

Klinika za ženske bolesti i porode Kliničkog bolničkog centra u Zagrebu,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

RAZVOJ POSTELJICE

Josip Đelmiš

Pregledni članak

Ključne riječi: decidua, blastocista, trofoblast, spiralne arterije, VEGF, PlGF, VEGFR-1, placenta

SAŽETAK. U ovom preglednom članku opisan je razvoj posteljice. Razvoj posteljice u prvom tromjesečju trudnoće jedan je od glavnih činitelja o kojima ovisi daljnji tijek i ishod trudnoće. Prodor endovaskularnog citotrofoblasta u spiralne arterije je povezan s gubitkom glatkih mišićnih stanica, a stijenka krvne žile je zamijenjena fibrinom. Angiogeneza je važna za brzi rast posteljice. Posteljica stvara nekoliko čimbenika rasta koji su poznati kao potentni čimbenici angiogeneze. Razvoj posteljičnih krvnih žila reguliraju brojni angiogeni i protuangiogeni čimbenici. Glavni stimulatori angiogeneze jesu vaskularni endotelni čimbenici rasta – VEGF (VEGF-A do VEGF-F i PlGF), trombocitni čimbenik rasta (engl. *platelet derived growth factor*, PDGF) i angiogenin (Ang-1 i Ang-2). Specifični inhibitori su angiostatin i endostatin, a nespecifični inhibitori su interferoni α , β , i γ te trombocitni čimbenik 4. Receptori za VEGF-A su Fms-u slična tirozin-kinaza-1 (engl. *Fms-like tyrosine kinase-1*, Flt-1 ili VEGFR-1) i receptor koji sadržava kinaznu domenu (engl. *Kinase inserts domain-containing receptor*, KDR/Flk-1 ili VEGFR-2).

Svrha posteljice je da osigura optimalne uvjete za razvoj fetusa. Za to je važan normalan razvoj posteljice. Rast posteljice je reguliran lokalnom produkcijom čimbenika rasta koji djeluju autokrinim i parakrinim mehanizmom u svrhu utjecaja na razne funkcije stanice. Posteljica je tako smještena da na nju djeluju čimbenici rasta i angiogeneze majke i fetusa. Poremećaji rasta fetusa nastaju zbog poremećenog razvoja posteljice.

Posteljica ima sljedeće funkcije: a. Izmjena tvari i plinova između majke i ploda; b. Štiti plod od štetnih vanjskih utjecaja i infekcija; c. Proizvodi hormone koji imaju ulogu očuvanja trudnoće i omogućuje razvoj ploda. d. Osigurava barijeru između embrija/fetusa i majke radi imunološkog odgovora na implantaciju.

Proces razvoja posteljice uključuje: a) stvaranje i implantaciju blastociste, b) diferencijaciju trofoblasta, c) razvoj korionskih resica, d) invaziju trofoblasta u krvne žile endometrija i e) vaskulogenezu i angiogenezu posteljice.

Za pravilno razumijevanje razvoja korionskih resica, važno je pratiti razvoj posteljice od najranijih stupnjeva embrionalnog razvoja. Prvi tjedan razvoja obuhvaća razdoblje od oplodnje do implantacije blastociste u materničnu stijenku. Oplodena jajna stanica nekoliko se puta mitotski dijeli i nastaju blastomere. Tri dana nakon oplodnje nastaje morula (16-stanični stadij) izgrađena od unutrašnje skupine stanica od kojih će se razviti embrio i vanjskoga sloja stanica od kojeg će nastati trofoblast. Riječ 'trofoblast' prvi je upotrijebio nizozemski embriolog Ambrosius Arnold Willem Hubrecht 1889. godine opisujući stanice koje prenose hranjive tvari i stvaraju zaštitnu barijeru između majke i ploda (1). Ulaškom morule u šupljinu maternice kroz pelucidnu zonu ulazi tekućina, nastaje šupljina blastocel, a morula postaje blastocista. U blastocisti se diferenciraju dvije različite vrste stanica: trofoblast vanjska epitelna stijenka blastociste i embrioblast (embrionalni čvorić), unutrašnja nakupina stanica. (Slika 1.) Stanice embrioblasta su pluripotentne i diferenciraju se u različite vrste embrio-

nalnih tkiva i organa. Od trofoblasta nastaju plodove ovojnice (amnion i korion) i fetalni dio posteljice (2).

Stanice trofoblasta proliferiraju i diferenciraju se u dva sloja: **sinciciotrofoblast**, vanjski sincicijski multinuklearni sloj i **citotrofoblast** unutrašnji sloj mononuklearnih stanica. Stanice citotrofoblasta mitotski se dijele, migriraju i stapaju se u sinciciotrofoblast. Sinciciotrofoblast je tijekom trudnoće odgovoran za funkcionalnu aktivnost posteljice. Rani razvoj posteljice ovisi o ravnoteži između proliferacije i diferencijacije trofoblasta. Parcijalni tlak kisika (pO_2) je glavni regulator diferencijacije trofoblasta. Rani razvoj blastociste odigrava se u okolišu s niskom koncentracijom kisika. Nizak parcijalni tlak kisika u intervulusnom prostoru stimulira proliferaciju trofoblasta, a viši parcijalni tlak kisika stimulira diferencijaciju trofoblasta (3).

Nakon implantacije trofoblast brzo ulazi kroz površinski epitel u unutarnji dio decidue.

Temeljni preduvjet normalnog razvoja je potpuna sinhronizacija embrionalnog razvoja s maturacijom endometrija. Za orkestraciju ovog procesa važna je očuvana funkcija hipofize i jajnika majke, jer obrasci hormonske sekrecije ovih žljezda omogućavaju pravovremenu diferencijaciju endometrija. Tijekom najvećeg dijela menstrualnog ciklusa, endometrij se štiti od implantacije, osim kratkog razdoblja koji je označen kao "implantacijski prozor". Po definiciji, receptivnost uterusa je razdoblje maturacije endometrija kada se stanice blastociste mogu pričvrstiti za epitelne stanice endometrija i nakon toga nastaviti invaziju njegove strome. Istraživanja su pokazala da se implantacija kod ljudi normalno javlja između 7. i 10. dana nakon ovulacije (dani 21 – 24 menstrualnog ciklusa) (4,5) Invazija trofoblasta se nastavlja sve dok blastocista u potpunosti ne bude okružena stromom endometrija, koja se, uslijed brojnih parakrinih signala koje razmjenjuje s embrijem, histološki i funkcionalno mijenja u procesu označenom kao decidualizacija. (6). (Slika 2.) Visoka razina progesterona u majčinoj krvi uzrokuje decidualnu reakciju, tj. promje-

nu stanica strome i krvnih žila endometrija oko implantirane blastociste u decidualne stanice.

Prema mjestu implantacije razvit će se tri decidualne ovojnice: bazalna decidua (lat. *decidua basalis*) od koje će nastati majčin dio posteljice. Kapsularna decidua (lat. *decidua capsularis*) prekriva implantiranu blastocistu. Parijetalna decidua (lat. *decidua parietalis*) nastaje u preostalom dijelu endometrija (7).

Početak razvoja zametka prehrana je blastociste histiotrofična, tj. stanice trofoblasta fagocitiraju sekret materničnih žlijezda. Devetog dana razvoja unutar sinciotrofoblasta pojave se šupljine, lakune. Ovaj se stadij razvoja trofoblasta naziva lakunarnim stadijem (8). (Slika 3.) Lakune su ispunjene mješavinom majčine krvne plazme i sekreta oštećenih materničnih žlijezda. Oko 10. dana formira se kapsularna decidua koja odvoji blastocistu od sekreta spomenutih žlijezda. Lakune se postupno spajaju i formiraju intervillozni prostor.

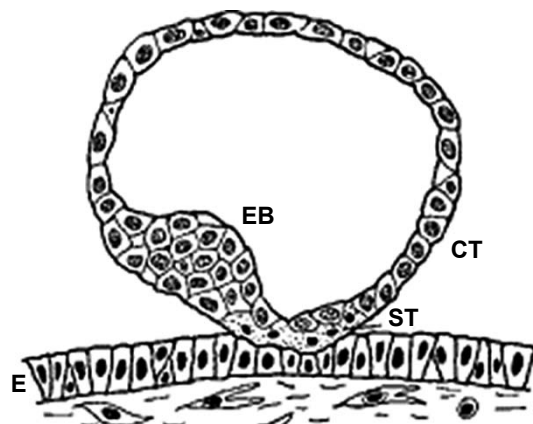
Humanu trudnoću možemo podijeliti na dva razdoblja.

Tijekom **ranog** razdoblja trudnoće koje traje približno tri mjeseca razvija se placenta i svi organski sustavi (organogeneza). Embrij tada dobiva hranjive tvari uz nisku razinu kisika (histiotrofična faza prehrane). Početkom kasnog razdoblja trudnoće koje traje preostalih šest mjeseci, zbiva se postupni prelazak u hemotrofičnu fazu prehrane fetusa zbog njegova rasta i povećanih potreba za kisikom. Placenta i embrionalne ovojnice (amnij, korion, žumanjčana vreća i alantois) štite embrij, osiguravaju mu opskrbu hranjivim tvarima i kisikom, sudjeluju u ekskreciji te sintetiziraju hormone tijekom embrionalnoga i fetalnog stadija razvoja (2).

Humana je posteljica hemokorionska, tj. trofoblast placentarnih resica u izravnom je kontaktu s majčinom krvi. Neposredna blizina majčine i plodova optjecaja krvi omogućuje izmjenu otopljenih tvari i plinova. Tijekom trudnoće posteljica se promjenom građe resica prilagođuje sve većim zahtjevima fetusa za njegov normalan rast i razvoj.

Razvoj korionskih resica

Glavni sastojci humane hemokorionske placente, placentalne resice (usidrene i slobodne resice) i posebni oblici trofoblasta (sinciotrofoblast i invazivni trofoblast), nastaju u prvim tjednima trudnoće. Razvoj placentalnih resica i njihovih krvnih žila ovisi o opskrbi kisikom iz majčine krvi, tj. o uteroplacentalnom protoku krvi. Od 13. do 15. dana razvoja korionska ploča inducira proliferaciju stanica citotrofoblasta koje se stapaju u sinciotrofoblast. Sinciotrofoblast djeluje kao zaštitna imunološka barijera (9). Na vanjskoj površini koriona nastaju primarne resice (izdanci sinciotrofoblasta u čijem su središtu stanice citotrofoblasta). Šesnaestog dana u primarne resice urastaju mezenhimske stanice izvanembrionalnog mezoderma. Nastaju sekundarne ili mezenhimske resice koje prekrivaju cijelu površinu koriona. Izgrađene su od sinciotrofoblasta, citotrofoblasta i strome s rahlo raspoređenim

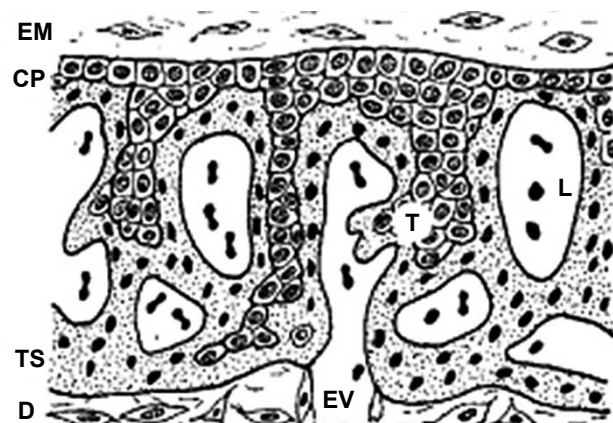


EB embrioblast, CT citotrofoblast, ST sinciotrofoblast, E endometrij

Slika 1. Blastocista se pričvršćuje na površinu epitela decidue



Slika 2. Blastocista u potpunosti okružena stromom endometrija



Slika 3. Lakunarni stadij trofoblasta.

mezenhimijskim stanicama, kolagenskim i retikulinskim vlaknima te obiljem amorfnе osnovne tvari. U izvanembrionalnom mezodermu žumanjčane vreće, koriona i embrionalnog drška 17. dana razvoja vaskulogenezom nastaju prve krvne žile i prve krvne stanice (10). Vaskulogeneza se u osnovi placente pojavljuje oko 19. dana, a u embriju oko 21. dana, neovisno o izvanembrionalnoj vaskulogenezi. Razvoj krvnih žila u placentalnim resi-

cama prostorno je i vremenski usklađen. Počinje razvojem mreže tračaka hemangioblasta, a završava formiranjem placentarne membrane koja postaje funkcionalno aktivna potkraj organogeneze. U korionskim resicama mreža krvnih kapilara nastaje od 16. do 20. dana pa sekundarne resice postaju tercijarne ili definitivne resice koje su sposobne za izmjenu tvari i plinova između majčine i embrionalne krvi. Tercijarnu resicu izgrađuje sinciciotrofoblast, citotrofoblast i stroma. Stroma sadržava mezenhimske stanice, u središnjem dijelu resice krvne kapilare i tkivnu tekućinu kroz koju migriraju placentarni makrofagi (Hofbauerove stanice). Resice koje se distalnim dijelom pričvrste za bazalnu deciduu jesu usidrene resice, a s njihovih lateralnih strana pupaju novi izdanci, tzv. slobodne resice. Nakon diferencijacije prvih krvnih žila vaskulogenezom u izvanembrionalnom mezodermu nastupa spajanje krvnih žila iz stijenke žumanjčanje vreće, koriona i embrionalnog drška te se formira primitivna krvnožilna mreža. Spajanjem krvnožilne mreže embrionalnih ovojnica s krvnim žilama zametka uspostavlja se embrijsko-placentarni optjecaj krvi (2).

Invazija trofoblasta u krvne žile endometrija

U 6. tjednu razvoja spiralne arterije nisu povezane s interviloznim prostorom. U 8. tjednu uspostavlja se djelomična veza interviloznoga prostora i spiralnih arterija, a lumen distalnog dijela svake arterije ispunjava nakupina stanica izvanresičnoga endovaskularnog citotrofoblasta. Intersticijski endovaskularni citotrofoblast migrira kroz decidualnu stromu prema majčini spiralnim arterijama, dok se endovaskularni citotrofoblast kreće u unutrašnjost spiralnih arterija (11). Prodor endovaskularnog citotrofoblasta u spiralne arterije je povezan s gubitkom glatkih mišićnih stanica, a stijenka krvne žile je zamijenjena amorfnim eozinofilnim materijalom, što rezultira histološkim izgledom poznatim kao "fibrinoidna" promjena (12). Ta citotrofoblastna transformacija spiralnih arterija rezultira gubitkom vazoaktivnosti i predstavlja ključnu prilagodbu za normalnu trudnoću. Endovaskularni citotrofoblast prodire do unutarnje trećine miometrija (11). Nakon arterijske transformacije, endovaskularni citotrofoblast formira čep koji sprječava da majčina krv ulazi u intervilozni prostor sve do kraja prvog tromjesečja, kada je uspostavljena hemokorijalna cirkulacija (13). Stanice endovaskularnog citotrofoblasta razgrađuju endotel, glatke mišićne stanice i elastična vlakna. Fenotipski postaju slične endotelu i nadomještaju ga. Taloži se fibrinoid izgrađen uglavnom od fibrina i komponenata majčine krvne plazme. Endovaskularnom invazijom stanica invazivnoga citotrofoblasta spiralne arterije uskog lumena i velikog otpora protoku krvi postaju uteroplacentarne krvne žile decidue, endometrija i unutarnje trećine miometrija. Zbog širokog lumena pružaju mali otpor protoku krvi pa posteljicu mogu opskrbiti velikom količinom majčine oksigenirane krvi. Prvi val prodiranja izvanresičnoga invazivnog citotrofoblasta pojavljuje se od 6. do 8. tjedna. Već u 7. tjednu lumen nekih spiralnih arterija koje

opskrbljuju lakune majčinom krvlju djelomično ispunjavaju stanice endovaskularnoga invazivnog citotrofoblasta koje čine trofoblastni čep. Zato se razvoj posteljice do 10. tjedna odigrava u hipoksičnim uvjetima. Do 8. tjedna trudnoće pO_2 u interviloznom prostoru niži je od 20 mmHg. Od 8. do 10. tjedna smanjeno je izlučivanje čimbenika indukcije hipoksije-1 α (engl. *hypoxia-inducible factor*, HIF-1 α) i TGF- β 3, a pO_2 raste. Prestaje proliferacija citotrofoblasta i uslijedi njegova diferencijacija. Citotrofoblast na slobodnim resicama nastavlja se diferencirati u sinciciotrofoblast. Drugi val invazije izvanresičnoga invazivnog citotrofoblasta pojavljuje se od 12. do 14. tjedna i traje 4 do 6 tjedana. Nakon 12. tjedna trudnoće pO_2 je viši od 50 mmHg, a najviši je oko 16. tjedna, kada iznosi 60 mmHg. Nakon toga pO_2 postupno pada te u terminu porođaja iznosi 45 mmHg. Optjecaj majčine krvi u placenti nije potpuno razvijen sve do kraja prvoga tromjesečja trudnoće. Niska koncentracija kisika potpomaže angiogenezu s pomoću transkripcijske i posttranskripcijske regulacije čimbenika rasta (VEGF, PlGF, angiopoetin 1 i angiopoetin 2). Do 9. tjedna razvoja prehrana embrija ovisi o materničnim žljezdama čiji sekret ulazi u intervilozni prostor zajedno s majčinih proteinima krvne plazme. Optjecaj majčine krvi u perifernim dijelovima posteljice počinje oko 9. tjedna razvoja, a tek nakon 12. tjedna proširi se po cijeloj placenti. Potkraj 1. tromjesečja čep endovaskularnog citotrofoblasta koji zatvara lumen uteroplacentarnih arterija postupno nestaje, a majčina krv ulazi u intervilozni prostor. Morfološke promjene tunike medije spiralne arterije dovode do: a) pojačanog protoka majčine krvi zbog proširenja ovih žila koje se sad nazivaju uteroplacentarnim arterijama, b) gubitka mišićno-elastične komponente pa uteroplacentarne arterije više ne mogu odgovarati na promjene unutar autonomnoga živčanog sustava. Pretvaranje spiralnih arterija u uteroplacentarne krvne žile koje osiguravaju odgovarajuću fetalnu opskrbu hranjivim tvarima i kisikom tijekom rasta i razvoja završi oko 20. tjedna trudnoće. Na slobodnim resicama matične stanice citotrofoblasta koje leže na bazalnoj lamini stapaju se u multinuklearni sinciciotrofoblast čija je funkcija prijenos plinova i hranjivih tvari iz majčine u fetalnu krv. On ima i endokrinu funkciju, izlučuje HCG i placentarni laktogen (PL) potreban za rast posteljice. Resice koje oplakuje majčina krv sudjeluju u opskrbi embrija/fetusa kisikom i hranjivim tvarima. U to se vrijeme koncentracija O_2 u placenti trostruko poveća. Resični sinciciotrofoblast vrlo je osjetljiv na promjenu koncentracije O_2 , brzo propada, a zamijeni ga novi sinciciotrofoblast nastao udruživanjem stanica citotrofoblasta (2).

Diferencijaciju izvanresičnog citotrofoblasta reguliraju brojni čimbenici rasta, proteini vezivnog matriksa i adhezijske molekule. Oni kontroliraju prodiranje stanica izvanresičnog citotrofoblasta tako što mijenjaju aktivnost proteaza koje razgrađuju matriks i mijenjaju adhezijske sposobnosti matriksa.

Prije 10. tjedna intervilozni je prostor ispunjen biotrom, bezbojnom tekućinom. Tijekom intersticijske i

endovaskularne invazije na stanicama izvanresičnoga citotrofoblasta mijenja se ekspresija adhezijskih molekula. Te stanice sintetiziraju VEGF-A, VEGF-C (engl. *Vascular endothelial growth factor*) i čimbenik rasta placente (engl. *Placental growth factor*, PlGF) te njihove receptore VEGFR-1(Flt-1) i VEGFR-2. U prvome tromjesečju trudnoće izvanresični citotrofoblast sadržava receptore za VEGF koji je važan za vaskulogenezu i angiogenezu.

Razvoj posteljičnih resica

Placentarna vaskulogeneza i angiogeneza ključne su za normalan razvoj i sazrijevanje posteljičnih resica. Sve generacije posteljičnih resica koje se razvijaju kasnije tijekom trudnoće čine podrazrede tercijarnih resica. Ogranci resičnoga stabla podijeljeni su u nekoliko vrsta resica, ovisno o njihovu promjeru, građi strome i vrsti krvne žile te o položaju u resičnome stablu.

Mezenhimske resice čine prvu generaciju tercijarnih korionskih resica. Do kraja 5. tjedna sve su korionske resice mezenhimske. Na površini ih oblaže sinciotrofoblast i citotrofoblast. U obilnoj stromi nalaze se Hofbauerove stanice i slabo razvijene krvne kapilare. Pupanjem s površine mezenhimskih resica nastaju nove mezenhimske resice. Od 5. tjedna razvoja do kraja drugoga tromjesečja trudnoće mezenhimske se resice diferenciraju u nezrele intermedijarne resice. U trećem mjesecu trudnoće endotelne cjevčice smještene u središnjem dijelu njihove strome dosegnu promjer od 100 μm . Unutar nekoliko tjedana u okolnoj se stromi pojave koncentrično raspoređena vezivna vlakna, diferenciraju se glatke mišićne stanice u kojima se ekspimiraju α -aktin, γ -aktin, vimentin i dezmin pa nastaju krvne žile sa slojevima nalik mediji i adventiciji. Od 14. do 20. tjedna većinu resica čine nezrele intermedijarne resice. One su većeg promjera od mezenhimskih resica i imaju obilnu stromu. Diferencijacija vanjskih slojeva stijenke krvnih žila pod utjecajem je angiopoetina 1 i angiopoetina 2 i njihova receptora Tie-2. Iz tih se krvnih žila razvijaju resične arterije i vene. U većim proksimalnim nezrelim intermedijarnim resicama stromu izgrađuje gusto vezivno tkivo, a resice se nazivaju **matičnim resicama** (engl. *stem villi*). Služe kao skelet koji podržava periferne ogranke resičnoga stabla. Gotovo trećinu ukupnog volumena resica zrele placente čine matične resice. Stroma sadržava arterije, vene, arteriole i venule s tunikom medijom i adventicijom. Adventicija bez oštre granice prelazi u okolno vezivno tkivo s miofibroblastima koji čine perivaskularni omotač. Zgušnjavanje vezivnoga tkiva strome zrakasto se širi prema trofoblastu. Pred kraj trudnoće u stromi velikih matičnih resica ostaje vrlo malo krvnih kapilara, smanjuje se broj Hofbauerovih stanica, a s površine resice nestaju stanice citotrofoblasta. Potkraj drugoga tromjesečja trudnoće prestaje stvaranje nezrelih intermedijarnih resica i formiraju se **zrele intermedijarne resice**. One čine oko 25% svih resica u zreloj placenti. Zrele su intermedijarne resice duže od 1 000 μm , promjera su 80–120 μm i sadržavaju jednu do dvije slabo razgrana-

ne kapilarne petlje. U ovim resicama slabija je proliferacija stanica citotrofoblasta, a endotelne se stanice umnažaju i nastaju nove krvne žile. Manja je količina strome u kojoj su arteriole, kapilare i venule. Kapilare su izdužene i nerazgranane pa njihov rast u dužinu ubrzo nadmaši duljinu resice. Nakon 32. tjedna razvoja dilatirani se dijelovi kapilarnih petlji izbočuju u trofoblast pa nastaju **terminalne resice** (2).

Terminalne su resice najmanji ogranci resičnoga stabla. Grozdasta su oblika, a sadržavaju dilatirane krvne kapilare koje čine 50% volumena resične strome. U trećemu tromjesečju trudnoće naglo se povećava broj terminalnih resica pa se do 34. tjedna povećava površina resica za izmjenu tvari i plinova. Nakon 36. tjedna porast površine resica je sporiji. Pred kraj trudnoće površina je tih resica oko 13 m^2 , a u kapilarama se nalazi približno 25% ukupne količine fetalne krvi. Krvne žile zrelih intermedijarnih resica i krvne kapilare terminalnih resica nastaju angiogenezom. Periciti se odvoje od bazalne lamine, a proliferacijom endotela nastaju novi endotelni tračci u kojima se pojavljuje lumen. Krvne kapilare placentarnih resica rastu i granaju se nakon prestanka rasta resičnog epitela. Početkom drugoga tromjesečja trudnoće smanjuje se broj stanica citotrofoblasta i mezenhimskih stanica strome, a u trećemu tromjesečju stanice citotrofoblasta uglavnom nestaju. Propadanje stanica citotrofoblasta napreduje od manjih prema većim resicama. Neke od tih stanica trajno ostaju u velikim resicama koje ne sudjeluju u izmjeni tvari između majčina i fetalnoga krvotoka. Mjesta na kojima se dilatirane resične krvne kapilare nalaze neposredno uz stanjenu citoplazmu sinciotrofoblasta čine **vaskulosincicijske membrane** koje se na površini terminalnih resica pojavljuju u 32. tjednu. Slobodna površina sinciotrofoblasta sadržava brojne mikrovile koji znatno povećavaju površinu vaskulosincicijske membrane, a time i brzinu izmjene tvari između majčina i fetalnoga optjecaja krvi.

Razvoj i diferencijacija posteljičnih krvnih žila rezultat su niza procesa koji se u korionskim resicama pojavljuju u određenim razdobljima razvoja. **Vaskulogeneza** je *de novo* stvaranje krvnih žila iz mezenhimskih stanica. Najprije nastaje primarna krvnožilna mreža čijim preoblikovanjem nastaju arterije, kapilare i vene. Tijekom vaskulogeneze slobodne i migrirajuće vaskularne endotelne prastanice (angioblasti) formiraju primitivni žilni sustav u stijenci žumanjčane vreće i u aksijalnom dijelu trupa zametka. Embrionalne arterijske i venske endotelne stanice molekularno su različite. **Angiogeneza** je proces širenja i remodeliranja žilnog sustava iz već postojeće krvne žile, a zbiva se u embriju i u odrasloj osobi (tijekom menstrualnog ciklusa, rasta placente, cijeljenja rane i upalnog odgovora). U vaskulogenezi i u angiogenezi sudjeluju endotelne stanice koje proliferiraju, migriraju i udružuju se u cijevi. Širenje žilnog sustava angiogenezom zbiva se pupanjem/nicanjem ili pregradnjom krvne žile. U tom se procesu vežu čimbenici rasta žilnog endotela (VEGF) i njihovi receptori. Za modulaciju ili inhibiciju proliferacije endotel-

nih stanica potrebni su Tie-2 receptori tirozin-kinaze za modulaciju intracelularnoga signalnog puta. Za Tie-2 vežu se angiopoetin 1 (Ang-1) ili angiopoetin 2 (Ang-2). Angiopoetin 1 i Tie-2 odgovorni su u procesu regulacije pregradnje, dok Ang-2 i Tie-2 zajedno s VEGF-om potiču grananje. Razvoj placentarnih krvnih žila reguliraju brojni angiogeni i protuangiogeni čimbenici. Glavni stimulatori angiogeneze jesu članovi porodice VEGF (VEGF-A do VEGF-F i PlGF), trombocitni čimbenik rasta (engl. *platelet derived growth factor*, PDGF) i bFGF, a ostali su stimulatori TGF- α i TGF- β , angiogenin, Ang-1 i Ang-2, TNF, HGF, IGF i IL-8. Specifični su inhibitori angiostatin i endostatin, a nespecifični inhibitori interferoni α , β , i γ te trombocitni čimbenik 4. Receptori za VEGF-A jesu Fms-u slična tirozin-kinaza-1 (engl. *Fms-like tyrosine kinase-1*, Flt-1 ili VEGFR-1) i receptor koji sadržava kinaznu domenu (engl. *Kinase inserts domain-containing receptor*, KDR/ FLK-1 ili VEGFR-2). Receptor za PlGF je VEGFR-1 koji se eksprimira u trofoblastu, u placentarnim makrofagima i u endotelu resičnih krvnih žila. Ekspresiju VEGF-A i PlGF-a regulira hipoksija. U ranim stadijima razvoja placente VEGF se nalazi u stanicama citotrofoblasta. Napredovanjem trudnoće VEGF se eksprimira u placentarnim makrofagima u resičnoj stromi. Placentarni čimbenik rasta eksprimira se samo u posteljicnom trofoblastu. Angiopoetini djeluju s pomoću Tie-1 (engl. *Tyrosine kinase with immunoglobulin epidermal growth factor homology domains*) i Tie-2 (engl. *tunica internal endothelial cell kinase*). Angiopoetin 1 inducira sazrijevanje žila tijekom razvoja. Angiopoetin 2 uzrokuje promjenu njihova oblika koja je preduvjet za granajuću angiogenezu i stvaranje pupoljaka.

Vaskulogeneza se u posteljici pojavljuje 19. dana razvoja. Mezenhimske stanice strome sekundarnih resica izlučuju čimbenike rasta žilnog endotela (VEGF) koji induciraju diferencijaciju mezenhimskih stanica u hemangioblaste. Za ekspresiju VEGF-a odgovoran je gen *HOXB5*, koji povećava broj receptora za VEGF, VEGFR-1 (Flt-1). Za nakupljanje i rast hemangioblasta te za formiranje hemangiogenih tračaka odgovoran je VEGF-A. Nakupine hemangioblasta izgrađuju krvne otočiće. Hemangioblasti na rubu krvnog otočića diferenciraju se u angioblaste. VEGF potiče angioblaste na proliferaciju i diferencijaciju u endotelne stanice. Hemangioblasti u središtu krvnog otočića postaju hematopoezne matične stanice od kojih će se poslije razviti krvne stanice. U istraživanjima razvoja placentarnih krvnih žila tijekom prvoga tromjesečja trudnoće imunohistokemijskim metodama upotrebljavani su markeri CD31 i CD34 na endotelnim stanicama. U hemangiogenim tračcima 21. dana razmicanjem stanica nastaje lumen, a tračci postaju endotelne cjevčice. Čimbenik rasta žilnog endotela regulira spajanje prvih endotelnih stanica u primitivne žile koje se iz središta resične strome premještaju rubno, uz trofoblast. Potkraj 3. tjedna razvoja embrionalna krv usporeno teče kroz resične kapilare. U 4. tjednu razvoja počnu otkucaji srca embrija. U 5. tjednu resične se kapilare resica spoje međusobno,

a zatim s krvnim žilama alantoisa, od kojih će se razviti krvne žile pupkovine. Krvne žile nastale u mezenhimu korionske ploče i embrionalnog drška (osnova pupkovine) povezuju krvne žile placentarnih resica s embrionalnim krvnim žilama pa započinje protok embrionalne krvi kroz posteljicu. Hranjive tvari i kisik iz majčine krvi u interviloznome prostoru prolaze kroz resičnu stijenku i ulaze u embrionalnu krv. Ugljikov dioksid i produkti metabolizma prelaze iz embrionalne krvi u resičnim kapilarama do majčine krvi u interviloznome prostoru (2).

Angiogeneza se u placenti pojavljuje u 5. tjednu razvoja, preklapa se s vaskulogenezom i traje do kraja trudnoće. Usklađivanje vaskulogeneze i angiogeneze nadziru angiogeni čimbenici rasta koji stvaraju trofoblast, Hofbauerove stanice, pericite i endotelne stanice. Tijekom angiogeneze mijenjaju se broj i duljina pojedinog segmenta krvne žile. Novi ogranci krvnih žila mogu nastati a) pupanjem/nicanjem (stvaranje lateralnih izdanaka iz postojećih krvnih žila) i b) intususcepcijom (stvaranje transkapilarnih endotelnih pregrada koje dijele lumen krvne žile na dva ili više lumena). Ovi načini stvaranja novih krvnih žila nazivaju se **granajućom angiogenezom**. Nastaje primarna (nezrela) kapilarna mreža koja se postupno diferencira u veće krvne žile. Vežanje VEGF-a za receptore VEGFR-1 i 2 potiče granajuću angiogenezu. Ekspresija VEGF-A i VEGFR-2 najintezivnija je u najranijem razdoblju trudnoće, a smanjuje se napredovanjem trudnoće. Rast žila u duljinu proliferacijom endotela naziva se **negranajućom angiogenezom**. Mezenhimske stanice oko endotelnih cjevčica diferenciraju se u pericite, a cjevčice postaju krvne kapilare. Nakon 6. tjedna pericite okruži bazalna lamina. Mezenhimske stanice oko primitivnih kapilara diferenciraju se u vezivne i glatke mišićne stanice.

Od 7. do 8. tjedna pojavljuju se krvne žile u središnjem i rubnom dijelu resične strome. Tračci međusobno anastomoziraju i spoje se s krvnim žilama. Promjer je lumena tih krvnih žila 10 do 15 μm . Većina resica sadržava mrežu krvnih kapilara, a nešto manje hemangiogenih tračaka. Do 9. tjedna na slobodnom vrhu resice pojavljuju se mali ogranci mezenhimskih resica koji sadržavaju nakupine CD31 i CD34 pozitivnih stanica. Promjer lumena krvnih žila veći je u usporedbi s lumenom žila iz ranijih stadija razvoja i iznosi 10 do 26 μm . Tijekom angiogeneze od 4. do 25. tjedna razvoja nove krvne kapilare nastaju pupanjem. Endotelne cjevčice nastale vaskulogenezom produljuju i granaju pa nastaje primitivna kapilarna mreža. Za to je vrijeme ekspresija VEGF-A pojačana, a ekspresija PlGF-a slaba. Endotelne stanice proliferiraju, njihova bazalna lamina propada, a stanice migriraju. Poveća se propusnost krvnih kapilara, a s vanjske strane endotela diferenciraju se periciti. Tijekom angiogeneze pupanjem/nicanjem nastaje vrlo razgranana kapilarna mreža, koja pruža nizak otpor protoku krvi jer su krvne žile u mezenhimskim i nezrelim intermedijarnim resicama položene usporedno. Nove kapilare izrastaju iz malih venula bez mišićnoga sloja. Od 9. do 10. tjedna razvoja smanjuje se broj rubno

smještenih hemangiogenih tračaka, a razvijaju se resične krvne žile. Od 10. do 11. tjedna pojavljuju se novi ogranci resica sa slijepim završetcima kapilara koje su nastale pupanjem iz postojeće kapilarne mreže. U središnjem dijelu strome nekih resice pojavljuju se velike krvne žile (arterija i vena), okružene kapilarama koje ih povezuju s kapilarnom mrežom na rubnim dijelovima strome. Promjer lumena dviju središnjih krvnih žila je 60 do 75 μm , a žila kapilarne mreže 26 do 34 μm . Središnja resična arterija dovodi CO_2 i produkte metabolizma iz fetalne krvi u posteljicu, a vena odvodi hranjive tvari i O_2 iz placente u fetalnu krv. Periferna kapilara mreža u bliskom je kontaktu s trofoblastom na površini resice i zajedno s njim sudjeluje u materno-fetalnoj izmjeni hranjivih tvari i plinova tijekom prvog tromjesečja trudnoće. Od 11. do 12. tjedna nezrele intermedijarne resice imaju dvije velike krvne žile čiji je lumen promjera 70 do 90 μm . Promjer lumena žila kapilarne mreže sličan je promjeru iz prethodnoga razvojnog stadija. U matičnoj resici kapilara mreža ispod trofoblasta nestaje, a u sredini strome diferenciraju se velike krvne žile. Iz lateralnih dijelova stijenke tih žila granajućom angiogenezom nastaju nove krvne žile. Migraciju endotelnih stanica reguliraju njihovi integrini i kadherini te sastojci mezenhinskog matriksa. Prije 20. tjedna trudnoće rast resica i njihovih kapilara sve je sporiji, a dominira granajuća angiogeneza. Napredovanjem trudnoće povećava se protok fetalne krvi u resičnim krvnim žilama i majčine krvi u interviloznom prostoru. Placenta mora zadovoljiti povećane metaboličke potrebe rasta i razvoja fetusa. Placentarne krvne žile stalno se mijenjaju kako bi se iskoristila sve veća koncentracija kisika u majčinoj krvi. Do 21. tjedna razvoja u granajućoj angiogenezi omjer između duljine kapilare i duljine resica iznosi 4 : 1. Taj se omjer naglo smanjuje zbog smanjenja broja perifernih kapilara, a u negranajućoj angiogenezi omjer ponovno raste. U drugoj polovici trudnoće pojavljuju se negranajuća angiogeneza i brzi rast resica. Od 24. tjedna do kraja trudnoće izmjenjuju se granajuća i negranajuća angiogeneza. Od 25. tjedna razvoja do kraja trudnoće prevladava negranajuća angiogeneza. Istodobno s porastom pO_2 nestaju kapilare iz nezrelih intermedijarnih resica, a u matičnim resicama nastaje tunika medija velikih krvnih žila. Razvojem zrelih intermedijarnih resica visok pO_2 zajedno s niskom razinom VEGF-A i visokom razinom PlGF-a potiču negranajuću angiogenezu. Razvijaju se terminalne resice u kojima je smanjena proliferacija stanica citotrofoblasta. Kapilare terminalnih resica nastaju produljenjem postojećih kapilara proliferacijom njihovih endotelnih stanica. Povećava se ekspresija PlGF-a i receptora VEGFR-1. Čimbenik rasta posteljice, koji sintetiziraju sinciotrofoblast i medija resičnih krvnih žila suprimira granajuću angiogenezu i utječe na stvaranje slabo razgrananih terminalnih kapilarnih petlji. Ravnotežu između stvaranja VEGF-A i PlGF-a regulira pO_2 . Hipoksija u ranoj trudnoći uzrokuje porast koncentracije VEGF-A i smanjeno izlučivanje PlGF-a. Napredovanjem trudnoće raste pO_2 , ekspresija VEGF-A se smanji,

a pojačava se ekspresija PlGF-a i VEGFR-1 (sFlt1). Proces razvoja novih resica i angiogeneza moraju biti usklađeni. Povećana ekspresija VEGF-A, angiopoetina-1 (Ang-1) i PlGF-a uzrokuje porast broja krvnih žila i njihove propusnosti. Katkad se u resicama naglo povećava volumenska gustoća kapilara (tzv. hipervaskularizacija resica). Volumenska gustoća placentarnih krvnih žila povećava se do kraja trudnoće. Krvne žile placentarnih resica poslije se diferenciraju u arterije i vene ovisno o malim razlikama veličine otpora primitivnih žila protoku fetalne krvi, o tlakovima oko i unutar resice te o čimbenicima okoliša. Početni oblici krvnih žila resica nemaju u svojoj stijenci mišićne stanice. Poslije se tijekom razvoja u perivaskularnom dijelu strome pojavljuju miofibroblasti koji su smješteni uzdužno, tj. paralelni su s krvnim žilama. Oni sadržavaju intermedijarne filamente vimentin i dezmin, kontraktilne proteine tipične za glatku mišićnu stanicu te enzime dipeptid-peptidazu IV (DDP) i NO-sintetazu (NOS). Placentarne krvne žile nisu inervirane pa u regulaciji vazomotorne aktivnosti i žilnog tonusa ne sudjeluje živčani sustav. Umbilikalne vene i vene posteljičnih resica sadržavaju u kružnome sloju tunike medije glatke mišićne stanice povezane brojnim čvrstim spojevima. One su odgovorne za ritmične kontrakcije cijele medije i kontroliraju veličinu protoka fetalne krvi. Do kraja trudnoće resične se krvne žile resica razvijaju angiogenezom. Poremećeni razvoj krvnih žila placentarnih resica pojavljuje se u zastoju fetalnog rasta i u preeklampsiji.

Literatura

1. Pijnenborg, R. and Vercruyse, L. A.A.W. Hubrecht and the naming of the trophoblast. *Placenta*. 2013;34:314–319. doi:10.1016/j.placenta.2013.01.002
2. Grbeša Đ: Razvoj i građa posteljice u: Đelmiš J, Orešković S. urednici: Fetalna medicina i opstetricija, Medicinska naklada, Zagreb; 2014: 62–75.
3. Genbacev O, Joslin R, Damsky CH, Polliotti BM, Fisher SJ. Hypoxia alters early gestation human cytotrophoblast differentiation/invasion in vitro and models placental defects that occur in preeclampsia. *J Clin Invest*. 1996;97:540–550.
4. Wilcox A. J., Baird, D. D., Weinberg, C. R. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *N Engl J Med*. 1999;340:1796–1799.
5. Usadi, R. S. et al. Distribution of pinopodes in secretory phase: A prospective, randomized assessment in healthy, fertile women. *Fertil. Steril*. 2001;76:S39.
6. Benirschke, K. The Placenta: Structure and Function. *Neoreviews*; 2004;5:e252–e261.
7. William's Obstetrics, (ed. Cunningham, FG) 21. izdanje, McGraw-Hill, New York. 2001.
8. Hertig A T, Rock J, Adams E C. A description of 34 human ova within the first 17 days of development. *Am. J. Anat*. 1956; 98:435–493. doi:10.1002/aja. 1000980306.
9. Moffett A, Loke C. Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nat. Rev. Immunol*. 2006;6:584–594. doi: 10.1038/nri1897.
10. Demir, K. et al. Fetal vasculogenesis and angiogenesis in human placental villi. *Acta Anat*. 1989;136:190–203.

11. Pijnenborg R, Dixon G, Robertson W. B, Brosens I. Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks of pregnancy. *Placenta*. 1980;1:3–19. doi:10.1016/S0143-4004(80)80012-9.

12. Pijnenborg R, Vercruyse L, Hanssens M. The uterine spiral arteries in human pregnancy: facts and controversies. *Placenta*. 2006;27:939–958. doi:10.1016/j.placenta.2005.12.006.

13. Burton, G. J. The fine structure of the human placental villus as revealed by scanning electron microscopy. *Scanning*

Microsc. 1987;1:1811–1828.1999; Hustin J, Schaaps J-P. Echo-graphic [corrected] and anatomic studies of the maternotrophoblastic border during the first trimester of pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 1987;157:162–168. doi:10.1016/S0002-9378(87)80371-X

Adresa autora: Josip Delmiš, Medicinski fakultet, Šalata 3, 10000 Zagreb; *e-pošta:* josip.djelmis@zg.t-com.hr

Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital Center Zagreb,
School of Medicine, University of Zagreb

PLACENTAL DEVELOPMENT

Josip Delmiš

Review article

Key words: decidua, blastocyst, trophoblast, spiral artery, VEGF, PlGF, VEGFR-1, placenta

SUMMARY. The purpose of the placenta is to provide optimal conditions for the development of the fetus. This review article describes the development of the placenta and the role of angiogenesis factors. The development of the placenta in the first trimester of pregnancy is one of the main factors on which the further course and outcome of pregnancy depends. The invasion of trophoblasts into the blood vessels of the mother begins in the spiral arteries of the decidua in the first trimester of pregnancy, and continues in the early second trimester of pregnancy by invasion into the radial arteries of the muscular layer of the uterus. By incorporating trophoblast cells into the blood vessel walls, they lose the ability to respond to neurovascular stimuli and remain permanently enlarged, of reduced tone and resistance, allowing very high blood flow from the mother to the placenta. Uterine wall blood vessels that are not altered by the entry of trophoblast cells are not capable of responding to increased blood flow requirements from the uterus to the placenta during pregnancy. Angiogenesis is important for rapid placental growth. The placenta creates several growth factors that are known as potent angiogenic factors. The development of placental vessels is regulated by numerous angiogenic and anti-angiogenic factors. The main stimulators of angiogenesis are members of the VEGF family (VEGF-A to VEGF-F and PlGF), platelet derived growth factor (PDGF), angiogenin (Ang -1 and Ang-2). Angiostatin and endostatin are specific inhibitors, non-specific inhibitors are interferons α , β , and γ , and platelet factor 4. Receptors for VEGF-A are Fms-like tyrosine kinase-1, Flt -1 or VEGFR-1) and a kinase domain receptor (KDR / Flk-1 or VEGFR-2).