

ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ ΓΡΗΓΟΡΙΑΔΗΣ

“Κύτταρα Hofbauer. Ανοσοϊστοχημική μελέτη της κατανομής και της μεταβολής αυτών σε φυσιολογικούς και παθολογικούς πλακούντες δια των δεικτών CD1, CD14, CD68, IFN- α , IL-1, Ki67.”

Περίληψη

Είναι γενικά αποδεκτό ότι τα κύτταρα Hofbauer αποτελούν μακροφάγα εμβρυϊκής προέλευσης του ανθρώπινου πλακούντα. Έχουν περιγραφεί ως πολύμορφα κύτταρα του στρώματος των λαχνών με σφαιρική, ατρακτοειδή ή αστεροειδή μορφή, τα οποία σε πλακούντες μη επιπλεγμένων κυήσεων είτε εξαφανίζονται, είτε περιορίζονται αρκετά μετά τον 4^ο με 5^ο μήνα της κύησης. Ωστόσο υπάρχουν ενδείξεις ότι παραμένουν έως το πέρας φυσιολογικών κυήσεων. Μορφολογικώς η αναγνώρισή τους καθίσταται ευχερής μόνον σε ανώριμες ενδιάμεσες λάχνες ενώ η ανοσοϊστοχημεία, τόσο σε φυσιολογικές κυήσεις όσο κι επί παθολογίας κύησης, χρησιμοποιώντας δείκτες για μακροφάγα, καταδεικνύει πως ένα μεγάλο ποσοστό των κυττάρων του στρώματος έχει χαρακτηριστικά μακροφάγων κι ως εκ τούτου ανήκει στην κατηγορία των κυττάρων Hofbauer.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση των αλλαγών της μορφολογίας και της κατανομής των κυττάρων Hofbauer μεταξύ φυσιολογικών και παθολογικών κυήσεων.

Συνολικά εξετάστηκαν εβδομήντα παρασκευάσματα πλακούντων. Δεκαέξι αφορούσαν σε φυσιολογικές τελειόμηνες κυήσεις, δέκα σε κυήσεις πρώτου τριμήνου, εικοσι-έξι σε κυήσεις με χρωμοσωμιακές ανωμαλίες του εμβρύου (13-23 εβδ. κύησης), δέκα σε κυήσεις επιπλεγμένες από σακχαρώδη διαβήτη και τέλος οκτώ σε περιπτώσεις ενδομήτριας υπολειπόμενης ανάπτυξης του εμβρύου (IUGR). Πραγματοποιήθηκε μελέτη ιστολογικών τομών Αιματοξυλίνης – Ηωσίνης (H-E) για ημιποσοτικό καθορισμό του αριθμού των κυττάρων Hofbauer ανά λάχνη και της βασικής μορφολογίας. Εξετάστηκαν τουλάχιστον πενήντα λάχνες ανά περίπτωση χρησιμοποιώντας φωτομικροσκόπιο υψηλής ευκρίνειας. Ακολούθησε ανοσοϊστοχημική μελέτη με αυτοματοποιημένη μέθοδο Ventana και χρήση των κάτωθι δεικτών: CD 14, CD 68, Lysozyme, A1 Antichymotrypsine, CK7, Vimentin, IL-1, Ki-67.

Επί φυσιολογικών τελειόμηνων κυήσεων η μελέτη H-E κατέδειξε την παρουσία κυττάρων Hofbauer σε 6/16 περιπτώσεις. Τα κύτταρα παρουσίαζαν ωοειδές σχήμα με στρογγυλούς πυρήνες και κοκκιώδες κυτταρόπλασμα. Η ανοσοϊστοχημική μελέτη ωστόσο κατέδειξε την ύπαρξή τους σε 14/16 περιπτώσεις δια του δείκτη A1 Antichymotrypsine.

Επί κυήσεων πρώτου τριμήνου η βασική μελέτη H-E απέβη θετική για παρουσία κυττάρων Hofbauer σε όλες τις περιπτώσεις. Τα κύτταρα παρουσίαζαν στρογγυλό σχήμα με αραιοχρωματικούς πυρήνες και κοκκόφιλο κυτταρόπλασμα. Ο ανοσοϊστοχημικός δείκτης A1 Antichymotrypsine ήταν θετικός σε όλες επίσης τις περιπτώσεις ενώ ο CD 68 σε 8/10 περιπτώσεις.

Επί χρωμοσωμιακών ανωμαλιών του εμβρύου τόσο η μελέτη H-E όσο και η ανοσοϊστοχημεία μέσω κυρίως των δεικτών A1 Antichymotrypsine (26/26), CD 68 (23/26), Lysozyme (13/26) και CD 14 (12/26) κατέδειξε την παρουσία κυττάρων Hofbauer σε όλα τα εξετασθέντα δείγματα. Η μορφολογία δεν παρουσίαζε σημαντικές διαφορές από την αντίστοιχη επί κυήσεων πρώτου τριμήνου.

Σε περιπτώσεις σακχαρώδους διαβήτη κύησης τόσο η βασική H-E μελέτη όσο και η ανοσοϊστοχημεία μέσω του δείκτη A1 Antichymotrypsine κατέδειξαν την παρουσία κυττάρων Hofbauer σε 7/10 περιπτώσεις.

Τέλος, σε περιπτώσεις IUGR κήσεων ενώ η βασική μελέτη H-E κατέδειξε την παρουσία κυττάρων Hofbauer σε 5/8 πλακούντες, η ανοσοϊστοχημική εξέταση δια του δείκτη A1 Antichymotrypsine απέβη θετική σε όλα τα δείγματα.

Η μελέτη ενισχύει τις πιο πρόσφατες βιβλιογραφικές αναφορές σύμφωνα με τις οποίες τα κύτταρα Hofbauer είναι παρόντα στις λάχνες του πλακούντα καθόλη τη διάρκεια της κήσεως, με μειούμενη ωστόσο συγκέντρωση και επιβεβαιώνεται ότι είναι εμβρυϊκής προέλευσης μακροφάγα κύτταρα. Ως πλέον ειδικός δείκτης για την ανίχνευση κυττάρων Hofbauer φαίνεται η A1 Antichymotrypsine. Δεν παρατηρήθηκε μιτωτική δραστηριότητα των κυττάρων Hofbauer κατά τη μελέτη μας, όπως φάνηκε από το γεγονός ότι ο δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 ήταν αρνητικός σε όλα τα εξετασθέντα δείγματα. Παρατηρήθηκαν αξιόλογες διαφορές στη συγκέντρωση κυττάρων Hofbauer μεταξύ τελειόμηνων και κήσεων πρώτου τριμήνου. Επίσης αυξημένη συγκέντρωση κυττάρων Hofbauer αναγνωρίστηκε σε περιπτώσεις χρωμοσωμιακών ανωμαλιών, όπου σε 11/26 περιπτώσεις ήταν παρόντα πάνω από 3 κύτταρα ανά εξετασθείσα λάχνη. Παρατηρήθηκαν, τέλος, αξιόλογες μορφολογικές αλλαγές, με το στρογγυλό σχήμα των κυττάρων του πρώτου τριμήνου τα οποία έφεραν κοκκόφιλο κυτταρόπλασμα να αλλάζει με την πάροδο της κήσεως σε ωειδές σχήμα με κοκκιώδες κυτταρόπλασμα.

ABSTRACT

It is generally agreed that Hofbauer cells (H.c.) are fetal tissue macrophages of the human placenta. H.c. have been described as frequent, pleomorphic cells of the villous stroma with round, fusiform, or stellate appearance. In placentas from uncomplicated pregnancies, H.c. either disappear or become scanty after the 4th to 5th month of gestation. However, several studies have demonstrated that H.c. are present until term. In normal term placentas, H.c. can easily be recognized by structural means only in immature intermediate villi. Immunohistochemistry using macrophage markers, however, reveals that a high percentage if not the majority of stromal cells in term placental villi has macrophage character and thus belongs to the Hofbauer cells.

The aim of this study was to investigate the changes in morphology and concentration of H.c. between placentas from normal and pathological pregnancies.

Totally, 70 placenta's specimens were examined. i) placenta's from normal uncomplicated term pregnancies (16), ii) placenta's from first trimester's miscarriages (10), iii) placenta's from cases with prenatal diagnosis of chromosomal abnormality (26) between the 13th and the 23rd week of gestation, iv) placenta's from pregnancies complicated with intrauterine growth restriction (IUGR) (8), and v) placenta's from pregnancies complicated with gestational diabetes mellitus (10).

Histological study of Hematoxylin – Eosin sections was performed for semi-quantitative determination of H.c. concentration per villous and their basic ultrastructure. At least 50 villi per case were examined using high-power microscope. Immunohistochemical study with automatic Ventana method followed. The markers that were used were: CD 14, CD 68, Lysozyme, A1 Antichymotrypsine, CK7, Vimentin, IL-1, Ki-67.

In normal term pregnancies, H – E study showed the presence of H.c. in 37.5% of cases. H.c. present oviform shape, with round nuclei and granulated cytoplasm. However, immunohistochemical study using marker A1 Antithrypsine revealed their presence in 87.5% of cases.

In first trimester's miscarriages, basic H – E study was positive for H.c. presence in all cases. H.c. had round shape with thin-coloured nuclei and coccophile cytoplasm. Marker A1 Antichymotrypsine was also positive in all cases, while CD 68 showed positive immunoreaction in 80% of cases.

In cases with prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities both basic and immunohistochemical study, by using A1 Antichymotrypsine (26/26), CD 68 (23/26), Lysozyme (13/26) και CD 14 (12/26), showed H.c. presence in all specimens. Morphological characteristics of H.c. did not present any differences compared with H.c. that were found in first trimester's miscarriages.

In cases of gestational diabetes mellitus both basic H-E and immunohistochemical study using A1 Antichymotrypsine showed H.c. presence in 70% of cases.

In IUGR pregnancies, basic study was positive for H.c. presence in 62.5% of cases, while immunohistochemical study using A1 Antichymotrypsine revealed H.c. in all specimens (100%).

This study is in agreement with recent literature reports which support that H.c. are fetal tissue macrophages, present in placental villi during pregnancy, but with progressively reducing concentration. The most specific marker for H.c. detection is A1 Antichymotrypsine. No mitotic activity of H.c. was noticed in our study and the marker of cellular multiplication Ki – 67 was negative in all examined specimens.

There were significant differences in H.c. concentration between term and first trimester's pregnancies. Additionally, increased H.c. concentration was recognised in cases of chromosomal abnormalities, where more than 3 H.c./villous were present in 42.3% of cases.

Finally, significant morphological differences during pregnancy were observed. The round shape of first trimester's H.c. that had coccophilus cytoplasm was changed with the progress of gestation into oviform shape with granulated cytoplasm.