

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za biologiju,*
Klinika za ginekologiju i porodništvo Opće bolnice »Sveti duh«, Zagreb**

ULOGA GLIKOPROTEINA U PROCESIMA IMPLANTACIJE I PLACENTACIJE THE ROLE OF GLYCOPROTEINS IN THE PROCESSES OF IMPLANTATION AND PLACENTATION

Ljiljana Šerman,* Alan Šerman**

Pregled

Ključne riječi: glikoproteini, implantacija, placentacija

SAŽETAK. Implantacija se danas smatra centralnim događajem u razvoju zametka sisavaca, a zahtijeva usklađen odnos između dvije vrste tkiva koja dolaze u interakciju: trofoblasta i sluznice maternice. Za razumijevanje molekularnih mehanizama implantacije od ključnog je značenja poznavanje zbivanja na razini međustaničnog prepoznavanja i međuodnosa stanica i međustaničnog matriksa. Glikoproteini se općenito smatraju potencijalnim medijatorima staničnih interakcija u brojnim biološkim sustavima, uključujući procese prepoznavanja i adhezije. Ovaj rad donosi sustavni pregled glikoproteinskih molekula koje sudjeluju u procesima implantacije i placentacije te njihovu ulogu u navedenim događajima.

Review

Key words: glycoproteins, implantation, placentation

SUMMARY. The proces of implantation is considered nowadays to be the central event in the development mammalian embryo. Implantation requires very subtle interactions between two tissue types: the trophoblast of the embryo and the endometrium of the uterus. In order to better understand the molecular mechanisms of implantation, it is crucial to investigate events of intercellular recognition and interaction between cells and extracellular matrix. Glycoproteins are considered to be the potential mediators of cellular interactions in a number of biological systems, including processes of cellular recognition and adhesion. This paper reports on an extended review of glycoprotein molecules that are responsible for biological processes of implantation and placentation, and studies their roles in these events.

Implantaciju definiramo kao prostorno i vremenski ograničen proces u kojem zametak prijanja uz stijenku maternice, penetrira kroz epitel te potom u cirkulatorni sustav majke u svrhu formiranja placente. Započinje dva do tri dana nakon što je oplodena jajna stanica ušla u maternicu, odnosno 18-ti ili 19-ti dan ciklusa, dakle petog do sedmog dana nakon oplodnje. Mjesto implantacije obično je gornja, stražnja stijenka maternice u srednjoj sagitalnoj ravnini.¹ Na žalost, implantacija je danas samo djelomično upoznat proces, a njezina složenost objašnjava nisku fertilitnost čovjeka kao vrste. Poremećaji na ovoj razini podloga su mnogih kasnijih bolesti vezanih uz trudnoću.²

Nakon oplodnje, jajna stanica započinje proces brazdanja, tj. niz mitotičkih dioba u kojem nastaje prvo morula, a nakon stvaranja šupljine blastocela unutar nje govorimo o blastocisti. Ona se sastoji od unutarnjeg sloja embrioblasta iz kojeg će se razviti sve embrionalne i mnoge izvan-embrionalne stanice, te vanjskog sloja trofoblasta koji je specijaliziran za ostvarivanje kontakta zametka i maternice.³

Humana blastocista ostaje u uterinom sekretu otprilike 72 sata nakon čega zona pellucida isčezava što je preduvjet početku implantacije.⁴

Za razliku od prijašnjih shvaćanja, danas se zna da implantaciju podrazumijeva interakciju majke i djeteta, tj. dijalog između blastociste i sluznice maternice. O uspješnosti ovog dijaloga ovisi i nastavak započete trud-

noće. Da bi se on mogao odvijati, oba sudionika moraju doseći određeni stupanj zrelosti bez koje je ova komunikacija nemoguća. Za oplodenu stanicu to je stadij blastociste, a za endometrij neke specifične promjene nazvane »fazom receptivnosti«. Čini se da je ljudski endometrij općenito neprijemljiv za blastocistu, osim u vrlo kratkom vremenskom razdoblju menstrualnog ciklusa što definira pojam »implantacijskog prozora« ili »implantacijskog okna«. Naime, Kliman je sa suradnicima uspio dokazati da samo endometrij 19-tog dana menstrualnog ciklusa (ako pratimo idealan ciklus od 28 dana) dopušta adheziju trofoblasta na površinski epitel.⁷

Otvaranju »implantacijskog prozora« znatno doprinosi stanjenje glikoproteinskog omotača na epitelnim stanicama reproduktivnog trakta mnogih vrsta. Ovaj glikokaliks velikim dijelom čine mucini, glikoproteini koji na serinskom ili treoninskom ostatku imaju kovalentno vezane oligosaharide.⁸ Biokemijskom analizom mišjih materničnih epitelnih stanica, dokazano je da je riječ o integralnim proteinima. Općenito, oni djeluju kao zaštitne molekule jer ometanje njihova nakupljanja povećava osjetljivost maternice na proteolitičko djelovanje enzima. Također priječe prijanjanje zametka uz sluznicu maternice, a null-mutantni miševi za jedan takav mucin (Muc-1) su u kroničnom stanju receptivnosti *in vitro*.⁹

Početak implantacije ostvaruju dvije osnovne vrste molekula: međustanične adhezijske molekule te adhezijske molekule stanica i međustanične tvari.¹⁰ Postoje

dvije različite skupine međustaničnih adhezijskih molekula, a razlikuju se u potrebi za ionima kalcija, pa tako govorimo o kalciju ovisnim i kalciju neovisnim međustaničnim adhezijskim molekulama. Superobitelj integralnih transmembranskih glikoproteina koji ostvaruju o kalciju ovisnu adheziju stanica nazivamo kadherinima.¹¹ Veći dio ovakve molekule smješten je na izvanstaničnom licu membrane, obično presložen u pet domena od kojih je svaka građena od otprilike 100 aminokiselinskih ostataka. One sadrže vezna mjesta za kalcij.¹²

Kadherini se sastoje od dvije evolucijski različite podobitelji: kadherini tipa 1 (također poznati kao klasični kadherini) i kadherini tipa 2.¹³ Klasični kadherini ostvaruju međustaničnu interakciju homofilnim tipom vezanja (isti dio molekule na jednoj stanici veže se s istim dijelom molekule na drugoj stanici) dok kadherini tipa 2 pokazuju vrlo malo homologije s onima klasičnog tipa te posjeduju neke zajedničke karakteristike koje nisu nađene u kadherinima tipa 1.¹⁴ Unatoč tome što njihova regija odgovorna za ostvarivanje međustanične interakcije nije do sada u potpunosti poznata, zna se da su sposobni ostvariti staničnu adheziju homofilnim tipom vezanja. Ovdje se mora posebno spomenuti kadherin-11 čije je nakupljanje u stromi endometrija povezano s početkom implantacije u čovjeka, a njegova ekspresija raste u stromi koja prolazi proces decidualizacije.¹⁵ Istovremeno ima ulogu u diferencijaciji stanica trofoblata i povećanju sinteze mRNA za β podjedinicu hCG-a, biokemijskog markera diferencijacije trofoblata.¹⁶

Molekule odgovorne za kalcij neovisnu međustaničnu adheziju (engl. CAMs, cell adhesion molecules) većinom pripadaju velikoj imunoglobulinskoj obitelji nazvanoj tako što u svojem izvanstaničnom dijelu sadrže jednu ili više imunoglobulinskih domena koje karakteriziraju molekule protutijela.¹⁷ Na stanicama ljudskog trofoblata prisutne su adhezijske molekule koje posjeduju lance sijalinske kiseline čiji se ligandi, E- i P-selektini, nalaze na endotelnim stanicama bazalne decidue pa se smatraju odgovornim za hemokorijalnu placentaciju.¹⁸ Od velike je važnosti međustanična adhezijska molekula koja ostvaruje kontakt između krvnih pločica i endotela (engl. PECAM, platelet-endothelial cell adhesion molecule), a nalazi se u vaskularnom endotelu. Ekspresija PECAM-a koja je otkrivena na invazivnom trofoblastu mogla bi govoriti u prilog pretpostavci da ta molekula omogućava i održava adheziju između stanica invazivnog citotrofoblata i stanica endotela arterija tijekom modifikacije spiralnih u uteroplacentarne arterije.¹⁹

Adhezijske molekule odgovorne za ostvarivanje kontakta između stanica i međustanične tvari su integralni membranski glikoproteini nazvani integrinima. Grade ih dvije nekovalentno vezane transmembranske proteinske podjedinice alfa i beta, koje zajedno sudjeluju u stvaranju veznog mjesta za proteine izvanstaničnog matriksa.²⁰

Ekspresija jednog takvog integrina nazvanog beta integrin po vrsti lanca beta u ovom dimeru, u humanom je endometriju povećana u vrijeme implantacije.²¹ Pažljiva

sinhronizacija embrijske i maternične receptivnosti neophodna je za uspješnost ovog procesa usađivanja blastociste u sluznicu maternice.²² Interval za vrijeme kojeg se ona uspostavlja može odgovarati navodnom »implantacijskom oknu« ili »implantacijskom prozoru«, razdoblju menstrualnog ciklusa u kojem je uterus receptivan za blastocistu.²³ Specifičan integrin, $\alpha_v\beta_3$ (receptor za vitronektin) pojavljuje se na epitelnim stanicama endometrija u času otvaranja implantacijskog okna ukazujući da ovaj integrin igra važnu ulogu u procesu implantacije.²⁴ Budući da ga trofoblast i endometrij posjeduju na membranama svojih stanica, moglo bi se pretpostaviti da je uključen u interakciju endometrija i trofoblata koja se odvija za vrijeme implantacije.²⁵

Zna se da decidualne stanice izlučuju u svoju okolinu glikoproteine laminin, kolagen i fibronektin koji se za vrijeme procesa implantacije vezuju na integrinske receptore na stanicama trofoblata, kao npr. integrin $\alpha_6\beta_1$ -receptor za laminin i integrin $\alpha_5\beta_1$ -receptor za fibronektin.²⁶ Receptor za fibronektin prepoznaje slijed aminokiselina arginin – glicin – asparagin ili tzv. RGD sekvencu koja je prisutna u mnogim proteinima izvanstaničnog matriksa.²⁷ Fibronektin se također smatra važnim u održavanju integriteta decidualnih stanica. Prisutnost $\alpha_6\beta_1$ integrina dokazana je i u jajnoj stanici sisavaca, a predstavlja vezno mjesto fertilina β , glikoproteina spermija.²⁸ Ovu vezu pri oplodnji pospješuje glikoprotein CD9 koji djeluje kao molekula koja povezuje i stabilizira molekularne komplekse.²⁹

Laminin je sljedeći protein bogato nazočan u glandularnoj i endotelnoj bazalnoj membrani posteljice. Pretpostavlja se da ovaj trimer (sastoji se od podjedinica A, B1 i B2 koje formiraju križnu molekulu) igra ulogu u kontroli adhezije, migracije i diferencijacije invadirajućeg trofoblata, a uz to naravno i u uspješnoj implantaciji blastociste.³⁰

U lutealnoj fazi menstrualnog ciklusa i prvom trimestru trudnoće dramatično se povećavaju glikoproteini izvanstaničnog matriksa – poput fibrilina-1. On se združuje s proteinima bazalne lamine i smatra se da ima važnu ulogu u održavanju integriteta decidua stanica tijekom trudnoće kao i da može, zajedno s ostalim ekstracelularnim proteinima sudjelovati u regulaciji invazije trofoblata.³¹ Usko združen s lamininom je glikoprotein entaktin, za kojeg se misli da igra važnu ulogu u stvaranju bazalne membrane i povezivanju stanica.³² Tu funkciju ostvaruje pomoću RGD veznog mjesta pa se pretpostavlja da bi za vrijeme implantacije mogao biti važan u ostvarivanju invazije endometralne bazalne membrane.³³ Sljedeći ekstracelularni protein trofoblata koji se vrlo rano pojavljuje u stanicama za vrijeme implantacije je trombospondin. Mehanizam kojim on osigurava rast trofoblata je njegova adhezivna sposobnost i potpomaganje migracije stanica koju ostvaruje povećanjem produkcije plazmina.³⁴

U mehanizme adhezije i migracije trofoblata uključen je glikozilirani fosfoprotein osteopontin. Recep-

tor mu je iz integrinske α_v obitelji, eksprimiraju ga stanice sinciotrofoblasta, a citotrofoblast ga proizvodi.³⁵ Vezivanje osteopontina na njegov $\alpha_v\beta_3$ -integrinski receptor mogao bi biti kritični signalni put koji doprinosi integritetu korionskih resica, a mogao bi igrati ulogu u komunikaciji maternice i zametka za vrijeme procesa placentacije.³⁶ Pojačanu ekspresiju osteopontina u humanom trofoblastu stimulira progesteron i to parakrinim mehanizmom.³⁷ Za vrijeme embrionalnog razvoja miša, stanice trofoblasta eksprimiraju površinski stanični heparan sulfat proteoglikan nazvan sindekan-1, koji se veže na proteine izvanstaničnog matriksa pa time pokazuje svoju potencijalnu ulogu u komunikaciji zametka i decidue.³⁸

Da bi se nakon adhezije trofoblasta na sluznicu maternice nastavila uspješna implantacija, potrebno je osigurati daljnje napredovanje zametka što se ostvaruje putem proteaza. Te enzime koji razgrađuju proteine izvanstanične tvari izlučuju stanice trofoblasta, a dijelimo na dvije velike skupine:

- serin proteaze – koje u svom aktivnom mjestu posjeduju visoko reaktivni serinski ostatak³⁹
- metaloproteinaze – čija aktivnost ovisi o prisutnosti iona Ca^{2+} ili Zn^{2+} .⁴⁰

Važna serin proteaza uključena u razgradnju matriksa je urokinazni-tip plazminogen aktivatora (U-PA). Ona je vrlo važan okidač u proteolitičkoj kaskadi jer cijepa plazminogen do aktivnog oblika, plazmina koji razgrađuje fibronektin i laminin.⁴¹ U miša, produkcija plazminogen aktivatora (PA) korelira s invazijom blastociste, a mišji zametak nesposoban za implantaciju pokazuje smanjenu količinu PA.⁴² Trofoblast u kulturi sintetizira PA, ali i modulatore njegove aktivnosti, PAI 1 i 2 (engl. plasminogen activator inhibitor). PAI-2 je nađen samo u resičastom sinciotrofoblastu, ali ne u citotrofoblastu ni u invadirajućem trofoblastu na mjestu implantacije.⁴³

Matriks metaloproteinaze su još uvijek rastuća enzimska obitelj koja se dijeli na četiri skupine s obzirom na specifičnost djelovanja i lokalizaciju:

1. Kolagenaze – razgrađuju većinu fibrilarnog kolagena I, II i III te uključuju intersticijsku kolagenazu (MMP-1), neutrofilnu kolagenazu (MMP-8) i nedavno izoliranu tumor pripadajuću kolagenazu-3.⁴⁴
2. Gelatinaze razgrađuju većinom denaturirani kolagen i prirodni kolagen IV, a uključuju gelatinazu A, 72 kDa tip IV kolagenazu (MMP-2) i gelatinazu B, 92 kDa tip IV kolagenazu (MMP-9).⁴⁵
3. Stromijelizini imaju najširi spektar supstrata (fibronektin, laminin, kolagen III, IV i V, elastin, proteoglikane), a u njih ubrajamo stromijelizin-1 (MMP-3), stromijelizin-2 (MMP-10), stromijelizin-3 (MMP-11), matrilizin (MMP-7) i metalo-elastazu iz ljudskih plućnih, alveolarnih makrofaga.⁴⁶
4. Membranski tip matriks metaloproteinaza (MT-MMPs) čini novu skupinu, a uključuje MT-MMP-1, -2 i -3. Nalaze se na površini stanica, a neke sudje-

luju u aktivaciji drugih metaloproteinaza iz neaktivnog u aktivni oblik.⁴⁷

Iz skupine metaloproteinaza posebno mjesto zauzima gelatinaza B, eksprimirana i aktivirana u blastocisti miša. Njena ekspresija povezuje se s invazivnim potencijalom, a inhibicija zaustavlja lizu ekstracelularnog matriksa.⁴⁸

Za vrijeme placentacije počinju se unutar trofoblasta razlikovati dva osnovna tipa stanica: resičasti trofoblast koji prekriva površinu resica i sudjeluje u transportu tvari i kisika od majke ka plodu (engl. villous trophoblast, VT) i izvanresičasti trofoblast koji pokazuje invazivna svojstva i odgovoran je za invaziju decidue majke (engl. extravillous trophoblast EVT).⁴⁹ Unutar resica svih gestacijskih doba ostaje populacija nediferenciranog citotrofoblasta.⁵⁰ Stapanjem stanica citotrofoblasta koje proliferiraju i diferenciraju se na mjestu dodira majčinog i fetalnog tkiva nastaje sincicij. Kao i sur. su još 1988. godine primijetili da humani citotrofoblast *in vitro*, u prisutnosti fetalnog telećeg seruma, agregira i kroz 24–96 sati stvara funkcionalni sinciotrofoblast.⁵¹ Hormoni koje sintetizira sinciotrofoblast kritični su za održavanje trudnoće poput humanog placentalnog laktogena (engl. placental lactogen-I, PL-I), PAI-2 (engl. plasminogen activator inhibitor), hormona rasta, kolagenaza, trombomodulina i receptora za čimbenike rasta.⁵² Najveći placentarni proizvod koji se za vrijeme trudnoće otpušta u majčinu cirkulaciju je PSG (engl. pregnancy specific glycoproteins), a u čovjeka predstavlja obitelj od 11 bliskih glikoproteina (PSG 1–8, PSG 11–13) nepoznate uloge.⁵³ Prije se vjerovalo da se radi o jednom proteinu, no molekularnim kloniranjem cDNA i genomske DNA i fizičkim mapiranjem PSG regije na kromosomu 19q13.2 otkriveno je da se radi o grupi glikoproteina kodiranoj s 11 različitih, blisko vezanih gena. Njihova interakcija s receptorima poput integrina mogla bi pospješiti invaziju trofoblasta kroz deciduu, narušavajući normalne decidualne veze između tih stanica i proteina izvanstanične tvari.⁵⁴ Ove glikoproteine ubrajamo u obitelj karcinoembrionalnog antigena srodnih proteina (engl. CEA-related proteins), podgrupe imunoglobulinske superobitelji. CEA obitelj uključuje veliki broj visoko glikoziliranih proteina od kojih su neki, poput Cea 5, karakteristični samo za pojedine vrste (Cea 5 samo kod glodavaca) dok ih nema u humanoj CEA obitelji.⁵⁵

Kako bi se uspostavila uspješna placentacija pod kojom se podrazumijeva uspostava dvaju krvotočnih sustava, interviloznog i fetalnog, invazivni trofoblast mora probiti staničnu kolonu i migrirati protiv gradijenta krvnog tlaka u decidualne i intramiometrijske odsječke spiralnih arterija pretvarajući ih tako u uteroplacentarne krvne žile, tzv. epitelno-mezenhimska tranzicija.⁵⁶ Razlikujemo dva tipa izvanresičastog trofoblasta (EVT): endovaskularni tip koji je odgovoran za invaziju u spiralne arterije majke te intersticijski.⁵⁷ Današnja literatura opisuje angiogenezu kao esencijalnu fiziološku kom-

ponentu implantacije te razvoja posteljice i zametka, a primjena inhibitora angiogeneze u miša dovodi do potpunog izostanka normalnog razvoja kako zametka tako i posteljice.⁵⁸ Histološki, invazija trofoblasta rezultira razaranjem komponenti izvanstaničnog matriksa i razvojem dilatiranih krvnih žila u uteroplacentarnoj cirkulaciji. Biološki, remodeliranje krvnih žila posredovanjem trofoblasta unutar placentarnog sijela, omogućava značajnu rastezljivost, što je prilagodba na povećani krvni protok potreban za vrijeme trudnoće. Dakle, invazija trofoblasta povezana je s degeneracijom vaskularnog endotela i gubitkom mišićno-elastičnog sloja, pa arterija koja je prethodno bila uskog lumena i debele stijenke, postaje vrećasti prostor labave fibrinoidne stijenke.⁵⁹ Invazija trofoblasta u spiralne arterije maternice temeljni je preduvjet uspješnom razvoju placentalne cirkulacije, tijekom kojeg arterije gube kontraktilne sposobnosti.⁶⁰ Ako se ovaj proces uspješno ne dovrši, mogući su razni poremećaji razvoja placente i zametka koji mogu dovesti do spontanog pobačaja. Važan faktor uspješne angiogeneze je i protein proliferin koji izlučuju gigant-ske stanice trofoblasta, a njegova je uloga potvrđena činjenicom da mutirane placente s nižom razinom proliferina pokazuju smanjeni rast krvnih žila.⁶¹

Vrlo je vjerojatno da je visoko proliferativna faza razvitka trofoblasta za vrijeme rane embriogeneze regulirana brojnim faktorima rasta i citokinima koje stvaraju majčino i fetalno tkivo, a djeluju na autokrini i parakrini način. Njihovi topljivi receptori pronađeni su u većoj koncentraciji u retroplacentarnom nego u odgovarajućem perifernom serumu trudnih žena.⁶²

Među najznačajnijima za fertilizaciju i implantaciju svakako je LIF (engl. leukemia inhibitory factor). To je multifunkcionalni glikoprotein koji regulira rast i diferencijaciju zametnih stanica, perifernih neurona, osteoblasta, hepatocita, adipocita i dr.⁶³ Miševi koji ne mogu sintetizirati ovaj citokin, stvaraju normalan zametak koji se, međutim, ne može implantirati.⁶⁴ Njegova maksimalna ekspresija u čovjeka je između 19-tog i 25-tog dana menstrualnog ciklusa što odgovara otvaranju »implantacijskog prozora«.⁶⁵ Čimbenici rasta poput interleukina-1, TNF- α , PDGF i TGF β , stimuliraju stromu endometrija na stvaranje LIF-a, koji onda značajno smanjuje produkciju hCG-a, a povećava ekspresiju onkofetalnog fibronektina.⁶⁶

Utvrđeno je da epidermalni faktor rasta (EGF) pojačava sintezu humanog korionskog gonadotropina u trofoblastu, a njegov je receptor (c-erb-B1) pronađen na stanicama citotrofoblasta i sinciotrofoblasta.⁶⁷ EGF stimulira proliferaciju trofoblasta *in vitro*, a blokira djelovanje inflamatornih citokina: faktora nekroze tumora α (TNF α) i gama interferona (IFN γ) koji induciraju apoptotsku smrt stanica humanog cito- i sinciotrofoblasta.⁶⁸ Također je pokazano da transformirajući faktor rasta β (TGF- β) *in vitro* reducira proliferaciju trofoblasta, potiče njegovu diferencijaciju inducirajući stvaranje

sincicija, a inhibira njegovu invazivnost stimulirajući ekspresiju tkivnih inhibitora metaloproteinaza.⁶⁹

Guller sa suradnicima ukazuje na oprečni učinak ovog faktora rasta u kombinaciji s glukokortikoidima, na regulaciju ekspresije placentarnih izvanstaničnih proteina, posebno fibronektina.⁷⁰ Neosporivo je međutim, da ovaj čimbenik rasta ima mnogo bioloških učinaka uključujući kontrolu rasta stanica, njihovu diferencijaciju, migraciju i stvaranje izvanstaničnog matriksa, a radi se o procesima nužnim za normalan embrionalni razvoj.⁷¹

Obilje receptora za granulocitni faktor rasta kolonija (engl. granulocyte-colony stimulating factor ili G-CSF), naročito u diferenciranom sinciotrofoblastu ukazuje na pretpostavku da bi on mogao imati ulogu u ostvarivanju funkcije placente, a koncentracija u serumu mu se bitno mijenja ovisno o fazi menstrualnog ciklusa.⁷² Utvrđeno je da njemu srodni citokini stimuliraju ljudsku i mišju placentu na proliferaciju pa na taj način sudjeluju u kontroli njenog rasta.⁷³ Faktor rasta kolonija makrofaga (engl. macrophage-colony stimulating factor ili M-CSF) povisuje ekspresiju i sekreciju fibronektina u humanom trofoblastu i aktivira njegov specifični integrinski receptor te na taj način u vrijeme implantacije sudjeluje u autokrino/parakrinom mehanizmu regulacije invazije trofoblasta.⁷⁴

U rastućoj placenti, uspostavljanje vaskularne mreže odvija se putem dva procesa: vaskulogeneze, koja predstavlja *in situ* stvaranje primordijalnih krvnih žila iz hemangioblasta, i angiogeneze, rasta novih krvnih žila uz nakupljanje već postojećih. Ovaj drugi proces zahtijeva proliferaciju, migraciju endotela kao i premodeliranje izvanstaničnog matriksa, a na njega djeluju peptidni faktori rasta među kojima je posebno važan faktor rasta vaskularnog endotela (engl. vascular endothelial growth factor ili VEGF), za kojeg se zna da direktno utječe na endotel krvnih žila tj. ubrzava proliferaciju i permeabilnost te djeluje kao kemoatraktant endotelne stanice *in vitro*.⁷⁵ Citotrofoblast izražava na svojoj membrani integrinski $\alpha 4$ receptor koji veže molekulu VCAM-1 *in vitro*, što ukazuje na moguću ulogu ovog para u ostvarivanju veze između citotrofoblasta i endotela krvnih žila endometrija te unutarnje trećine miometrija.⁷⁶

Budući da su svi navedeni čimbenici, koji sudjeluju u procesima implantacije i placentacije, po kemijskom sastavu glikoproteini, nedvojbena je uloga glikoproteina u odvijanju ovih procesa, kako kod čovjeka tako i kod ostalih vrsta. Njihovo poznavanje nužno je u otkrivanju etiopatogeneze mnogih bolesti vezanih uz humanu trudnoću. Svrha ovog članka bila je dati što temeljitiji pregled i time doprinijeti razumijevanju svih onih glikoproteina koji su povezani sa tako važnim procesima u embrionalnom razvoju čovjeka. Ovome u prilog govore i naši rezultati dobiveni uspoređivanjem glikoproteinskog sastava normalne posteljice i posteljice kod zadržanog pobačaja (engl. missed abortion).⁷⁷

Literatura

1. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. 6th izd. Baltimor: Lippincott Williams & Wilkins; 1999;261–8.
2. Rossant J, Cross JC. Placental development: lessons from mouse mutants. *Nat Rev Genet* 2001;2(7):538–48.
3. Gardner RL, Davies TJ. Trophoctoderm growth and bilateral symmetry of the blastocyst in the mouse. *Hum Reprod* 2002;17 (7):1839–45.
4. Sadler TW. Langmanova medicinska embriologija. 7. izd. Zagreb: Školska knjiga, 1996;34.
5. Ledee-Bataille N, Bonnet-Chea K, Hosny G et al. Role of the endometrial tripod interleukin-18, -15, and -12 in inadequate uterine receptivity in patients with a history of repeated *in vitro* fertilization-embryo transfer failure. *Fertil Steril* 2005;83 (3):598–605.
6. Mirkin S, Arslan M, Churikov D et al. In search of candidate genes critically expressed in the human endometrium during the window of implantation. *Hum Reprod* 2005;20(8):2104–17.
7. Kliman HJ, Feinberg RF, Haimowitz JE. Human trophoblast-endometrial interactions in an *in vitro* suspension culture system. *Placenta* 1990;11:349–67.
8. Kliman HJ, Feinberg RF, Schwartz LB, Feinman MA, Lavi E, Meadough EL. A mucin-like glycoprotein identified by MAG (Mouse Ascites Golgi) antibodies: menstrual cycle-dependent localization in human endometrium. *Am J Pathol* 1995; 146:166–81.
9. Julian J, Enders AC, Fazleabas AT, Carson DD. Compartmental distinctions in uterine Muc-1 expression during early pregnancy in cynomolgous macaque (*Macaca fascicularis*) and baboon (*Papio anubis*). *Hum Reprod* 2005;20(6):1493–503.
10. Dominguez F, Yanez-Mo M, Sanchez-Madrid F, Simon C. Embryonic implantation and leukocyte transendothelial migration: different processes with similar players? *Faseb J* 2005; 19(9):1056–60.
11. Bamji SX. Cadherins: actin with the cytoskeleton to form synapses. *Neuron* 2005;47(2):175–8.
12. Alberts B, Johnson A, Lewis J et al. *Molecular Biology of the Cell*. 4. izd. New York: Garland Science, 2002;1082–5.
13. Gumbiner BM. Regulation of cadherin-mediated adhesion in morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6(8):622–34.
14. Steel MD, Puddicombe SM, Hamilton LM et al. Beta-catenin/T-cell factor-mediated transcription is modulated by cell density in human bronchial epithelial cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2005;37(6):1281–95.
15. MacCalman CD, Furth EE, Omigbodun A et al. Regulated expression of cadherin-11 in human epithelial cells: a role for cadherin-11 in trophoblast-endometrium interactions? *Dev Dyn* 1996;206:201–21.
16. Getsiosis S, MacCalman CD. Cadherin-11 modulates the terminal differentiation and fusion of human trophoblastic cells *in vitro*. *Dev Biol* 2003;257(1):41–54.
17. Kovacs E. The serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and soluble gp130 (sgp 130) in different tumour stages. Correlation between the two parameters in progression of malignancy. *Biomed Pharmacother* 2005;29 Epub.
18. Jaakkola K, Jokimaa V, Kallajoki M, Jalkanen S, Ekholm E. Pre-eclampsia does not change the adhesion molecule status in the placental bed. *Placenta* 2000;21(2–3):133–41.
19. Wang Y, Zhang Y, Lewis DF et al. Protease chymotrypsin mediates the endothelial expression of P- and E- selectin, but not ICAM and VCAM, induced by placental trophoblasts from pre-eclamptic pregnancies. *Placenta* 2003;24(8–9):851–61.
20. Jane-Lise S, Corda S, Chassagne C, Rappaport L. The extracellular matrix and the cytoskeleton in heart. *Heart Fail Rev* 2000;5(3):239–50.
21. Nardo LG, Bartoloni G, Di Mercurio S, Nardo F. Expression of alpha(v)beta3 and alpha4beta1 integrins throughout the putative window of implantation in a cohort of healthy fertile women. 2002;81(8):753–8.
22. Acosta AA, Elberger L, Borghi M et al. Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women. 2000;73(4):788–98.
23. Minas V, Loutradis D, Makrigiannakis A. Factors controlling blastocyst implantation. *Reprod Biomed Online* 2005;10 (2):205–16.
24. Sueoka K, Shiokawa S, Miyazaki T et al. Integrins and reproductive physiology: expression and modulation in fertilization, embryogenesis, and implantation. *Fertil Steril* 1997;67(5): 799–811.
25. Miner JH, Li C, Mudd JL, Go G, Sutherland AE. Compositional and structural requirements for laminin and basement membranes during mouse embryo implantation and gastrulation. *Development* 2004;131(10):2247–56.
26. Pfarrer CD. Characterization of the bovine placenta by cytoskeleton, integrin receptors, and extracellular matrix. *Methods Mol Med* 2006;121:323–35.
27. Armant DR. Blastocysts don't go it alone. Extrinsic signals fine-tune the intrinsic developmental program of trophoblast cells. *Dev Biol* 2005;280(2):260–80.
28. Kayisli UA, Korgun ET, Akkoyunlu G, Arici A, Demir R. Expression of integrin alpha5 and integrin beta4 and their extracellular ligands fibronectin and laminin in human deciduas during early pregnancy and its sex steroid-mediated regulation. *Acta Histochem* 2005;107(3):173–85.
29. Chen MS, Tung KSK, Coonrod SA et al. Role of the integrin-associated protein CD9 in binding between sperm ADAM 2 and the egg integrin $\alpha_6\beta_1$: Implications for murine fertilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96 (21):11830–5.
30. Kaji K, Kudo A. The mechanism of sperm-oocyte fusion in mammals. *Reproduction* 2004;127(4):423–9.
31. Chen CP, Aplin JD. Placental extracellular matrix: Gene expression, deposition by placental fibroblasts and effect of oxygen. *Placenta* 2003;24 (4):316–25.
32. White CA, Robb L, Salamonsen LA. Uterine extracellular matrix components are altered during defective decidualization in interleukin-11 receptor alpha deficient mice. *Reprod Biol Endocrinol* 2004;2(1):76.
33. Yelian FD, Edgeworth NA, Dong LJ et al. Recombinant entactin promotes mouse primary trophoblast cell adhesion and migration through the Arg-Gly-Asp (RGD). *J Cell Biol* 1993;121 (4):923–9.
34. Goncalves-Mendes N, Blanchon L, Meiniel A et al. Placental expression of SCO-spondin during mouse and human development. *Gene Expr Patterns* 2004;4(3):309–14.
35. Briese J, Oberndorfer M, Patschenik C et al. Osteopontin is colocalized with the adhesion molecule CEACAM1 in the

- extravillous trophoblast of the human placenta and enhances invasion of CEACAM1-expressing placental cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(9):5407–13.
36. Daiter E, Omigbodun A, Wang S et al. Cell differentiation and endogenous cyclic adenosine 3',5'-monophosphate regulate osteopontin expression in human trophoblasts. *Endocrinology* 1996;137 (5):1785–90.
37. Johnson GA, Burghardt RC, Bazer FW, Spencer TE. Osteopontin: roles in implantation and placentation. *Biol Reprod* 2003;69(5):1458–71.
38. Jokima VI, Kujari HP, Ekholm EM et al. Placental expression of syndecan 1 is diminished in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183(6):1495–8.
39. Wong GW, Stevens RL. Identification of a subgroup of glycosylphosphatidylinositol-anchored tryptases. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;336(2):579–84.
40. Daimon E, Wada Y. Role of neutrophils in matrix metalloproteinase activity in the preimplantation mouse uterus. *Biol Reprod* 2005;73(1):163–71.
41. Belkacemi L, Lash GE, Macdonald-Goodfellow SK et al. Inhibition of human trophoblast invasiveness by high glucose concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(8):4846–51.
42. Minas V, Loutradis D, Makrigiannakis A. Factors controlling blastocyst implantation. *Reprod Biomed Online* 2005;10(2):205–16.
43. Ueyama M, Kasatori N, Urayama T et al. Quantitative evaluation of the influence of ovarian steroids on plasminogen activators and inhibitors in human endometrial cells and trophoblasts. *Thromb Res* 2002;108(4):235–44.
44. Curry TE Jr, Osteen KG. The matrix metalloproteinase system: changes, regulation, and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle. *Endocr Rev* 2003;24(4):428–65.
45. Bischof P, Campana A. A putative role for oncogenes in trophoblast invasion? *Hum Reprod* 2000;Suppl 6:51–8.
46. Seshagiri PB, Lalitha HS, Mishra A, Sireesha GV. Embryo-endometrial proteases during early mammalian development. *Indian J Exp Biol* 2003;41(7):756–63.
47. Hernandez-Barrantes S, Bernardo M, Toth M, Fridman R. Regulation of membrane type-matrix metalloproteinases. *Semin Cancer Biol* 2002;12(2):131–8.
48. Seval Y, Akkoyunlu G, Demir R, Asar M. Distribution patterns of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and -9 and their inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2) in the human decidua during early pregnancy. *Acta Histochem* 2004;106(5):353–62.
49. Fujiwara H, Higuchi T, Sato Y et al. Regulation of human extravillous trophoblast function by membrane-bound peptidases. *Biochim Biophys Acta* 2005;1751(1):26–32.
50. Kliman HJ, Feinberg RF. Trophoblast differentiation. U: Barnea ER, Hustin J, Jauniaux E (edt.). *The First Twelve Weeks of Gestation*. New York: Springer-Verlag 1992;3–25.
51. Kao LC, Caltabiano S, Wu S et al. The human villous cytotrophoblast: interactions with extracellular matrix proteins, endocrine function and cytoplasmic differentiation in the absence of syncytium formation. *Develop Biol* 1988;130:693–702.
52. Gude NM, Roberts CT, Kalionis B, King RG. Growth and function of the normal human placenta. *Thromb Res* 2004;114(5–6):397–407.
53. Bebo BF Jr, Dveksler GS. Evidence that pregnancy specific glycoproteins regulate T-cell function and inflammatory autoimmune disease during pregnancy. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005;4(2):231–7.
54. Zhou GQ, Baranov V, Zimmermann W et al. Highly specific monoclonal antibody demonstrates that pregnancy-specific glycoprotein (PSG) is limited to syncytiotrophoblast in human early and term placenta. *Placenta* 1997;18 (7):491–501.
55. Maxwell P. Carcinoembryonic antigen: cell adhesion molecule and useful diagnostic marker. *Br J Biomed Sci* 1999;56(3):209–14.
56. Anin SA, Vince G, Quenby S. Trophoblast invasion. *Hum Fertil (Camb)* 2004;7(3):169–74.
57. Chaddha V, Viero S, Huppertz B, Kingdom J. Developmental biology of the placenta and the origins of placental insufficiency. *Semin Fetal Neonatal Med* 2004;9(5):357–69.
58. Sherer DM, Abulafia O. Angiogenesis during implantation, and placental and early embryonic development. *Placenta* 2001;22 (1):1–13.
59. Blankenship TN, Enders AC. Modification of uterine vasculature during pregnancy in macaques. *Microsc Res Tech* 2003;60 (4):390–401.
60. Lyall F. Priming and remodelling of human placental bed spiral arteries during pregnancy. *Placenta* 2005;26 (Suppl A):S31–6.
61. Corbacho AM, Martinez De La Escalera G, Clapp C. Roles of prolactin and related members of the prolactin/growth hormone/placental lactogen family in angiogenesis. *J Endocrinol* 2002;173(2):219–38.
62. Lien E, Liabakk NB, Austgulen R. Detection of soluble receptors for tumor necrosis factor, interleukin-2 and interleukin-6 in retroplacental serum from normal pregnant women. *Gynecol Obstet Invest* 1996;41 (1):1–4.
63. Metcalf D. The unsolved enigmas of leukemia inhibitory factor. *Stem Cells* 2003;21(1):5–14.
64. Aghajanova L. Leukemia inhibitory factor and human embryo implantation. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1034:176–83.
65. Keltz MD, Attar E, Buradagunta SBA et al. Modulation of leukemia inhibitory factor gene expression and protein biosynthesis in the human fallopian tube. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175 (6):1611–9.
66. Torchinsky A, Markert UR, Toder V. TNF-alpha-mediated stress-induced early pregnancy loss: a possible role of leukemia inhibitory factor. *Chem Immunol Allergy* 2005;89:62–71.
67. Yang M, Lei ZM, Rao ChV. The central role of human chorionic gonadotropin in the formation of human placental syncytium. *Endocrinology* 2003;144(3):1108–20.
68. Chan G, Guilbert LJ. Enhanced monocyte binding to human cytomegalovirus-infected syncytiotrophoblast results in increased apoptosis via the release of tumour necrosis factor alpha. *J Pathol* 2005;207(4):462–70.
69. Dimitriadis E, White CA, Jones RL, Salamonsen LA. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. *Hum Reprod Update* 2005;11(6):613–30.
70. Guller S, Wozniak R, Kong L, Lockwood CJ. Opposing actions of transforming growth factor-beta and glucocorticoids in the regulation of fibronectin expression in the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80 (11):3273–8.

71. Mummery CL. Transforming growth factor beta and mouse development. *Microsc Res Tech* 2001;52 (4):374–86.

72. Salmassi A, Schmutzler AG, Schaefer S et al. Is granulocyte colony-stimulating factor level predictive for human IVF outcome? *Hum Reprod* 2005;20(9):2434–40.

73. McCracken S, Layton JE, Shorter SC et al. Expression of granulocyte-colony stimulating factor and its receptor is regulated during the development of the human placenta. *J Endocrinol* 1996;149:249–59.

74. Omigbodun A, Coukos G, Ziolkiewicz P, Wang CL, Coutifaris C. Macrophage-Colony Stimulating Factor (M-CSFF)

regulates the expression of fibronectin and its $\alpha 5$ integrin receptor in human trophoblasts. *Endocrinology* 1998;139 (4):2190–3.

75. Levine RJ, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in preeclampsia. *Clin Obstet Gynecol* 2005;48(2):372–86.

76. Rajashekhar G, Loganath A, Roy AC et al. Hypoxia up-regulated angiogenin and down-regulated vascular cell adhesion molecule-1 expression and secretion in human placental trophoblasts. *J Soc Gynecol Investig* 2005;12(5):310–9.

77. Šerman Lj, Šerman A, Lauc G et al. Comparison of glycosylation patterns of placental proteins between normal pregnancy and missed abortion. *Coll Antropol* 2004;28(1):301–8.

Članak primljen: 27. 01. 2006.; prihvaćen: 15. 03. 2006.

Adresa autorice: dr. sc. Ljiljana Šerman, Zavod za biologiju, Medicinski fakultet, Šalata 3, 10 000 Zagreb, e-mail: sermanl@mef.hr

VIJESTI NEWS

XXIII. PERINATALNI DANI »ANTE DRAŽANČIĆ« Malinska, otok Krk, 24. – 28. listopada 2006.

I. tema. Alternativne metode rađanja i porodna analgezija.

Uvodni referat. Oleg Petrović. **Koreferati.** Nebojša Sindik: Porod u vodi. Dubravko Habek: Položaji za rađanje. Ivica Tadin i Damir Roje: Porod uz partnera. Marija Matanić-Manestar: Porodna analgezija.

II. tema. Potpomognuta oplodnja i perinatalni ishod.

Uvodni referat. Branko Radaković: Novi trendovi u medicinski potpomognutoj oplodnji (MPO) – posljedica promijenjenih uvjeta za MPO u Europi. **Koreferati.** Gordana Zlopaša: MPO – perinatalni ishodi. Branimir Peter: Dugoročni ishod djece rođene poslije MPO. Neda Smiljan-Severinski i Ivan Vlastelić: Nepovoljni ishodi trudnoća nakon postupaka potpomognute oplodnje.

III. tema. Doplerska sonografija u perinatalnoj medicini.

Uvodni referat. Asim Kurjak: Trodimenzionalni »Power Doppler« – dragocjena nova tehnika. **Koreferati.** Ratko Matijević: Doplersko ispitivanje placentarnog protoka u normalnoj i poremećenoj trudnoći. Tomislav Hafner: Dopler u ranoj trudnoći. Oleg Petrović i Aleks Finderle: Dopler u visokorizičnoj trudnoći.

IV. Posebna predavanja. Radoslav Herman i Ivan Krol: CT i NMR dijagnostika u perinatalnoj medicini. Ivica Tadin i Nađa Aračić: Maligne neoplazme i trudnoća. Emilija Juretić: Neinvazivna ventilacija novorođenčadi. Slavko Sakoman: Skrb trudnica ovisnih o opijajima i njihova novorođenčad.

V. Slobodna priopćenja.

Obavijesti o kongresu. Klinika za ginekologiju i porodništvo KBC-a Rijeka. Tel./Faks: 051/658-203; 051-338-555; E-mail: ginekologija@kbc-rijeka.hr. **Kongresne materijale:** predavanja i sažetke slobodnih priopćenja (najviše na jednoj stranici A4 formata) treba poslati na 3,5" disketi u MS Office Word formatu do 01. kolovoza 2006. godine na adresu: Klinički bolnički centar Rijeka, Klinika za ginekologiju i porodništvo, Cambierieva 17/5, 51000 Rijeka (s naznakom za »XXIII. Perinatalne dane«) ili elektronskom poštom na adresu: vesna.hero@medri.hr. Sudjelovanje na kongresu će biti *bodovano* prema pravilniku Hrvatske liječničke komore.

Kotizacija. Liječnici specijalisti 1000 Kn; članovi HD za perinatalnu medicinu 800 Kn; specijalizanti i umirovljenici 500 Kn; primalje 250 Kn. Uplate na žiro račun: Medicinski fakultet u Rijeci 2360000-1101410222 – poziv na broj 4219 – donacije.

Smještaj sudionika. Hotel »Malin«, 51 511 Malinska, Krk, Kralja Tomislava 23. Tel. 051/850-234; Faks 051/850-259; E-mail: hotelmalin@ri.htnet.hr; http://www.hotelmalin.com.

Usporedni simpozij primalja (24. listopada 2006.):

ULOGA PRIMALJE U ALTERNATIVNIM PRISTUPIMA RAĐANJU.