

Uloga retrovirusa u stvaranju i evoluciji placente

Severec, Sven

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:861787>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Sven Severec

**Uloga retrovirusa u stvaranju i evoluciji
placente**

Završni rad

Zagreb, 2024.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Sven Severec

**The role of retroviruses in the formation and
evolution of the placenta**

Bachelor thesis

Zagreb, 2024.

Ovaj završni rad izrađen je u sklopu studijskog programa Sveučilišnog prijediplomskog studija Molekularna biologija na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Romane Gračan.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Uloga retrovirusa u stvaranju i evoluciji placente

Sven Severec

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Placenta je organ koji postoji samo tijekom gestacije. Njena je uloga hranjenje i održavanje embrija, tj. fetusa te uklanjanje njegovih otpadnih produkata. Međutim, ona u današnjem obliku ne bi postojala da nije došlo do evolucijskog međudjelovanja sisavaca i virusa. Naime, za to specijalizirani virusi, ugradili su se u genome predaka sisavaca i postali su ključan dio normalne fiziologije placente. Ti ugrađeni elementi kodiraju proteine zvane sincitini, koji omogućuju fuziju membrana i imunosupresiju. U nekih sisavaca, prisutnost sincitina ispoljava se kao pojava posebnog sincicija zvanog sinciotrofoblast. On omogućuje uspostavu bliskog fetomaternalnog kontakta potrebnog za pravilan razvoj. Osim navedenog, ugrađeni virusi potencijalno imaju regulatornu ulogu nad ekspresijom određenih gena u placenti.

Ključne riječi: sincitin, trofoblast, endogeni retrovirus, fuzija, maternica
(32 stranice, 7 slika, 49 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv. prof. dr. sc. Romana Gračan

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

The role of retroviruses in the formation and evolution of the placenta

Sven Severec

Roosevelt Square 6, 10000 Zagreb, Croatia

The placenta is an organ that exists only during gestation. Its role is to feed and maintain the embryo or the fetus and to remove its waste products. However, the placenta wouldn't exist how we know it today if it weren't for the evolutionary interaction between mammals and viruses. Specialized viruses inserted themselves into the genome of the mammalian ancestor, so they became a key component of the normal physiology of the placenta. These inserted elements code for proteins called syncytins, which mediate cell-cell fusion and immunosuppression. Among some mammals., the presence of syncytines is indicated by the formation of a special type of syncytium called syncytiotrophoblast. Besides the aforementioned, the inserted viruses have a potential role in regulating gene expression in the placenta.

Keywords: syncytin, trophoblast, endogenous retroviruse, fusion, uterus
(32 pages, 7 figures, 49 references, original in: Croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Assoc. Prof. Romana Gračan, PhD

Sadržaj

1. UVOD	1
2. KLASIFIKACIJA SISAVACA	2
3. RELEVANTNE KARAKTERISTIKE ŽENSKIH SPOLNIH SUSTAVA SISAVACA.....	3
4. PROCESI KOJI PRETHODE RAZVOJU PLACENTE	7
5. RAZNOLIKOST U GRAĐI PLACENTE	11
6. ENDOGENI RETROVIRUSI.....	13
6.1 Retrovirusi	13
6.2 Retrovirusi ugrađeni u genom spolne stanice.....	14
6.3 ERV-ovi ključni za evoluciju placente u sisavaca.....	15
6.3.1 PEG10 i PEG11	15
6.3.2 LDOC1.....	16
7. STANIČNA FUZIJA I NJEN POSREDNIK.....	17
7.1 Sincicij.....	17
7.3 Sincicij preživača.....	19
7.4 Fuzogeni proteini: Env proteini i sincitini.....	19
8. ERV-ovi I SINCITINI ODABRANIH SKUPINA	21
8.1 Ljudski ERV-ovi i sincitini.....	21
8.2 Mišji ERV-ovi i sincitini	22
8.3 ERV-ovi i sincitini preživača	22
9. ERV-ovi KAO REGULATORI GENSKE EKSPRESIJE	24
10. ZAKLJUČAK	26
11. LITERATURA.....	27
12. ŽIVOTOPIS	32

1. UVOD

Placenta je iznimno raznolik, no kratkotrajan organ. Ona obnaša funkcije analogne plućnim, jetrenim, crijevnim i bubrežnim sve u svrhu održavanja embrija, odnosno fetusa – drugim riječima, osigurava mu vodu, nutrijente i plinove te uklanja njegove otpadne produkte. Osim navedenog, ima endokrinu ulogu modulacije i regulacije majčinske fiziologije u svrhu održavanja pogodnih gestacijskih uvjeta. Prema Mossmanu (1937.), definirana je kao apozicija ili fuzija fetalnih membrana sa sluznicom maternice radi fiziološke izmjene (Burton i Jauniaux, 2015; Mossman, 1937; Roberts i sur., 2016). Svakako, dubinsko razumijevanje ovog fascinantnog organa zahtjeva širok arsenal raznovrsnog znanja.

Morfologija i struktura placente značajno koleba među vrstama te je široko prihvaćeno da su retrovirusi upleteni u ovu raznolikost. Naime, radi prirode njihovog replikacijskog ciklusa, nužna im je integracija u genom domaćina. Ukoliko do integracije dođe u spolnoj stanici, segment virusne DNA nazivamo endogeni retrovirus (ERV). Ovakve strane elemente stanica nastoji utišati svojim metilacijskim mehanizmima kako njihovi produkti ne bi narušavali njezinu dobrobit. Ipak, nekolicina ERV-ova promakne navedenom obrambenom mehanizmu, stoga potencijalno može doći do ekspresije istih, ukoliko su u njima preostali funkcionalni okviri čitanja. Primjeri produkta takvog „udomaćenog“ ERV-a jesu sincitini. Oni su pripadnici retrovirusnih Env (od engl. *envelope*) glikoproteina koji potpomažu pri membranskoj fuziji i imunosupresiji. U placenti sisavaca dolazi do specifične ekspresije sincitina pa se smatra da su oni bili nužni za njezin nastanak (Haig, 2012).

Prilikom gametogeneze, spolne stanice prolaze kroz globalnu demetilaciju genoma kada većina gena izgubi epigenetičke markere. Međutim, nekolicina gena ipak zadržava svoj metilacijski obrazac te taj fenomen nazivamo genetski utisak (engl. *genomic imprinting*), (Haig, 2012). Do ponovne metilacije dolazi u blastocisti, točnije u embrioblastu dok u trofoblastu ona izostaje. Upravo iz tog razloga, trofoblast ostaje naročito transkripcijski permisivan okoliš kakav pogoduje ekspresiji ERV-ova. S obzirom da su trofoblasti jedni od stanica koji će izgraditi buduću placentu, ona će naslijediti njihova permisivna svojstva, odnosno biti će preferencijalno mjesto transkripcije ERV-ova.

2. KLASIFIKACIJA SISAVACA

Razred sisavaca (Mammalia) podijeljen je u dva podrazreda: Protheria i Theria. Podrazred Protheria sadrži jedan red zvan jednootvori (Monotremata) u kojeg spadaju porodica ježaca (Tachyglossidae) i čudnovati kljunaš (*Ornithorhynchus anatinus*) – jedini pripadnik porodice kljunaša (Ornithorhynchidae). Podrazred Theria dodatno je odijeljen na infrarazrede Metatheria, koji obuhvaća red tobolčara (Marsupialia), i Eutheria kojeg još nazivamo plodvaši ili placentalni sisavci (Simpson, 1945). Sažetak navedene sistematike izgleda ovako:

- razred Mammalia
 - podrazred Protheria
 - red Monotremata
 - porodica Tachyglossidae
 - porodica Ornithorhynchidae
 - podrazred Theria
 - infrarazred Metatheria
 - red Marsupialia
 - infrarazred Eutheria.

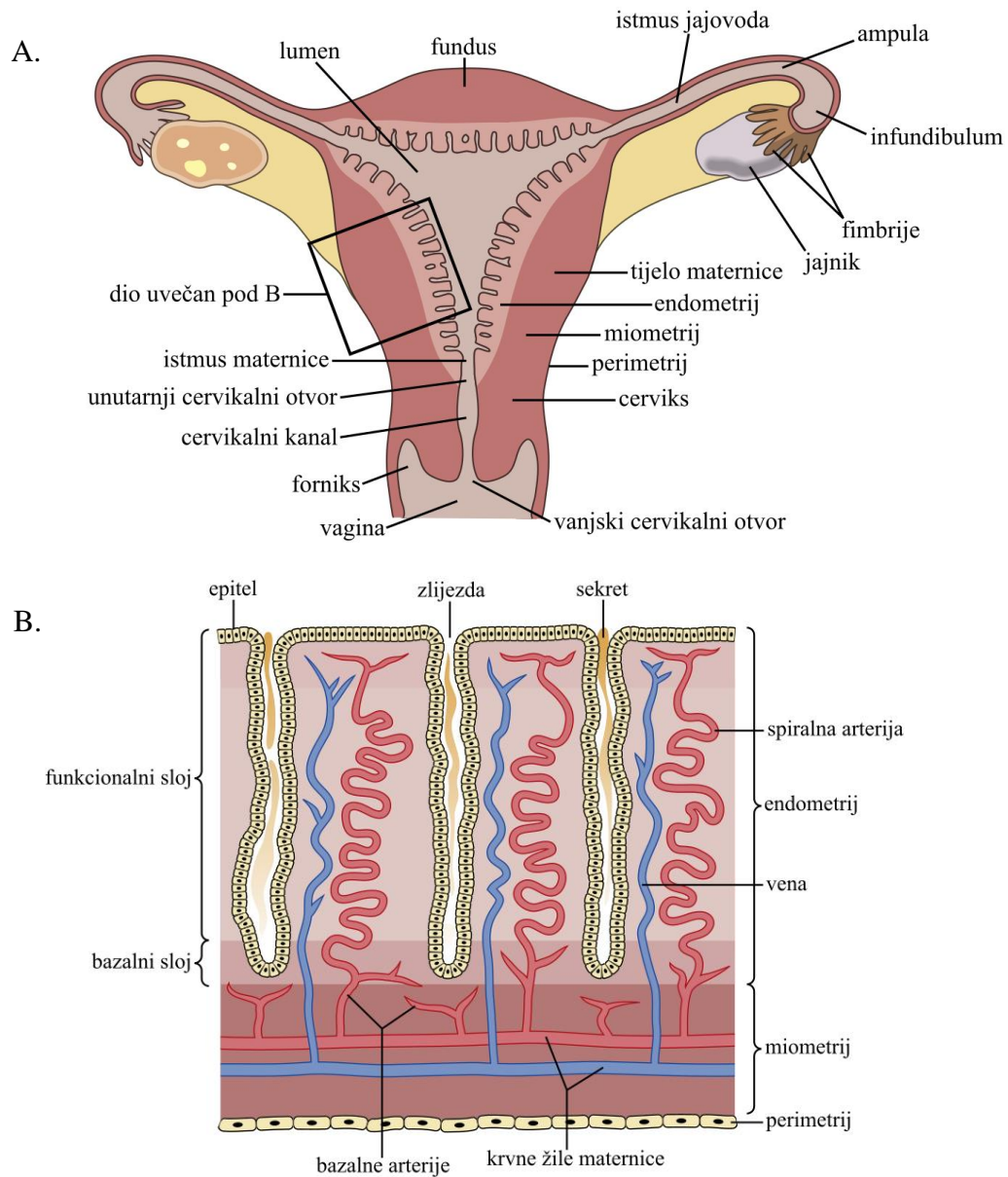
Monotremata su se prije 166,2 milijuna godina odvojili od zajedničkog pretka svih sisavaca, a preostali sisavci su se prije 144,7 milijuna godina podijelili na Marsupialia i Eutheria (Bininda-Emonds i sur., 2007).

3. RELEVANTNE KARAKTERISTIKE ŽENSKIH SPOLNIH SUSTAVA SISAVACA

Tranzicija iz oviparnosti na viviparnost zahtijevala je drastičnu fiziološku i morfološku izmjenu ženskog spolnog sustava. U sisavaca, gestaciju u tijelu ženke omogućila je pojava maternice i placente. Ipak bitno je spomenuti da, prema gore navedenoj definiciji (Burton i Jauniaux, 2015; Mossman, 1937; Roberts i sur. 2016) placenta nije struktura jedinstvena sisavcima. Dapače, ona je u nekakvom obliku opstala u svakom razredu kralježnjaka osim kod ptica (Roberts i sur., 2016). Ipak, ovaj će se rad poglavito fokusirati na sisavce, tj. ženke sisavaca, stoga slijedi kratki pregled njihove reproduktivne biologije.

Spolni sustav ženki svih placentalnih sisavaca sastoji se od para jajnika i njima pridruženih jajovoda, jedne ili dvije maternice, jednog ili dva cerviksa, vagine, urogenitalnog sinusa, vulve i mokraćne cijevi. Posljednja dva dijela smatrana su vanjskim genitalnim organima ženki i žena (Schatten i Constantinescu, 2007; Wynn i Jollie, 1977). Zbog različitog stupnja stapanja Müllerovih cjevčica prilikom embrionalnog razvoja spolnog sustava, pojedinim su skupinama sisavaca neki unutarnji organi parni. Tako, na primjer, čovjek ima dva jajnika i jajovoda, a jednu maternicu i cerviks (Slika 1, A), dok su u zeca, uz jajnike i jajovode, maternice i cerviksi također parni (Wynn i Jollie, 1977). Od navedenih organa, u normalan razvoj placente najviše je uključena maternica pa s obzirom na temu ovog rada podrobnije ću objasniti njezinu strukturu i raznolikost unutar skupine placentalnih sisavaca.

Maternica se ugrubo može podijeliti na dva dijela, a to su cerviks i gestacijski dio. Cerviks zbog prirode svoje mišićne građe ima ulogu sfinktera za gestacijski dio. Gestacijski dio ima dva važna sloja – miometrij i endometrij. Miometrij je debeli mišićni sloj prožet krvnim žilama i njegove kontrakcije ključne su pri porodu. Unutrašnja šupljina gestacijskog dijela obložena je seroznom sluznicom zvanom endometrij. On je, zbog svoje iznimne sposobnosti za diferencijaciju, značajan za pravilan estrusni, tj. menstrualni ciklus te za razvoj placentе (Schatten i Constantinescu, 2007).



Slika 1. (A) Dijagram poprečnog presjeka ljudske maternice i jajnika. (B) Uvećan prikaz označenog dijela iz (A) u kojem je pobliže prikazana struktura stijenke maternice. Preuzeto i prilagođeno prema (Jones i Lopez, 2014).

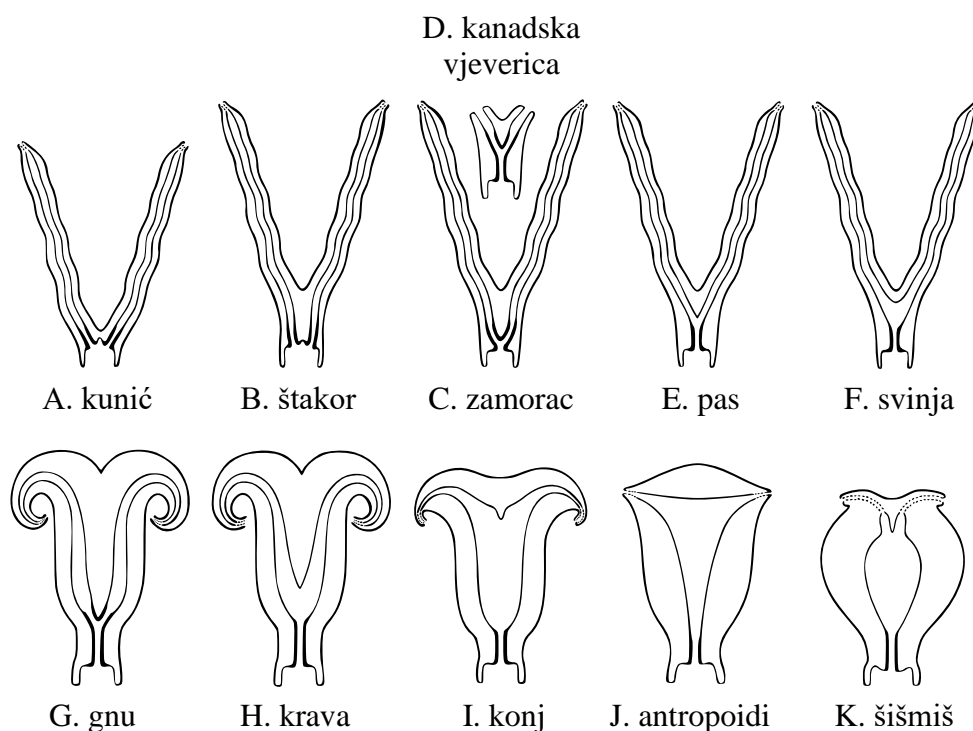
Razmatrajući histološki sastav, endometrij je sačinjen od jednoslojnog epitela s cilindričnim, trepetljikavim i žljezdanim stanicama te od strome vezivnog tkiva. Žlijezde su uglavnom razgranate tubularne ili jednostavne uvijene (Schatten i Constantinescu, 2007). Iz bazalnih arterija miometrija, u endometrij se nastavljaju spiralne arterije koje se protežu skroz do epitela (Wynn i Jollie, 1977). S druge strane, endometrij prema ulozi dijelimo na dva sloja – gornji funkcionalni sloj (lat. *zona functionalis*) i donji bazalni sloj (lat. *zona basalis*) (Slika 1, B). U sisavaca koji imaju menstruacijski ciklus, funkcionalni sloj ciklički se ljušti u lumen maternice te

se odbacuje uz menstrualnu krv. Bazalni je sloj trajan i obogaćen matičnim stanicama čijom se proliferacijom obnavlja funkcionalni sloj nakon svake menstruacije (Gargett i sur., 2012). Preostali sisavci imaju estrusni ciklus u kojem ne dolazi do odbacivanja funkcionalne zone, već se ona resorbira nakon čega ciklus počinje iznova, a krvarenje izostaje (McMillan i Harris, 2018).

Smatra se da žljezdani sekret endometrija imaju esencijalnu funkciju u održavanju vijabilnosti spermija te, još bitnije, u prehrani embrija u ranom razvoju nakon implantacije, prije nego što tu funkciju preuzme placenta. Kod nekih vrsta, endometrija ovu ulogu zadržava kroz čitavu trudnoću. Naime, ovisno o vrsti placente (v. peto poglavlje), epitel endometrija može biti potpuno, djelomično ili nimalo očuvan. Kada je očuvan, konceptus (ujedinjujući naziv za sva tkiva nastala iz zigote) se kroz čitav gestacijski period hrani s izlučevinama maternice, a kada dođe do intenzivne invazije i degradacije epitela, tkivo konceptusa u izravnom je kontaktu s majčinskom krvlju pa iz nje dobiva sve potrebne nutrijente. U drugom slučaju dolazi do propadanja vezivnog tkiva i stijenka žila maternice te je zato krv embriju na raspolaganju; ona tada curi u takozvane lakune – šupljine u stromi.

Kada govorimo o morfološkoj raznolikosti maternica placentalnih sisavaca, vrijedno je spomenuti njihovu klasifikaciju. Poznata su nam tri tipa maternica: dupleks, bikornuatna i simpleks. Međutim, da bismo shvatili prirodu ove podjele, bitno je razumjeti ontogenezu ženskog spolnog sustava koja je zajednička svim vrstama sisavaca. Naime, tijekom ranih stadija nastanka urogenitalnih elemenata, ventralno na oba nabora mezonefrosa, koji se nalaze distalno lateralno od genitalnih nabora, razvijaju se Müllerovi kanali (po jedan u svakom naboru mezonefrosa). Jedan kanal preteča je, između ostalog, jednom jajovodu, jednoj maternici (odnosno jednom rogu maternice), jednom cerviksu i dijelu vagine. Kako napreduje razvoj konceptusa, dva Müllerova kanala počinju se međusobno stapati. Proces stapanja kreće od kaudalnog i napreduje prema kranijalnom kraju, odnosno počinje od vagine. Iz tog razloga vagina placentalnih sisavaca nikada nije parni organ, tj. uvijek se kod ženki svih vrsta nalazi samo jedna; pošto se u tom području kanali uvijek spoje. Također, jajovodi nikada nisu spojeni, tj. uvijek su parni. Daljnje kranijalno uznapredovanje stapanja varira među vrstama i ovisno o stupnju stapanja, određenim će vrstama neki organi biti parni dok će druge vrste imati samo jedan takav organ nastao stapanjem para. S ovim saznanjima vratimo se sada na morfološke tipove maternica. Dupleks maternica nastaje pri najmanjem stupnju stapanja Müllerovih kanala. Takva maternica ima dva cerviksa i dva gestacijska dijela, no kod nekih vrsta cerviksi su djelomično spojeni na kaudalnom dijelu te se jednim otvorom

otvaraju u vaginu. Nju imaju zečevi, štakori, zamorci i dr. Bikornuatna (dvoroga) maternica uvijek ima jedan cerviks, no gestacijski dio potpuno je ili djelomično podijeljen na dva „roga“. Ona je zastupljena kod pasa, svinja, krava i dr. Konačno, simpleks maternica ima potpuno spojene cervikse i gestacijske dijelove, a nalazimo ju kod nekih šišmiša te kod ljudi i drugih primata (Wynn i Jollie, 1977). Vizualna komparacija osnovnih građa maternica mnogih skupina sisavaca vidljiva je na Slici 2. Unatoč ovako širokoj raznolikosti maternica, jajnici su histološki i fiziološki konzervirani između vrsta (Barber, 1993).



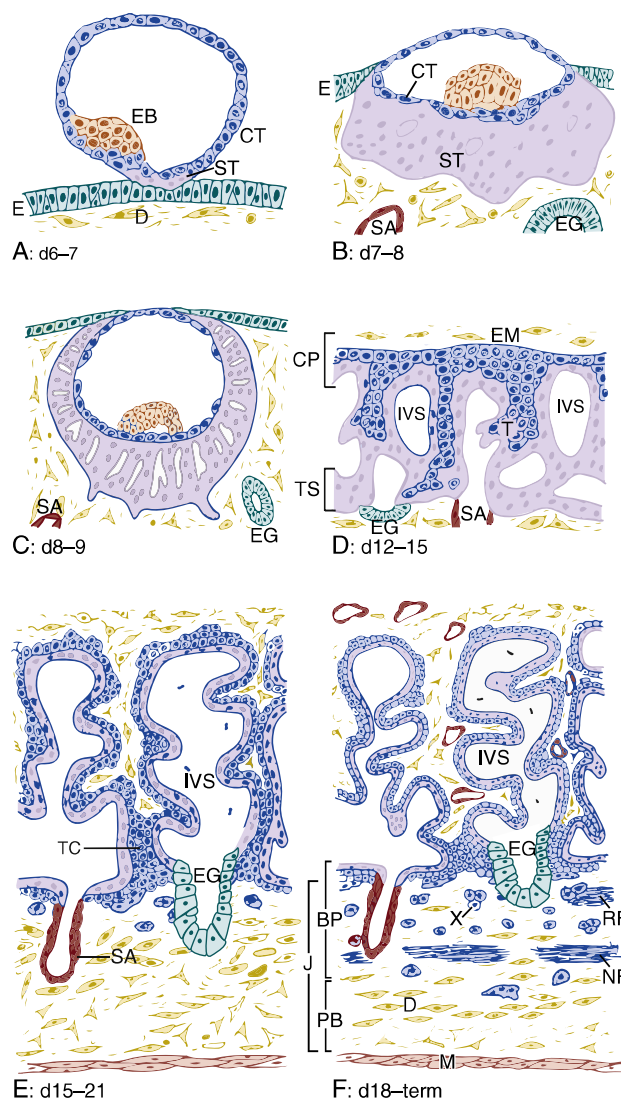
Slika 2. Komparativni prikaz građe maternica u nekolicini životinja iz različitih skupina. Maternice A-D i G su dupleksne tipa, E, F, H i I su bikornuatne, a J i K su simpleksne tipa. Tanka linija predstavlja epitel endometrija, podebljana linija predstavlja cervikalnu sluznicu, a točkasta linija predstavlja epitel jajovoda. Preuzeto i prilagođeno prema (Wynn i Jollie, 1977)

4. PROCESI KOJI PRETHODE RAZVOJU PLACENTE

Embrij ili zametak nazivi su za sve razvojne stadije nekog organizma od oplodnje (fuzije gameta) do kraja organogeneze. Kod čovjeka, taj period traje 12 tjedana nakon oplodnje, a organizam se od tada naziva fetus ili plod (Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2024). Još jedan bitan pojam, koji se rjeđe koristi, jest konceptus. On obuhvaća sva tkiva nastala iz zigote (stanica nastala oplodnjom) u periodu do poroda. Dakle odnosi se na embrij, fetus, sve izvanembrionalne membrane (korion, amnion, žumanjčana vreća i alantois) te čak i na placentu. Nadalje, moguće je definirati pravi embrij (engl. *embryo proper*) koji obuhvaća samo dijelove konceptusa iz kojeg će se razviti novi organizam nakon gestacije, dakle isključuje sva izvanembrionalna tkiva (Hyun i sur., 2020). Ovo nazivlje izneseno je zbog nedostatka konsenzusa u literaturi te se poštuje u čitavom radu.

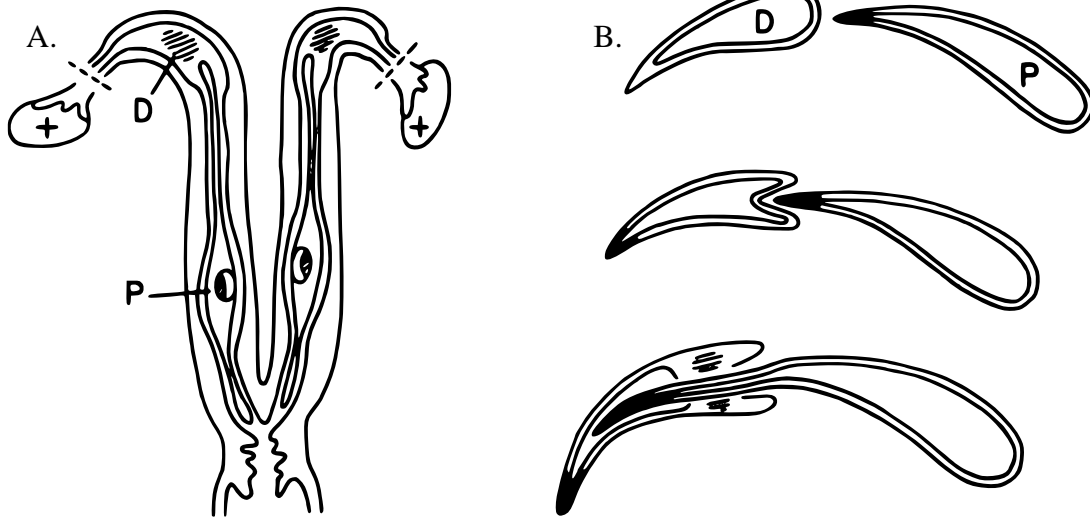
Formacija placente ključan je događaj za uspješnu trudnoću, no njoj prethodi nekolicina procesa od jednake važnosti. Spomenuti procesi nazivaju se brazdanje, kompakcija, implantacija i decidualizacija. Nakon oplodnje, prvi proces kojeg embrij prolazi jest brazdanje, a pojedinačne stanice nastale njime nazivamo blastomere. Kada je embrij sačinjen od 16 blastomera, dolazi do promjene adhezivnosti staničnih membrana te blastomere uspostavljaju čvršću međusobnu povezanost. Navedeni proces nazivamo kompakcija i ključan je za daljnju diferencijaciju stanica u svih placentalnih sisavaca. Naime, stanice su u ovom stadiju totipotentne („sposoban za sve“, iz latinskog jezika), no kroz kontinuirani razvoj, one će se diferencirati i postati pluripotentne („sposoban za mnogo stvari“, iz latinskog jezika). Vanjske stanice postat će trofoblasti, a unutarnje embrioblasti. Embrioblasti su također zvani unutarnja stanična masa (engl. *inner cell mass*, ICM), a trofoblasti, rjeđe, vanjska. Prije završetka diferencijacije, između unutrašnjih stanica dolazi do intenzivnog prodora vode što uzrokuje nastanak velike centralne šupljine. Konačna se struktura kod sisavaca naziva blastocista. U blastocisti, trofoblasti su pozicionirani po rubu, a s unutrašnje strane, nalazi se ICM privržen trofoblastima na jednoj strani šupljine (Slika 3, A). Iz ICM-a nastat će pravi embrij, alantois, amnion i žumanjčana vreća, a iz trofoblasta će se razviti korion i dio placente (Gilbert i Barresi, 2016).

Prije implantacije, blastocista mora napustiti zonu pellucidu – ekstracelularni glikoproteinski matriks esencijalan za zaštitu i oplodnju oocite (Gilbert i Barresi, 2016). Ubrzo nakon toga, blastocista uspostavlja prvi kontakt s epitelom endometrija (Slika 3, A), no implantacija se ne može dogoditi na bilo kojem položaju u maternici. Naime, mnoge vrste imaju mehanizme kojima sprječavaju razvoj embrija na specifičnim položajima. Na primjer, u bikornuatnoj maternici vitoroge antilope često će doći do implantacije četiriju embrija – oba roga maternice imat će po dvije implantacije, a jedna od njih dogodit će se proksimalno vagini, dok će druga biti distalna. U konačnici opstaju samo proksimalno implantirani embriji oba roga, dakle razvit će se samo dva od četiri embrija (Slika 4, A). Zanimljivo je da će svaki od implantiranih embrija razviti nekrotični vršak koji raste isključivo prema ovarijskom kraju tijela maternice, tj. prema distalnom kraju. Nekrotični vršak rast će brže u proksimalnih embrija, dosegnut će distalne i razoriti ih (Slika 4, B). Stoga vidimo da je položaj implantacije ključan. Kod drugih životinja, s većim brojem paralelnih implantacija, bitnija je međusobna raspodjela embrija po maternici jer, s obzirom na histološku uniformnost endometrija diljem cijele maternice, možemo pretpostaviti da je čitava kompetentna za uzdržavanje embrija. Ukoliko su dva embrija međusobno preblizu, dolazi do resorpcije i gubitka jednog ili oba.



Slika 3. Stadiji razvoja placente čovjeka. (A) Implantacija pri 6-7 dana nakon oplodnje. (B) Predlakunarni period. (C) Početak lakunarnog perioda. (D) Prijelaz iz lakunarnog perioda u stadij primarnih resica. (E) Stadij sekundarnih resica. (F) Stadij tercijarnih resica. BP – bazalna ploča; CP – primarna korionska ploča; CT – citotrofoblast; D – decidua; E – epitel endometrija; EB – embrioblast; EG – žlijezda endometrija; EM – izvanembrionalni mezoderm; IVS – intervalozni prostor; J – spojna zona; L – lakune; M – miometrij; NF – Nitabuch fibrinoid; PB – ležište placente; RF – Rohr fibrinoid; SA – spiralna arterija; ST – sincicotrofoblast; T – trabekule; TC – stupić tofoblasta
Preuzeto iz (Polin i sur., 2021).

Na ovaj način sprječava se „prenapučenost“ u maternici, a mehanizam je zastupljen u zečeva, štakora, miševa i dr. (Wimsatt, 1975). Kod čovjeka, koji u pravilu producira samo jednog potomka po gestaciji, ograničenje položaja implantacije ima drugu prirodu. Naime, iako su jako rijetke, implantacije embrija mogu se dogoditi u mnogo neobičnih lokacija. Takve implantacije, koje se ne dogode na pogodnim lokacijama u maternici, nazivamo ektopične implantacije, odnosno ektopične trudnoće i one su često kobne za osobu. Ektopična implantacija može se dogoditi u jajniku, duž čitavog jajovoda, na intersticiju između istmusa i maternice, u miometriju, cerviksu, ožiljku prijašnjeg carskog reza pa čak i u abdominalnoj šupljini (Chukus i sur., 2015). Zanimljivo je da je još jedna uloga zone pellucide da smanji mogućnost prijevremene implantacije u jajovodu, no kada se ona ipak dogodi, rast embrija izaziva intenzivno unutarnje krvarenje (Gilbert i Barresi, 2016). Ovakve trudnoće uzrokuju i probleme vezane za placentu kao što su: placenta previa (kada placenta raste preko cervikalnog otvora) i odvajanje placente od maternice. Kod abdominalnih ektopičnih trudnoća, placenta će bez diskriminacije invadirati u vaskulaturu visceralnih organa kako bi se opskrbila krvlju (Chukus i sur., 2015). Međutim, ako do implantacije dođe na poželjnom mjestu, onda slijedi odgovor endometrija na embrij, a njega nazivamo decidualizacija. Još zvan decidualna reakcija, to je proces koji obuhvaća niz drastičnih promjena strome endometrija pod utjecajem progesterona i estrogena, dakle radi se o majčinom tkivu – decidua – koje će biti dio placente. Svrha decidualizacije je adekvatna recepcija embrija (Ramathal i sur., 2010). Ukoliko je svaki od navedenih procesa bio ispravan, trofoblast će započeti invaziju maternice. Slijedi diferencijacija trofoblasta u unutarnji stanični sloj citotrofoblasta i vanjski sincicij sinciotrofoblasta (Slika 3, B). Kao što mu ime govori, sinciotrofoblast je skup fuzioniranih stanica. Iznimno je agresivan i invazivan te je upravo on produkt omogućen integracijom retroviralnog genoma u pretke današnjih placentalnih sisavaca. Daljnji događaji u implantaciji variraju od vrste do vrste, no kod čovjeka i drugih hemokorijalnih (v. peto poglavlje) sisavaca proces je sljedeći. Kako sinciotrofoblast raste u stijenku maternice, on razara sva tkiva u bliskom kontaktu. Prisjetimo li se ranije spomenute strukture endometrija, razumjet ćemo da to znači da će doći do raspada obližnjeg vezivnog tkiva i krvnih žila. Sinciotrofoblast svojim rastom formira prazne prostore zvane lakune, a ukoliko se u blizini takve lakune nađe razorena krvna žila ona će ju ispuniti krvlju. Razvijajući embrij tu će krv koristiti za prehranu, a cijela opisana struktura rana je preteča mikrostrukture placente te se njena funkcionalna i strukturna jedinica naziva placentalna resica (Slika 3, C-F), (Roberts i sur., 2021).



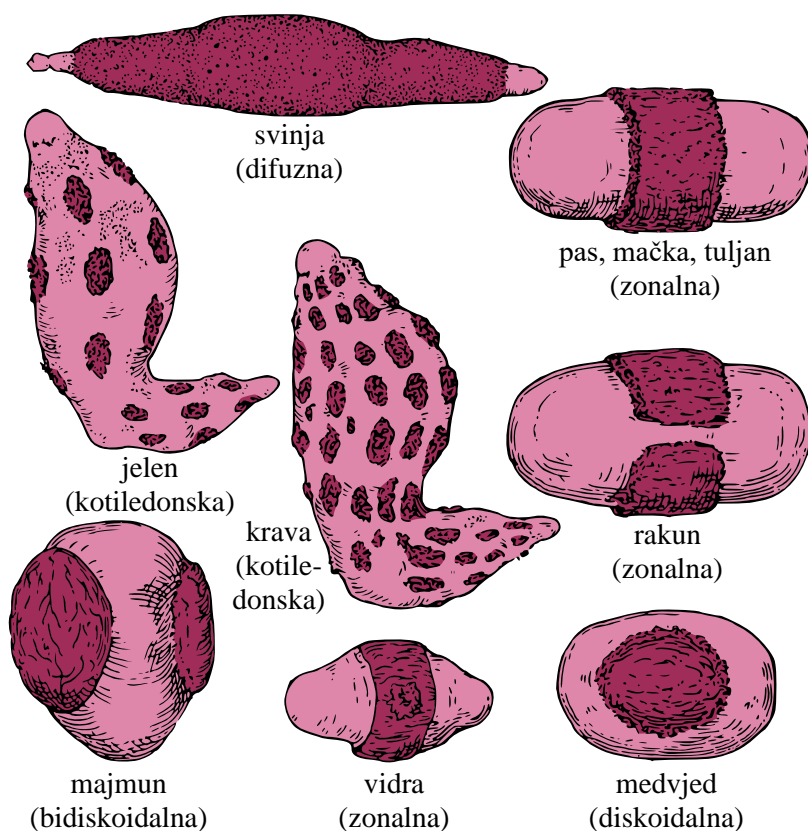
Slika 4. (A) Blastociste u maternici vitoroge antilope. Proksimalna blastocista uništila je distalnu. (B) Detaljniji prikaz stadija razaranja distalne blastociste s nekrotičnim vrškom proksimalne. D – distalna blastocista; P – proksimalna blastocista; „+“ – ovulacijski kompetentan jajnik. Preuzeto iz (Wimsatt, 1975).

5. RAZNOLIKOST U GRADI PLACENTE

Grosser (1909.) je postavio jednostavan model klasifikacije tipova placenta, odnosno placentalnih barijera, na temelju njihove osnovne histološke strukture (Grosser, 1909), no model je često kritiziran zbog svoje manjkavosti i nepreciznosti, pa su ga neki nastojali proširiti (Furukawa i sur., 2014; Hoffman i Wooding, 1993; Wooding, 1992). Klasifikacija se bazira na stupnju invazivnosti, tj. prodornosti embrionalnih trofoblasta u tkiva endometrija maternice, odnosno na temelju prirode kontakta uspostavljenog između koriona i stijenke maternice (Carter i Martin, 2010). Stoga, osnovni model predlaže epitelokorijalnu, endotelokorijalnu i hemokorijalnu placentu; poredane u rastućem intenzitetu invazivnosti (Shimode, 2023). Epiteliokorijalna barijera uspostavlja najslabiji kontakt između tkiva maternice i embrija. U ovom slučaju majčinska tkiva ostaju potpuno intaktna, odnosno embrionalna tkiva ih neće degradirati. Takvu placentu nalazimo kod konja, svinja i većine preživača (Furukawa i sur., 2014). Endoteliokorijalna placenta okarakterizirana je degradacijom epitela i veznog tkiva maternice posredovanom embrionalnim trofoblastima, koji stupaju u izravan kontakt s intersticijem maternice (Furukawa i sur., 2014), a zastupljena je kod slonova, mesoždera, nekih šišmiša i dr. (Laundon i sur., 2024). Hemokorijalni je tip najinvazivniji jer u njemu propadaju svi majčinski tkivni slojevi, uključujući i endotel krvnih žila endometrija, što omogućuje izravan kontakt koriona i majčinske krvi. U njega spadaju placentе glodavaca i primata (Furukawa i sur., 2014; Laundon i sur., 2024). U proširenom modelu opisuju se još i sinepiteliokorijalni (prije zvan sindezmozokorijalni), hemomonokorijalni, hemodikorijalni i hemotrikorijalni tipovi (Shimode, 2023; Furukawa i sur., 2014; Wooding, 1992). Sinepiteliokorijalni tip invazivniji je od epitelokorijalnog, no manje je invazivan od endoteliokorijalnog (Shimode, 2023). Specifičan je po tome da sadrži binuklearne stanice (stanice s dvije jezgre) i hibridne trinuklearne stanice (Hoffman i Wooding, 1993). Drugi tip stanica sadrži genome dvije jedinke – majke i fetusa. Sinepiteliokorijalni tip nalazimo kod nekolicine preživača kao što su krave i jeleni (Wooding, 1992). Hemomonokorijalni, hemodikorijalni i hemotrikorijalni tipovi varijante su hemokotijalnog tipa, a međusobno se razlikuju po broju slojeva trofoblasta (Furukawa i sur., 2014).

Placente se među vrstama razlikuju i po svojoj makroskopskoj morfologiji. Ugrubo se mogu razvrstati u četiri kategorije: difuzna, kotiledonska, zonalna i diskoidalna placenta, s iznimkama. Radi se o najstarijoj klasifikaciji koja se bazira na izgledu zrele placente. Točnije rečeno, bazira se na rasporedu i rasprostranjenosti površine placente po korionskoj vreći. Difuzna placenta

rasprostranjena je po čitavoj površini koriona, a imaju je konji i svinje. Kotiledonska placenta sadrži brojne male grupacije raspoređene duž koriona. Grupacije se zovu placentomi, okruglastog su oblika i njihov broj varira među vrstama. Takvu placentu primarno nalazimo kod preživača kao što su krave i jeleni. Zonalna placenta je nalik pojasu, tj. okružuje središnje područje korionske vreće, a imaju je mnogi mesožderi poput pasa i mački. Ukoliko je placenta koncentrirana u veću površinu na jednom polu korionske vreće, onda ju nazivamo diskoidalnom. Nju imaju ljudi i drugi primati, neki glodavci pa i medvjedi (Furukawa i sur., 2014; Wagner, 2018). Navedeni tipovi placenta prikazani su na Slici 5.

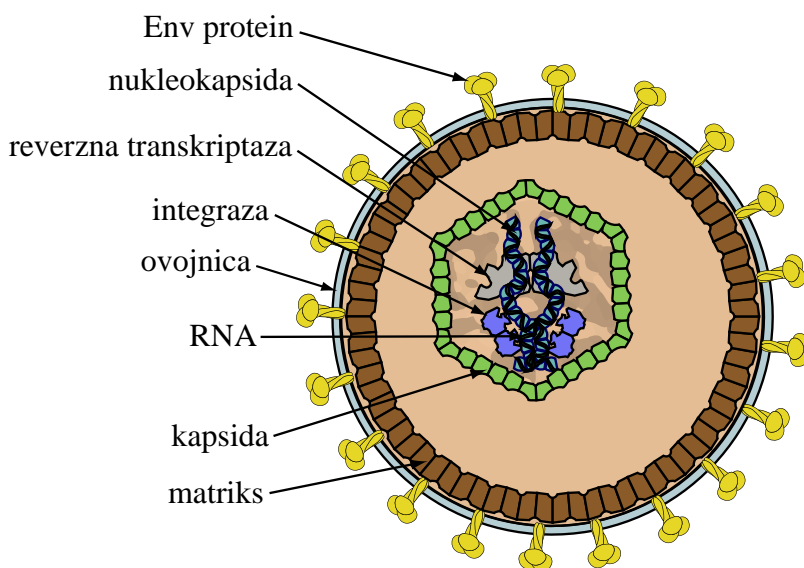


Slika 5. Komparativni prikaz građe i položaja placente u nekolicine životinja iz različitih skupina. Tamnija boja predstavlja placentu, a svjetlija korionsku membranu. Preuzeto i prilagođeno prema (Wagner, 2018).

6. ENDOGENI RETROVIRUSI

6.1 Retrovirusi

Porodica retrovirusa objedinjuje razne životinjske viruse s jedinstvenim mehanizmom replikacije – reverznom transkripcijom. Genom je ovih virusnih čestica RNA molekula, no kada inficiraju stanicu, RNA se u citoplazmi, uz pomoć virusne reverzne transkriptaze, prevede u komplementarnu DNA molekulu. Virusni enzim integraza potom takvu DNA ugradi na nasumičan položaj u kromosomskoj DNA domaćina i tada ju nazivamo provirus. Kada odgovarajući čimbenici to pokrenu, provirus će biti eksprimiran staničnom mašinerijom (Gifford i Tristem, 2003). Derivirani se proteini i RNA molekule potom počinju pakirati u virusne čestice kako bi u konačnici napustili stanicu i iznova započeli čitavi ciklus. Izlazak retrovirusa iz stanice omogućuje mu stjecanje ovojnice. Točnije rečeno, tijekom izlaska, virusna kapsida obavije se segmentom stanične membrane koji u sebi ima transmembranske Env proteine (Slika 6). Oni su kodirani virusnim genomom, a stanični ih mehanizmi dostave na površinu membrane. Prilikom infekcije, virusna čestica uspostavlja inicijalni kontakt sa stanicom upravo preko Env proteina koji se vežu za specifične membranske receptore i tako si virus omogući ulazak u domaćina. Env proteini kodirani su *env* genom uz kojeg još postoje *gag* i *pol* geni. *Gag* kodira kapsidne i nukleokapsidne proteine, a *pol* kodira reverznu transkriptazu i integrazu. Ta tri gena i njihovi produkti zajednički su svim retrovirusima (Flint i sur., 2020).



Slika 6. Zrela betaretrovirusna čestica. Preuzeto i prilagođeno prema (SwissBioPics, 2010).

6.2 Retrovirusi ugrađeni u genom spolne stanice

Retrovirusi ugrađeni u genom domaćina najčešće su egzogeni, a to jednostavno znači da se ugrađuju u tjelesne stanice. Ipak, kada se provirus nađe ugrađen u kromosom spolne stanice, onda ga nazivamo endogenim retrovirusom (ERV), a njegove gene endogenim genima. Posljedica endogene ugradnje novostečena je sposobnost vertikalne transmisije virusnog genoma – prijenos s pretka na potomka. Dakle, jedinke nastale iz spolne stanice inficirane ERV-om, imat će ga u svakoj svojoj stanici. Kod egzogene ugradnje virusni genom može se prenositi samo horizontalno, tj. sa stanice na stanicu ili s jedinke na jedinku (Gifford i Tristem, 2003). Bitno je napomenuti da, iako mogu promijeniti njenu aktivnost, retrovirusi neće uništiti stanicu kao što to neki drugi virusi rade pa će ona i dalje biti sposobna za diobu. To je ključan faktor koji omogućuje složene evolucijske interakcije između domaćina i integriranog virusa (Stoye, 2012).

Dosada je zabilježeno iznimno malo patogenih ERV-ova, daleko manje od patogenih egzogenih retrovirusa. Neke od rijetkih bolesti uzrokovanih ERV-ovima tumori su mliječnih žlijezdi i limfnih čvorova u specifičnim sojevima miševa. Kod čovjeka potencijalno imaju ulogu u nastanku tumora spolnih stanica, no korelacija nije adekvatno dokazana. Uzevši u obzir negativni selektivni pritisak koji bi utjecao na patogene ERV-ove, s obzirom da naseljavaju spolne stanice, ima smisla da nisu značajno zastupljeni (Stoye, 2012). Možemo reći, da ovisno o učinku na svoje domaćine, ERV-ovi u nekoj populaciji imaju dvije sudbine. Prvo, ukoliko na neki način ugrožavaju „fitness“ svojih domaćina, doći će do izumiranja jedinka koje ih nose te će biti istrijebljeni iz populacije. S druge strane, ako je stečeni ERV neutralan ili čak koristan za svog domaćina, onda će on opstati u populaciji, a možda i prevladati ukoliko dođe do genskog drifta. Međutim, opstali ERV-ovi podložni su uvjetima unutar svojih domaćina. Točnije, ERV će ili biti utišan metilacijom, što je češće, ili će biti eksprimiran. Ako je eksprimiran, zadržat će svoju replikativnu i infekcijsku sposobnost. Replikativna sposobnost, odnosno replikativna transpozicija odnosi se na mehanizam kojim se ERV-ovi kopiraju iz jednog dijela genoma na drugi. Tim postupkom umnaža se broj kopija ERV-a u jednom domaćinu. U konačnici, i aktivne i utišane ERV-ove čeka ista sudbina – degradacija posredovana spontanom akumulacijom mutacija. Naime, radi se o genomskim segmentima s vrlo slabom regulacijom ispravnosti, stoga se integritet koda ne održava kroz cikluse replikacije. Svi će ERV-ovi ove prirode u konačnici postati defektni i preći će u tzv. „junk DNA“. Međutim, postupak degradacije može biti jako dugotrajan pa tako neki ERV-ovi u svojim domaćinima mogu u nekoj mjeri ostati aktivni milijunima godina (Gifford i Tristem, 2003).

Ukoliko se u genom domaćina ugradi samo jedan ERV i on se ne replicira, povećava se mogućnost da će postati koristan, naspram da se ugradi nekolicina istih ili različitih ERV-ova. Naime, zbog nasumične prirode njihove insercije, s većim brojem ugradnja, veće su šanse da se ona dogodi u neki esencijalni gen i tako ga onesposobi. Kao što je već rečeno, i u slučaju kada ERV ima pozitivan učinak na domaćina, isto dolazi do njegove degradacije. Međutim, ipak mogu opstati cjeloviti geni ili funkcionalne LTR regije (od engl. *long terminal repeat*). U nekim će slučajevima ovi zaostali dijelovi ERV-ova početi značajno pridonositi funkcijama organizma u kojem se nalaze (Stoye, 2012). Ustanovljeno je da proteini kodirani genima deriviranim iz ERV-ova imaju jednu od tri osnovnih uloga. Ti proteini mogu biti posrednici stanične fuzije, mogu imati ulogu u supresiji majčinskog imunskog sustava ili mogu štiti konceptus od invazije egzogenih virusa. Jedan od bolje istraženih posrednika stanične fuzije jesu sincitini. Radi se o proteinima, kodiranim modficiranim *env* genom koji imaju značajnu funkciju u normalnom razvoju placente. O sincitinima će više riječi biti poslije u radu. Međutim, posljednjih se godina sve više istražuje dodatna funkcija ERV-ova, tj. njihova uloga kao nekodirajući regulatorni sljedovi. Već spomenuti LTR-ovi mogu se ponašati kao promotori ili pojačivači obližnjih staničnih gena (Chuong, 2018).

6.3 ERV-ovi ključni za evoluciju placente u sisavaca

Identificirana je nekolicina gena deriviranih iz ERV-ova, odnosno izumrlih retrovirusa, čija je insercija bila esencijalna za nastanak placente. Ovi geni pojačano su eksprimirani u placenti i njihovi su se produkti pokazali nužnima za pravilan embriološki razvoj. Isti su na Slici 7 plavom bojom naznačeni na dendrogramu gdje opisuju filogenetski raspored insercije u sisavce i druge (Imakawa i sur., 2022). Podrobnije će se objasniti uloge endogeniziranih gena PEG10 (od engl. *paternally expressed gene*), PEG11, alternativno nazvan RTL1 (od engl. *retrotransposon like*) i LDOC1 (od engl. *leucine zipper protein down-regulated in cancer cells*), također zvan RTL7.

6.3.1 PEG10 i PEG11

Ono i sur. (2001.) pokazali su da je PEG10, prisutan u sisavaca (specifičan je za podrazred Theria), endogenizirani gen koji je postao očinski eksprimiran. Naime, pretpostavlja se da je gen postao očinski eksprimiran kao rezultat obrambenog pokušaja domaćina. Točnije, kada su stanični mehanizmi nastojali metilacijom utišati novostečeni endogeni gen, kako virusni produkti ne bi trošili resurse stanice, vjerojatno je posljedično došlo do genomskog utiska. Egzaktni princip iza ovoga i razlog zašto PEG10 nije bio potpuno utišan još su nepoznati te su potrebna daljnja istraživanja (Ono i sur., 2001). Međutim, rana integracija gena PEG10 u pretka sisavaca bila je

nužna za nastanak primitivne placente što je utvrđeno istraživanjem miševa s delecijom tog gena. Utvrđeno je da se on eksprimira u trofoblastima, za čiju je diferencijaciju ključan, stoga je bitan za uspostavljanje placentе (Ono i sur., 2006). Nadalje, PEG11 i LDOC1, također zvan RTL7, još su dva endogenizirana gena neophodna u evoluciji placentе. Oba su bitna za osnovnu strukturu i funkciju placentе te su prisutni kod placentalnih sisavaca (Eutheria). PEG11 konkretno, eksprimiran je u endotelu placentalnih fetalnih kapilara i potencijalno ih održava zaštićenim od invazije trofoblasta. Miševi s delecijom PEG11 ugibali su kasnije u gestacijskom periodu zbog usporavanja rasta uzrokovanog razaranjem kapilara. Ugibanje fetusa miša uzrokovale su i mutacije u PEG10 proteazi, također zbog narušavanja kapilara, što inducira i na njegovu uključenost u održavanju placentalne vaskulature (Imakawa i sur., 2022).

6.3.2 LDOC1

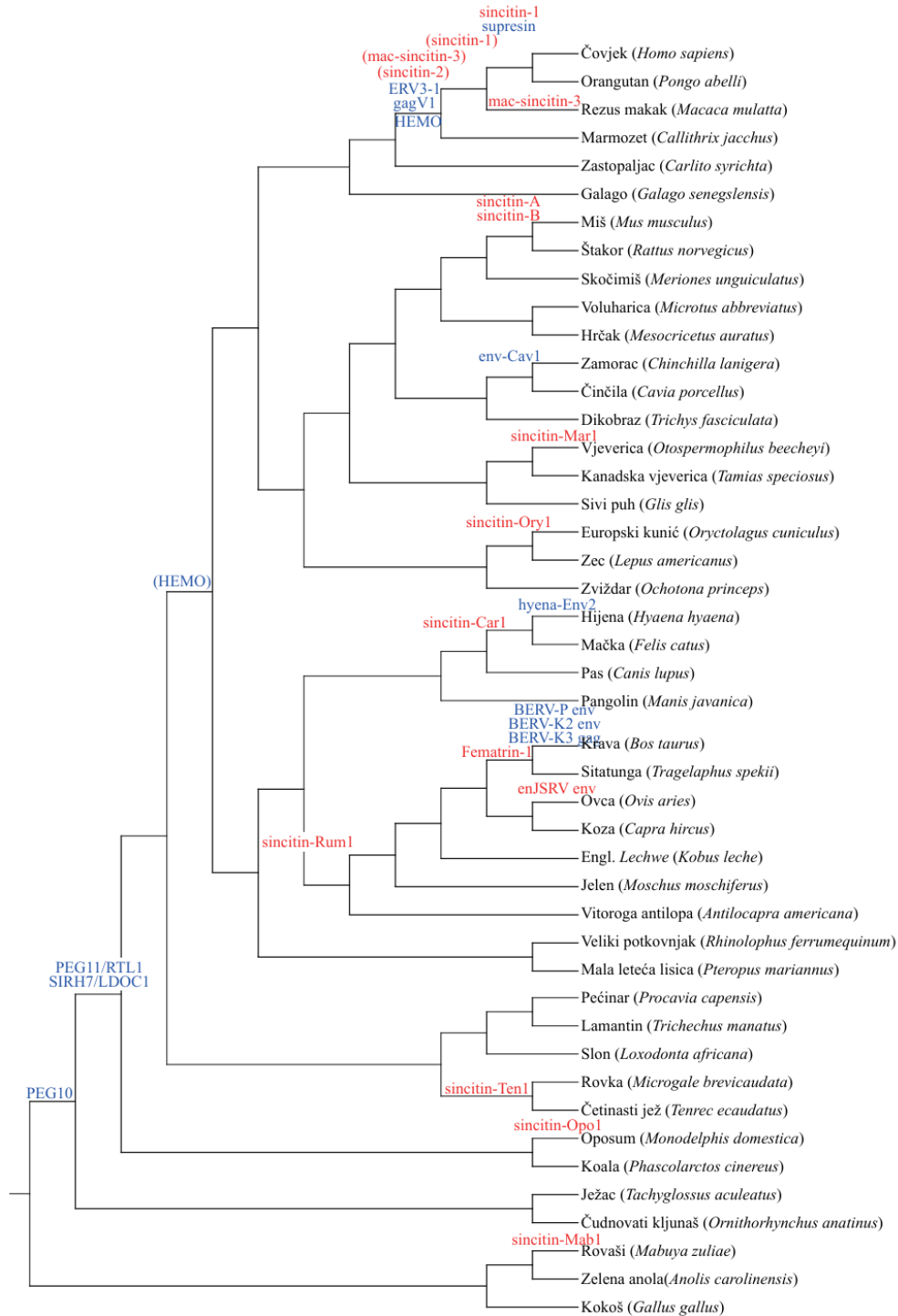
Kod čovjeka, nakon šestog do osmog tjedna trudnoće, glavnu ulogu sekrecije progesterona placenta preuzima od žutog tijela u jajniku (Tuckey, 2005), dok npr. kod goveda ta uloga do kraja gestacije ostaje sa žutim tijelom (Hoffmann i Schuler, 2002). Dugo se smatralo da je glavna produkcija progesterona kod glodavaca isto u jajniku, no otkriveno je da tijekom drastičnog pada razine hormona u jajniku, placenta kompenzira i sama ga počinje sintetizirati. U istraživanjima miševa s inaktiviranim genom LDOC1 otkrivena je neumjerena proizvodnja progesterona sukladno i placentalnog laktogena 1 te je produljen period gestacije. Navedeno je dokazalo da osim jajnika, glodavci progesteron tijekom trudnoće proizvode i u placenti, no za detaljniji uvid u ovu temu potrebno je provesti još istraživanja (Imakawa i sur., 2022).

7. STANIČNA FUZIJA I NJEN POSREDNIK

Placente životinjskog svijeta, iako su ujedinjene svojom funkcijom, znatno međusobno variraju u makroskopskoj morfologiji i histološkoj mikrostrukturi. Danas nam još nisu poznati svi čimbenici koji su doveli do ovako velikog diverziteta. Najsporniji su upravo molekularni mehanizmi koji uzrokuju raznovrsnost u građi. Međutim, postoji jedan objedinjujući faktor među svim tipovima placenta te se smatra da je upravo njegov uzročnik razlog raznolikosti placenta. Radi se o fuzogenoj aktivnosti trofoblasta posredovanoj sincitinima. Pretpostavlja se da je vremenski široko rasprostranjena akvizicija raznovrsnih sincitina (Slika 7) omogućila međusobno nezavisan razvoj placenta, a takav razvitak naravno vodi k diversifikaciji. Doduše, zbog relativno ograničene uloge sincitina (posredovanje fuzije i imunosupresije) oni nisu dostatan razlog za objašnjenje ovog misterija, stoga su potrebna daljnja istraživanja i analiza kako bi se utvrdio odgovor (Imakawa i sur., 2022).

7.1 Sincicij

Sincicij je jedinstvena masa citoplazme s brojnim jezgrama koje međusobno nisu odvojene staničnom membranom, a nastaje međusobnom fuzijom susjednih stanica (Ogle i sur., 2005). Malobrojne su vrste stanica koje prirodno mogu formirati sincicij, a najpoznatije su: mioblasti, osteoklasti, makrofagi, gamete (pri oplodnji) i citotrofoblasti (Ogle i sur., 2005; Lavialle i sur., 2013). Međutim sincicij, osim u fiziološki normalnim uvjetima, može nastati i u patološkom stanju, točnije pri infekciji sa specifičnim virusima opisanim detaljnije u poglavlju 6. Ovakva vrsta sincicija pogoduje rasprostranjivanju virusa (C. Burton i Bartee, 2019).



Slika 7. Dendrogram odabranih vrsta koji prikazuje akvizicije gena dobivenih iz ERV-ova i eksprimiranih u placenti. Crveni geni predstavljaju one s fuzijskom aktivnošću, a plavi bez. Ukoliko je gen napisan dvaput, naziv u zagradi označuje kada je gen stečen, a bez zagrade znači da je tada dobio funkciju. Preuzeto iz (Imakawa i sur., 2022)

7.3 Sincicij preživača

Već je objašnjeno da preživači imaju epitelokorijalnu i sinepitelokorijalnu placentu te da ni u jednoj od tih placenta ne nalazimo sinciciotrofoblast. Međutim, u sinepitelokorijalnom tipu fuzijom nastaju binuklearne i trinuklearne stanice. Neke vrste umjesto trinuklearnih trofoblasta sadrže tzv. sincicijalni plak – fuzijski produkt nekolicine binuklearnih trofoblasta i jedne stanice endometrija. Fuzija trofoblasta u multinuklearne stanice počinje oko implantacije i traje do kraja gestacije. Vjeruje se da one pomažu pri implantaciji i transportu tvari kroz placentu. Binuklearni trofoblasti nastaju endoreduplikacijom (replikacija DNA s izostankom mitoze) mononuklearnih trofoblasta. U njima dolazi do stvaranja specifičnih tvari nužnih za održavanje trudnoće. Geni koji diktiraju njihov nastanak aktivni su u placenti zbog njene jedinstvene epigenetske regulacije. Navedene molekule se u majčinski krvotok prenesu stapanjem binuklearne stanice sa stanicom endometrija te tako nastaje trinuklearna stanica. Ovakve stanice s hibridnim majčinskim i embrionalnim genom služe kao sučelje između majke i ploda u placentomima. Međutim, njihova je populacija u bilo kojem danom vremenu vrlo mala, s obzirom da ulaze u apoptoz odmah nakon dostavljanja svojeg sadržaja u majčinski krvotok (Nakaya i Miyazawa, 2015).

7.4 Fuzogeni proteini: Env proteini i sincitini

Nastanak sincicija iz citotrofoblasta i virusom zaraženih stanica posredovan je istom vrstom transmembranskih proteina, a grupno se zovu fuzogeni proteini. U životnom ciklusu virusa s ovojnicom, kao što je prije rečeno, ključnu ulogu imaju fuzogeni Env proteini – glikoproteini virusne ovojnice. Kako se oni u inficiranoj stanici dostavljaju na površinu membrane, njihova akumulacija iznad određene razine omogućuje fuziju inficirane stanice s drugom (inficiranom ili neinficiranom) stanicom prema istom mehanizmu kojim se virus stapa s membranom. Dakle i ovdje se radi o interakciji virusnog Env proteina s odgovarajućim staničnim receptorom. Na opisani način virus potiče formaciju sincicija i neposredno povećava količinu zaražene stanične mase (Tang i sur., 2021). Fuzogeni proteini nađeni u citotrofoblastima nazivaju se sincitini te su poput virusnih Env proteina kodirani retrovirusnim *env* genom. U šestom poglavlju opisano je zašto se retrovirusni gen „prirodno“ nalazi u citotrofoblastima. S obzirom da se radi o sličnom proteinu, mehanizam nastanka sinciciotrofoblasta i sincicija virusom inficiranih stanica, relativno je sličan, što je istraživače upravo navelo na ideju da se radi o bliskoj korelaciji.

Osnovna struktura sincitina ne razlikuje se puno od originalnih Env proteina. Definirana su dva velika dijela: transmembranska jedinica (engl. *transmembrane unit*, TM) i površinska jedinica

(engl. *surface unit*, SU). Oni su dva zasebna peptidna lanca, no translatiraju se zajedno. Tijekom aktivacije sincitina, odgovarajuće stanične proteaze cijepaju veliki peptidni lanac na dva manja (jedan će činiti TM, a drugi SU). Međutim, lanci međusobno ostaju kovalentno spojeni preko disulfidne veze pa zato TM i SU ostaju asocirani nakon stjecanja konačne konformacije. TM sadrži sljedeće funkcionalne domene: fuzijski peptid (engl. *fusion peptide*, FP), transmembransku domenu (engl. *transmembrane domain*, TD), fuzijsku jezgru, imunosupresivnu domenu (engl. *immunosuppressive domain*, ISD) i intracitoplazmatski rep (engl. *intracytoplasmic tail*, CYT). Domena koja veže odgovarajući stanični receptor (eng. *receptor-binding domain*, RBD) nalazi se na SU. Finalni je protein homotrimer u kojem je ponavljajući dio jedna TM-SU cjelina, a asocijacija je omogućena interakcijama heptadnih repeticija u fuzijskoj jezgri. Kada RBD prepozna receptor, dolazi do konformacijske promijene koja signal prenosi u dijelove proteina ključne za fuziju: hidrofobni FP, fuzijsku jezgru i CYT. Jedna razlika između sincitina i Env proteina je ta da su sincitini konstitutivno kompetentni za fuziju, dok Env protini zahtijevaju cijepanje inhibitornog peptida što obavljaju virusne proteaze. Za ovu diskrepanciju odgovorna je delecija četiriju aminokiselina u CYT-u sincitina (Durnaoglu i sur., 2021; Grandi i Tramontano, 2018). ISD je uključena u uspostavu međusobne imunotolerancije majke i embrija, odnosno posreduje imunosupresivnu aktivnost sincitina koja sprječava da majčinski imunski sustav ne napadne embrionalnu komponentu placentе.

8. ERV-ovi I SINCITINI ODABRANIH SKUPINA

8.1 Ljudski ERV-ovi i sincitini

Pretpostavlja se da je oko 8 % ljudskog genoma ostatak stečenih retrovirusnih insercija, odnosno HERV-ova (humanih endogenih retrovirusa). Iako određen dio tih sekvenci ima aktivne gene i funkcionalne regulatorne elemente, velika većina ih je utišana i ispunjena inaktivirajućim mutacijama. U placenti dolazi do relativno visoke ekspresije ovih gena (Huppertz i sur., 2006), upravo zbog slabije utišavajuće aktivnosti u njenim stanicama. Najzanimljiviji su *env* geni ERVW-1 (endogeni retrovirus grupe W, član 1), ERVFRD-1 (endogeni retrovirus grupe FRD, član 1) i ERV3-1 (endogeni retrovirus grupe 3, član 1) te će isti biti tema ovog poglavlja.

ERVW-1 se nalazi na položaju 7q21.2 ljudskog kromosoma 7 (Durnaoglu i sur., 2021) i kodira protein sincitin-1, tako imenovan jer je prvi otkriven (Mi i sur., 2000). Ubrzo nakon njega otkriven je sincitin-2 kodiran genom ERVFRD-1 (Huppertz i sur., 2006) lociran na poziciji 6p24.1 kromosoma 6. Oba proteina imaju 538 aminokiselina i sve regije opisane u pethodnom poglavlju (Durnaoglu i sur., 2021), no naravno nisu identični te sincitin-2 ima slabiju fuzogenu aktivnost. Sincitin-1 i 2 nisu sukladno vremenski i prostorno eksprimirani. Sincitin-1 se proizvodi u sinciciotrofoblastu u visokim razinama tijekom čitave trudnoće, a 2 je aktivan u citotrofoblastima i ekspresija mu opada pred kraj trudnoće. Suprotno tome, receptor sincitina-1 – alanin, serin, cistein transporter 2 (ASCT2) – nalazi se na površini citotrofoblasta, a receptor za sincitin-2 – MFSD2 (od engl. *major facilitator superfamily domain containing 2*) – lociran je na sinciciotrofoblastima. Filogenetskim analizama utvrđeno je da je sincitin-2 prvi integriran u pretka čovjeka i majmuna Novog svijeta (Platyrrhini, tj. širokonosci) prije 40 milijuna godina, dok je sincitin-1 inficirao pretka uskonosca (Cathartini - u koje spadaju ljudi, čovjekoliki majmuni i dr.) prije 25 milijuna godina, nakon izdvajanja majmuna Starog svijeta (Imakawa i Nakagawa, 2017). Navedena filogenija prikazana je na Slici 7. Iz toga slijedi da je sinciciotrofoblast u antropoida nastao nakon akvizicije sincitina-2 u citotrofoblastima, no čini se da nakon dolaska sincitina-1 on u uskonoscima preuzima glavnu fuzogenu ulogu (Imakawa i Nakagawa, 2017).

ERV3-1 također je prisutan kod svih uskonosaca, a nalazimo ga na položaju 7q11 ljudskog kromosoma 7 (Bustamante Rivera i sur., 2018). Iako je on *env* gen, nije zapaženo da njegov produkt ima fuzogenu aktivnost. Čak ni nije usidren u membranu niti ima FP. Zanimljivo, eksprimiran je u kori nadbubrežne žlijezde i testisima (Huppertz i sur., 2006).

8.2 Mišji ERV-ovi i sincitini

Sinciciotrofoblast mišje placente organiziran je u dva sloja (ST-I i ST-II), no iako se radi o dva različita sloja, oni su međusobno jako dobro povezani pa se može reći da su analogni s funkcijom ljudskog jednoslojnog sinciciotrofoblasta. Mišja je placenta stoga adekvatan modelni organizam za uvid u ljudsku. ST-I i ST-II komunikaciju uspostavljaju preko pukotinskih veza (engl. *gap junctions*) koje im omogućavaju gotovo neometanu izmjenu raznolikog sadržaja. Što se tiče rasporeda dvaju sloja: ST-I se nalazi prema majčinskom dijelu placente, a ST-II je na embrionalnom (Lavialle i sur., 2013).

In silico analiza mišjeg genoma otkrila je prisutnost dva Env proteina. Nazvani su sincitin-A i sincitin-B zbog svoje sličnosti, ali opet i razlike s ljudskim sincitinima. Stečeni su prije 25 milijuna godina te su od tada znatno konzervirani. Ekspresija im je specifična za placentu, gdje i pokazuju fuzogenu aktivnost. Sincitin-A nađen je u ST-I, a sincitin-B eksprimiran je u ST-2. Kada je gen za sincitin-A utišan, dolazi do ugibanja fetusa pri sredini gestacijskog perioda. Razlozi su: narušena građa placente, nakupljanje nestopljenih citotrofoblasta i neispravna stanična fuzija u ST-I. S druge strane, utišavanje sincitina-B ne uzrokuje kobne promijene. Naime, *null* mutanti pokazivali su minimalne simptome kao što su: usporen rast pred kraj razvoja te smanjen broj mladunčadi, no svejedno su bili vijabilni. Ispostavilo se da su ovi mutanti imali pojačanu ekspresiju gena za protein pukotinskih veza (koneksin-30) te se isti gomilao u ST-II na mjestima defektnih fuzija. Logična pretpostavka je da se radi o kompenzacijskom mehanizmu koji omogućava da ST-I i II uspostave snažniju komunikaciju kako bi nadoknadili manjak izmjene resursa zbog izostanka pravilne fuzije. Embriji s utišana oba sincitina ugibali su ranije od sincitin-A mutanata što ukazuje da je pravilna funkcija oba sloja sinciciotrofoblasta i njihovih sincitina ključna da bi placenta mogla obavljati svoje funkcije (Lavialle i sur., 2013).

8.3 ERV-ovi i sincitini preživača

Fuzogeni protein u placentama preživača (podred Ruminantia) nazvan je sincitin-Rum1. Njegov je ERV zajedničkog pretka svih preživača inficirao prije 30 milijuna godina, te je konzerviran u većini. Nađen je i kod goveda i kod ovaca u binuklearnim stanicama, no njegova transkripcija jača je u ovčjoj placenti. Smatra se da bi ovo mogao biti razlog iza morfološke razlike hibridnih stanica u placentama tih skupina. Naime, goveda u placenti imaju trinuklearne trofoblaste, dok ovce sadrže sincicijalne plakove (Nakaya i Miyazawa, 2015).

Sekvencirajućim metodama dokučena je prisutnost raznih ERV-ova u genomima goveda (potporodica Bovinae) te se pretragama baza podataka utvrdilo da BERV-K1 (engl. *bovine endogenous retrovirus*) i BERV-K2 sadrže *env* gene. Točnije, dok BERV-K1 sadrži samo *env* gen, BERV-K2 ima intaktna sva tri karakteristična retrovirusna gena – *gag*, *pol* i *env*. Dalje su na njima provedena istraživanja kako bi se utvrdilo pokazuju li njihovi produkti fuzogenu aktivnost. *In vitro* testiranje pokazalo je da je ona visoka za protein BERV-K1-a, no nije zapažena kod BERV-K2-ovog produkta. Protein gena BERV-K1 dobio je ime Fematrin-1 od engl. *Fetomaternal trinucleate cell inducer 1*. Pretpostavlja da je u goveda upravo on primarni posrednik nastanka multinuklearnih stanica, što je još jače potvrđeno činjenicom da je *in situ* hibridizacijom i imunohistokemijom dokazana njegova lokalna ekspresija u placenti, odnosno u binuklearnim trofoblastima. Preferencijalna ekspresija gena BERV-K2 nije utvrđena u placenti. BERV-K1 karakterističan je za goveda te nije nađen ni u kojim drugim vrstama uključujući potporodicu Caprinae u koju spadaju ovce i koze. Ovo navodi na pretpostavku da je zajednički predak goveda BERV-K2 stekao nakon odvajanja od Caprinae-a prije 20 milijuna godina (Slika 7). Nadalje, u govedu je detektirano još ERV-ova kao na primjer bERVE-A i BERV-P no njihove funkcije još nisu poznate (Nakaya i Miyazawa, 2015).

Ovce (rod *Ovis*) sadrže grupu ERV-ova zvanu enJSRV-ovi (engl. *endogenous Jaagsiekte sheep retroviruses*). Ovi ERV-ovi nastali su iz dva virusa koji uzrokuju tumore respiratornog sustava – egzogenog JSRV-a i ENTV-a (engl. *enzootic nasal tumor virus*). U ovcama je nađeno 27 enJSRV-a od kojih je 5 intaktno. Vjeruje se da neki od tih ERV-ova služe kao zaštita od JSRV-a i ENTV-a jer im otežavaju replikaciju. Čini se da su enJSRV-ovi uključeni i u placentaciju ovaca jer su u placentomima nađene dvije mRNA od ERV-ova te skupine. Također je u drugom istraživanju pokazano da je inhibicija ekspresije Env proteina uzrokovala smrt embrija oko perioda implantacije zato što nije došlo do nastajanja binuklearnih trofoblasta. Navedeno ukazuje da je taj Env bitan za nastanak binuklearnih, no još nije sasvim poznatu je li uključen u nastanak trinuklearnih stanice (Nakaya i Miyazawa, 2015).

9. ERV-ovi KAO REGULATORI GENSKE EKSPRESIJE

U zadnje se vrijeme sve više otkriva dodatna uloga ERV-ova. Radi se o njihovoj uključenosti u regulaciji genske ekspresije. Dio virusa koji bi mogao biti najbitniji za ovu funkciju njegove su nekodirajuće LTR regije. Naime, retrovirusni geni s obje strane omeđeni ovim LTR-ovima koji služe kao njihovi promotori, stoga slijedi pretpostavka da se, kad su integrirani u stanični genom, ponašaju kao promotori ili pojačivači domaćinskih gena. Prilikom istraživanja regulatornih elemenata sisavaca, otkriveno je da ERV-ovi sačinjavaju velik udio tkivno specifičnih regulatornih elemenata. Posebice su zastupljeni u matičnim stanicama embrija i stanicama placente. Tako u mišjih trofoblasta, 30 % pojačivača specifičnih za placentu potječu iz jedne obitelji ERV-ova (Chuong, 2018).

Kortikotropin oslobađajući hormon (engl. *corticotropin-releasing hormone*, CRH) u velikim je količinama tijekom trudnoće proizveden u ljudskoj placenti te je njegova funkcija usko povezana s kontrolom tempiranja poroda. Placentalno lučenje CRH-a jedinstveno je primatima pošto se on kod svih drugih sisavaca luči primarno u hipotalamusu. Ispostavilo se da je regulacija ekspresije LTR elementom specifičnim za primata uzrok navedenom. LTR se nalazi dvije kilobaze uzvodno od gena za CRH te rezultati analiza ukazuju da nosi ulogu pojačivača, a ne promotora. Prije otprilike 50 milijuna godina, pretka čovjekolikih majmuna, inficirao je ERV koji je donesao upravo spominjani LTR. Taj se ERV zove THEB1 (engl. *transposon-like human element 1B*). Kada je ušao u domaćina, THEB1 je po njegovom genomu rasprostranio oko 20 000 kopija, nakon čega su ih mutacije ubrzo inaktivirale. Stanični geni u blizini nekih od ovih elemenata pokazuju lokalno specifičnu ekspresiju u placenti, što ukazuje na to da su uvjeti u placenti skloni dopuštati aktivnost THEB1 i od njega deriviranih elemenata (Chuong, 2018).

U daljnjim istraživanjima THEB1 gena, postavljen je eksperiment s miševima koji imaju „humaniziranu“ placentu, odnosno radi se o miševima s unesenim umjetnim bakterijskim kromosomom koji nosi gen za CRH zajedno s THEB1-om uzvodno. Iako miševi normalno proizvode CRH u hipotalamusu, ovakvi modificirani miševi ekspimirali su ga i u placenti. Štoviše, mladi su se okotili u prosijeku 15 sati kasnije naspram nemodificiranih miševa što ide u korist hipotezi da je CRH povezan s regulacijom vremena poroda. Sljedeći korak bio je izrezivanje THEB-1 LTR elementa iz bakterijskog kromosoma modificiranih miševa upotrebom metode CRISPR (engl. *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*), nakon čega se

ekspresija u placenti vratila na ništicu, a period gestacije podigao se na normalnu duljinu. Opisani pokusi potvrđuju regulatornu ulogu ovog ERV-a u placenti te ističu važnost njegove akvizicije za vremensku kontrolu gestacije primata (Chuong, 2018). Konačni korak u ovom slijedu ispitivanja bio je utvrđivanje da je DLX3 (engl. *distal-less homeobox 3*) transkripcijski aktivator THEB-1 pojačivača. Otkriveno je da je DLX3 koeksprimiran s CRH te da ima vezno mjesto na 5' kraju THEB1. Zatim je i potvrđeno da DLX3 i THEB1 međusobno interagiraju. Sumarno stečena saznanja ukazuju na model gdje je tkivno specifična ekspresija CRH u placenti potaknuta transkripcijskim faktorom DLX3 koji sjeda na pojačivač THEB1 retrovirusnog porijekla (Chuong, 2018).

10. ZAKLJUČAK

ERV-ovi su imali fundamentalnu ulogu u razvoju placente kod sisavaca. Njihova integracija nezavisno se dogodila u nekolicini loza što je uzrokovalo konvergentnu evoluciju placente. Primarni produkt ERV-ova koji je dozvolio navedeno bili su sincitini. Oni su posrednici adaptiranja sincicija – karakteristike virusne infekcije – u svrhu razvoja specifičnog organa. Virusni postanak placente također je omogućio njezinu bizarnu prirodu kao organ sačinjen od stanica dviju (ili više) različitih jedinki – u principu jedini primjerak svoje vrste. Unatoč svemu što je poznato, preostali su mnogobrojni misteriji u ovoj temi. Koji mehanizmi sincitina omogućuju njihov utjecaj na razvoj placente? Koliko su ERV-ovi zapravo relevantni u regulaciji genske ekspresije u placenti, no i u drugim organima? Zašto je baš ekspresija ERV-ova toliko ograničena na placentu, te koji su sve mehanizmi u to uključeni? Kakva je točno uloga sincitina u imunosupresiji? Zašto sisavci koriste više sincitina u razvoju placente? Ova pitanja, a i još mnogo sličnih, zahtijevaju puno mukotrpnog istraživanja, ali potencijalna korist naučenog nadmašit će bilo kakve troškove. Saznanja na ovoj fronti omogućila bi nam bolji uvod u patologije placente koje su vodeći razlog komplikacija u trudnoći.

11. LITERATURA

- Barber, H. R. K. (1993). *Ovarian Carcinoma*. Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-9232-3>
- Betaretrovirus*. (2010). SwissBioPics.
- Bininda-Emonds, O. R. P., Cardillo, M., Jones, K. E., MacPhee, R. D. E., Beck, R. M. D., Grenyer, R., Price, S. A., Vos, R. A., Gittleman, J. L., & Purvis, A. (2007). The delayed rise of present-day mammals. *Nature*, *446*(7135), 507–512. <https://doi.org/10.1038/nature05634>
- Burton, C., & Barteel, E. (2019). Syncytia Formation in Oncolytic Virotherapy. *Molecular Therapy - Oncolytics*, *15*, 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2019.09.006>
- Burton, G. J., & Jauniaux, E. (2015). What is the placenta? *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *213*(4), S6.e1-S6.e4. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.07.050>
- Bustamante Rivera, Y. Y., Brütting, C., Schmidt, C., Volkmer, I., & Staeger, M. S. (2018). Endogenous Retrovirus 3 – History, Physiology, and Pathology. *Frontiers in Microbiology*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02691>
- Carter, A. M., & Martin, R. D. (2010). Comparative anatomy and placental evolution. U *Placental Bed Disorders: Basic Science and its Translation to Obstetrics* (str. 109–126). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511750847.013>
- Chukus, A., Tirada, N., Restrepo, R., & Reddy, N. I. (2015). Uncommon Implantation Sites of Ectopic Pregnancy: Thinking beyond the Complex Adnexal Mass. *RadioGraphics*, *35*(3), 946–959. <https://doi.org/10.1148/rg.2015140202>
- Chuong, E. B. (2018). The placenta goes viral: Retroviruses control gene expression in pregnancy. *PLoS Biology*, *16*(10). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.3000028>
- Durnaoglu, S., Lee, S.-K., & Ahn, J. (2021). Syncytin, envelope protein of human endogenous retrovirus (HERV): no longer ‘fossil’ in human genome. *Animal Cells and Systems*, *25*(6), 358–368. <https://doi.org/10.1080/19768354.2021.2019109>
- Flint, J., Racaniello, V. R., Rall, G. F., Hatzioannou, T., & Skalka, A. M. (2020). *Principles of Virology* (5. izd., Sv. 1). AMS Press.

- Furukawa, S., Kuroda, Y., & Sugiyama, A. (2014). A Comparison of the Histological Structure of the Placenta in Experimental Animals. *Journal of Toxicologic Pathology*, 27(1), 11–18. <https://doi.org/10.1293/tox.2013-0060>
- Gargett, C. E., Nguyen, H. P. T., & Ye, L. (2012). Endometrial regeneration and endometrial stem/progenitor cells. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 13(4), 235–251. <https://doi.org/10.1007/s11154-012-9221-9>
- Gifford, R., & Tristem, M. (2003). The Evolution, Distribution and Diversity of Endogenous Retroviruses. *Virus Genes*, 26(3), 291–315. <https://doi.org/10.1023/A:1024455415443>
- Gilbert, S. F., & Barresi, M. J. F. (2016). *Developmental Biology* (11. izd.). Sinauer Associates is an imprint of Oxford University Press.
- Grandi, N., & Tramontano, E. (2018). HERV Envelope Proteins: Physiological Role and Pathogenic Potential in Cancer and Autoimmunity. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00462>
- Grosser, O. (1909). *Vergleichende Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Eihäute und der Placenta*. Wilhelm Braumüller.
- Haig, D. (2012). Retroviruses and the placenta. *Current Biology*, 22(15). <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.06.002>
- Hoffman, L. H., & Wooding, F. B. P. (1993). Giant and binucleate trophoblast cells of mammals. *Journal of Experimental Zoology*, 266(6), 559–577. <https://doi.org/10.1002/jez.1402660607>
- Hoffmann, B., & Schuler, G. (2002). The bovine placenta; a source and target of steroid hormones: observations during the second half of gestation. *Domestic Animal Endocrinology*, 23(1–2), 309–320. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(02\)00166-2](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(02)00166-2)
- Huppertz, B., Bartz, C., & Kokozidou, M. (2006). Trophoblast fusion: Fusogenic proteins, syncytins and ADAMs, and other prerequisites for syncytial fusion. *Micron*, 37(6), 509–517. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2005.12.011>

- Hyun, I., Munsie, M., Pera, M. F., Rivron, N. C., & Rossant, J. (2020). Toward Guidelines for Research on Human Embryo Models Formed from Stem Cells. *Stem Cell Reports*, *14*(2), 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.12.008>
- Imakawa, K., Kusama, K., Kaneko-Ishino, T., Nakagawa, S., Kitao, K., Miyazawa, T., & Ishino, F. (2022). Endogenous Retroviruses and Placental Evolution, Development, and Diversity. *Cells*, *11*(15). <https://doi.org/10.3390/cells11152458>
- Imakawa, K., & Nakagawa, S. (2017). The Phylogeny of Placental Evolution Through Dynamic Integrations of Retrotransposons. U *Progress in Molecular Biology and Translational Science* (Sv. 145, str. 89–109). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2016.12.004>
- Jones, R. E., & Lopez, K. H. (2014). The Female Reproductive System. U *Human Reproductive Biology* (str. 23–50). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382184-3.00002-7>
- Laundon, D., Gostling, N. J., Sengers, B. G., Chavatte-Palmer, P., & Lewis, R. M. (2024). Placental evolution from a three-dimensional and multiscale structural perspective. *Evolution*, *78*(1), 13–25. <https://doi.org/10.1093/evolut/qqad209>
- Lavialle, C., Cornelis, G., Dupressoir, A., Esnault, C., Heidmann, O., Vernochet, C., & Heidmann, T. (2013). Paleovirology of „syncytins“, retroviral env genes exapted for a role in placentation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *368*(1626). <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0507>
- McMillan, D. B., & Harris, R. J. (2018). Genital Systems. U *An Atlas of Comparative Vertebrate Histology* (str. 511–551). Academic Press.
- Mi, S., Lee, X., Li, X., Veldman, G. M., Finnerty, H., Racie, L., LaVallie, E., Tang, X.-Y., Edouard, P., Howes, S., Keith, J. C., & McCoy, J. M. (2000). Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature*, *403*(6771), 785–789. <https://doi.org/10.1038/35001608>
- Mossman, H. W. (1937). Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures 937;26. *Contributions to Embryology*, *26*, 129–246.
- Nakaya, Y., & Miyazawa, T. (2015). The Roles of Syncytin-Like Proteins in Ruminant Placentation. *Viruses*, *7*(6), 2928–2942. <https://doi.org/10.3390/v7062753>

- Ogle, B. M., Cascalho, M., & Platt, J. L. (2005). Biological implications of cell fusion. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6(7), 567–575. <https://doi.org/10.1038/nrm1678>
- Ono, R., Kobayashi, S., Wagatsuma, H., Aisaka, K., Kohda, T., Kaneko-Ishino, T., & Ishino, F. (2001). A Retrotransposon-Derived Gene, PEG10, Is a Novel Imprinted Gene Located on Human Chromosome 7q21. *Genomics*, 73(2), 232–237. <https://doi.org/10.1006/geno.2001.6494>
- Ono, R., Nakamura, K., Inoue, K., Naruse, M., Usami, T., Wakisaka-Saito, N., Hino, T., Suzuki-Migishima, R., Ogonuki, N., Miki, H., Kohda, T., Ogura, A., Yokoyama, M., Kaneko-Ishino, T., & Ishino, F. (2006). Deletion of Peg10, an imprinted gene acquired from a retrotransposon, causes early embryonic lethality. *Nature Genetics*, 38(1), 101–106. <https://doi.org/10.1038/ng1699>
- Polin, R., Abman, S. H., Rowitch, D. H., & Benitz, W. (2021). *Fetal and Neonatal Physiology* (6. izd., Sv. 1). Elsevier Health Sciences.
- Ramathal, C. Y., Bagchi, I. C., Taylor, R. N., & Bagchi, M. K. (2010). Endometrial decidualization: Of mice and men. *Seminars in Reproductive Medicine*, 28(1), 17–26. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1242989>
- Roberts, R. M., Ezashi, T., Schulz, L. C., Sugimoto, J., Schust, D. J., Khan, T., & Zhou, J. (2021). Syncytins expressed in human placental trophoblast: Human trophoblast syncytins. *Placenta*, 113, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2021.01.006>
- Roberts, R. M., Green, J. A., & Schulz, L. C. (2016). The evolution of the placenta. *Reproduction*, 152(5), R179–R189. <https://doi.org/10.1530/REP-16-0325>
- Schatten, H., & Constantinescu, G. M. (2007). *Comparative Reproductive Biology* (H. Schatten & G. M. Constantinescu, Ur.). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9780470390290>
- Shimode, S. (2023). Acquisition and Exaptation of Endogenous Retroviruses in Mammalian Placenta. *Biomolecules*, 13(10). <https://doi.org/10.3390/biom13101482>
- Simpson, G. G. (1945). The Principles of Classification and a Classification of Mammals. U *Bulletin of the American Museum of Natural History* (Sv. 85, str. 1–350). American Museum of Natural History.

- Stoye, J. P. (2012). Studies of endogenous retroviruses reveal a continuing evolutionary saga. *Nature Reviews Microbiology*, *10*(6), 395–406. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2783>
- Tang, J., Frascaroli, G., Zhou, X., Knickmann, J., & Brune, W. (2021). Cell Fusion and Syncytium Formation in Betaherpesvirus Infection. *Viruses*, *13*(10), 1973. <https://doi.org/10.3390/v13101973>
- Tuckey, R. C. (2005). Progesterone synthesis by the human placenta. *Placenta*, *26*(4), 273–281. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2004.06.012>
- Wagner, G. P. (2018). Comparative Placentation-Mammals. U *Encyclopedia of Reproduction* (str. 455–461). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64668-8>
- Wimsatt, W. A. (1975). Some Comparative Aspects of Implantation. *Biology of Reproduction*, *12*(1), 1–40. <https://doi.org/10.1095/biolreprod12.1.1>
- Wooding, F. B. P. (1992). The synepitheliochorial placenta of ruminants: Binucleate cell fusions and hormone production. *Placenta*, *13*(2), 101–113. [https://doi.org/10.1016/0143-4004\(92\)90025-O](https://doi.org/10.1016/0143-4004(92)90025-O)
- Wynn, R. M., & Jollie, W. P. (1977). *Biology of the Uterus* (R. M. Wynn, Ur.). Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4684-2271-9>
- Zametak. (2024). U *Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje*. Leksikografski zavod Miroslav Krleža.

12. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 2002. godine u Zagrebu. Nakon završetka osnovne škole, 2017. godine upisao sam smjer prirodoslovne gimnazije u Prirodoslovnoj školi Vladimira Preloga. Na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu 2021. godine upisao sam Prijediplomski sveučilišni studij Molekularna biologija.