji ima citotoksični učinak. Snižena ekspresija FR-β ugrožava unos folata u placentu. To može dodatno uzrokovati oštećenje i disfunkciju posteljice što je i zabilježeno u preeklampsiji (Salafia i suradnici, 1995). Smanjenje broja Hofbauerovih stanica ima važnu ulogu u poticanju proupalnih i anti-angiogenih procesa karakterističnih za posteljice iz trudnoća kompliciranih preeklampsijom (Cetin i suradnici, 2011).

7.4. HELLP SINDROM (HELLP, engl. *hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count*)

HELLP je sindrom koji označuje hemolizu, povišene jetrene enzime i smanjeni broj trombocita kod trudnica. Učestalost HELLP sindroma je 0,2 % do 0,8% svih trudnoća, a u 70% do 80% slučajeva pojavljuje se zajedno s preeklampsijom. Patogeneza sindroma HELLP do danas nije u potpunosti objašnjena. Poznato je da vodeću ulogu imaju poremećena invazija izvanresičnog trofoblasta u spiralne arterije te sistemska aktivacija i oštećenje endotela. Kang i suradnici opisali su doprinos placentalnih upalnih citokina u patogenezi HELLP sindroma te su pokazali pojačan upalni odgovor u HELLP sindrom (Kang i suradnici, 2008). Kombinacija aktivirane koagulacije i sustava komplementa zajedno s visokim koncentracijama cirkulirajućih anti-angiogenih čimbenika uzrokuje trombotsku mikroangiopatiju (Abildgaard i Heimdal, 2013).

U posteljicama iz trudnoća kompliciranih sindromom HELLP broj Hofbauerovih stanica značajno je povećan u odnosu na posteljice kontolne skupine. Povećan broj Hofbauerovih stanica mogao bi biti povezan s pojačanjem upale ili predstavlja mehanizam prilagodbe fetalnog dijela posteljice na sindrom HELLP (Evsen i suradnici, 2013).

7.5. KOMPLIKACIJE UZROKOVANE UPALOM

7.5.1. Histološki korioamnionitis (HCA, engl. *histological chorioamnionitis*)

Vodenjak izgrađuju amnion, glatki korion i tanki sloj decidue. Amnion i korion zajedno čine amniokorionsku ovojnicu u kojoj je amnion okrenut prema amnionskoj šupljini, a trofoblast koriona prema maternici (Millar i suradnici, 2000). Između epitela amniona i trofoblasta koriona nalazi se amniokorionski mezenhim koji sadržava dvije vrste stanica, makrofage i fibroblaste/miofibroblaste. Miofibroblasti su stanice čiji je fenotip između fenotipa fibroblasta i glatkih mišićnih stanica. Sintetiziraju kolagen i matriks metaloproteinaze i sudjeluju u remodeliranju tkiva. Fenotipska izmjena („switching“) između miofibroblasta i fibroblasta je uobičajena (McParland i suradnici, 2000). Makrofazi su imunosne stanice koje sudjeluju u prirođenoj i stečenoj imunosti. Šupljina maternice nije sterilna pa nije rijedak prodor mikroorganizama u amnionsku šupljinu. Tome se suprostavlja imunosna obrana amniokorionske ovojnice. Osobitost amniokorionske ovojnice je nedostatak fetalnih krvnih žila pa nije moguća mobilizacija leukocita iz fetalne krvi (Hoyes, 1971). Zato je broj stanica koje sudjeluju u imunosnoj obrani ograničen samo na makrofage fetalnog podrijetla, prisutne u mezenhimu amniokorionske ovojnice.

Amniokorionska ovojnica mora biti fizički izdržljiva kako bi fetusu osigurala lokalnu imunosnu zaštitu, a mora biti i fleksibilna kako bi svojim puknućem omogućila početak porođaja (Byrant-Greenwood, 1998). Učinkovit mehanizam koji to omogućuje je transdiferencijacija fibroblasta/miofibroblasta u makrofage i obrnuto. Na taj način fibroblasti djeluju kao zaliha makrofaga. Imunofenotipizacijom je utvrđeno da stanice mezenhima amniokorionske ovojnice sadrže biljege obiju vrsta stanica, dakle miofibroblasta i makrofaga. Plastičnost mezenhimskih stanica je svojstvo koje omogućuje amniokorionskoj ovojnici da uz ograničen broj stanica izvrši svoje funkcije u imunosnoj obrani te u održavanju, a početkom porođaja prekidu fizičkog integriteta (Kim i suradnici, 2008).

Histološki korioamnionitis najčešće nastaje uzlaznom infekcijom uzrokovanom bakterijama, mikoplazmama ili gljivicama iz donjeg dijela spolnog sustava. Zbog zaustavljanja prodora mikroorganizama dolazi do infiltracije neutrofila u decidui (deciduitis), korionu (chorionitis), amnionu (amnionitis) i pupkovini (funisitis) s ili bez infiltracije neutrofila u posteljici i fetusu (Redline, 2004). Gram negativne bakterije *Escherichia coli* i *Ureaplasma urealyticum* te gram

pozitivne bakterije *β-hemolitički streptococcus* i *Staphylococcus aureus* uključeni su u HCA s funisitisom (Redline, 2006). HCA praćen funisitisom je rizični čimbenik za neurološka oštećenja novorođenčadi. Neurološki poremećaji vodeći su uzrok neonatalnog mortaliteta, morbiditeta i dugoročne nesposobnosti. Neke trudnoće teku uredno do termina porođaja kad se pojavljuju nespecifični znakovi fetalne patnje. U drugih trudnoća nastaje cerebralna paraliza povezana s preuranjenim porođajem, niskom porođajnom težinom i HCA praćenim sindromom fetalnog upalnog odgovora (FIRS, engl. *fetal inflammatory response syndrome*) (Romero i suradnici, 2003).

Toti i suradnici pokazali su da je u stromi placentalnih resica iz trudnoća s HCA broj Hofbauerovih stanica u porastu 2 do 3 puta u odnosu na resice kontrolne skupine placenti (Toti i suradnici, 2011). To je u skladu s rezultatima ranijih istraživanja u kojima je također u stromi placentalnih resica trudnoća s HCA uočena povećana infiltracija CD68 pozitivnih stanica (Hofbauerovih stanica) (Hung i suradnici, 2006). Vinnars i suradnici u svom su istraživanju zabilježili pad CD68 pozitivnih stanica s tjednima fiziološke trudnoće i trudnoća kompliciranih HCA (Vinnars i suradnici, 2009). Novija istraživanja ukazuju da u zrelim posteljicama trudnoća s HCA postoji žarišni porast CD68 pozitivnih stanica iako ukupan broj ovih stanica u placentalnim resicama može biti nepromijenjen ili manji (Toti i suradnici, 2011).

Slijedila su istraživanja koja su dala odgovor o čimbenicima koji imaju utjecaj na promjenu u broja Hofbauerovih stanica. Tijekom HCA lipopolisaharid ili drugi infektivni antigeni potiču fibroblaste na ekspresiju i sintezu čimbenika koji privlači monocite (MCP-1, engl. *monocyte chemotactic protein-1*). MCP-1 potiče ulazak novih fetalnih monocita u placentalne resice. U njima monociti diferencijacijom postaju Hofbauerove stanice. Na taj način broj Hofbauerovih stanica u resicama poraste. Hofbauerove stanice izlučuju TNF-α i IL-1β koji u fibroblastima povećavaju ekspresiju i sintezu MCP-1. Ova bjelančevina potiče ulazak novih fetalnih monocita u placentalne resice. Infektivni antigeni mogu izravno potaknuti Hofbauerove stanice na izlučivanje TNF-α i IL-1β što pomoću MCP-1 uzrokuje dodatni ulazak fetalnih monocita u resice. Može se zaključiti da u placentalnim resicama fibroblasti, MCP-1, bakterijski produkti i upalni citokini čine kaskadu koja u trudnoća kompliciranih HCA uzrokuje porast broja Hofbauerovih stanica (Toti i suradnici, 2011).

7.5.2. Vilitis nepoznatog podrijetla (VUE, engl. *villitis of unknown etiology*)

Vilitis nepoznatog podrijetla (VUE, engl. *villitis of unknown etiology*) je upalna lezija korionskih resica praćena infiltracijom upalnih stanica kronične upale, pretežito majčinih T-limfocita i CD68 pozitivnih fetalnih makrofaga. Pojavljuje se u 10% trudnoća, a povezan je s IUGR te značajno pridonosi perinatalnom morbiditetu i mortalitetu. Dosadašnje spoznaje ukazuju da VUE nije povezan s infektivnim uzročnicima. U više se istraživanja oštećenje resica pripisuje imunološkoj reakciji majke i fetusa, majčinom odbacivanju alografta fetusa i fetalnom reakcijom na tkiva majčina organizma. Smatra se da tijekom VUE fetalna reakcija na tkiva majčina organizma najbitniji čimbenik ulaska fetalnih monocita u placentalne resice i njihovoj diferecijaciji u Hofabuerove stanice (Kim i suradnici, 2008).

7.6. DRUGE KOMPLIKACIJE POVEZANE S POVEĆANJEM BROJA HOFBAUEROVIH STANICA

Osim HCA i VUE postoje i drugi, rjeđi poremećaji trudnoće u kojima dolazi do promjene osobitosti Hofbauerovih stanica. **Fetalni hidrops** je poremećaj u kojem dolazi do nakupljanja tekućine u fetusu. Najčešće nastaje zbog Rh-nepodudarnosti majke i fetusa, a može biti i neimunološke prirode (Ojala i Hornberger, 2010). Prati ga porast broja Hofbauerovih stanica, pojava „pjenušavih“ Hofbauerovih stanica i pojava Hofbauerovih stanica s povećanim brojem vakuola (Pilz i suradnici, 1980). Iste su promjene opisane u **fetalnim metaboličkim bolestima nakupljanja**. Neke od njih npr. GM1 gangliozidoza, nedostatak β-glukuronidaze i mukopolisaharidoza tip VII ponekad jesu, a u nekim slučajevima nisu praćene fetalnim hidropsom (Nelson, 1993; Delbecque i suradnici, 2009). To ukazuje da postoji više različitih poremećaja u kojima dolazi do porasta broja Hofbauerovih stanica ili promjene njihova izgleda (Toti i suradnici, 2011).

8. ZAHVALE

Zahvaljujem mentorici prof.dr.sc. Đurđici Grbeša na stručnoj pomoći i savjetima u izradi diplomskog rada.

Zahvaljujem svojoj obitelji i Ivanu koji su mi pomogli i pružili podršku u izradi diplomskog rada.

9. LITERATURA

Kashchenko, N. (1885). Das menschliche Chorionepithel und dessen Rolle bei der Histogenese der Placenta. *Anat Physiol Anat Abt*, 451-480.

Abildgaard, U., & Heimdal, K. (2013). Pathogenesis of the syndrome of hemolysis, eleveted liver enzymes, and low platelet count (HEELP): a review. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 117-123.

Anteby, E., Natanson-Yaron , S., Greenfield , C., & Goldman-Wohl , D. (2005). Human placental Hofbauer cells express sprouty proteins: a possible modulating mechanism of villous branching. *Placenta*, 26:476-83.

Baergen, R. (2005). Manual of Benirischke and Kaufmanns Pathology of the human placenta. *springer*, 7:96-105.

Biswas, P., & Mantovani, A. (2010). Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets : cancer as a paradigm. *Nat. Immunol*, 889-896.

Bockle, B., Solder , E., Kind S, Romani, N., & Sepp, N. (2008). DC-sign+ CD163+ macrophages expressing hyaluronan receptor LYVE-1 are located within chorionic villi of placenta. *Placenta*, 187-92.

Boyd, J., & Hamilton, W. (1970). *The human placenta.* Cambridge: w.Heffer & sons ltd.

Braunhut, S., Blanc, W., Ramanarayanan, M., Marboe, C., & Mesa-Tejada, R. (1984). Immunocytochemical localization of Lysozyme and alpha-1-antichymotrypsin in the term human placenta: An attempt to characterize the Hofabauer cell. *J Histochem Cytochem*, 32:1204-1210.

Brown, M., von Chamier, M., Allam, A., & Reyes, L. (2014). M1/M2 macrophage polarity in normal and complicated pregnancy. *Frontiers in immunology*.

Byrant-Greenwood, G. (1998). The extracellular matrix of the human fetal membranes: structure and function. *Placenta*, 19:1-11.

Castelucci, M., & Kaufmann, P. (1992). Hofabuer cells. In Benirschke, K. and Kaufmann, P.(eds), Pathology of the Human placenta, 2nd edn. *Springer, New York*, 71-80.

Catellucci, M., Scheper, M., Scheffen, I., Celona , A., & Kaufmann, P. (1990). The development of the human placental villous tree. *Anat Embriol*, 181:117-128.

Cetin, I., Huppertz, B., Burton, G., Cuckle, H., Gonen, R., Lapaire, O., i dr. (2011). Pregenesys pre-eclampsia markers consensus meeting: What do we require from markers, risk assessment and model systems to tailor preventive strategies? *Placenta*, 32:S4-16.

Challier, J., Vervelle, C., & Uzan, S. (2001). Ontogenesis of villi and fetal vessels in the human placenta. *Fetal Diagn Ther, 16*, 218-226.

Clark, D., Smith, S., Sharkey, A., & Charnock-Jones, D. (1996). Localization of VEGF and expression of its receptors flt and KDR in human placenta troughout pregnancy. *Hum Reprod*, 1090-1098.

Crocker, I., Cooper, S., Ong, S., & Baker, P. (2003). Differences in apoptotic susceptibility of cytotrophoblasts and syncytiotrophoblasts in normal pregnancy to those complicated with preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Am J Pathol*, 162:637-643.

Delbecque, K., Gaillez, S., & Shaaps, J. (2009). Histopathological diagnosis of a type vii mucopolysacchariadosis after pregnancy termination. *Fetal Pediatr Pathol*, 28:1-8.

Demir , R., & Erbengi, T. (1984). Some new findings about Hofabuer cells in the chorionic villi of the human placenta. *Acta Anat (Basel)*, 119: 18-26.

Demmler, & GJ. (1996). Congenital cytomegalovirus infection and disease. *Adv Pediatr Infect*, 11:135-162.

Deneka, M., Pelchen-Matthews, A., Byland, R., Ruiz-Mateos, E., & Marsh, M. (2007). In macrophages, HIV-1 assembles into an intracellular plasma membrane domain containig the tetraspanins CD81, CD9, and CD63. *J Cell Biol.*, 177(2):329-41.

Enders , A., & King, B. (1970). The cytology of Hofbauer cells. *Anat Rec.*, 167:231-6.

Evsen, M., Kalkanli, S., Deveci, E., Sak, M., Ozler, A., Baran, O., i dr. (2013). Human placental macrophages (Hofbauer cells) in severe preeclampsia complicated by HELLP syndrome: immunohistochemistry of chronic villi. *Anal Quant Cytol Histol* , 283-8.

Finzi, A., Orthwein, A., Mercier, J., & Cohen, E. (2007). Productive HIV-1 assembly takes place at the plasma membrane. *J Virol.*, 81(14):7476-90.

Fong, C., Leong , H., Wong, E., Lim, J., Yussof, P., & Guy, G. (2003). Tyrosine phosphorylation of sprouty2 enhances its interaction with c-Cbl and is crucial for its function. *J Biol Chem*, 278:33456-64.

Goldstein, J., Braverman, M., Salafia, C., & Buckley, P. (1988). The phenotype of human placental macrophages and its variation with gestational age. *American Journal of Pathology*, Vol.133, No 3.

Gravagna , P., Gianazza, E., Arnaud , P., Neels, M., & Ades, E. (1982). Modulation of the immune response by plasma protease inhibitors.III.alpha 1-antichymotrypsin inhibit human natural killing and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. *J.Reticuloendothel Soc.*, 32:1204-10.

Grigoriadis, C., Tympa, A., Creatsa, M., Bakas, P., Liapis, A., Kondi-Pafiti, A., i dr. (2013). Hofbauer cells morphology and density in placentas from normal and pathological gestations. *Rev Bras Ginecol Obstet.*, 35(9):407-12

Gu, Y., Lewis, D., & Wang, Y. (2008). Placental productions and expressions of soluble endoglin, soluble fms-like tyrosine kinase receptor-1 and placental growth factor in normal and preeclamptic pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab,* 93:260-266.

Gustafsson, C., Mjosberg, J., Matussek, A., Geffers, R., Matthiesen, L., Berg, G., i dr. (2008). Gene expression prifiling of human decidual macrophages: evidence for immunosuppressive phenotype. *PLoS ONE 3*, e2078.

Hanafusa, H., Torri, S., Yasunaga , T., & Nishida , E. (2002). Sprouty 1 and Sprouty 2 provide a control mechanism for the Ras/MAPK signalling pathway. *Nat Cell Biol*, 4:850-8.

Hoshina, M., Hussa, R., Pattillo, R., Camel HM, & Boime, I. (1984). The role of trophoblast differentiation in the control of the hCG and hPL genes. *Adv Exp Med Biol*, 176:299-312.

Hoyes, A. (1971). Ultrastructure of the mesenchymal layers of the human chorion laeve. *J Anat*, 109:17-30.

Hung , T., Chen, S., Hsu, J., Hsieh, C., Hsueh, S., & Hsieh, T. (2006). Tumor necrosis factor-alpha converting enzyme in human gestational tissues from pregnancies complicated by chorioamnionitis. *Placenta*, 27:996-1006.

Ingman, K., Cookson, V., Jones, C., & Aplin, J. (2010). Characterisation of Hofbauer Cells in First and Second Trimestar Placenta: Incidence, Phenotype, Survival in vitro and Mortality. *Placenta*, 31: 535-544.

Kang, BY., Tsoi, S., Zhu, S., Su, S., & Kay, HH. (2008). Differential gene expression profiling in HELLP syndrome placentas. *Reprod Sci*, 15(3):285-294

Khan , S., Katabuchi , H., Araki , M., Nishimura , R., & Okamura, H. (2000). Human villous macrophage-conditioned media enhance human trophoblast growth and differentiation in vitro. *Biol Reprod*, 62:1075-83.

Kim, J.-S., Romero, R., Kim, M. R., Kim, Y. M., Friel, L., Espinoza, J., i dr. (2008). Involvment of Hofbauer cells and maternal T cells in villitis of unknown aetiology. *Histopathology*, 457-464.

Kim, S., Romero , R., Tarca, A., Bhatti, G., Kim, C., & Lee, J. (2012). Methylome of fetal and maternal monocytes and macrophages at the feto-maternal interface. *Am J Reprod Immunol*, 68:8-27.

Kim, S., Romero, R., Kim, J., Abbas, A., Espinoza, J., Kusanovic, J., i dr. (2008). Coexpression of myofibroblast and macrophage markers: novel evidence for in vivo

plasticity of chorioamniotic mesodermal cells of the human placenta. *Laboratory Investigation*, 88:365-374.

King, B. (1987). Ultrastructural differentiation of stromal and vascular components in early macaque placental vili. *Am J Anat.*, 178:30-44.

Kitchens, R. (2000). Role of CD14 in celluar recogniton of bacterial lipopolysaccharides. *Chem Immunol*, 61-82.

Knight, M., Redman, C., Linton, E., & Sargent, I. (1998). Shedding of syncytiotrophoblast microvilli into the maternal circulation in pre-eclamptic pregnencies. *Br J Obstet Gynaecol*, 105:632-640.

Kos, M., & Leniček, T. (2011). *Osnove patologije posteljice.* Zagreb: Medicinska naklada.

Li, H., Chen, X., & Li, M. (2013). Gestational diabetesinduces chronic hypoxia stress and excessive inflammatory response in murine placenta. *Int J Clin Exp Pathol*, 6(4):650-659.

Li, J., Zhao, S., Wang, P., Yu, S., Zheng, Z., & Xu, X. (2012). Calcium mediates high-glucose induced HIF-1alpha and VEGF expression in cultured rat retinal Muller cells through CaMKII-CREB pathways. *Acta Pharmacol.Sin.33*, 1030-1036.

Liu, Y., Zhang, J., Zhang, R., Li, S., Kuang, J., Chen, M., i dr. (2002). Relationship between the immunohistological changes of hepatitis B virus carrier mothers' placentas and fetal hepatitis B virus infection. *Zhongua Fu Chan Ke Za Zhi*, 37(5):278-80.

Lu, C., & Unanue, E. (1985). Macrophage ontogeny: Implications for host defense, T-lymphocyte differentiation, and the acquisition of self tolerance. *Clinics in Immunol and Allergy*, 5:253-269.

Maidji, E., McDonagh, S., Genbacev, O., Tabata, T., & Pereira, L. (2006). Maternal antibodies enhance or prevent cytomegalovirus infection in the placenta by neonatal Fc receptor - mediated transcytosis. *Am J Pathol*, 1210-1226.

Mantovani , A., Sica, A., Sozzani, S., Allavena, P., Vecchi, A., & Locati, M. (2004). The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol*, 25:677-86.

Martinoli , C., Catellucci, M., Zaccheo, D., & Kaufmann, P. (1984). Scanning electron microscopy of stromal cells of human placenta vili troughout pregnancy. *Cell Tissue Res*, 235:647-55.

McParland , P., Taylor, D., & Bell, S. (2000). Myofibroblast differentiation in the connective tissues of the amnion and chorion of term human fetal membranes-implications for fetal membrane ruppture and labour. *Placenta*, 21:44-53.

Metzger, B., Gabbe, S., & Persson, B. (2010). International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care*, 33(3):676-682.

Metzger, R., & Krasnow, M. (1999). Genetic controle of branching morphogenesis. *Science*, 284:1635-9.

Millar, L., Stollberg, J., & DeBuque, L. (2000). Fetal membrane distension: determination of the intrauterine surface area and distention of the fetal membranes preterm and at term. *Amv J Obstet Gynecol*, 182:128-134.

Moynagh, P. (2005). TLR signalling and activation of IRFs: revisiting old friends from the NF-kappaB pathways. *Trends Immunol*, 469-476.

Nelson, J. (1993). Foamy changes of placental cells in probable beta glucuronidase deficiency associated with hydrops fetalis. *J Clin Pathol*, 46:370-371.

Ojala, T., & Hornberger, L. (2010). Fetal heart failure. *Front Biosci (School Ed)*, 2:891-906.

Palmeira, P., Quinello, C., Silveira-Lessa, A., Zago, C., & Carneiro-Sampaio, M. (2012). Ig G placental transfer in healthy and patholgical pregnancies. *Clin Dev Immunol.*, 2012:985646.

Pavlov, O., Pavlova, O., Ailamazyan, E., & Selkov, S. (2008). Characterization of cytokine production by human term placenta macrophages in vitro. *Am J Reprod Immunol*, 60:556-567.

Pilz, I., & Schwikhart, G. K. (1980). Problems of distinction of normal, arteficial and pathological structures in mature human placental villi: III. Morphometric studies in rhesus incompatibility (author's transl.). *Arch Gynecol*, 229:137-154.

Radeali, T., Varastehpour, A., Catalano, P., & Haguel-De Mouzon, S. (2003). Gestational diabetes induces placental genes for chronic stress and inflammatory pathways. *Diabetes 52*, 2951-2958.

Redline, R. (2004). Placental inflammation. *Semin Neonatol*, 9:265-274.

Redman, C., & Sargent, I. (2005). Latest advances in understanding pre-eclampsia. *Science*, 38:1592-1594.

Revello, M., Zavattoni, M., Furione, M., Lilleri, D., Gorini, G., & Gerna, G. (2002). Diagnosis and outcome of preconceptional and perconceptional primary human cytomegalovirus infections. *J. Infect Dis*, 186:553-557.

Rhodes, J., Ivanyi, J., & Cozens, P. (1986). Antigen presentation by human monocytes: Effects of modifiying major histiocompatibility complex class II antigen expression and interleukin 1 production by using recombinant interferons and corticosteroids. *Eur J Immunol* , 98:467-476.

Romero, R., Chaiworapongsa , T., & Espinoza, J. (2003). Micronutrients and intrauterine infection, preterm birth and the fetal inflammatory response syndrome. *J Nutr*, 133:1668S-1673S.

Salafia, C., Pezzullo, J., Lopez-Zeno, J., Simmens, S., Minior, V., & Vintzileos, A. (1995). Placental pathologic features of preterm preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 173:1097-1105.

Sasaki, A., Taketomi, T., Wakioki T, Kato, R., & Yoshimura , A. (2001). Identification of a dominant negative mutant of Sprouty that potentiates fibroblast growth-factor-but not epidermal growth factor-induced ERK activation. *J Biol Chem*, 276:36804-8.

Seval , Y., Korgun , E., & Demir , R. (2007). Hofbauer cells in early human placenta: possible implications in vasculogenesis and angiogenesis. *Placenta*, 28:841-845.

SH, L., Fox, H., Reynolds-Kohler, C., & Nelson, J. (1990). HIV-1 in trophoblastic and villous Hofbauer cells, and haematological precursors in eight week fetuses. *Lancet*, 335:565-568.

Simister, N. (1998). Human placental Fc receptors and the trapping of immune complexes. *Vaccine*, 16:1451--5.

Singh, U., Nicholson, G., Urban, B., Sargent, I., Kishore , U., & Bernal, A. (2005). Immunological properties of human decidual macrophages-a possible role in intrauterine immunity. *Reproduction*, 129:631-637.

Sisino, G., Bouckhenooghe, T., Aurientis, S., P, F., Storme, L., & Vambergue, A. (2013). Diabetes during pregnancy influences Hofbauer cells, a subtype of placental macrophages, to acquire pro-inflammatory phenotype. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1959-1968.

Stagno, S., Pass, R., Cloud, G., Britt, W., Henderson, R., Walton, P., i dr. (1986). Primary cytomegalovirus infection in pregnancy. Incidence, transmission to fetus, and clinical outcome. *JAMA*, 256:1904-1908.

Takeda, N., O'Dea, E., Doedens, A., Kim, J., Weidemann, A., Stockmann, C., i dr. (2010). Differential activation and antagonistic function of HIF-(alpha) isoforms in macrophages are essential for NO homeostasis . *Genes Dev.*, 491-501.

Toti, P., Arcuri, F., Tang, Z., Shatz, F., Zambrano, E., Mor, G., i dr. (2011). Focal incresases of fetal macrophages in placenta from pregnancies with histological chorioamnionitis: potential role od fibroblast monocyte chemoatractic protein-1. *Am J Reprod Immunol*, 65:470-479.

Vince, G., Starkey, P., Austgulen, R., Kwiatkowski, D., & Redman, C. (1995). Interleukin-6, tumour necrosis factor and soluble tumour necrosis factors receptors in women with preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol*, 102:20-25.

Vinnars, M., Rindsjo, E., Ghazi, S., Sundberg, A., & Papadogiannakis, N. (2009). The number od CD68+ (Hofbauer) cells is decreasted in placentas with chorioamnionitis and with advancing gestational age. *Pediatr Dev Pathol,* 13:300-304.

Wetzka, B., Clark, D., & Charnock-Jones, D. (1997). Isolation of macrophages (Hofbauer cells) from human term placenta and their prostaglandin E2 and thromboxane production. *Human Reproduction*, 847-852.

WHO, UNAIDS (2009). Epidemiology care slides - AIDS epidemic update.

Wood, G., Reymard, J., Krishnan, E., & Racela, L. (1978). Immunobiology of the human placenta. II.Localization of macrophages, in vivo bound IgG and C3. *Cell Immunol*, 35:205-216.

Wynn, R. (1967). Derivation and ultrastructure of the so-called Hofbauer cell. *Am J Obstet Gynecol.*, 97: 235-48.

Wynn, T., & Barron , L. (2010). Macrophages:master regulators of inflammation and fibrosis. *Semin Liver Dis.*, 30:245-257.

Yu, J., Zhou, Y., Gui, J., Li, A.-z., Su, Y.-l., & Feng, L. (2013). Assessment of the number and function of macrophages in the placenta of gestational diabetes mellitus patients. *J Huazhong Univ Sci Technol*, 33(5):725-729.

Zhang , X., & Mosser, D. (2008). Macrophages activation by endogenous danger signals. *J Pathol*, 214:161-178.

Zhou, N., & Wang, J. (2015). HBV infection in placental Hofbauer cells and the association with the level of HBV replication. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 31(1):77-80.

10. ŽIVOTOPIS

Zovem se Marina Zelenika. Rođena sam 20.8.1990. u Požegi. Nakon završetka osnovne škole upisala sam prirodoslovno-matematičku gimnaziju "Gimnazija Požega". Maturirala sam 2009. godine i upisala Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Bila sam demonstratorica na Zavodu za histologiju i embriologiju u akademskoj godini 2011./2012. i 2013./2014. te demonstratorica na internističkoj propedeutici u akademskoj godini 2013./2014. i 2014./2015. Dobitnica sam Dekanove nagrade za najbolju studenticu u akademskoj godini 2013./2014.