

Карагандинский государственный медицинский университет

УДК 618.36-091.8-07

На правах рукописи

КАМЫШАНСКИЙ ЕВГЕНИЙ КОНСТАНТИНОВИЧ

Диагностическая значимость CD15-иммунофенотипирования в оценке антенатальной плацентарной недостаточности

6D110100 – Медицина

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Отечественный научный руководитель
Тусупбекова М.М., д.м.н., профессор,
заведующий кафедрой патологической
анатомии КГМУ, Казахстан

Зарубежный научный руководитель:
Зайдман Л.Н., к.м.н., доцент, старший врач
института патологии и руководитель группы
детской патологии Университетского
медицинского центра Университета Иоганна
Гутенберга в Майнце, Германия

Республика Казахстан
Караганда, 2018

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ	5
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	6
ВВЕДЕНИЕ	7
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Плацента в норме и диагностическая значимость ее исследования	13
1.1.1 Исторические сведения	13
1.1.2 Основные этапы формирования и развития плаценты	14
1.1.3 Актуальность исследования плаценты	18
1.2 Основные типы структурной патологии плаценты	20
1.2.1 Патология плаценты, ассоциированная с акселерацией созревания ворсинок хориона	20
1.2.2 Патология плаценты, ассоциированная с задержкой созревания ворсинок хориона	21
1.3 Плацента как источник гематопозитических стволовых/прогениторных клеток	22
1.4 CD15 и его идентификация	24
1.4.1 Определение и роль CD15+ клеток в эмбриогенезе	25
1.4.2 Определение и роль CD15+ клеток в нервной системе в норме и патологии	28
1.4.3 Определение и роль CD15+ клеток при воспалении и инфекционных заболеваниях	29
1.4.4 Определение и роль CD15+ клеток при онкологических заболеваниях	30
1.4.5 Васкулогенные CD15+ прогениторные клетки фетоплацентарного юнита и сосудистых опухолей в детском и взрослом периодах	31
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	33
2.1 Дизайн исследования	33
2.2 Макроскопическое и гистологическое исследование плацент	33
2.3 Основные клинические и морфологические характеристики плацент при физиологической и патологической беременности	34
2.4 Иммуногистохимическое исследование плаценты	35
2.5 Иммуногистохимическая оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макро- и микрососудах плацент	36
2.6 Статистическая обработка полученных данных	36
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	37
3.1 Иммуногистохимическая оценка внутрисосудистой интенсивности экспрессии (IRS) и количества CD15+ эндотелиальных клеток плацент при физиологическом и патологическом течении беременности	37
3.2 Характеристика массы и гистологического фенотипа исследуемых	

групп плацент при физиологической и патологической беременности	43
3.3 Сравнительная иммуногистохимическая оценка эндотелиальной экспрессии CD15 в макрососудах клинических групп плацент	60
3.3.1 Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток макроваскулярного русла плацент при физиологическом и патологическом течении беременности без клинических признаков антенатальной гипоксии/асфиксии плода	66
3.3.2 Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток макроваскулярного русла плацент при клинических признаках антенатальной плацентарной недостаточности с гипоксией/асфиксией плода	69
3.4 Сравнительная иммуногистохимическая оценка эндотелиальной экспрессии CD15 в микрососудах клинических групп плацент	76
3.4.1 Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток микрососудов плацент при физиологическом и патологическом течении беременности без клинических признаков антенатальной гипоксии/асфиксии плода	81
3.4.2 Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток макроваскулярного русла плацент при патологическом течении беременности с клиническими признаками антенатальной плацентарной недостаточности с гипоксией/асфиксией плода	84
3.5 Сравнительная иммуногистохимическая оценка экспрессии CD15 в капиллярах плацентарного барьера клинических групп плацент	92
3.5.1 Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в капиллярах плацентарного барьера плацент при физиологическом и патологическом течении беременности без клинических признаков гипоксии/асфиксии плода	97
3.5.2 Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в капиллярах плацентарного барьера плацент при патологическом течении беременности с клиническими признаками антенатальной плацентарной недостаточности с гипоксией/асфиксией плода	101
3.6 Обсуждение	114
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	121
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	124
ПРИЛОЖЕНИЕ А - Свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права №2468 от 24.10.2017	143
ПРИЛОЖЕНИЕ Б - Акт внедрения «Алгоритм клинико-морфологической оценки недостаточности плаценты от одноплодной беременности третьего триместра»	144

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

Клинический протокол диагностики и лечения «Ведение физиологической беременности», утвержденный протоколом заседания Экспертной комиссии по вопросам развития здравоохранения МЗ РК, протоколом № 19 от 19 сентября 2013 года.

Клинический протокол диагностики и лечения «Недостаточный рост плода», утвержденный протоколом заседания Экспертной комиссии по вопросам развития здравоохранения МЗ РК, протоколом № 10 от 4 июля 2014 года.

Клинический протокол диагностики и лечения «Оценка плода», утвержденный протоколом заседания Экспертной комиссии по вопросам развития здравоохранения МЗ РК, протоколом № 19 от 10 декабря 2015 года.

Заключение этической комиссии КГМУ № 15 от 21.02.2014 года.

ГОСТ 7.32-2001 (Межгосударственный стандарт) Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 7.1-2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления.

ГОСТ 7.9-95 (ИСО 214-76) Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация. Общие требования.

ГОСТ 7.12-93 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Сокращение слов на русском языке. Общие требования и правила.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяются следующие термины с соответствующими определениями:

Аntenатальная гибель плода - гибель плода с 22 полных недель срока гестации (масса тела более 500 г, окружность головы более 25 см)

Внутриутробная задержка развития плода - патологическое состояние, являющееся подгруппой МГВП (30-50%), при котором плод не достигает антропометрической или предполагаемой массы тела к конкретному гестационному возрасту (масса плода менее 10-ой перцентили).

Вырезка – иссечение кусочков тканей (тканевых образцов) и помещение их в фиксирующие растворы.

Гипоксический дистресс плода - это состояние плода, характеризующееся недостаточным снабжением тканей, органов и систем органов плода кислородом или неполным его усвоением при достаточном поступлении.

Окраска – технология окрашивания (контрастирования) тканевых срезов, основанная на химических и других реакциях, проводимых непосредственно в тканевом срезе (*in situ*), и имеющая своей целью сделать тканевой срез пригодным для микроскопического изучения (микроскопия); включает в себя процедуры депарафинизации, доведения до воды, непосредственно окрашивание (постановка реакции, определение), просветление, обезвоживание, заключение под покровное стекло и высушивание.

Патологическая беременность – беременность низкого, среднего или высокого риска, осложненная патологическими состояниями, которые могут угрожать жизни и здоровью как матери, так и плода.

Патологическая незрелость плаценты - это идиопатическое нарушение развития ворсинок и/или ангиогенеза плаценты с латентным нарушением респираторного потенциала плаценты и клинически неожиданной быстро прогрессирующей гипоксией плода.

Плацентарная недостаточность - это острый или хронический клинικο-морфологический симптомокомплекс, который возникает как результат сочетанной реакции плаценты и плода на различные состояния материнского организма.

Репрезентативный участок плаценты - участок паренхимы плаценты в области прикрепления пуповины с наибольшей высотой и вне патологических очагов, использующийся для интерпретации состояния фетальной и материнской сосудистых систем, характеристики ветвления и ангиогенеза ворсинок хориона.

Физиологическая беременность – течение беременности без осложнений соответственно сроку гестации.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящей диссертационной работе применяются следующие обозначения и сокращения:

BSSL	–	bile salt-stimulated lipase
GFAP	–	glial fibrillary acidic protein
GFP	–	green fluorescent protein
IRS	–	immunoreactive score
АГП	–	антенатальная гибель плода
БГВП	–	большой для гестационного возраста плод
ГСД	–	гестационный сахарный диабет
ГСК	–	гемопозитические стволовые/прогениторные клетки
ЗВУР	–	задержка внутриутробного развития плода
кПБ	–	капилляры плацентарного барьера
КТГ	–	кардиотокография
МГВП	–	малый для гестационного возраста плод
ОАПН	–	острая антенатальная плацентарная недостаточность
ОРВИ	–	острая респираторная вирусная инфекция
ПББГП	–	патологическая беременность без гипоксии плода
ПОНРП	–	преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты
ПСИРС	–	гипоксическое/метаболическое стресс-индуцированное ремоделирование сосудов плаценты.
ПЭ	–	преэклампсия
сАГВ	–	структурная акселерация развития ворсинок хориона для гестационного возраста
сЗГВ	–	структурная задержка развития ворсинок хориона
сНГВ	–	структурное нормальное развитие ворсинок хориона для гестационного возраста
ФБ	–	физиологическая беременность
ХАПН	–	хроническая антенатальная плацентарная недостаточность
ЭК	–	эндотелиальная клетка
мкм	–	микрометр

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. В настоящее время накоплен значительный объем эпидемиологических данных, свидетельствующих о том, что действие неблагоприятных условий в антенатальном периоде увеличивает риск развития заболеваний во взрослой жизни [1-3]. Связь между внутриутробным развитием плода и последующим развитием болезней у взрослых была впервые представлена Barker D.J., установившим ассоциацию низкой массы при рождении с рисками развития диабета 2 типа [4, 5] и сердечно-сосудистых заболеваний [6, 7]. Эта парадигма, называемая «фетальным программированием», может оказать значительное влияние на стратегии общественного здравоохранения и профилактики заболеваний [8, 9].

Плацентарная недостаточность - это осложнение беременности, при котором плацента не может доставлять плоду необходимое количество питательных веществ и кислорода и в полной мере обеспечивать потребности развивающегося плода. Главной задачей анализа наиболее тяжелых случаев хронической плацентарной недостаточности с неблагоприятным исходом является выявление лежащих в их основе причин и получение объективной информации для благоприятного исхода последующей беременности. По данным литературы, в развивающихся странах антенатальная гибель плода, в большинстве случаев, обусловлена установленными причинами и предотвратимыми факторами [10, 11]. Напротив, в развитых странах мертворождения в значительной степени связаны с отсутствием очевидной причины [12, 13]. Такое положение подчеркивает необходимость морфологического исследования плаценты, позволяющего дать качественную оценку хронической плацентарной недостаточности [14]. Однако, даже при тщательном морфологическом исследовании плаценты и его сопоставлении с данными аутопсии иногда причина антенатальной гибели плода остается неясной. Антенатальная гипоксия в таких случаях не всегда является нозологией, а чаще выступает как непосредственная причина смерти плода. Следует подчеркнуть, что основная причина смерти может быть идентифицирована только путем клинико-морфологических сопоставлений материнских, плацентарных и плодовых факторов.

Установлено, что плацентарная патология, обусловленная перфузионной недостаточностью у матери, является основным фактором антенатальной гибели плода до 38% случаев [15-17]. Это наиболее характерно для беременностей раннего срока, осложненных гипертоническими расстройствами, с сильным снижением в последующий период. Во втором и третьем триместре беременности антенатальная гибель плода чаще всего вызвана патологией развития паренхимы плаценты [18]. Поэтому морфологическое исследование плаценты имеет важное значение для выяснения причин мертворождений [19-22].

Более старые системы классификации перинатальной смертности [23] не рассматривали плацентарную патологию или специфические поражения

плаценты как отдельную группу. Только в более поздних классификационных системах патология плаценты включена как одна из причин антенатальной гибели плода. В недавних исследованиях мертворождений плацентарная патология обозначена как одна из основных причин смерти плода [24]. Введение систем классификации со включенной в качестве отдельной группы патологией плаценты может быть одной из причин, по которым последние исследования выявили патологию плаценты как одну из основных причин антенатальной гибели плода.

В зависимости от срока действия патологического фактора и компенсаторных возможностей плаценты статистика антенатальной гибели плода неясного генеза значительно варьирует в различных странах: от 5 на 1000 родов в развитых странах до 32 на 1000 родов в Южной Азии и Африке. При анализе динамики антенатальной гибели плода в зависимости от срока гестации в США за 2010 год отмечается, что в доношенном сроке количество случаев антенатальной гибели плода увеличивается (рисунок 1).

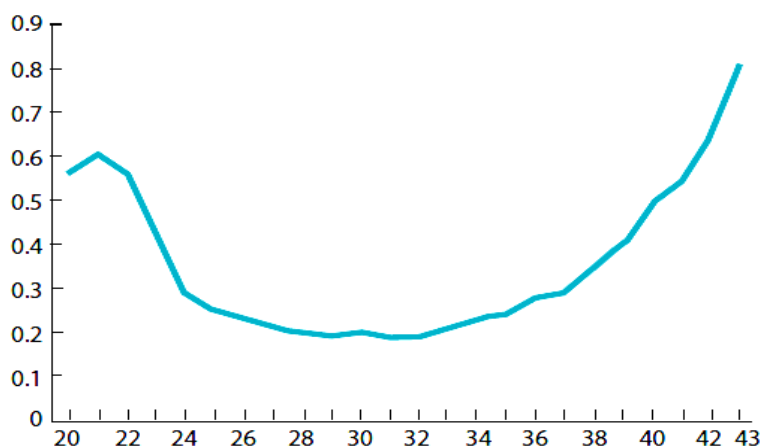


Рисунок 1 – Динамика антенатальной гибели плода в США в 2010 г. в зависимости от срока гестации [25]

В Российской Федерации в подавляющем большинстве случаев антенатальная гибель плода происходила в сроки 22-36 недель гестации (60,3%), при доношенной беременности (34,8%), при пролонгировании беременности более 40 недель (4,9%) [26]. Статистические данные значительно варьируют по регионам, а средние значения показателя антенатальной мертворождаемости в 2010 году составили 4,05%. Выявлено, что тенденция к снижению перинатальной смертности наблюдается за счет снижения ранней неонатальной смертности, однако антенатальные потери остаются стабильно высокими, достигая частоты 4,2:1000.

В Республике Казахстан показатель антенатальной мертворождаемости составил 9,2 ‰ в 2011 году, 9,6 ‰ в 2012 году и 9,1 ‰ в 2013 году. Причинами антенатальной гибели плодов являлись: хроническая гипоксия плода на фоне тяжелой анемии, обострение хронического пиелонефрита, тяжелая

преэклампсия, хронические вирусные инфекции, ОРВИ, синдром задержки развития плода.

Разница в показателях мертворождения в развивающихся и развитых странах обусловлена тем, что основные причины перинатальной смертности имеют управляемый характер и предотвратимы при хорошей организации родового ухода. Однако антенатальная гибель плода может сопровождаться клинически латентным течением поражения плаценты. Определение факторов риска в пренатальной фазе жизни ребенка становится важной задачей плацентарных исследований.

Антенатальная плацентарная недостаточность, сопровождающаяся асфиксией плода, в 63% случаев коррелирует с морфологической картиной структурной незрелости плаценты [27, с. 542-567; 28]. Патологическая незрелость плаценты (синонимы *maturitas tarda*, задержка созревания ворсинок, плацентарный дефект созревания, дефективное созревание плаценты) – это идиопатическое нарушение развития ворсинок и/или ангиогенеза плаценты с латентным нарушением респираторного потенциала плаценты и клинически неожиданной быстро прогрессирующей гипоксией плода.

При, как правило, клинически бессимптомных ограничениях респираторной функции «незрелой» плаценты достаточны незначительные стрессовые факторы (например, начало родовой деятельности) для возникновения респираторной декомпенсации с быстро прогрессирующей гипоксией/асфиксией плода. В группу риска в основном входят беременности доношенного срока. Соотношение случаев антенатальной гибели плода в доношенном и недоношенном сроке беременности составляет 3:1. Кроме того, более чем у 40% новорожденных выявляются симптомы транзиторной внутриутробной гипоксии, а пятая часть этих детей заболевает в послеродовом периоде [27, с. 551-597].

Наиболее часто патологическая незрелость ворсинок плаценты ассоциирована с перенесенной беременностью, многоплодной беременностью и беременностью женщин, страдающих ожирением, наследственной или приобретенной тромбофилией, внутриутробной, в частности вирусной инфекцией, скрытыми или манифестными формами сахарного диабета, аутоиммунными заболеваниями беременных женщин, хронической анемией плода или хроническим фето-фетальным трансфузионным синдромом. В 50% случаев причина не установлена и не диагностируема, что обозначается как «идиопатическая форма плацентарной незрелости». При патологической незрелости плаценты риск развития и рецидива фетальной гипоксии значительно возрастает [29].

При клинически физиологически протекающей беременности гипоксия плода может развиваться внезапно, и в ряде случаев привести к внезапной внутриутробной гибели плода (антенатальной гибели плода). В таких случаях срок гестации чаще всего составляет более 36 недель беременности, а также отсутствуют клинические проявления и диагностированные осложнения, несмотря на регулярные профессиональные наблюдения во время

беременности. В настоящее время установить причину и объяснить механизм гипоксии плода возможно только путем морфологического исследования плаценты после родов. Послеродовое выявление хронической плацентарной недостаточности, так называемого «хронического фетоплацентарного дистресса», может помочь в ранней стратификации гетерогенной популяции новорожденных с определением индивидуального риска заболеваний в постнатальном периоде.

Для определения структурной незрелости плаценты в настоящее время применяется трудоёмкий количественный анализ ворсинчатого дерева. Эта оценка степени созревания плаценты остается субъективной и часто клинически не востребованной. Зайдман Л.Н. был разработан новый метод оценки степени созревания плаценты, основанный на определении стадии дифференцировки/зрелости фетоплацентарных сосудов [30, с. 930]. Этот метод позволяет объективизировать оценку процесса созревания плаценты и значительно улучшить диагностическую значимость плацентарных исследований для перинатальных центров.

Новый диагностический метод основывается на иммунофенотипировании ткани плаценты антителами против CD15-антигена, позволяющем определить стадию дифференцировки/созревания CD15-позитивных плацентарных эндотелиальных прогениторных клеток (CD15+ pEPCs) в функционально важных сегментах фетоплацентарной сосудистой системы. Зайдман Л.Н. было показано, что патологическая незрелость фетоплацентарных сосудов в антенатальном периоде и персистенция CD15+ pEPCs в различных сегментах плацентарных сосудов отражает отклонение в физиологическом течении беременности и коррелирует с хроническими функциональными нарушениями плаценты и перинатальными осложнениями [31, с. 177].

На основании вышеизложенного следует, что определение диагностической значимости CD15-экспрессии в сосудистом русле плаценты позволит внедрить новый метод оценки фетоплацентарного развития с выявлением латентных форм пренатальных нарушений. Результаты исследования представляют интерес для патоморфологов, судебно-медицинских экспертов, акушеров-гинекологов и неонатологов.

Цель исследования: этаблирование метода CD15-иммунофенотипирования плацентарной ткани для выявления плацентарной недостаточности.

Задачи исследования:

- 1) дать количественную характеристику экспрессии CD15 в макро- и микрососудах плацент при физиологическом течении беременности в сроке гестации 37-42 недели;
- 2) дать количественную характеристику экспрессии CD15 в макро- и микрососудах плацент при внутриутробной гибели плода, гестационном сахарном диабете, нарушениях массы плода, преэклампсии, HELLP-синдроме, преждевременной отслойке плаценты;

3) провести сравнительный анализ экспрессии CD15 в макро- и микрососудах плацент с хронической и острой плацентарной недостаточностью и плацент при физиологическом течении беременности;

4) провести сравнительный анализ экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макро- и микрососудах плацент с нормальным структурным развитием ворсинок хориона для гестационного срока, структурной акселерацией и задержкой развития ворсинок;

5) провести сравнительный анализ экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макро- и микрососудах плацент с нормальной, пониженной и повышенной массой;

6) изучить характер корреляционной взаимосвязи экспрессии CD15 в макро- и микрососудах плацент при патологическом течении беременности с нарушениями структурного созревания и массой плаценты;

7) провести сравнительный анализ экспрессии CD15 в макро- и микрососудах плацент с антенатальными гипоксическими повреждениями плода.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1) экспрессия CD15 в микроваскулярном эндотелии периферических ворсинок плаценты 37-42 недели гестации отражает нарушение (замедление) процесса созревания фетоплацентарных сосудов и является индикатором плацентарной незрелости;

2) экспрессия CD15 в микроваскулярном эндотелии периферических ворсинок и эндотелии респираторно активных капилляров терминальных ворсинок плацент 37-42 недели гестации отражает патологическую респираторную незрелость плаценты и хроническую плацентарную недостаточность с риском гипоксии плода;

3) стандартный структурный анализ ворсинчатого дерева плаценты и вес плаценты не отражают респираторных ограничений плаценты связанных с незрелостью фетоплацентарных сосудов;

4) CD15-ассоциированная незрелость сосудов микроциркуляции плаценты является неспецифическим механизмом адаптации фетоплацентарной системы, сопровождающим прежде всего гестационный диабет, преэклампсию, большой для гестационного возраста плод и ЗВУР плода;

5) экспрессия CD15 в микроваскулярном эндотелии ворсинок плаценты 37-42 недели гестации является индикатором хронической гипоксии плода.

Практическая значимость работы:

1) метод CD15-иммунофенотипирования является новым иммуноморфологическим методом оценки функциональной плацентарной зрелости. Он дополняет стандартные морфологические методы исследования плацент и позволяет идентифицировать латентные формы хронической недостаточности плаценты в группе беременных с клинически низким риском перинатальных осложнений;

2) CD15-иммунофенотипирование является новым диагностическим методом, позволяющим выявить группу новорожденных с клинически

латентными формами хронической плацентарной недостаточности, риском постнатальных осложнений и разработать новые стратегии снижения заболеваемости и смертности в перинатальном периоде;

3) метод CD15-иммунофенотипирования является новым инструментом оценки патогенетического механизма фетоплацентарных нарушений, что имеет значение в практической деятельности патологоанатомов и судебно-медицинских экспертов при оценке перинатальной патологии.

Внедрение в практику

По материалам диссертации получено 1 свидетельство о регистрации прав на объект авторского права № 2468 от 24.10.2017 года «Алгоритм клиничко-морфологической оценки недостаточности плаценты от одноплодной беременности третьего триместра», авторы Камышанский Е.К., Тусупбекова М.М., Костылева О.А (Приложение А). Имеются акты внедрения результатов научно-исследовательской работы в практическую деятельность патологоанатомических отделений КГП «Областной Медицинский Центр» и КГП «Областная Клиническая Больница», Карагандинской области (Приложение Б).

Апробация работы

Основные положения и результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на международной юбилейной конференции «100 лет Оттовской морфологии: от рутинной гистологии к молекулярной микроскопии», Санкт-Петербург, 28-30 мая 2014 года; 99-й ежегодной конференции «Jarestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V. & 29. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Zytologie e.V. 2015» Германия, 2015 год; международной научной конференции «SCIENCE4HEALTH», Москва, 13-15 апреля 2017 года; международной конференции молодых ученых «Мир науки и молодежь: тенденции и новые горизонты», Караганда, 12 апреля 2017 года; V съезде Российского общества патологоанатомов с международным участием, Челябинск, 01-04 июня 2017 года; междисциплинарном кафедральном заседании кафедр патологической анатомии, педиатрии и перинатологии, акушерства и гинекологии от 01.03.2018, протокол №1; заседании научной экспертной комиссии от 15.03.2018, протокол №2.

Список научных трудов, опубликованных по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 14 научных работ. В изданиях, рекомендованных комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК, опубликовано 3 работы. В изданиях, имеющих ненулевой Impact Factor и входящих в базу данных Scopus, опубликовано 4 работы, в том числе 3 статьи и 1 тезис.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 145 страницах компьютерного текста, состоящего из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования, обсуждения, заключения и приложений. Диссертация иллюстрирована 19 таблицами и 44 рисунками. Список литературы включает 265 источников, из них на русском языке – 54 и на иностранном - 211.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Плацента в норме и диагностическая значимость ее исследования

1.1.1 Исторические сведения

Жизнь всех млекопитающих (за исключением сумчатых и яйцекладущих) начинается с формирования плаценты. Первые общие предки плацентарных млекопитающих появились во времена Палеогена, около 66 миллионов лет назад, через несколько сотен тысяч лет после того как вымерли динозавры. Предки плацентарных млекопитающих постепенно эволюционировали, и в настоящее время насчитывается более пяти тысяч видов млекопитающих, в том числе и человек. Спустя миллионы лет плацента по-прежнему является уникальным органом необходимым для развития плода любого плацентарного млекопитающего [32, 33].

В период Древнего мира существовало анимистическое представление о плаценте: универсальная концепция этого органа как своего рода «alter ego» или «внешней души», являющейся символом сохранения удачи или талисманом в случае опасности [34, с. 361]. В Ветхом Завете содержится египетская концепция плаценты как «сосуда души царя» [35; 36, с. 239]. Древние египтяне считали, что плацента содержит часть детской души, поэтому плацента правящего фараона сохранялась как символ. Эта практика продолжалась до времени Птолемеев (около 325-45 г. до н.э.) [37].

Первые письменные документы, содержащие попытки рационального объяснения функции плаценты, принадлежат Диогену (480 году до н.э.), выдвинувшему теорию о том, что плацента является органом питания плода. Философы медицинской школы Гиппократов также придерживались теории, что плацента является органом питания для эмбриона, полагая, что плод питается и дышит, «питаясь» питательными веществами и «рнеума» через то, что они называли «uterine paps» или «семядоли» децидуальной ткани [34, с. 363].

Аристотель выступал против распространенной теории «uterine paps» Гиппократов, аргументируя это тем, что плод заключен в амниотические оболочки, что препятствует этому способу внутриутробного питания. Он предположил, что эмбрион происходит из менструальной крови, а также что материнский кровоток и кровь плода напрямую сообщаются друг с другом.

Ренессанс стал эпохой исторического и культурного перехода между классическими и современными научными парадигмами. Ученые в каждой области, не будучи скованы никакими властями и средневековыми догмами, подходили к наблюдаемым фактам по-новому. Леонардо да Винчи и Везалий изображали плаценту в качестве диска на материнско-плодовой границе в матке. Аранций (1530-1589 гг.) выдвинул концепцию «плаценты как печени», предположив, что плацента выполняет функцию гемопоза и очищения крови плода. Хотя ряд исследователей доказал что это преувеличение, тем не менее эта гипотеза остается первой теорией гемопозитической функции плаценты.

Также на основе аутопсийного исследования было установлено, что циркуляция материнской и плодовой крови в плаценте разделена.

У. Харви (1578-1657 гг.) выдвинул предположение: «плод может жить в матке без воздуха, но умирать при родах при сжатии пуповины, если он не дышит» [36, с. 241]. Такое рассуждение о дыхании плода помогло более поздним исследованиям в этой области [34, с. 365]. Также он утверждал, что «конечные пупочные сосуды никоим образом не соединены анастомозом с сосудами матки и не извлекают из них кровь ... » [36, с. 241], предполагая что сосуды должны быть разделены, так как каждый из них следует в противоположном направлении: направляясь к плаценте через артерии и возвращаясь по венам.

Марчелло Мальпиги (1628-1694 гг.) впервые описал соединяющее артерии и вены капиллярное ложе, что позволило понять анатомическую основу кровообращения [38]. Жан Клод де Ла Курве (1615-1664г.г) значительно расширил представления о роли плаценты в питании плода.

Д. Мейоу (1643-1679 гг.) в «The Invisible College» в Оксфорде утверждал, что матка «естественно адаптирована для отделения воздушных частиц от артериальной крови» [35, с. 185]. Он предположил, что плацента является респираторным органом плода и предположил заменить концепцию Аранция «плацента как печень плода» на концепцию «плацента как легкие плода». Вооруженный этими выводами, он опроверг мнение об участии легких во внутриутробном дыхании плода [39].

У. Хантер первым дал сложное описание структуры плаценты человека. Д.Хантер, показал, что децидуальная ткань является продуктом слизистой оболочки матки. Т.Л. Бишоф (1842) внес большой вклад в понимание плацентарного барьера. Ч.С. Минот (1852-1914 гг) написал труд «Теория строения плаценты», который был опубликован в 1891 году и показал межвидовую разницу в строении плаценты [40].

Таким образом, хотя различные аспекты анатомии и физиологии плаценты оставались спорными в течение многих лет (до улучшения микроскопических методов исследования и использования молекулярных маркеров) было установлено, что функция плаценты заключается в обмене питательных веществ между матерью и плодом, удалении продуктов метаболизма, обеспечении иммунопротекции и синтезе факторов и гормонов роста плода [41], а также доказано, что снижение функции плаценты ниже оптимального уровня может привести к болезням и гибели плода.

1.1.2 Основные этапы формирования и развития плаценты

Стадия эмбрионального развития начинается с момента слияния яйцеклетки и сперматозоида с последующим образованием зиготы. Зигота движется в просвете маточной трубы по направлению к полости матки и делится. К четвертому дню зигота состоит из 32-клеток, выглядит как тутовая ягода и называется морула. Морула достигает полости матки на шестой день и называется бластоцистой, которая имплантируется в стенку матки [42, с. 7; 48].

В эндометрии небеременной женщины спиральные артерии каждый месяц ветвятся и коллабируются, что приводит к менструации. В момент имплантации бластоцисты артерии преобразуются в сосудистые трубочки и таким образом могут удовлетворить потребности развивающегося плода в питательных веществах и кислороде [43-49].

Бластоциста состоит из клеток трофобласта, формирующего фетальную сторону плаценты, и клеток эмбриобласта из которого развивается плод. По мере того как бластоциста имплантируется в стенку матки некоторые из клеток трофобласта начинают пролиферировать, теряют свои клеточные мембраны и инвазируют в децидуальную ткань. Клетки синцитиотрофобласта, пролиферируют, образуют островки и окружают все плодное яйцо. В центре синцитиотрофобластных островков образуются трофобластные лакуны [42, с. 9].

В ответ на имплантацию бластоцисты эндометриальная строма насыщается сосудами и утолщается. Эндометрий трансформируется в децидуальную ткань, представляющую материнскую часть плаценты. Капилляры спиральных артерий трансформируются в синусоиды и анастомозируют с трофобластическими лакунами, наполняющимися материнской кровью. На данном этапе развивается маточно-плацентарное кровообращение.

Цитотрофобластные клетки, покрытые синцитиотрофобластными клетками, формируют расширения в лакунах которые называются ворсинками. В дальнейшем в ворсинках формируется сосудистое русло плода. Лакуны, заполненные материнской кровью, сливаются между собой с формированием межворсинчатого пространства в котором формируется ворсинчатое дерево плаценты. Слой цитотрофобластных и синцитиотрофобластных клеток, разделяющий пространство между фетальными сосудами и материнской кровью межворсинчатого пространства, составляет плацентарный барьер, формирующий в дальнейшем синцитиокапиллярную мембрану. Пролиферация и дифференцировка ворсинчатых структур плаценты продолжается в течение всей беременности [49, с.113].

При физиологической беременности спиральные артерии трансформируются в сосудистые трубочки. Вазоактивные эндотелиальные и гладкомышечные клетки стенок артерий замещаются клетками трофобласта, не реагирующими на вазоконстрикторы. Таким образом, трансформированные артерии постоянно расширяются и беспрепятственно заполняют межворсинчатое пространство материнской кровью. Кислород и питательные вещества, диффундирующие через плацентарный барьер, далее транспортируются в плодовом венозном русле, которое располагается в ворсинках хориона. Ветви венозного русла ворсинок хориона сливаются в единый венозный ствол, называемый пупочной веной, по которой кровь циркулирует по направлению к плоду. В другом направлении две пупочные артерии транспортируют слабо насыщенную кислородом кровь от плода к плаценте [50-52].

В течение первых двенадцати недель беременности плацента состоит из

мезенхимальных ворсинок. В дальнейшем формируются стволовые, промежуточные незрелые и зрелые ворсинки и терминальные ворсинки. Как уже было сказано выше, кислород достигает крови плода путем процессов диффузии. Концентрация фетального кислорода зависит от расстояния между материнской и фетальной кровью. Увеличение расстояния диффузии в два раза уменьшает содержание кислорода плодовой крови в четыре раза. Примерно с 24 недели гестации количество промежуточных незрелых ворсинок значительно снижается, преобладают зрелые формы ворсинок. С 30-32 недели беременности ветвление промежуточных зрелых ворсинок характеризуется образованием терминальных форм ворсинок, количество которых к концу беременности значительно преобладает в сравнении с другими формами, промежуточные незрелые ворсинки составляют менее 10% [53, с.209].

В гистогенезе плаценты как органа принято выделять следующие стадии или этапы [54-56]: 1) лакунарную или предворсинчатую; 2) вторичных и третичных ворсин; 3) образования котиледонов; 4) фетализации; 5) зрелой плаценты.

Лакунарная стадия берет начало с 6-7-го дня после оплодотворения, когда бластоциста имплантируется в эндометрий и по месту этого контакта пролиферирует слой цитотрофобласта с высокой литической способностью. Между 8-м и 9-м днем очаги расплавления эндометрия объединяются в сообщающиеся полости (лакуны) - прообразы межворсинчатого пространства [57]. Между лакунами образуются трабекулы из первичного цитотрофобласта или первичные ворсинки. Постепенно происходит превращение узких материнских капилляров эндометрия в синусоиды, которые аррозируются, и вместо существовавшего гистотрофного формируется гемотрофный тип питания, т. е. начинается маточно-плацентарная циркуляция крови. Примерно к 12-му дню завершается фаза имплантации.

Стадия вторичных и третичных ворсин начинается с 12-13-го дня, когда экстраэмбриональная мезенхима из стенки плодного мешка врастает в первичные ворсины одновременно с дифференцировкой ворсинчатого цитотрофобласта и синцитиотрофобласта. Примерно к 14-15-му дню образуются ветвящиеся вторичные или окончательные ворсины [58], покрытые двуслойным эпителием со стромой, состоящей исключительно из мезенхимальных клеток, поэтому их лучше называть вторичными или мезенхимальными ворсинами.

Важный этап составляет 21-й и 22-й дни - начало аутохтонного ангиогенеза в мезенхиме стромы ворсин, которые становятся третичными или васкуляризованными [59,60]. Примерно на 32-й день происходит соединение аллантаоисных сосудов с капиллярами ворсин и начинается фетоплацентарная циркуляция крови [61].

С 32-го по 50-й день гестации третичные ворсины дифференцируются в сторону опорных или растут в длину, давая многочисленные ветви. В их строме интенсивно возникают и соединяются капилляры, образуются юные и зрелые фибробласты, отростки которых окаймляют особые стромальные каналы со

свободно лежащими клетками Гофбауэра [62, с. 271; 63, с. 411; 64-65]. По соответствующему отрезку жизни - периоду эмбриогенеза - ворсинки с 22-го по 56-й день гестации предлагается называть эмбриональными и отличать их от мезенхимальных.

Стадия образования котиледонов продолжается с 51-го дня до конца I триместра; примерно с 9-й недели образуются первые промежуточные незрелые ветви, в которых сохраняются стромальные каналы с клетками Гофбауэра и многочисленные капилляры. С 4-й по 10-ю неделю происходят первая волна миграции цитотрофобласта в эндометриальные сегменты спиральных артерий и их последовательное вскрытие, что приводит к редкому увеличению маточно-плацентарного кровотока. Постепенно формируются все 35-50 котиледонов и к 12-й неделе завершается фаза плацентации [43, с. 18].

Стадия фетализации плаценты длится в течение всего II триместра до 35-й недели III триместра; все межворсинчатое пространство заполняется разветвленной системой промежуточных незрелых ворсин (их максимум приходится на 16-ю неделю). На 16-18-й неделе прирост маточного кровотока обеспечивается второй волной миграции цитотрофобласта в стенки тех сегментов спиральных артерий, которые расположены выше эндометрия - в прилегающей части миометрия [60, с. 248]. Эти гемодинамические процессы стимулируют дальнейший рост ворсинчатого дерева. Начиная с 19-20-й недели плацента четко контурируется с помощью ультразвукового обследования и до 28-й недели соответствует 0 стадии по градации P. Grannum [66, с. 916]. По мнению Милованова А.П. [46, с. 65], этот отрезок гестации целесообразно разделить на 2 фазы: характерную для 21-25-й недели, когда гистологически определяется примерно равное количество промежуточных незрелых и дифференцированных ворсин, и для 26-28-й недели с доминированием плотно упакованных промежуточных дифференцированных ворсин и началом роста терминальных ветвей. По количеству терминальных ворсин и общей массе плацента растет до 35-36 нед. Эхографическая картина плаценты на 30-32-й неделе соответствует I стадии, а на 33-36-й неделе - II стадии по P. Grannum [66, с. 918].

Стадия зрелой плаценты характерна для последнего месяца беременности, когда обеспечение продолжающегося прироста массы плода происходит не за счет образования новых ворсин, а главным образом посредством превращения узких капилляров терминальных ворсин в широкие синусоиды и формирования синцитиокапиллярных мембран, т. е. функциональной специализации мелких ворсин, способствующей сокращению дистанции диффузии через плацентарный барьер. Такие ворсинки предлагается называть терминальными специализированными формами [67-69]. Сканирующая электронная микроскопия выявляет дихотомический тип ветвления терминальных ворсин с характерными концевыми расширениями, которые соответствуют специализированным ворсинкам. С 37-й недели, по ультразвуковым данным, регистрируется III стадия зрелости плаценты [67, с.22]. Одновременно в зрелой

плаценте происходят и инволютивные изменения (отложения фибриноида, кальцификатов).

Следовательно, развитие плаценты и ее морфофункциональных единиц - котиледонов происходит путем сложного взаимодействия ворсинчатого дерева, аллантаисных сосудов, двух волн миграции вневорсинчатого цитотрофобласта с аррозией спиральных артерий, а также сопряженного гистогенеза эпителия, стромы и капиллярного русла ворсин, что является структурной предпосылкой для всевозможных нарушений созревания плаценты.

1.1.3 Актуальность исследования плаценты

Новые клинические, эпидемиологические данные и экспериментальные исследования показали связь между неблагоприятной средой во время внутриутробного развития плода и возникновением заболеваний в постнатальном периоде, а также развитием заболеваний во взрослой жизни [70-73; 74, с.47; 75, с. 38; 76, с. 35; 77; 78].

Актуальной проблемой для врачей акушеров-гинекологов и неонатологов являются клинически латентные нарушения развития плаценты в конце беременности, которые могут в некоторых случаях осложниться неожиданной антенатальной и/или интранатальной декомпенсацией [27, с. 561; 28, с. 507].

Еще в 1892 году акушер Баллантайн подчеркнул важность исследования плаценты. Он написал: «Исследование плода с патологией без плаценты является несовершенным и неполным. Заключение специалиста о патологии в подобных случаях не может считаться окончательным и доказательным, так как именно патология плаценты может быть причиной заболеваемости и смертности плода. Во время беременности развивающийся плод, амнион, пуповина и плацента образуют единое структурно-функциональное целое, и патология любой части данного целого реагирует и влияет на развитие других составляющих» [79].

В настоящее время важная роль плаценты в постнатальной заболеваемости и антенатальной гибели плода становится все более очевидной, так как внутриутробные условия развития играют важную роль в дальнейшем функционировании физиологических систем организма. Изменения внутриутробной доступности питательных веществ, кислорода и гормонов приводят к нарушениям сердечно-сосудистых и метаболических функций. Время, длительность, тяжесть и тип патологического воздействия в антенатальном периоде определяют конечный физиологический результат. Фетальное программирование физиологических систем происходит на уровне генов, клеток, тканей, органов и систем и вызывает постоянные структурные и функциональные изменения, которые могут привести к развитию заболеваний, особенно со снижением компенсаторных резервов организма с возрастом.

В настоящее время накоплен значительный объем эпидемиологических данных, свидетельствующих о том, что действие неблагоприятных условий во время внутриутробного развития плода увеличивает риск развития заболеваний

в постнатальном периоде. Эта парадигма, называемая «фетальным программированием», может оказать значительное влияние на стратегии общественного здравоохранения и профилактики заболеваний. Связь между внутриутробным развитием плода и последующим развитием болезней у взрослых была впервые представлена Barker D., установившим ассоциацию низкой массы при рождении с рисками развития диабета 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний. В результате большого количества экспериментальных исследований были найдены доказательства фетального программирования.

Возможная связь между изменениями структуры плаценты и риском развития взрослых заболеваний особенно наглядна в фетальном программировании сердечно-сосудистых заболеваний. ЗВУР характеризуется повышенной устойчивостью к сниженному кровотоку в пупочной артерии [80]. Thornburg и Louey [81] предположили, что это приспособливает сердце плода со ЗВУР к увеличению нагрузки, что приводит к адаптации, выгодной в краткосрочной перспективе, но может способствовать сердечно-сосудистым заболеваниям в постнатальном периоде. Кроме того, плоды со ЗВУР подвергаются гипоксии [82], что может уменьшить количество кардиомиоцитов и сделать сердце более чувствительным к гипоксическим воздействиям в постнатальном периоде [83]. Таким образом, утолщение барьера плацентарного обмена (первичная причина гипоксии плода при ЗВУР) и повышенное сопротивление плацентарных сосудов могут вызывать изменения в структуре плаценты, которые непосредственно участвуют в программировании сердечно-сосудистых заболеваний плода.

Внутриутробное программирование было показано в эксперименте у ряда видов с использованием методов изменения внутриутробной среды. Индукция ЗВУР материнским стрессом, гипоксией, введением глюкокортикоидов приводит к развитию плацентарной недостаточности и постнатальным отклонениям сердечно-сосудистой, метаболической и эндокринной функций у крыс, морских свинок, овец, свиней, лошадей и приматов [84,85].

При ЗВУР низкая масса при рождении связана с постнатальной гипертензией, непереносимостью глюкозы и изменениями в функционировании ряда эндокринных механизмов, включая островки поджелудочной железы, систему ренин-ангиотензин и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему. Исследования на животных также продемонстрировали, что время, продолжительность и точный характер патологического воздействия во время беременности являются важными детерминантами структуры внутриутробного роста и определенных физиологических изменений [86]. Эксперименты на животных и эпидемиологические данные показывают, что широкий спектр отдельных тканей и целых систем органов может быть запрограммирован во внутриутробном периоде с неблагоприятными последствиями для их физиологической функции в постнатальном периоде.

В последнее время важная роль плаценты в антенатальной гибели плода становится все более очевидной, и в нескольких исследованиях

предполагалось, что плацентарная патология является одной из основных причин антенатальной гибели плода [74, с.48; 75, с. 38]. Это подчеркивает важность изучения плаценты и именно поэтому морфологическое исследование плаценты имеет важное значение для выяснения причин мертворождений.

Перспективным методом для выявления внутриутробных изменений в фетоплацентарном юните является иммунофенотипирование плаценты. Послеродовая идентификация патологического фенотипа плаценты может помочь в ранней стратификации гетерогенной популяции новорожденных с определением риска заболевания в постнатальной жизни.

Однако в настоящее время важное диагностическое значение исследования плаценты не всегда признается неонатологами и врачами-педиатрами. Результаты гистологического исследования плаценты, как правило, передаются врачу акушеру-гинекологу и крайне редко достигают врача-неонатолога и врача-педиатра, хотя заключение морфологического исследования плаценты позволило бы им получить необходимую информацию о возможных причинах патологии плода, неонатальной заболеваемости и смертности.

1.2 Основные типы структурной патологии плаценты

Рост плаценты и созревание ворсинок хориона в течение беременности являются важными факторами, определяющими функцию плаценты в конце беременности [87, с. 121-153; 88-93]. Нарушение данных процессов приводит к развитию патологии плаценты: плацентарной дисфункции, антенатальной и неонатальной смертности и росту заболеваемости в постнатальном периоде [94-105].

Рост плаценты и развитие ворсинок хориона в течение физиологической беременности подвергаются значительным изменениям. Физиологическая незрелость плаценты в первом и втором триместрах характеризуется формированием незрелых форм ворсинок хориона, которые обеспечивают рост плаценты [27, с. 549].

Физиологическое созревание ворсинок хориона к концу беременности (третий триместр) сопровождается снижением ростового потенциала плаценты и преимущественным формированием терминальных ворсинок хориона, обеспечивающих респираторный потенциал плаценты.

В настоящее время описаны два основных контрастных гистологических фенотипа патологии созревания и роста плаценты в третьем триместре: акселерация и задержка созревания.

1.2.1 Патология плаценты, ассоциированная с акселерацией созревания ворсинок хориона

Акселерацию созревания т.е. преждевременное формирование терминальных ворсинок хориона можно рассматривать как реакцию или адаптацию плаценты к снижению маточно-плацентарной перфузии. Гистологически патологическая акселерация развития ворсинок хориона характеризуется дефицитом промежуточных незрелых форм ворсин с

уменьшенным потенциалом роста плаценты и преимущественной дифференцировкой терминальных ворсинок [27, с. 534-549; 87, с. 129].

Плаценты от беременностей с преэклампсией, HELLP- синдромом, ЗВУР плода и около 50% преждевременных родов ассоциируются с данным дефектом созревания [27, с. 559].

Акселерацию созревания также можно наблюдать при многоплодной беременности: в плаценте плода-реципиента при монохориальной близнецовой беременности осложненной фето-фетальным трансфузионным синдромом и при гипервязкости крови плода.

1.2.2 Патология плаценты, ассоциированная с задержкой созревания ворсинок хориона

Патологическая задержка созревания или персистирующая плацентарная незрелость характеризуется значительным количеством незрелых форм ворсинок хориона, интенсивным потенциалом роста плаценты, дефицитом терминальных форм ворсинок и синцитиокапиллярных мембран [27, с. 527; 87, с.84].

Формирование терминальных ворсинок с синцитиокапиллярными мембранами имеет важное значение для плода в течение последних 6-8 недель беременности. Транспорт кислорода к плоду зависит от потенциала диффузии и расстояния диффузии, которое уменьшается за счет образования синцитиокапиллярных мембран в течение последних недель беременности.

В настоящее время этиология и патофизиологические механизмы задержки созревания ворсинок хориона остаются невыясненными. Данная плацентарная незрелость – это идиопатическое нарушение развития ворсинок и/или ангиогенеза плаценты с латентным нарушением респираторного потенциала плаценты и быстро прогрессирующей гипоксией плода.

Хроническая плацентарная недостаточность с антенатальной гипоксией/асфиксией плода в более чем половине случаев коррелирует с морфологической картиной патологической незрелости плаценты [27, с. 545; 106-119].

Задержка созревания плаценты может наблюдаться при гестационном сахарном диабете, идиопатической макросомии плода, врожденных и/или хромосомальных аномалиях развития плода, хроническом виллите неясной этиологии, в плаценте плода-донора при монохориальной близнецовой беременности с хроническим фето-фетальным трансфузионным синдромом, хронической анемии беременных [27, с. 532; 120-124].

В тех случаях, когда плацента не может обеспечить достаточный для развивающегося плода диффузионный потенциал кислорода, данное состояние сопровождается повышением ядерных эритробластов в фетальной крови, что является следствием анемии или гипоксии плода продолжительностью не менее 6-12 часов. Присутствие ядерных эритробластов в более чем двух капиллярах в одном поле зрения при 100-м кратном увеличении является умеренным, а при наличии эритробластов в преобладающем количестве сосудов - выраженным

фетальным эритробластозом [125].

При нарушенном респираторном и транспортном потенциале «незрелой» плаценты минимальные или физиологические стрессовые факторы (например, начало родов) достаточны для того, чтобы спровоцировать кратковременные эпизоды неожиданной декомпенсации латентной плацентарной недостаточности с быстро прогрессирующей гипоксией/асфиксией плода.

1.3 Плацента как источник гематопозитических стволовых / прогениторных клеток

В сравнении с общепризнанными и уже изученными вышеизложенными функциями, определение плаценты как потенциального органа гематопоза было установлено относительно недавно. Гематопозитическая активность плаценты в эксперименте впервые была показана на исследованиях мышей в 1960-е и 1970-е годы, но эти результаты не получили широкого распространения [126].

Проведенные на плаценте человека исследования показали, что уже на 21-ый день беременности в ворсинках хориона формируются макрофагоподобные клетки и гемангиобластические стволы из мезенхимальных клеток.

Dieterlen-Lievre на модели птичьего эмбриона показал, что клетки, полученные из аллантаоиса обладают свойствами дефинитивного кроветворения [127].

Последующие исследования этой группы ученых установили, что мышьяная плацента, начиная с 9 гестационного дня и в течении всей беременности характеризуется широким спектром клоногенных гематопозитических клеток-предшественников [128].

Исследования с использованием аллельных или трансгенных маркеров для различения стволовых клеток плода выявили, что в плаценте мыши, начиная с 11 дня гестации число гематопозитических стволовых клеток резко возрастает [129, с. 367; 130, с. 378]. В дальнейшем, с 15 дня гестационного срока, количество гематопозитических клеток в плаценте резко снижается, что совпадает с развитием дефинитивного гематопоза в печени, и в конце беременности гематопозитические клетки в мышьяной плаценте не идентифицируются [129, с. 371].

Гематопозитические клетки плаценты экспрессируют большое количество маркеров идентичных поверхностным белковым маркерам клеток костного мозга, гематопозитических клеток печени, включая маркеры CD34 и c-Kit [129, с. 373]. Более того, было показано, что все гематопозитические клетки плаценты экспрессируют Ly6A (Sca-1) GFP (stem cell antigen-1, green fluorescent protein) [130, с. 374]. Клетки, экспрессирующие Ly6A GFP маркеры, локализуются преимущественно в стенке ворсинчатого дерева плаценты и пупочных сосудов мышей и большинство из этих клеток CD34-позитивные. Иммуногистохимические исследования показали, что в мышьяных плацентах в середине беременности определяется экспрессия основных факторов транскрипции гематопоза, таких как GATA-2, GATA-3 и Runx1 [130, с. 386].

Gata-2 экспрессируется в эндотелиальных клетках и в некоторых клетках периваскулярного пространства ворсинчатого дерева плаценты, в то время как Gata-3 экспрессируется единичными клетками в материнско-фетальной части. Runx1 экспрессируется в эндотелиальных клетках и в стенке сосудов, а также периваскулярных клетках, окружающих сосудистую сеть плаценты мышей [131]. Модель экспрессии Gata-2 и RUNX1 показывает, что плацента обладает потенциальными свойствами гематopoэтической функции с преимущественной локализацией гематopoэтических стволовых /прогениторных клеток в васкулярном сегменте ворсинчатого дерева плаценты и области хориальной пластинки.

В плаценте человека на протяжении всего развития также содержится широкий спектр гематopoэтических стволовых/прогениторных клеток. Прimitивные эритробласты, морфологически напоминающие клетки желточного мешка, заполняют плацентарные сосуды примерно с 24 дня гестации [132]. Эти клетки на своей поверхности экспрессируют гликофорин-А, GATA-2 и c-Kit, но в то же время характеризуются CD34 и CD45-негативным фенотипом. По результатам клоногенной активности *in vitro* было показано, что зрелые и незрелые гемопоэтические прогениторные клетки определяются в плаценте уже на 6-й неделе беременности и экспрессируются до конца беременности [133, 134]. Данные клетки являются мультипотентными из которых могут образовываться эритроидные и миелоидные клетки, в том числе гранулоциты и макрофаги. На начальных этапах данные прогениторы встречаются как в CD34-, так и в CD34 + группах, но уже с 15 недели гестации все прогениторные клетки экспрессируют CD34+ маркер [135, 136, с.389].

В качестве гемопоэтической функции появление кроветворных клеток в ранней стадии гестационного срока плаценты человека слегка задерживается по сравнению с другими гемопоэтическими тканями развивающегося плода. Желточный мешок эмбриона человека начинает генерировать кровь с формированием примитивных эритроидных клеток на 16-й день, а на 19-й день в области *intraembryonic splanchnopleura* (область аорты) определяются гемопоэтические кластеры. Появление мультипотентных клеток, гемопоэтических прогениторов и кластеров клеток, тесно прилежащих к передней стенке дорзальной аорты начинается примерно с 27-го дня беременности в развивающейся области аорто-гонад-мезонефроса [137].

Начиная с 30-го дня, первые эритроидные прогениторные и мультилинеальные клетки колонизируют ткань печени плода. Данный процесс ассоциируется с развитием гемопоэтической функции в костном мозге [138].

Гемопоэтические стволовые/прогениторные клетки могут быть найдены в плаценте человека уже с 6-й недели беременности и определяются на протяжении всей беременности. Учитывая почти полное отсутствие ГСК в плаценте мыши в конце беременности [139, с. 962], наличие ГСК в плаценте человека на протяжении всей беременности, включая период доношенности, явилось очень интересным и неожиданным. Данный феномен может свидетельствовать о том, что плацента человека способна непрерывно

образовывать фетальные гемопоэтические стволовые/прогениторные клетки на протяжении всей беременности [136, с. 391].

Интересно отметить, что многие методы исследования, позволяющие изолировать и выделить клетки сосудистого русла плаценты, показывают, что мультипотентные/прогениторные клетки или тесно прилежат к эндотелию, или располагаются в васкулярных эндотелиальных нишах [136, с. 394].

Таким образом, васкулярный эндотелий плаценты может рассматриваться как источник ГСК и/или обеспечивает поддерживающее микроокружение для роста гемопоэтических прогениторных клеток.

В последние годы появляется все больше доказательств указывающих на то, что гемопоэтическая функция плаценты при фенотипических особенностях плацентарного эндотелия относится к транзиторному плацентарному гемопоэзу [136, с. 392; 140]. Роль эндотелия в плодово-плацентарном взаимодействии и созревании на данный момент остается неясной. Ранее было показано, что плацентарный гематопоэз совпадает по времени с уникальным феноменом CD15-экспрессии, который был описан в фетоплацентарном эндотелии [136, с. 394; 139, с. 963].

Результаты исследования Seidmann показали диагностически важную ассоциацию транзиторного «незрелого» эндотелиального CD15+ фенотипа с физиологической незрелостью ворсинок хориона. Фетоплацентарное созревание в конце беременности коррелирует с исчезновением CD15+ эндотелия в плацентарных сосудах [30, с. 929].

Основываясь на результатах ретроспективного исследования плацент при физиологической и патологической беременности различного гестационного возраста, Dr. L Seidmann (Institute of Pathology, University Medical Centre of the Johannes Gutenberg University, Mainz, Germany; Director: Professor C. James Kirkpatrick, MD, PhD, DSc, FRCPath) был разработан новый метод выявления манифестных и латентных форм хронической плацентарной недостаточности, основанный на постнатальном иммунофенотипировании ткани плаценты антителами против CD15-антигена, позволяющем идентифицировать латентные формы хронической плацентарной недостаточности с определением ее степени. Показано, что выраженность патологической экспрессии CD15+ в макро- и микрососудах плаценты отражает степень патологической незрелости плаценты.

1.4 CD15 и его идентификация

CD15, также называемый SSEA-1, CD15, LewisX, FAL, Forse-1, является конечным трисахаридом в составе гликанов клеточной поверхности со структурой $\alpha 1,3\text{-fucosyl-N-acetyl-lactosamine}$ (Galb1, 4[Fuca1, 3] GlcNAc) (Рисунок 2). CD15 (LewisX) впервые был определен химическими и иммунохимическими методами среди других олигосахаридов в содержимом кист яичников и отнесен в группу антигенов крови [141, 142]. Название «Lewis» произошло от фамилии семьи, члены которой являлись носителями антител против соответствующих антигенов группы крови [143]. CD15 изначально был

описан на бластомерах мышинных эмбрионов в период преимплантации и клетках эмбриональных карцином [144]. Данная молекула является посредником межклеточных контактов как в нормальной, так и в опухолевой ткани в виде гомофильных LewisX-LewisX взаимодействий в реакциях адгезии [145]. Молекулярная основа данных углеводных взаимодействий была описана при изучении его кристаллической структуры, изученной методами спектроскопии ядерного магнитного резонанса [146, 147]. Адгезионные силы, обеспечивающие LewisX-LewisX взаимодействия, были также определены с помощью атомно-силовой микроскопии и изотермической калориметрии титрования [148].

Биосинтез LewisX-эпитопа контролируется 1,3-Фукозилтрансферазой IX (Fut9) [149], которая в свою очередь регулируется фактором транскрипции Paxb [150]. В аппарате Гольджи фукозилтрансфераза использует нуклеотид-активированную форму фукозы, GDP-fucose, как донор фукозы для построения фукозиллированных олигосахаридов [151] и, в частности, трисахарида CD15 (рисунок 2).

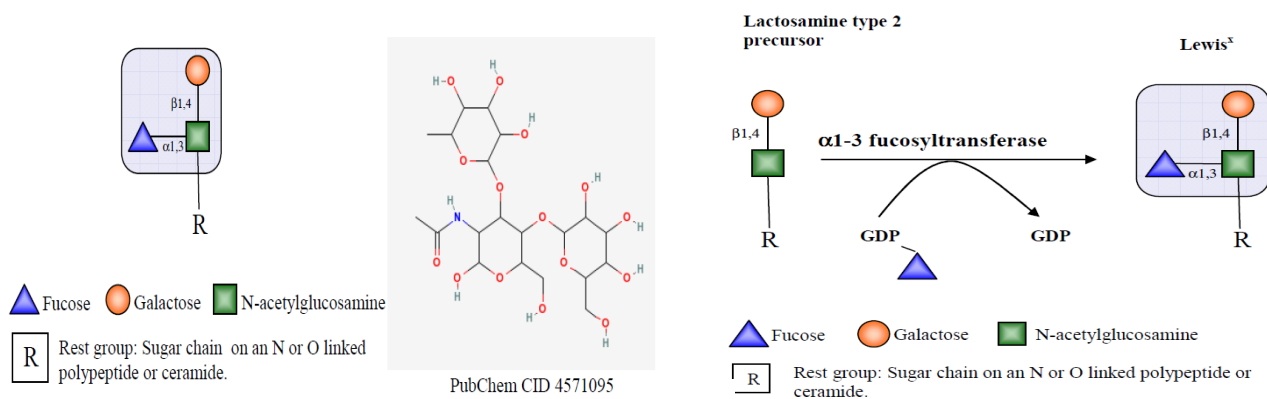


Рисунок 2 – Строение и внутриклеточный синтез молекулы CD15 [152]

1.4.1 Определение и роль CD15+ клеток в эмбриогенезе

Первые клеточные взаимодействия в период оплодотворения у мышей происходят с помощью O-связанных олигосахаридов гликопротеинов ZP3, которые являются специфическими рецепторами в zona pellucida (блестящей оболочке) яйцеклетки для сперматозоидов [153]. Данное специфическое взаимодействие может быть ингибировано молекулой CD15, что показывает ее функцию как молекулы адгезии [154-156].

Ранее было показано, что CD15-антиген присутствует в мышинных эмбрионах в предимплантационном периоде, в частности, в бластоцисте и играет роль в образовании морулы [157-159]. На данном этапе развития эмбриона ультраструктурные исследования показывают наличие CD15

преимущественно по краю протуберанций и микроворсинок, образующих кластеры, которые могут иметь важную роль при имплантации [160]. Затравка компактизированных эмбрионов растворимыми формами CD15 гликоконъюгатов приводит к их декомпактизации [158, с. 1593], что также подчеркивает его роль в адгезии и, таким образом, в модуляции процесса развития. Данные клеточные взаимодействия в процессе уплотнения были объяснены LewisX-LewisX гомофильной адгезией, которая является новым взаимодействием углеводных связей без участия белков [145, с. 9478]. Однако, ранее проведенным исследованием показано, что у мышей с Fut9-дефицитом не обнаруживаются очевидные физиологические нарушения или патологические отличия от мышей дикого типа. Несмотря на участие LewisX в эмбриогенезе Fut9-дефицитные мыши сохранили способность к размножению и их эмбрионы развивались нормально [161].

В ранее опубликованных работах было показано, что SSEA-1 (CD15) был применен как иммунологический маркер для того, чтобы проследить временно-пространственное развитие первичных зародышевых клеток в бластодерме [162-164]. Во время раннего развития эмбрионов SSEA-1 экспрессируется гетерогенно. Он не является линейно-специфическим (lineage-specific marker) маркером, так как реакция антител характеризуется прерывистой экспрессией в различных типах клеток, что указывает на то, что CD15 является стадийно-специфическим маркером и его экспрессия изменяется по мере развития эмбриона [165]. В период мышиногеноза CD15 сначала экспрессируется на клеточной поверхности восьмиклеточного эмбриона, а также на поверхности стволовых клеток тератокарциномы, но отсутствует в эмбриональных стволовых клетках и эмбриональных клетках карциномы человека [166, с. 253]. Позднее экспрессия CD15 была обнаружена и ограничена только эмбриональной эктодермой, висцеральной энтодермой и зародышевыми клетками развивающейся нервной системы [165, с. 394]. Помимо экспрессии на зародышевых клетках мышей [167], CD15 экспрессируется на зародышевых клетках других видов. Куриные зародышевые клетки [168] и свиные зародышевые клетки в дорзальной части кишки и генитальном гребне [169], экспрессируют LewisX эпитоп. CD15-позитивные клетки наблюдали в момент полного формирования гипобласта в бластоцеле и гипобласте индейки [170]. На дорзальной и вентральной поверхностях эпибласта эмбрионов индейки, также были обнаружены CD15+ клетки, что говорит о его стадийно-специфической экспрессии и согласуется с ранее проведенным исследованием на куриных эмбрионах [164, с. 294].

Gomperts M. предположил, что если куриные стволовые/прогениторные клетки (ГСК) экспрессируют SSEA-1 эпитоп, то, возможно, что ГСК-клетки могут взаимодействовать с эндотелиальными клетками сосудов аналогично адгезии нейтрофилов с эндотелиальными клетками [171, 172, 173]. Согласно исследованиям Ukeshima, ГСК формируют филоподии, которые вступают в контакт с эндотелиальной клеткой и адгезируются к стенке кровеносных сосудов [171, с. 126]. После адгезии они перемещаются через пространства

между эндотелиальными клетками. Движение зародышевых клеток через эндотелий имеет некоторое сходство с экстравазацией клеток крови. После экстравазации ГСК эмбриона индейки и с последующей их миграцией в гонады, экспрессия CD15 данными клетками значительно снижалась. Также было показано, что мышинные ГСК после колонизации гонад характеризуются CD1-негативным иммунофенотипом [170, с. 351]. Исчезновение CD15-маркера из мышинных ГСК совпадает со временем когда эти клетки прекращают деление и впадают в профазу мейоза и кроме того, теряют способность к трансформации в тератокарциному [174, 175]. В то же время, недифференцированные мультипотентные мышинные, куриные эмбриональные стволовые клетки и клетки эмбриональной карциномы экспрессируют CD15-маркер [176, 177]. Однако, по мере дифференцировки данные клетки приобретали CD15-негативный иммунофенотип [178].

SSEA-1 (CD15) в сочетании с PECAM-1 и Flk-1 является ценным маркером эмбриональных стволовых клеток на различных стадиях дифференцировки [179]. Дифференцировка эмбриональных стволовых клеток ассоциируется с уменьшением экспрессии PECAM-1 и появлением PECAM-1(-)/SSEA-1(+) клеток, которые представляют стволовые клетки эпибласта. В последующем Flk-1 положительные клетки формируются из PECAM-1⁻/SSEA-1(+) клеток и приобретают SSEA-1⁻/Flk-1(+) фенотип за счет снижения регуляции SSEA-1 экспрессии. Далее наступает вторая волна экспрессии PECAM-1, характеризующая появление зрелых гематопоэтических/эндотелиальных стволовых клеток, образующихся из Flk-1(+) клеток. Также установлено, что небольшое количество PECAM-1(+)/SSEA-1(+) клеток представляет собой резидентные недифференцированные эмбриональные стволовые клетки, которые обнаруживаются в течение всего длительного периода дифференцировки эмбриональных органов. Ранее проведенное исследование на химерных эмбрионах показывает, что уровень экспрессии PECAM-1 и SSEA-1 в эмбриональных стволовых клетках коррелирует с их плюрипотентностью и/или их способностью к миграции и инкорпорации в эпибласт [180].

CD15 в эмбрионах человека в сравнении с эмбрионами мышей на ранних стадиях развития экспрессируется в различной степени. CD15 экспрессируется на эпителии почечных канальцев, в желточном мешке, на поверхности эмбриональных клеток эктодермы [181]. Выраженность CD15-экспрессии усиливается по мере дифференцировки клеток человека, а в зародышевых клетках мышей уменьшается [182]. В раннем сроке беременности млекопитающих отмечается увеличение экспрессии LewisX (CD15) в месте имплантации эмбриона, что снова демонстрирует возможную роль LewisX как молекулы клеточной адгезии. Таким образом, по результатам ранее опубликованных работ установлено, что ранние этапы развития эмбриона мышей, крыс и человека ассоциируются с транзитной экспрессией CD15-позитивных стволовых/прогениторных клеток. Роль CD15 была показана в адгезии и трансэндотелиальной миграции зародышевых клеток с последующей их дифференцировкой.

1.4.2 Определение и роль CD15+ клеток в нервной системе в норме и патологии

Известно, что CD15 (LewisX) также экспрессируется в нервной системе. Экспрессия LewisX на 10 эмбриональный день у крыс обнаруживается в спинном мозге, стволе головного мозга, слуховой и моторной коре, а также в гиппокампе и мозжечке [183, 184]. При развитии нервной системы LewisX играет важную роль в миграции, распознавании клеток, росте аксонов и нейронов [185-188].

В ранее проведенном исследовании у тринадцатидневных эмбрионов мышей была показана экспрессия LewisX в клетках внешнего зернистого слоя и субпопуляции астроцитов [189]. Также экспрессия LewisX наблюдалась в коре головного мозга, преимущественно в II, III и V слоях коры затылочной доли и клетках Пуркинье мозжечка [190]. LewisX экспрессируется в пролиферирующих клетках нервной трубки на 9 день эмбрионального развития крыс и желудочковой зоне эмбриональной коры головного мозга на 11 день беременности [191]. LewisX был идентифицирован на нейробластах, которые участвуют в формировании дорзального рога спинного мозга [192]. Ранее было показано, что экспрессия LewisX не только имеет решающее значение в различных стадиях развития органов чувств, но и присутствует на их специализированных клетках: в обонятельных ресничках и обонятельных путях [193, 194], на подтипах амакринных, биполярных и ганглиозных клетках в сетчатке [195-197] и во внутреннем ухе [198] на его волосковых сенсорных клетках в кортиевоом органе [199, с.51].

Локализация LewisX была обнаружена на клеточной поверхности астроцитов, на глиии Бергмана и во внеклеточном пространстве центральной нервной системы. Селективная адгезия нервных клеток с помощью LewisX наблюдается в различных регионах развивающегося конечного мозга, а также было показано, что LewisX участвует в адгезии нейронов к астроцитам в мозжечке [185, с. 42].

Предполагается, что данная временно-пространственная экспрессия LewisX играет роль в структурном формировании головного мозга. LewisX экспрессируется на радиальных глиальных клетках и тем самым разграничивает область переднего мозга, а также разделяет мозжечок в разных зонах, что не исключает его важную роль в компартиментализации и развитии различных функционально значимых областей головного мозга [200-202].

В постнатальном периоде экспрессия LewisX в нервной системе значительно уменьшается и идентифицируется только в астроцитах взрослых мышей и в зонах с длительным нейрогенезом, например, гиппокампе, мозжечке, коре головного мозга, полосатом тела, гипоталамусе, базальных отделах переднего мозга и обонятельном эпителии. Кроме того, LewisX используется в качестве маркера для стволовых нервных клеток, так как он экспрессируется только в нейронных прогениторных клетках (стволовые клетки ЦНС, глиобласты и нейробласты), но отсутствует на дифференцированных клетках [203]. Нервные стволовые клетки,

экспрессирующие как GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок) так и LewisX являются мультипотентными, в то время как LewisX-негативные клетки не имеют нейрогенного потенциала [204]. Также было показано, что синтетические углеводные комплексы, содержащие эпитоп LewisX, ингибируют пролиферацию нейробластомных клеток *in vitro* [205], что также предполагает ограничивающую и сигнальную функцию LewisX в центральной нервной системе.

1.4.3 Определение и роль CD15+ клеток при воспалении и инфекционных заболеваниях

CD15 потенцирует фагоцитоз и хемотаксис [206, 207]. CD15 экспрессируется на гранулоцитах человека, тогда как sialyl-CD15 форма экспрессируется на моноцитах [208]. При воспалении перед экстравазацией лейкоциты переходят в краевое стояние и начинают перекачиваться вдоль эндотелия. Семейство адгезионных белков (E-, L-, и P-селектины) способствующих данному перекачиванию, экспрессируется как на клетках крови, так и на эндотелиальных клетках.

Helicobacter pylori является патогенной бактерией, которой инфицировано около половины популяции мира, и которая вызывает такие заболевания как гастрит, пептическая язва желудка [209, с.154] и около 20% рака желудка [210]. *Helicobacter pylori* экспрессирует антигены группы крови, включая и CD15-антиген, на липополисахаридной мембране (LPS) [211]. Функция CD15 и ряда других антигенов группы крови на мембране *Helicobacter pylori* до конца не ясна. Возможно, что CD15 способствует адгезии бактерии к эпителию желудка и кишечника с последующей колонизацией [212-214] или является посредником развития резистентности *Helicobacter pylori* к иммунитету макроорганизма за счет адгезии со специфическим антигеном дендритных клеток (DC-SIGN; a Lewisx binding C-type lectin on dendritic cells) [209, с. 157]. Возможно также, что антигены групп крови на *Helicobacter pylori* идентичны антигенам макроорганизма и это сходство, имитируя антигены макроорганизма, предотвращает образование антител против бактерии, что позволяет бактерии уклоняться от иммунной атаки и персистировать [215]. Это молекулярная мимикрия *Helicobacter pylori* может приводить к аутоиммунным патологиям желудка [209, с.157], так как антигены CD15 экспрессируются как макроорганизмом, так и бактерией [216]. Тем не менее, следует отметить, что *Helicobacter pylori* у которых удален антиген CD15 инфицируют и колонизируют кишечник мышей так же хорошо, как и бактерии с CD15 [217].

Шистосомы являются паразитарными глистными червями, которые на своей поверхности экспрессируют CD15 [218, с. 4160]. Было показано, что данная экспрессия различается в зависимости от стадии жизненного цикла и пола паразита [219]. Шистосомы могут вызывать хронические и иногда смертельные заболевания, называемые шистосомозами, и инфицируют около 200 миллионов людей в мире [218, с. 4162]. Иммунные механизмы макроорганизма при шистосомозах [220] являются идентичными таковым как и

при заболеваниях, вызываемых *Helicobacter pylori* через взаимодействия с молекулой DC-SIGN [221]. DC-SIGN экспрессируется на дендритных клетках и связывается с CD15 на нейтрофилах, что инициирует взаимодействие между дендритными клетками и нейтрофилами [222, 223]. Путем данной связи с LewisX и LewisY распознается карциноэмбриональный антиген, который экспрессируется на большинстве клеток колоректального рака [224].

Связь gp120 оболочечного белка HIV-1 вируса с DC-SIGN способствует облегченной передаче вируса в CD4⁺ клетки. Мультимерная молекула CD15 в грудном молоке человека связывается с DC-SIGN и тем самым оказывает ингибирующий эффект на передачу HIV-1 вируса [225, с.3257]. Bile salt-stimulated lipase (BSSL), также как и CD15, связывается с DC-SIGN рецептором дендритных клеток, что приводит к ингибированию передачи HIV-1 вируса [226]. Другим примером является цитомегаловирус человека, который вызывает экспрессию CD15 в инфицированных клетках. При том, что ультрафиолетовая инактивация CMV ассоциировалась с негативной экспрессией данного маркера. Цитомегаловирусная инфекция через индукцию экспрессии sLe(x) and Le(x) может иметь широкие последствия связанные как с диссеминацией инфекции, так и развитием CMV-ассоциированных заболеваний, включая тромбоз [227].

При инфицировании вирусами гепатита С, вирусом Эбола, цитомегаловирусом, вирусом лихорадки Денге, бактериями *Mycobacterium*, *Leishmania*, *Candida albicans* и *Helicobacter pylori* определяется взаимодействие между DC-SIGN дендритных клеток и антигеном CD15 инфекционного агента, что вероятно способствует адгезии, инвазии и манифестации инфекции. Тем не менее, роль CD15 при всех данных инфекциях, как при HIV-1, до конца не известна и требует дальнейших исследований и разъяснений

1.4.4 Определение и роль CD15⁺ клеток при онкологических заболеваниях

Впервые молекула CD15 была обнаружена в содержимом кист яичников, а первые моноклональные антитела для идентификации CD15 были получены с использованием антигенов эмбриональных карцином. Кроме того, экспрессия CD15 была обнаружена в различных опухолях эпителиального происхождения в таких органах как ободочная кишка, молочная железа, тело матки, яичники, предстательная железа, почки, легкие, головной мозг и лимфатических узлах при лимфоме Ходжкина [228-234].

CD15 экспрессируется почти на всех клетках Березовского-Рида-Штейнберга, включая их редкие мононуклеарные варианты. Присутствие этих клеток является диагностическим критерием лимфомы Ходжкина. Кроме того, CD15 экспрессируется в 50% клетках аденокарцином различных органов и может быть использован как диагностический маркер для исключения мезотелиомы, клетки которой CD15-негативны [235].

CD15-позитивные клетки обладают мультилинейной дифференцировкой и могут являться родоначальной стволовой опухолевой клеткой глиобластом

человека [236]. В глиомах головного мозга человека интенсивность клеточной CD15 экспрессии обратно пропорциональна степени злокачественности опухоли [237]. Как и в случаях с инфекционными заболеваниями, CD15-экспрессия в опухолевых клетках может играть протективную роль, защищая от антигенов иммунной системы путем имитации нормальной ткани организма.

1.4.5 Васкулогенные CD15+ прогениторные клетки фетоплацентарного юнита и сосудистых опухолей в детском и взрослом периодах

CD15 является специфическим эндотелиальным маркером фетоплацентарного юнита, но отсутствует в клетках трофобласта и клетках стромы ворсинок хориона [238, с. 95]. В течение всей беременности эндотелиальная CD15-экспрессия уменьшается стадийно и в плацентах доношенного срока присутствует только в 10-15% микрососудов периферических ворсинок хориона [30, с. 929]. Кроме того, эндотелиальная CD15-экспрессия была обнаружена при беременностях с пузырьным заносом, тогда как хорионкарциномы характеризуются негативным эндотелиальным CD15-иммунофенотипом [239-241]. Сосуды тела матки всегда CD15 отрицательны, что указывает на четкое разграничение между сосудами маточной и плацентарной частей [30, с. 930]. Как уже было сказано выше, трофобластные клетки плаценты человека CD15-негативны, в отличие от трофобластных клеток плаценты мышей [144, с. 5567]. Клетки трофобласта плаценты мышей, инвазирующие децидуальную ткань на 6 день развития, характеризуются CD15-позитивным иммунофенотипом. Данное различие свидетельствует о том, что в плаценте человека трофобластные клетки на 8 неделе гестационного срока являются более дифференцированными или отличаются по антигенной дифференциации от трофобластных клеток мышей. Также отсутствие CD15 в маточных сосудах и трофобластных клетках плаценты человека показывает, что миграция синцитиотрофобластных клеток в децидуальную ткань базальной пластинки не связана с LewisX-LewisX взаимодействиями [145, с. 9481]. Эндотелиальная экспрессия CD15 также наблюдалась и в уникальной эндотелии инфантильной гемангиомы [242-244]. Иммунофенотип эндотелия пролиферирующей ювенильной гемангиомы идентичен эндотелию сосудов незрелой плаценты и характеризуется экспрессией примитивных мезодермальных, эндотелиальных и гемопоэтических маркеров, специфичных для гемогенного эндотелия [245, с. 196].

Ранее проведенным исследованием было выявлено, что сосудистые структуры церебральных каверном характеризуются наличием незрелых прогениторных эндотелиальных клеток [245, с. 197]. Основной характеристикой церебральных каверном было наличие CD15-позитивного эндотелия, который также выявляется в эндотелии сосудов плаценты с физиологической незрелостью. Результаты предыдущих исследований показали, что активная ростовая фаза плаценты характеризуется наличием в интима сосудистой стенки CD15+ прогениторных клеток, количество которых

значительно сокращается при замедлении роста и созревания плаценты в третьем триместре беременности [30, с. 929]. Тогда как нарушение виллезной дифференцировки сопровождается повышением количества эндотелиальных CD15+ прогениторных клеток и ассоциируется с различными фетальными патологиями ассоциированными с гипоксическим и метаболическим дистрессом плода. Основываясь на результатах ретроспективного исследования нормальных и патологических плацент различного гестационного возраста, Dr. L Seidmann (Institute of Pathology, University Medical Centre of the Johannes Gutenberg University, Mainz, Germany; Director: Professor C. James Kirkpatrick, MD, PhD, DSc, FRCPath) был разработан новый метод выявления манифестных и латентных форм хронической плацентарной недостаточности. Данный метод основывается на постнатальном иммунофенотипировании ткани плаценты антителами против CD15-антигена, позволяющем идентифицировать латентные формы хронической плацентарной недостаточности с определением ее степени. Выраженность патологической экспрессии CD15+ в макро- и микрососудах плаценты отражает степень патологической незрелости плаценты [30, с. 928].

Таким образом, по представленным опубликованным данным известно, что CD15-маркер выступает в качестве ключевого лиганда E-селектина и играет важную роль в адгезии, миграции и дифференцировке клеток в эмбриональном развитии плода. CD15 был идентифицирован в миелоидных клетках костного мозга, циркулирующих зрелых клетках крови и может применяться в дифференциальной диагностике некоторых лимфоидных и эпителиальных опухолей, а также опухолей центральной нервной системы. Наличие поверхностной экспрессии CD15 было показано на некоторых инфекционных агентах (*Helicobacter pylori*, цитомегаловирус, вирус ВИЧ-инфекции, шистосомах), где он может играть протективную роль от иммунной системы макроорганизма, имитируя нормальные ткани человека. Кроме того, специфическая экспрессия CD15 была отмечена в эндотелиальных прогениторных клетках фетоплацентарного юнита, в раннем развитии нервных и эмбриональных стволовых клеток, а также в пропранолол-чувствительных детских сосудистых опухолях, как в ювенильных, так и церебральных каверномах.

Однако, несмотря на то что CD15 был обнаружен во многих клетках, как в норме, так и патологии, его биологическая роль в настоящее время не изучена, что требует дальнейшего разъяснения посредством проведения дополнительных исследований в перспективе. Остается спорным вопрос: является ли повышение эндотелиальной CD15 экспрессии в плацентах при патологическом течении беременности процессом персистенции или реактивации в ответ на гипоксию или метаболический дистресс плода и какова диагностическая значимость данного наблюдаемого явления.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Дизайн исследования

Было проведено проспективное слепое иммуногистохимическое исследование 593 плацент при физиологической и патологической беременности на базе Института патологии университетской клиники Йоханнеса Гутенберга (Майнц, Германия), КГП «Областная клиническая больница» Управления здравоохранения Карагандинской области (Казахстан). Из исследования были исключены плаценты с хромосомными аномалиями, воспалительными процессами и плаценты беременных с экстрагенитальной патологией. В исследование были включены плаценты при физиологической и патологической беременности с монозологией острой и хронической патологии беременности. Критериями антенатальной плацентарной недостаточности с гипоксическим дистрессом плода являлись: низкий балл по шкале Апгар, патологическая КТГ, мекониальные околоплодные воды, антенатальная асфиксия плода. Случаи преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты были отнесены к острой антенатальной плацентарной недостаточности.

Гистологическое и иммуногистохимическое исследование материала плацент проводилось в Институте патологии университетской клиники Йоханнеса Гутенберга (Майнц, Германия) и патоморфологической лаборатории кафедры патологической анатомии Карагандинского государственного медицинского университета в период с сентября 2015 г. по декабрь 2016 г. Гестационный срок был определен на основании ультразвукового исследования с учетом клинических данных. Объектом исследования служили плаценты при физиологическом и патологическом течении беременности, забор материала проводился в соответствии с правилами, принятыми Этической комиссией КГМУ. Во всех случаях для данного исследования было получено письменное информированное согласие от беременных женщин.

2.2 Макроскопическое и гистологическое исследование плацент

Забор плацент производился непосредственно после родов. После отсечения свободной амниотической оболочки и пуповины производилось взвешивание плацент. При исследовании массы плацент пользовались общепринятыми международными показателями: к плацентам с нормальной массой были отнесены плаценты 25-75 перцентиль, с пониженной массой < 25 перцентиль и с повышенной массой >75 перцентиль [121, с. 5].

После забора ткани плаценты фиксировались в 4% нейтральном забуференном формалине с последующей стандартизированной вырезкой [246, 247] и маркировкой репрезентативных диагностически значимых фрагментов плаценты. Материал вырезался и маркировался в 4 парафиновых блоках: 1 блок включал ролл из амниотических оболочек от края разрыва до края плацентарного диска, часть краевой паренхимы плаценты и 2 поперечных сечения пуповины, взятых на расстоянии 5 см один от плодового и

плацентарного конца. Три других парафиновых блока представляли репрезентативные участки плаценты, которые использовались для морфометрического анализа.

В последующем материал плацент подвергался обработке химическими реактивами (изопропиловый спирт, ксилол, парафиновая среда) в тканевом процессоре по этаблированному протоколу. После ориентации в гистокассетах материал, заливался в парафин с формированием блока для гистологической нарезки. Морфометрическое исследование плацент проводилось на базе института патологии университетской клиники Йоханнеса Гутенберга (Майнц, Германия) и патоморфологической лаборатории кафедры патологической анатомии Карагандского государственного медицинского университета на компьютеризированном микроскопе Leica DM 1000 (Караганда, Казахстан).

Макроскопическое и гистологическое исследование плаценты было проведено в соответствии с общепринятыми принципами Vogel (1996) [248, с.35]. Гистологическими критериями оценки развития и созревания ворсин плаценты служили степень ветвления ворсин, дифференцировка стромы, васкуляризация и образование синцитиокапиллярных мембран, рекомендованные Vogel M., Benirschke K., Kaufmann P., являющиеся объективными показателями особенностей развития и степени созревания плаценты [87, с. 95; 248, с.112].

2.3 Основные клинические и морфологические характеристики плацент при физиологической и патологической беременности

Материал 593 плацент при физиологическом и патологическом течении беременности с целью оценки антенатальной плацентарной недостаточности был разделен на четыре группы в зависимости от преимущественной локализации экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера. Основные клинические и морфологические данные исследуемых плацент представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Основные клинические и морфологические данные плацент

Характеристика групп	Группы (n=593)			
	CD 15– (n=159)	CD15+ (n=434)		
		CD 15 + в макро и микрососудах (n=315)	CD15+ в микрососудах (n=110)	CD15+ в макрососудах (n=9)
1	2	3	4	5
Характеристика плаценты, пуповины и амниотических оболочек				
Срок гестации, недель	38,8±1,9	38,3±2,2	38,2±2,1	39,1±1,1
Масса плаценты, г.	455,1±101,8	498,1±126,9	616,8±85,4	379,6±82,3
Воспалительные изменения	0	0	0	0
Циркуляторные нарушения	0	0	0	0
Инфаркты, n	76	189	54	7
Гематома, n	39	44	16	4
Опухоли, n	0	0	0	0

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5
Особенности пуповины, n	0	0	0	0
Характеристика новорожденных				
Генетические и хромосомные аномалии, n	0	0	0	0
АПГАР на первой и пятой минуте				
8-10, n	141	67	83	7
менее 8, n	18	248	27	2
Аntenатальная гибель плода, n	0	92	13	0
ЗВУР, n	19	93	-	4
БГВП, n	30	37	23	0
МГВП, n	30	0	0	0
Клиническая характеристика				
ФБ, n	34	0	11	0
Преэклампсия (поздняя), n	33	42	21	5
HELLP-синдром, n	13	0	0	0
ГСД, n	0	51	42	0
ПОНРП, n	39	11	16	0
Патологическая КТГ, n	37	134	69	2
Мекониальные воды, n	7	84	42	3
Фетальный эритробластоз, n	0	41	5	0
Кесарево сечение, n	41	36	30	4
ФБ – физиологическая беременность; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; ПОНРП – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты; КТГ – кардиотокография.				

2.4 Иммуногистохимическое исследование плаценты

Иммуногистохимическое исследование проводилось в условиях морфологической лаборатории Института Патологии Университетской клиники Йоханнеса Гутенберга. Для иммуногистохимического исследования изготавливались гистологические парафиновые срезы толщиной 5 мкм, далее проводилось депарафинирование, срезы дегидратировались и промывались в Wash Buffer (DAKO). Иммуногистохимическое окрашивание подготовленных срезов проведено в автостейнере (Autostainer Plus®, DAKO, Mainz, Germany) с использованием стрептавидин-биотиновой системы детекции антигена (DAKO EnVision System, HRP mouse/rabbit,) в соответствии с инструкциями производителя. Для визуализации положительной реакции в качестве хромогена был использован 3,3-диаминобензидин тетрагидрохлорида (DAB).

При проведении исследования использованы мышинные моноклональные антитела анти-IgM против CD15-антигена, характеризующиеся позитивной реакцией в зрелых гранулоцитах, две трети в миелоцитах костного мозга и негативной в лимфоцитах (Ready-to-Use, DAKO, clone Carb-3). Для негативного

контроля первичные антитела против CD15 были замещены буфером (PBS) или не иммунным анти-IgM.

2.5 Иммуногистохимическая оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макро- и микрососудах плацент

С целью объективной оценки иммуногистохимической реакции экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток оценивалась отдельно в макро- и микрососудах плацент, без знания клинических данных каждого случая. Положительно окрашенные сосуды просчитывались в 100 сосудах макро- и микроваскулярного русла ворсинок хориона различного гистологического типа. Интенсивность и внутрисосудистая распространенность экспрессии CD15 оценивалась с помощью модифицированной шкалы иммунореактивности Remmele и Stegner (IRS) [249].

Шкала иммунореактивности (IRS) сосудов плаценты высчитывалась посредством умножения балла интенсивности иммуноокрашивания и внутрисосудистой распространенности позитивно окрашенных эндотелиальных клеток (ЭК). Интенсивность окраски оценивалась по следующим показателям: 0 = реакция отсутствует; 1 = слабая; 2 = умеренная; 3 = сильная реакция. Процент позитивно окрашенных ЭК был оценен следующим образом: 0 = реакция отсутствует; 1 = <10% ЭК; 2 = 11% - 50% ЭК; 3 = 51% - 80% ЭК; 4 = >81% окрашенных ЭК.

Общий балл IRS составляет от 0 до 12. Шкала оценки IRS: 0-2 балла - негативная реакция; 3-4 балла - слабая реакция; 6-8 баллов - умеренная реакция; 9-12 баллов - реакция высокой степени. «Положительный иммунофенотип» плаценты был определен оптической визуализацией окраски более 15% сосудов с внутрисосудистой иммунореактивностью (IRS) от 1 до 12 баллов при низкой степени увеличения (x50 линзы объектива).

2.6 Статистическая обработка полученных данных

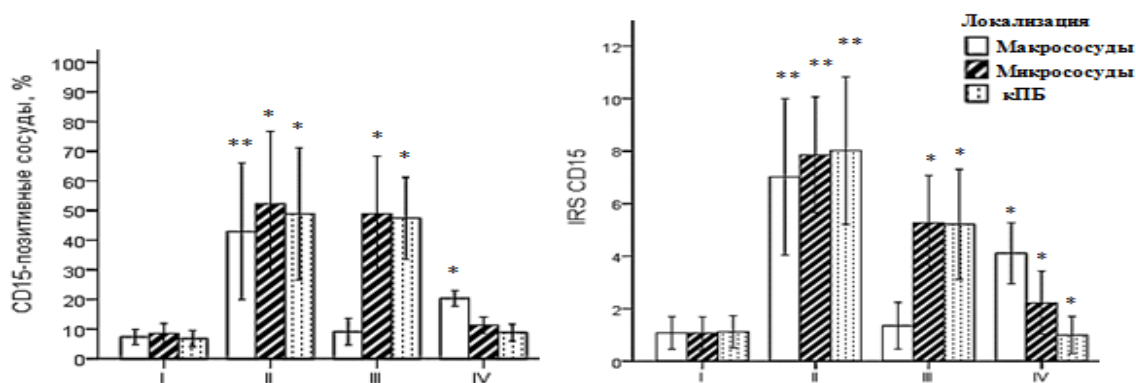
Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программ STATISTICA 7 и IBM SPSS Statistics 20. При проверке нормальности распределения использованы методы описательной статистики, квантильные диаграммы, гистограммы и критерий Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и критерия Шапиро-Уилка. В случае превышения значений статистической значимости рассчитанных критериев 0,01 ($p > 0,01$), фактическое распределение формально считалось не отличающимся от нормального. Средние тенденции описывались средним значением и стандартным отклонением. Для данных с распределением, отличающимся от нормального, статистическую значимость различий в группах определяли с помощью критерия Краскела-Уоллеса и критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,01$. Анализ качественных данных проводили с помощью χ^2 Пирсона с поправкой Йетса. Для проведения корреляционного анализа использовался метод ранговой корреляции Спирмена и Кендалла.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Иммуногистохимическая оценка внутрисосудистой интенсивности экспрессии (IRS) и количества CD15+ эндотелиальных клеток плацент при физиологическом и патологическом течении беременности

Для определения диагностической значимости CD15 иммунофенотипирования плацент в оценке антенатальной плацентарной недостаточности было проведено проспективное сравнительное иммуногистохимическое исследование плацент в гетерогенных клинических группах при физиологическом и патологическом течении беременности с отклонениями в массе и гистологическом фенотипе: I группа - плаценты с CD15-негативным иммунофенотипом макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера; II группа – плаценты с CD15-позитивным иммунофенотипом эндотелия макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера; III группа – плаценты с CD15-негативным иммунофенотипом макрососудов и позитивным окрашиванием микрососудов и капилляров плацентарного барьера; IV группа - плаценты с CD15-позитивным иммунофенотипом макрососудов и негативной экспрессией CD15 микроваскулярного русла.

Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток и относительное количество CD15+ макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера в плацентах при физиологическом и патологическом течении беременности представлена на рисунке 3 и в таблицах 2 и 3.



I – группа плацент с CD15-негативным иммунофенотипом макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера; II – группа плацент с CD15-позитивным иммунофенотипом эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа плацент с CD15-негативным иммунофенотипом макрососудов и позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммунофенотипом макрососудов и негативной экспрессией CD15 микроваскулярного русла;

* - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с CD15-негативным иммунофенотипом макро и микроваскулярного русла ($p < 0,01$);

** - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с CD15-негативным и позитивным фенотипом макро- и микроваскулярного русла ($p < 0,01$)

Рисунок 3 - Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера в исследуемых группах плацент при физиологическом и патологическом течении беременности

Таблица 2 - Иммуногистохимическая оценка экспрессии CD15+ в исследуемых группах плацент

Локализация	Группы (n-593)							
	I CD15 – макро и микрососуды (n-159)		II CD15 + макро- и микрососуды (n-315)		III CD15 - макрососуды CD15+ микрососуды (n-110)		IV CD15 + макрососуды CD15-микрососуды (n-9)	
	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS
Макрососуды	7,3±2,6	1,2±0,6	42,9±23,0**	7,0±3,0**	9,1±4,5	1,4±0,9	20,3±2,6*	4,1±1,2*
Микрососуды	8,5±3,4	1,1±0,6	52,5±24,4*	7,9±2,2**	48,9±19,3*	5,3±1,8*	11,3±2,6	2,2±1,2
кПБ	6,8±2,7	1,1±0,8	48,9±22,3*	8,0±2,8**	47,3±13,8*	5,2±2,1*	8,8±2,8	1,0±0,7
<p>*- Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с CD15-негативным иммунофенотипом макро- и микроваскулярного русла (p<0,01);</p> <p>** - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с CD15-негативным и позитивным фенотипом макро- и микроваскулярного русла (p<0,01).</p>								

Таблица 3 - Иммуногистохимическая оценка внутрисосудистой интенсивности и распространенности (IRS) экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток

CD15 иммунофенотип сосудов (IRS*)	Локализация** (n)	Группы (n-593)			
		I CD15 – макро- и микрососуды (n-159)	II CD15 + макро- и микрососуды (n-315)	III CD15- макрососуды CD15+ микрососуды (n-110)	IV CD15 + макрососуды CD15- микрососуды (n-9)
1	2	3	4	5	6
Негативный (IRS 0-2)	Макрососуды (n-266)	159 (60%)	3 (1%)	104 (39%)	-
	Микрососуды (n-164)	159 (97%)	-	-	5 (3%)
	кПБ (n-168)	159 (95%)	-	-	9 (5%)
Слабая реакция (IRS 3-4)	Макрососуды (n-111)	-	97 (88%)	6 (5%)	8 (7%)
	Микрососуды (n-64)	-	6 (9%)	54 (84%)	4 (6%)
	кПБ (n-103)	-	40 (38,8%)	63 (61%)	-
Умеренная реакция (IRS 6-8)	Макрососуды (n-118)	-	117 (99%)	-	1 (1%)
	Микрососуды (n-269)	-	213 (79%)	56 (21%)	-
	кПБ (n-211)	-	164 (78%)	47 (22%)	-

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5	6
Сильная реакция (IRS 9-12)	Макрососуды (n-98)	-	98 (100%)	-	-
	Микрососуды (n-96)	-	96 (100%)	-	-
	кПБ (n-111)	-	111 (100%)	-	-
<p>* IRS сосудов плаценты был высчитан посредством умножения балла интенсивности иммуноокрашивания и внутрисосудистой распространенности позитивно окрашенных эндотелиальных клеток. Интенсивность окраски оценивалась следующим образом: 0 = реакция отсутствует, 1 = слабая, 2 = умеренная, и 3 = сильная реакция; процент позитивно окрашенных эндотелиальных клеток (ЭК) был оценен следующим образом: 0 = реакция отсутствует, 1 = <10% ЭК, 2 = 11% - 50% ЭК, 3 = 51% - 80% ЭК, и 4 = >81% окрашенных ЭК. Общий балл IRS составляет от 0 до 12; 0 до 2 означает негативная реакция, 3-4 слабая реакция, 6-8 умеренная реакция и 9-12 реакция высокой степени.</p> <p>**Макрососуды хориальной пластинки и стволых ворсинок; микрососуды и капилляры плацентарного барьера промежуточных и терминальных ворсинок.</p>					

Иммуногистохимическая оценка внутрисосудистой интенсивности экспрессии показала, что негативная (IRS 0-2) экспрессия CD15 эндотелиальных клеток макрососудов была выявлена в 266 случаях (45%), микрососудов в 164 (28%) и в 168 случаях (28%) в капиллярах плацентарного барьера.

Все плаценты при физиологическом и патологическом течении беременности I группы характеризовались негативной (IRS 0-2) внутрисосудистой экспрессией CD15+ эндотелиальных клеток макро- и микроваскулярного русла. Относительное количество макро- и микрососудов с единичными и слабоокрашенными (IRS 1-2) CD15+ эндотелиальными клетками во всех случаях не превышало 15%.

Результаты исследования показали, что позитивный иммунофенотип CD15+ эндотелиальных клеток микроваскулярного русла плацент выявлен в 327 случаях (55%). Из них легкая степень (IRS 3-4) экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток наблюдалась в 111 случаях (34%), умеренная (IRS 6-8) в 118 наблюдениях (36%) и сильная (IRS 9-12) в 98 (30%). Повышение экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток со значительным повышением относительного количества CD15+ макрососудов обнаружено в плацентах при патологической беременности II и IV групп. При том, что сильная степень экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток отмечалась только в плацентах с CD15+ иммунофенотипом как макро-, так и микроваскулярного русла со значительным повышением относительного количества CD15+ макрососудов, составляющих более 50% (группа II).

В микрососудах исследуемых плацент, экспрессия CD15-позитивных эндотелиальных клеток была выявлена в 429 случаях (72%). Из них легкая степень (IRS 3-4) экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток обнаружена в 64 случаях (15%), умеренная (IRS 6-8) в 269 случаях (63%) и сильная (IRS 9-12) в 96 наблюдениях (22%). Повышение экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток

со значительным повышением относительного количества CD15+ микрососудов наблюдалось в плацентах при патологической беременности II и III групп. Легкая степень CD15+ эндотелиальной экспрессии отмечалась в плацентах с CD15-позитивным иммунофенотипом только микроваскулярного русла (III группа). Умеренной и сильной степенью экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток микрососудов характеризовались плаценты при патологической беременности, сопровождающиеся CD15+ иммунофенотипом макроваскулярного русла (II группа). Сильная степень CD15+ эндотелиальной экспрессии была выявлена только в плацентах II группы.

В капиллярах плацентарного барьера исследуемых плацент при физиологическом и патологическом течении беременности позитивная экспрессия CD15 обнаружена в 425 случаях (72%). Из них легкая степень (IRS 3-4) экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток была выявлена в 103 случаях (24%), умеренная (IRS 6-8) в 211 случаях (50%) и сильная (IRS 9-12) в 111 случаях (26%).

Повышение экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток со значительным повышением относительного количества CD15+ эндотелиальных клеток кПБ наблюдалось в плацентах при патологическом течении беременности II и III групп. Легкая степень CD15+ эндотелиальной экспрессии преимущественно (61%) отмечалась в плацентах с CD15-позитивным иммунофенотипом только микроваскулярного русла (III группа). Умеренной и сильной CD15+ экспрессией эндотелиальных клеток капилляров плацентарного барьера характеризовались плаценты при патологической беременности, сопровождающиеся CD15+ иммунофенотипом макроваскулярного русла (II группа). Высокая степень CD15+ эндотелиальной экспрессии была выявлена только в плацентах II группы.

В ранее опубликованных исследованиях продемонстрировано, что интима сосудистой системы плаценты иммуногистохимически может быть разделена на CD15+ и CD15- «васкулогенную зону» [31, с. 175]. Баланс между двумя зонами зависит от срока гестации и изменяется в ходе нормальной беременности. Было описано, что плаценты первых двух триместров при нормальной беременности демонстрируют не только физиологическую структурную незрелость ворсинок, но и «незрелость макро- и микроциркуляции» физиологической сосудистой стенки, характеризующуюся незрелым CD15-положительным иммунофенотипом макро- и микрососудистой интимы. Плаценты при физиологической беременности доношенного срока показывают доминирующий CD15-отрицательный иммунофенотип как макро-, так и микроциркуляторного русла. Здесь в макро- и микрососудистой интимае может быть обнаружена только очаговая и прерывистая популяция незрелых CD15+ эндотелиальных клеток (10-15% CD15+ макро- и микрососудов) [31, с.177].

С целью получения дополнительных данных о тесноте связи между уровнем экспрессии относительного количества CD15+ макро- и микрососудов и интенсивности экспрессии (IRS) CD15+ эндотелиальных клеток в макро-,

микрососудах и капиллярах плацентарного барьера в исследуемых группах плацент при физиологической и патологической беременности был проведен расчет коэффициента корреляции Спирмена (рисунки 4, 5 и 6).

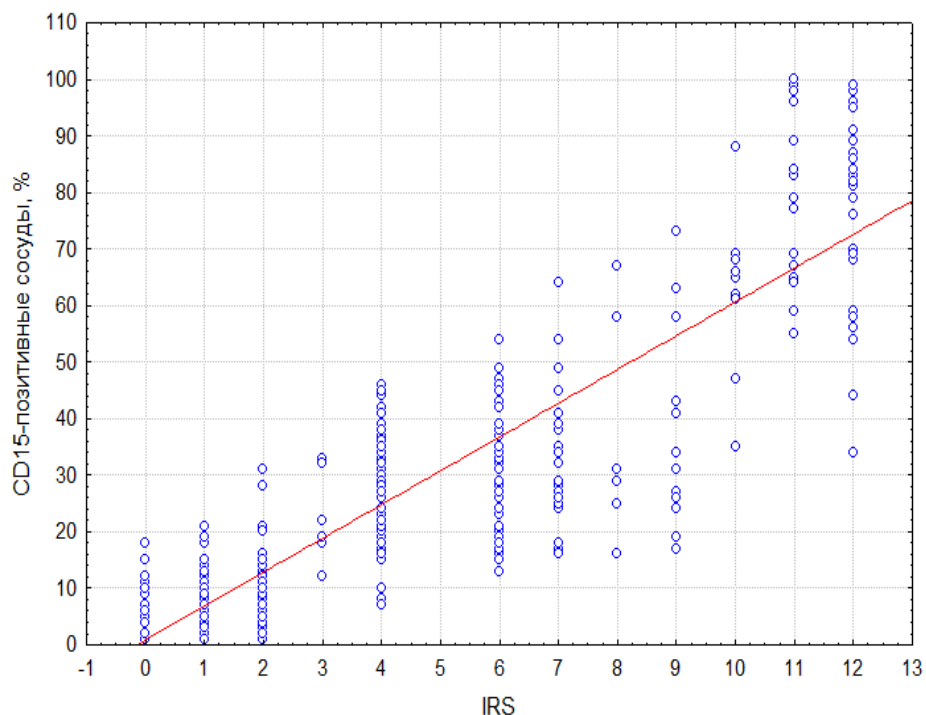


Рисунок 4 – Оценка связи количества CD15+ макрососудов и балла иммунореактивности (IRS) CD15+ эндотелиальных клеток ($r = 0,860$, $p \leq 0,01$)

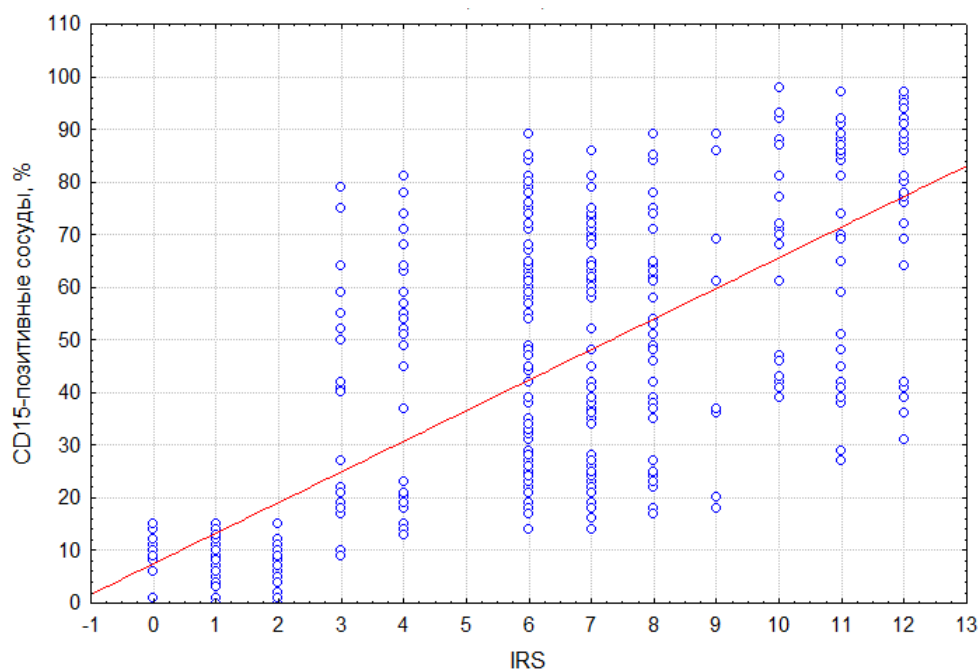


Рисунок 5 – Оценка связи количества CD15+ микрососудов и балла иммунореактивности (IRS) CD15+ эндотелиальных клеток ($r = 0,745$, $p \leq 0,01$)

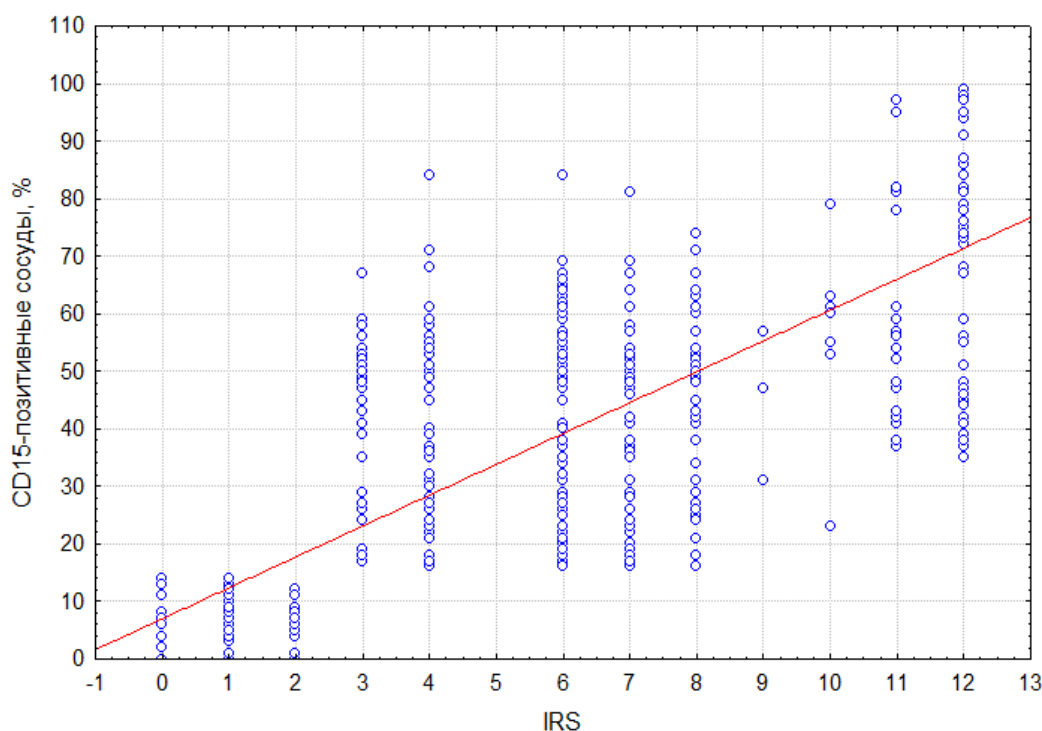


Рисунок 6 – Оценка связи количества CD15+ капилляров плацентарного барьера и балла иммунореактивности (IRS) CD15+ эндотелиальных клеток ($r = 0,774$, $p \leq 0,01$)

В результате корреляционного анализа была выявлена прямая сильная связь между уровнем экспрессии относительного количества CD15+ макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера и баллом иммунореактивности (IRS) CD15+ эндотелиальных клеток. Наиболее высокий коэффициент корреляции был обнаружен в макрососудах хориальной пластинки и стволовых ворсинок ($r=0,860$, $p \leq 0,01$). Полученная скаттерограмма свидетельствует о том, что зависимость между выраженностью экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток и относительным количеством CD15+ макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера в исследуемых группах плацент при физиологической и патологической беременности носит линейный характер.

Следует подчеркнуть, что преимущественное количество исследуемых плацент при физиологической и патологической беременности характеризовалось гетерогенностью локализации CD15+ эндотелиальных клеток как макро-, так и микрососудов и капилляров плацентарного барьера. Большинство CD15+ эндотелиальных клеток демонстрировало неспецифический избирательный характер локализации и интенсивности патологической экспрессии в компартаментах макро- и микроваскулярного русла, что может быть обусловлено нарушением ростового потенциала и гистологическим фенотипом плацент в гетерогенных клинических группах.

3.2 Характеристика массы и гистологического фенотипа исследуемых групп плацент при физиологической и патологической беременности

Результаты исследования массы и гистологического фенотипа плацент исследуемых групп при физиологическом и патологическом течении беременности представлены на рисунках 7, 8.

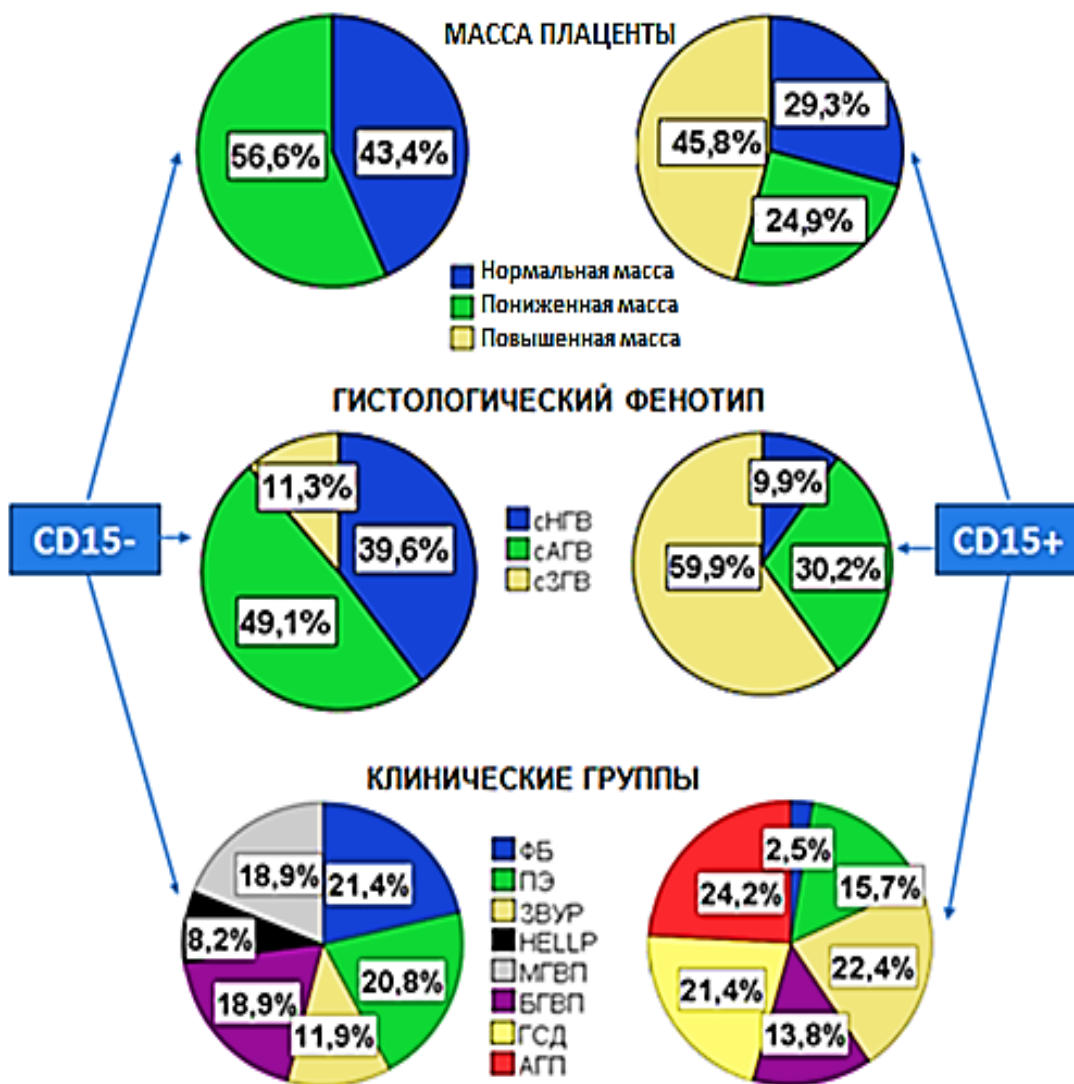
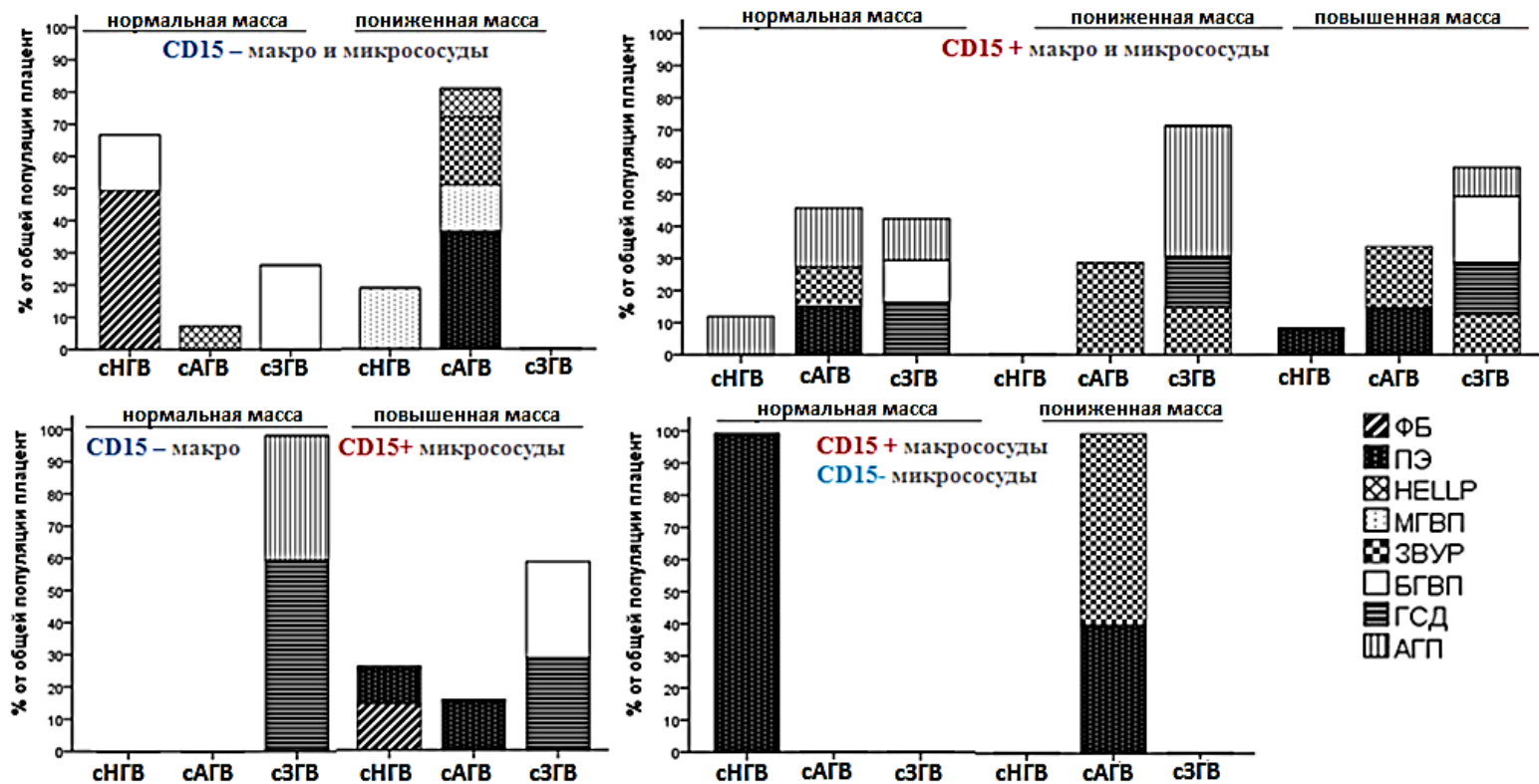


Рисунок 7 – Характеристика массы, гистологического фенотипа и клинических групп плацент при физиологическом и патологическом течении беременности с CD15-негативным и CD15-позитивным иммунофенотипом плацентарных сосудов

В группе плацент с CD15-негативным иммунофенотипом макро- и микроваскулярного русла преобладали плаценты с пониженной массой (<25 перцентиль) - 56,6% и структурной акселерацией созревания плаценты для гестационного возраста - 49,1%, при физиологической беременности - 21,4%, преэклампсии - 20,8%, малом для гестационного возраста плоде - 18,9%, большом для гестационного возраста плоде - 18,9%.



Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка развития ворсинок хориона; ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; МГВП – малый для гестационного возраста плод; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; ГСД – гестационный сахарный диабет; АГП – антенатальная гибель плода

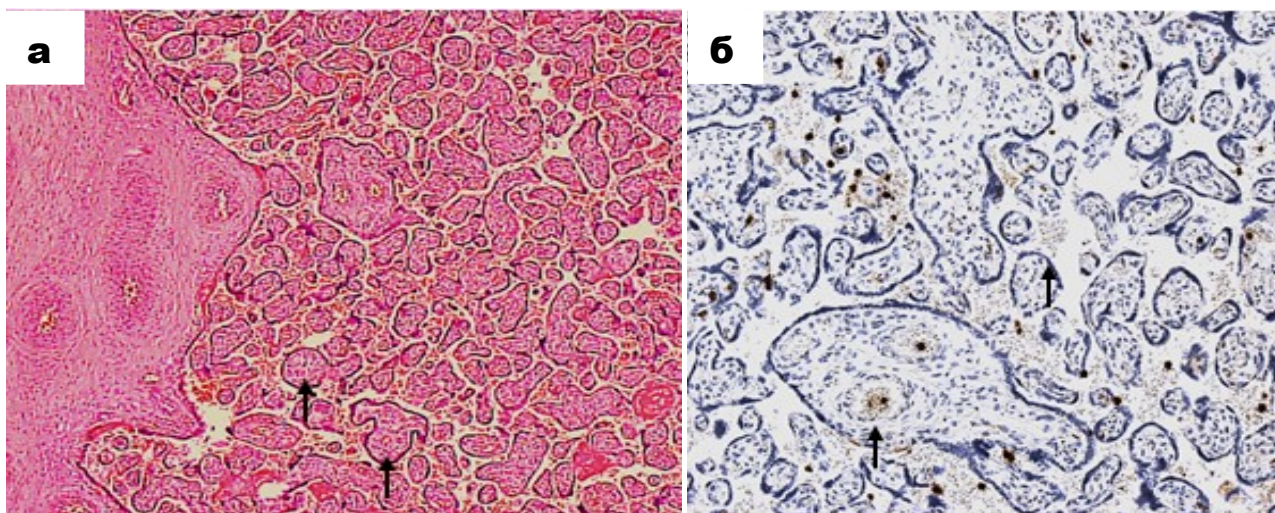
Рисунок 8 - Характеристика массы и гистологического фенотипа плацент исследуемых групп плацент при различных клинических состояниях

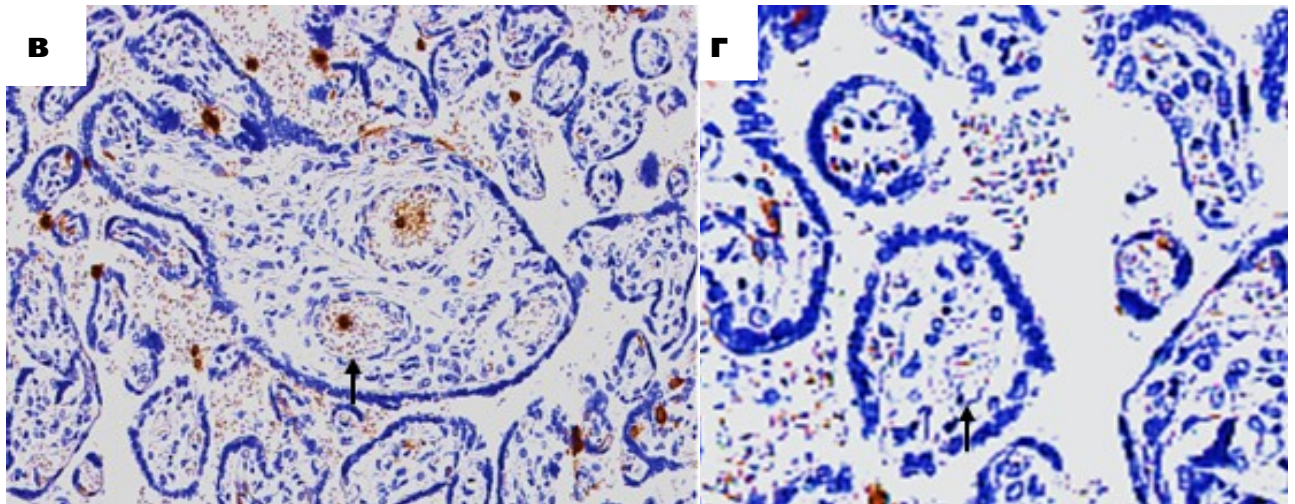
В группе плацент CD15-положительным иммунофенотипом макро- и микроваскулярного русла значительно преобладали плаценты с повышенной массой (>75 перцентиль) - 45,85%, структурной задержкой развития ворсинок хориона для гестационного возраста - 59,9%, при антенатальной гибели плода - 24,2%, гестационном сахарном диабете - 21,4% и задержке внутриутробного развития плода - 22,4%. Наименьшую долю (2,5%) составляли плаценты при физиологическом течении беременности.

Следует отметить, что группа плацент с CD15-негативным иммунофенотипом макро- и микроваскулярного русла с пониженной массой и структурной акселерацией созревания плаценты для гестационного возраста ассоциировалась с преэклампсией, задержкой внутриутробного развития плода, HELLP-синдромом и малым для гестационного возраста плодом. В данной группе плацент отмечено развитие ворсинок хориона с относительно повышенным количеством терминальных ворсин и синцитиокапиллярных мембран, составляющих более 50%.

Плаценты с нормальной массой (25-75 перцентиль) при CD15-негативной экспрессии макро- и микроваскулярного русла в большинстве случаев отмечены при физиологическом течении беременности (49%) и характеризовались зрелым гистологическим фенотипом для гестационного возраста (сНГВ, 43%) с преобладанием зрелых форм ворсин хориона, наличием терминальных ворсинок и синцитиокапиллярных мембран.

Структурная задержка развития ворсинок хориона в плацентах с нормальной массой отмечалась при большом для гестационного возраста плоде. Степень задержки развития ворсинок хориона оценивалась как очаговая при выявлении 10-30% незрелых форм ворсинок хориона (рисунок 9).





а – очаговая персистенция незрелых форм ворсинок с относительно нормальным количеством промежуточных зрелых и терминальных ворсинок хориона, окраска: гематоксилин и эозин, Ув.:x100; б – CD15-негативный иммунофенотип макрососудов хориальной пластинки и стволовых ворсинок; в и г – функционально «зрелый» CD15 – негативный иммунофенотип микрососудов и кПБ. CD15+ миеломоноцитарные клетки материнской и фетальной крови (двойные стрелки), иммуногистохимическая окраска антителами против CD15, Ув.:б x100. вx200, гx400

Рисунок 9 - Патологическая очаговая структурная незрелость ворсинок и функциональная «зрелость» макро- и микроваскулярного русла при БГВП

Наши исследования показали, что плаценты с CD15+ иммунофенотипом макро- и микроваскулярного русла представляли преобладающее большинство случаев. Они были представлены патологическими клиническими подгруппами и ассоциировались с гетерогенной массой плаценты. Среди плацент с CD15+ иммунофенотипом макро- и микроваскулярного русла плаценты с повышенной массой незначительно превалировали (38,7%) над плацентами с нормальной и пониженной массой, составляющими соответственно 32,1% и 29,2%. Следует отметить, что в данной группе отсутствовали плаценты при физиологическом течении беременности (рисунок 10).

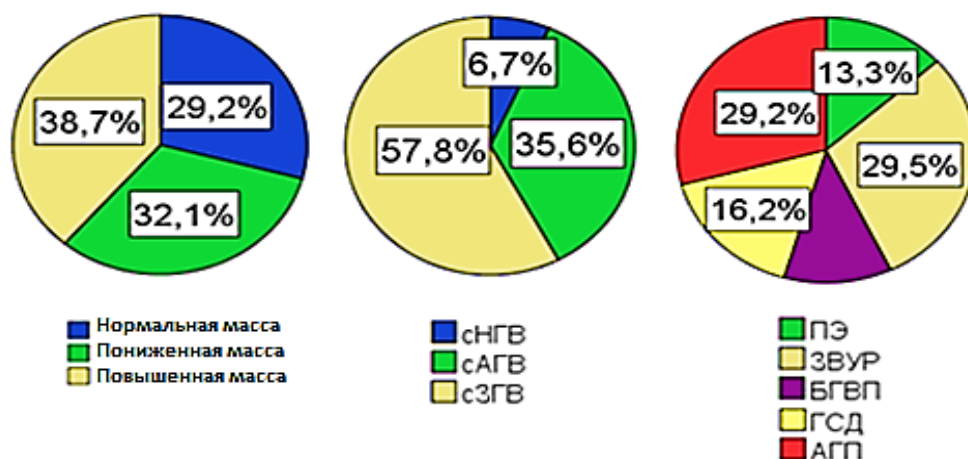


Рисунок 10 - Структура массы, гистологического фенотипа и клинических групп плацент с CD15+ позитивным иммунофенотипом эндотелия макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера

Преобладающее количество плацент с CD15+ иммунофенотипом как макро-, так и микрососудов (n-182, 58%) ассоциировалось со структурной задержкой развития ворсинок хориона при антенатальной гибели плода, гестационном сахарном диабете, большом для гестационного возраста плоде и задержке внутриутробного развития плода. Данные плаценты характеризовались гетерогенной массой и демонстрировали развитие ворсинок хориона со значительным повышением количества незрелых форм, составляющих более 30%, снижением терминальных ворсинок и синцитиокапиллярных мембран менее 40%. При том, что плаценты при АГП преимущественно ассоциировались с нормальной и пониженной массой и только в 12% случаев от данной клинической подгруппы были обнаружены плаценты с повышенной массой. Плаценты со сНГВ представляли наименьшую популяцию в данной группе (7%) и характеризовались нормальной массой при антенатальной гибели плода и повышенной массой при преэклампсии. Плаценты со структурной акселерацией для гестационного возраста характеризовались гетерогенной массой и ассоциировались со ЗВУР, преэклампсией и антенатальной гибелью плода.

Группа плацент с CD15+ иммунофенотипом микроваскулярного эндотелия и негативной экспрессией CD15-маркера в макрососудах в большинстве случаев представлена плацентами с повышенной массой (70%) с гетерогенным гистологическим фенотипом при физиологическом течении беременности, преэклампсии, гестационном сахарном диабете и большом для гестационного возраста плоде. Плаценты с нормальной массой для гестационного срока характеризовались структурной незрелостью при антенатальной гибели плода и гестационном сахарном диабете. Плацент с пониженной массой в данной группе не наблюдалось (рисунок 11).

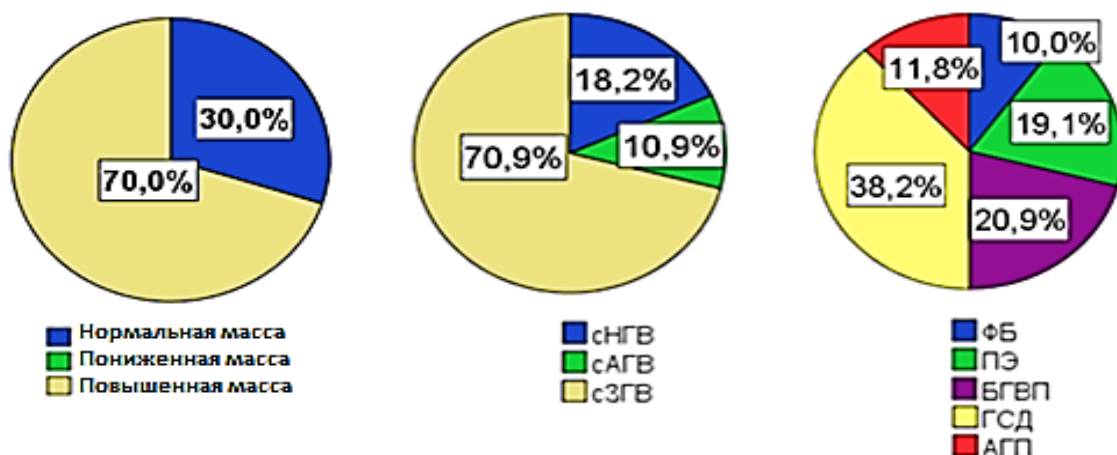


Рисунок 11 – Структура массы, гистологического фенотипа и клинических групп плацент с CD15- негативным иммунофенотипом макрососудов и CD15+ позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ

Плаценты со структурной незрелостью для гестационного возраста представляли преобладающую группу плацент с CD15+ иммунофенотипом микроваскулярного эндотелия и негативной экспрессией CD15 маркера в макрососудах и ассоциировались с антенатальной гибелью плода, гестационным сахарным диабетом и большим для гестационного возраста плодом. Данные плаценты демонстрировали развитие ворсинок хориона с умеренным повышением количества незрелых форм ворсинок (30%-50%), но значительным снижением терминальных ворсинок и синцитиокапиллярных мембран, составляющих менее 40%.

Плаценты с CD15-позитивным окрашиванием макрососудов при негативной экспрессии CD15 эндотелиальных клеток в микроваскулярном русле (IV группа) были представлены всего 9 наблюдениями (2%) при преэклампсии и ЗВУР и характеризовались сНГВ и сАГВ при нормальной и пониженной массе плацент.

Имуногистохимическое исследование показало, что все плаценты со зрелым гистологическим фенотипом при физиологической беременности, МГВП и HELLP-синдроме характеризовались CD15-негативным окрашиванием макро- и микроваскулярного эндотелия. Популяция плацент при ЗВУР, ГСД, БГВП, ПЭ была очень разнородной по экспрессии CD15 и гетерогенной по массе и гистологическому фенотипу. Преимущественное количество плацент при ЗВУР плода ассоциировалось с CD15-позитивной экспрессией макро- и микрососудов, в то же время плацент с CD15+ иммунофенотипом только микрососудов при ЗВУР плода не отмечалось. Все плаценты при преэклампсии характеризовались нормальной структурной зрелостью и структурной акселерацией созревания плаценты для гестационного возраста, а при гестационном сахарном диабете были ассоциированы с незрелым гистологическим фенотипом. Значительная часть плацент при беременности с большим для гестационного возраста плодом характеризовалась CD15+

иммунофенотипом эндотелиальных клеток макро- и микрососудов и незрелым гистологическим фенотипом, только 13% плацент данной группы были ассоциированы со сНГВ и имели негативное CD15-иммуноокрашивание макро- и микрососудов (таблица 4).

Таблица 4 – Характеристика массы и гистологического фенотипа исследуемых групп плацент при физиологической и патологической беременности

Подгруппы			Группы (n - 593)							
Масса плаценты	Гистологический фенотип	Клинические группы	I CD15 – макро- и микрососуды (n-159)		II CD15 + макро- и микрососуды (n-315)		III CD15- макрососуды CD15+ микрососуды (n-110)		IV CD15 + макрососуды CD15- микрососуды (n-9)	
			Масса, г.	Кол-во	Масса, г.	Кол-во	Масса, г.	Кол-во	Масса, г.	Кол-во
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Нормальная масса (n-196)	сНГВ (n-59)	ФБ (n-34)	506,0±7,8	34	-	-	-	-	-	-
		ПЭ (n-2)	-	-	-	-	-	-	495,5±45,9	2
		БГВП (n-12)	522,1±46,8	12	-	-	-	-	-	-
		АГП (n-11)	-	-	505,8±7,9	11	-	-	-	-
	сАГВ (n-47)	ПЭ (n-14)	-	-	490,1±13,3	14	-	-	-	-
		HELLP (n-5)	486,2±29,4	5	-	-	-	-	-	-
		ЗВУР (n-11)	-	-	485,5±18,5	11	-	-	-	-
		АГП (n-17)	-	-	482,9±16,2	17	-	-	-	-
	сЗГВ (n-90)	БГВП (n-30)	525,9±10,3	18	528,2±8,5	12	-	-	-	-
		ГСД (n-35)	-	-	526,7±9,9	15	504,2±16,5	20	-	-
		АГП (n-25)	-	-	525,3±10,4	12	499,6±21,2	13	-	-
Пониженная масса (n-198)	сНГВ (n-17)	МГВП (n-17)	415,8±28,2	17	-	-	-	-	-	-
	сАГВ (n-109)	ПЭ (n-36)	343,8±63,1	33	-	-	-	-	354,7±81,1	3
		HELLP (n-8)	328,8±13,6	8	-	-	-	-	-	-
		МГВП (n-13)	319,0±14,5	13	-	-	-	-	-	-

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
		ЗВУР (n-52)	318,5± 15,5	19	312,5± 15,3	29			340,3± 36,5	4
	сЗГВ (n-72)	ЗВУР (n-15)	-	-	343,1± 6,7	15	-	-	-	-
		ГСД (n-16)	-	-	346,7± 6,2	16	-	-	-	-
		АГП (n-41)	-	-	345,3± 6,2	41	-	-	-	-
Повыш енная масса (n-199)	сНГВ (n-30)	ФБ (n-11)	-	-	-	-	638,2± 18,5	11	-	-
		ПЭ (n-19)	-	-	583,6± 20,4	10	634,8± 40,2	9	-	-
	сАГВ (n-53)	ПЭ (n-30)	-	-	606,2± 37,6	18	599,3± 13,6	12	-	-
		ЗВУР (n-23)	-	-	607,4± 39,8	23	-	-	-	-
	сЗГВ (n-116)	ЗВУР (n-15)	-	-	624,4± 24,3	15	-	-	-	-
		БГВП (n-48)	-	-	668,6± 54,2	25	685,1± 24,5	23	-	-
		ГСД (n-42)	-	-	649,5± 51,7	20	712,2± 24,7	22	-	-
		АГП (n-11)	-	-	606,6± 33,9	11	-	-	-	-
<p>Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль;</p> <p>сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка развития ворсинок хориона;</p> <p>ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.</p>										

Преобладающее количество случаев с антенатальной гибелью плода вошло в популяцию плацент с CD15+ иммунофенотипом эндотелиальных клеток макро- и микроваскулярного русла, только 12% плацент при антенатальной гибели плода ассоциировались с CD15-негативной экспрессией в макроvasкулярном эндотелии при нормальной массе плаценты и структурной задержке созревания ворсинок хориона. Плаценты с CD15+ иммунофенотипом макро- и микрососудов при антенатальной гибели плода преимущественно ассоциировались со сЗГВ с нормальной и пониженной массой. Зрелый гистологический фенотип (сНГВ и сАГВ) плацент при плацентарной недостаточности, ассоциированной с антенатальной гибелью плода, выявлен в 30% случаев, составляющих 17 и 11 наблюдений соответственно, а повышенная масса плаценты выявлена в 12% наблюдений.

Нами установлена тенденция, что плаценты с повышенной массой для гестационного возраста сопровождаются CD15+ иммунофенотипом микроваскулярного русла. Плаценты с CD15-негативным иммунофенотипом микроваскулярного русла ассоциировались только с нормальной и пониженной массой для гестационного возраста.

С целью получения статистически значимых данных о тесноте связи между уровнем экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макро- и микроваскулярном русле и массой плацент, был проведен расчет коэффициента корреляции Спирмена (рисунки 12, 13, 14).

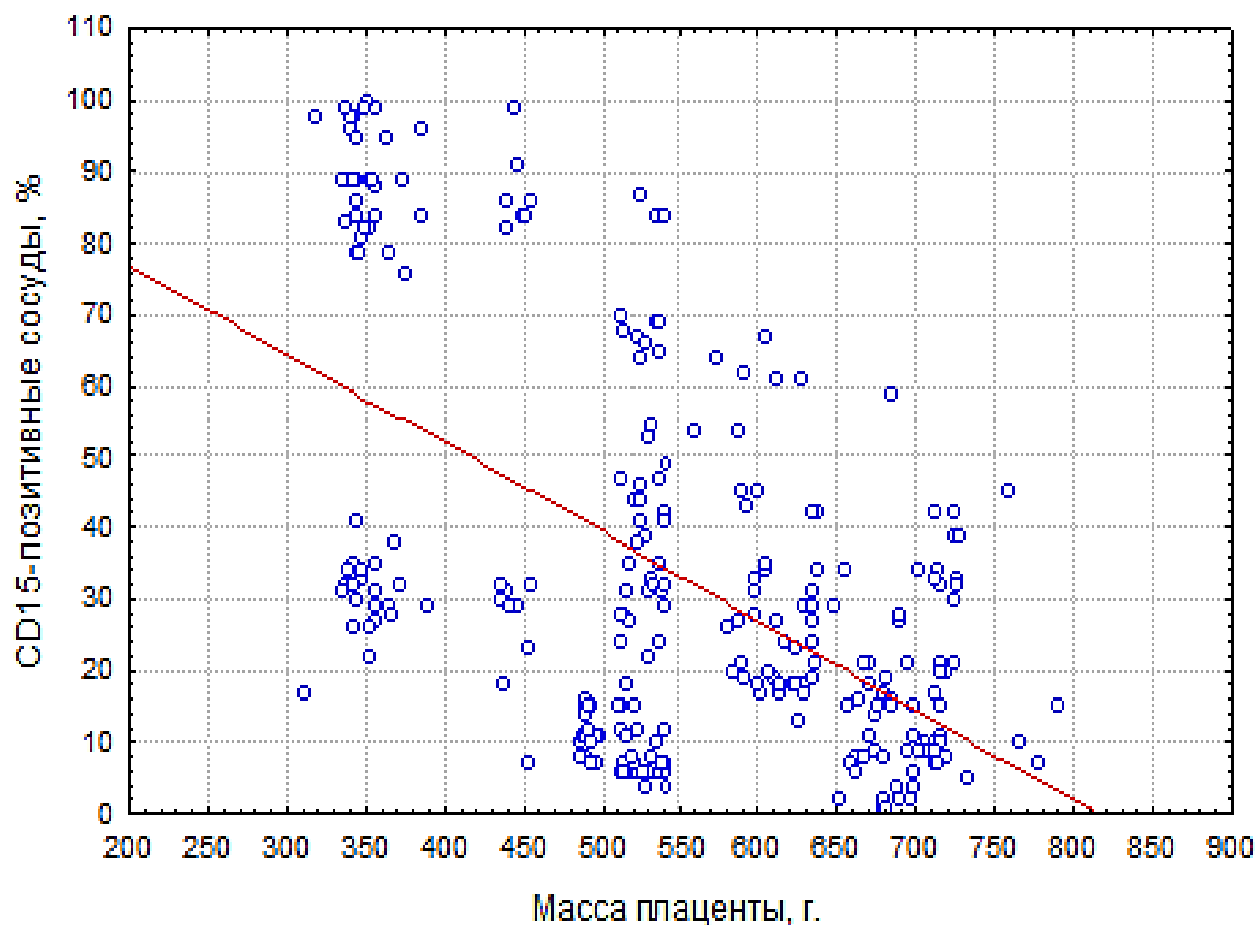


Рисунок 12 – Оценка связи количества CD15+ макрососудов и массы плаценты ($r = -0,431$, $p \leq 0,001$)

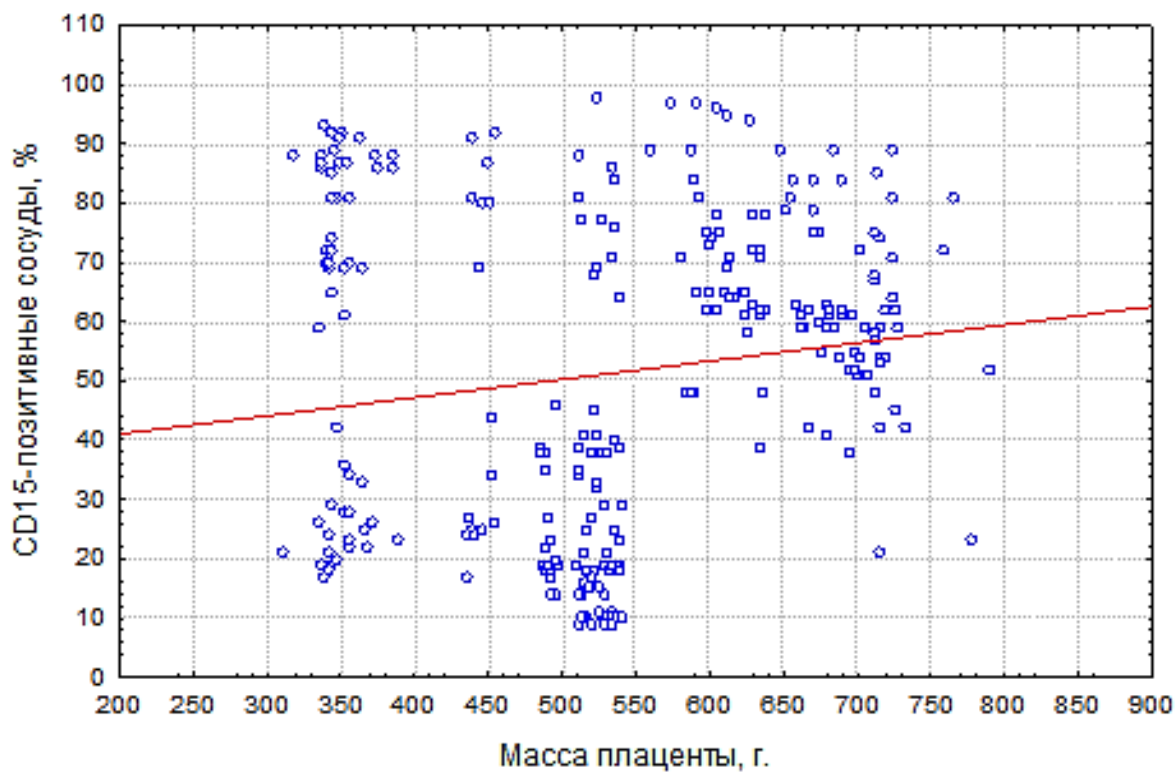


Рисунок 13 – Оценка связи количества CD15+ микрососудов и массы плаценты ($r = 0,139$, $p \leq 0,001$)

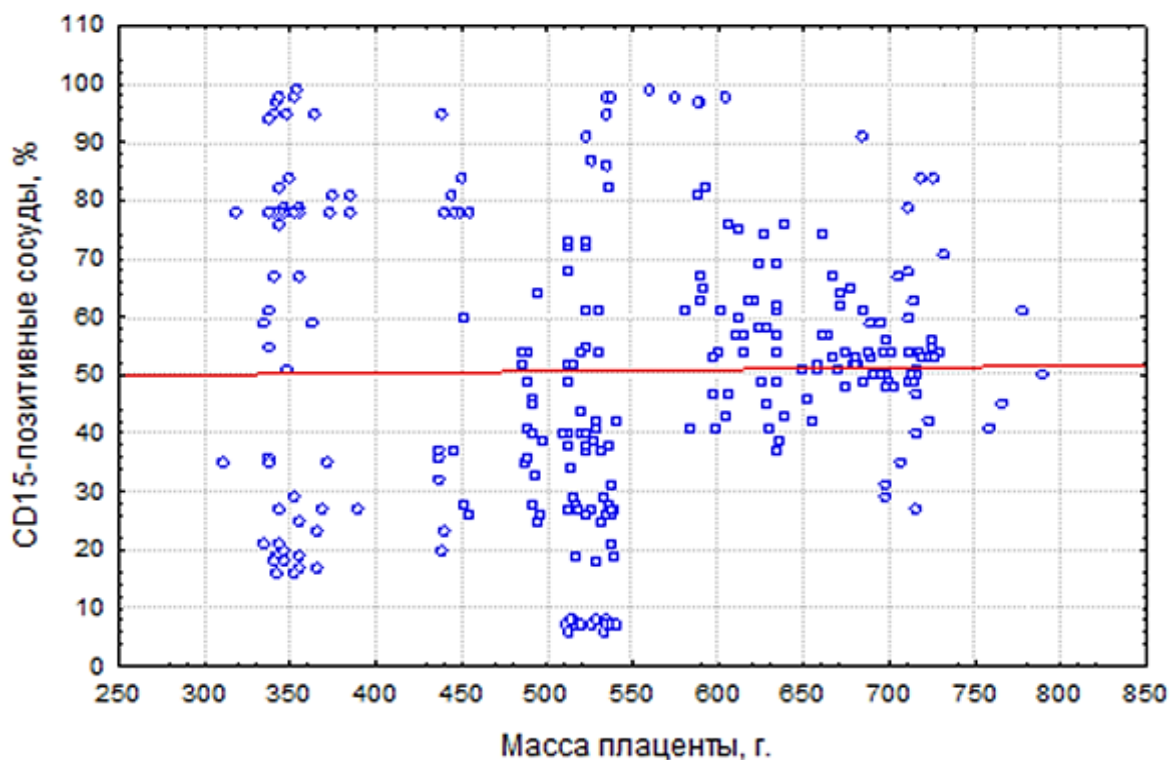


Рисунок 14 - Оценка связи количества CD15+ капилляров плацентарного барьера и массы плаценты ($r = 0,064$, $p \leq 0,001$)

В результате корреляционного анализа была выявлена слабая отрицательная обратная связь между уровнем экспрессии относительного количества CD15+ эндотелиальных клеток в макрососудах и массой плаценты ($r=-0,431$, $p \leq 0,001$). В микрососудах и капиллярах плацентарного барьера связь экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток с массой плаценты противоположно отличалась от связи CD15+ экспрессии эндотелиальных клеток в макрососудах с массой плацент. Нами отмечено, что значительное повышение относительного количества CD15+ микрососудов сопровождается тенденцией повышения массы плацент. В то же время линейной связи относительного количества CD15+ микрососудов и капилляров плацентарного барьера с массой плаценты не выявлено, что может быть обусловлено гетерогенностью гистологического фенотипа плацент и разнообразием клинических групп с различными антенатальными осложнениями.

Результаты нашего исследования также показали, что плаценты со структурной незрелостью для гестационного возраста представляют преобладающую группу плацент с CD15+ эндотелиальной экспрессией. Относительное количество CD15+ макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера со степенью (IRS) экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в плацентах со структурной незрелостью различной степени при патологическом течении беременности представлено в таблицах 5, 6 и рисунке 15.

Таблица 5 - Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток макро-, микрососудов и кПБ при структурной незрелости плаценты

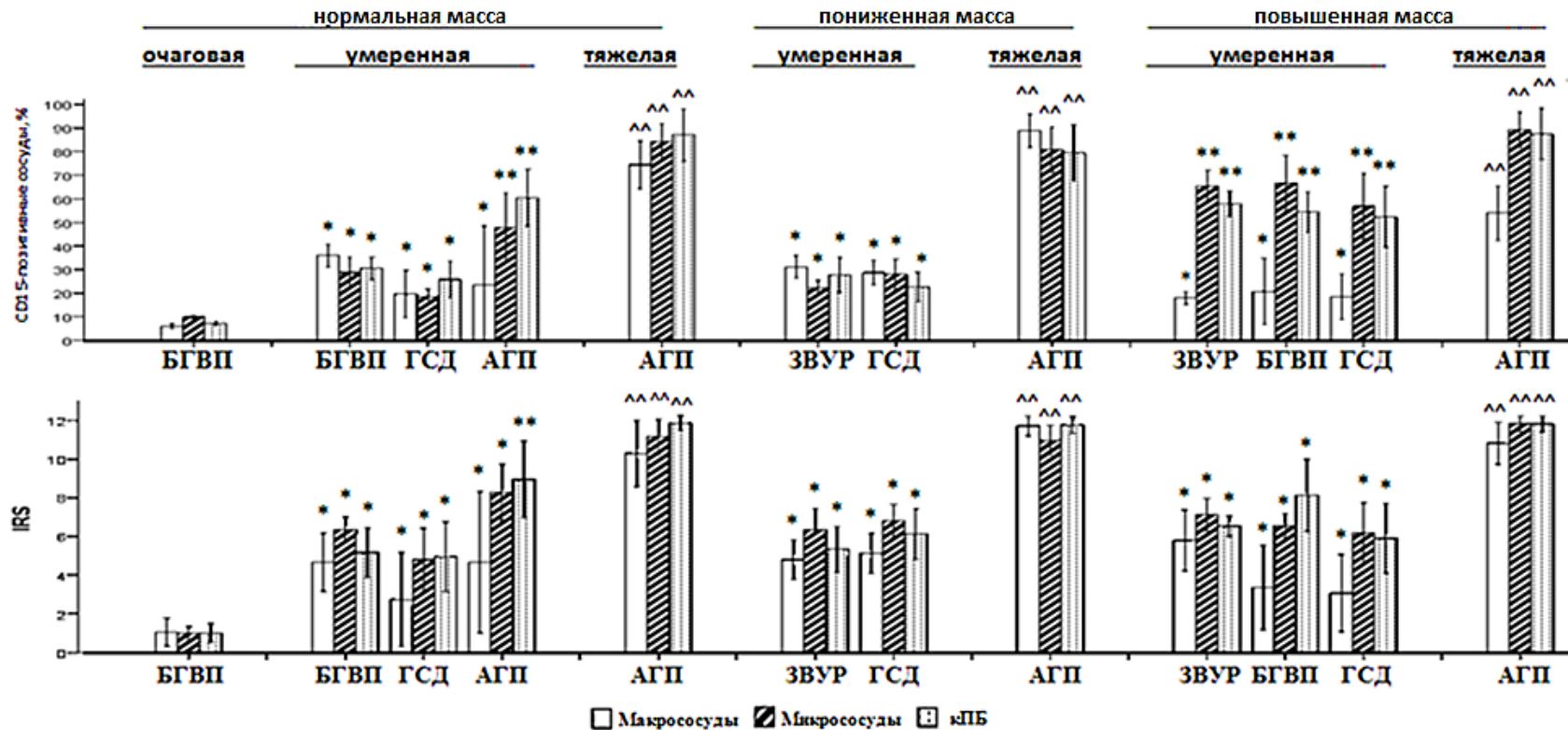
сЗГВ	Локализация	Васкулярная CD15 экспрессия	
		Позитивные сосуды (%)	IRS
Очаговая (n-18)	Макрососуды	6,1±0,9	1,1±0,7
	Микрососуды	9,9±0,6	1,0±0,3
	кПБ	7,1±0,7	1,0±0,5
Умеренная (n-201)	Макрососуды	22,4±13,0*	3,8±2,3*
	Микрососуды	45,8±21,8*	6,4±1,5*
	кПБ	43,9±17,0*	6,5±2,1*
Тяжелая (n-59)	Макрососуды	80,7±16,0**	11,4±1,0**
	Микрососуды	82,8±9,4**	11,2±0,8**
	кПБ	81,9±11,9**	11,8±0,4**

сЗГВ – структурная задержка развития ворсинок хориона плаценты; очаговая – от 10% до 30% незрелых форм ворсинок; умеренная степень сЗГВ – от 30% до 50% незрелых форм ворсинок хориона; тяжелая степень сЗГВ - >50% незрелых форм ворсинок хориона
 *- Статистически значимое отличие от плацент с очаговой структурной незрелостью для гестационного срока ($p < 0,01$)
 **- Статистически значимое отличие от плацент с очаговой и умеренной структурной незрелостью для гестационного срока ($p < 0,01$)

Таблица 6 - Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток макро-, микрососудов и кПБ при структурной незрелости плаценты

Масса плаценты	Степень сЗГВ	Клинические группы	Васкулярная CD15 экспрессия					
			Макрососуды		Микрососуды		кПБ	
			Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS
Нормальная масса (n-90)	Очаговая (n-18)	БГВП (n-18)	6,1±0,9	1,1±0,7	9,9±0,6	1,0±0,3	7,1±0,7	1,0±0,5
	Умеренная (n-65)	БГВП (n-12)	35,9±4,8*	4,7±1,5*	28,8±6,4*	6,3±0,7*	30,5±4,7*	5,2±1,3*
		ГСД (n-35)	19,6±10,1*	2,7±2,4*	18,6±3,2*	4,8±1,6*	25,8±7,9*	4,9±1,8*
		АГП (n-18)	23,7±24,8*	4,7±3,6*	47,8±14,6**	8,3±1,4*	60,5±12,1**	8,9±2,0**
	Тяжелая (n-7)	АГП (n-7)	74,4±10,1 ^{^^}	10,3±1,7 ^{^^}	84,3±7,5 ^{^^}	11,1±0,9 ^{^^}	87,1±11,1 ^{^^}	11,9±0,4 ^{^^}
Пониженная масса (n-72)	Умеренная (n-31)	ЗВУР (n-15)	31,1±4,9*	4,8±1,0*	22,3±3,1*	6,3±1,1*	27,7±7,4*	5,3±1,2*
		ГСД (n-16)	28,8±5,2*	5,1±1,0*	27,9±6,5*	6,8±0,8*	22,6±6,3*	6,1±1,3*
	Тяжелая (n-41)	АГП (n-41)	88,9±7,0 ^{^^}	11,7±0,5 ^{^^}	80,2±9,6 ^{^^}	11,4±0,7 ^{^^}	79,5±11,8 ^{^^}	11,8±0,4 ^{^^}
Повышенная масса (n-116)	Умеренная (n-105)	ЗВУР (n-15)	18,0±2,7*	5,8±1,6*	65,5±6,6**	7,1±0,8*	57,9±5,5**	6,5±0,5*
		БГВП (n-48)	20,7±14,1*	3,4±2,2*	66,6±11,8**	6,6±0,6*	54,4±8,6**	7,1±1,1*
		ГСД (n-42)	18,4±9,7*	3,1±2,0*	56,9±13,9**	6,2±1,6*	52,3±13,0**	5,9±1,8*
	Тяжелая (n-11)	АГП (n-11)	54,0±11,6 ^{^^}	10,8±1,1 ^{^^}	89,4±7,4 ^{^^}	11,8±0,4 ^{^^}	87,5±10,9 ^{^^}	11,8±0,4 ^{^^}

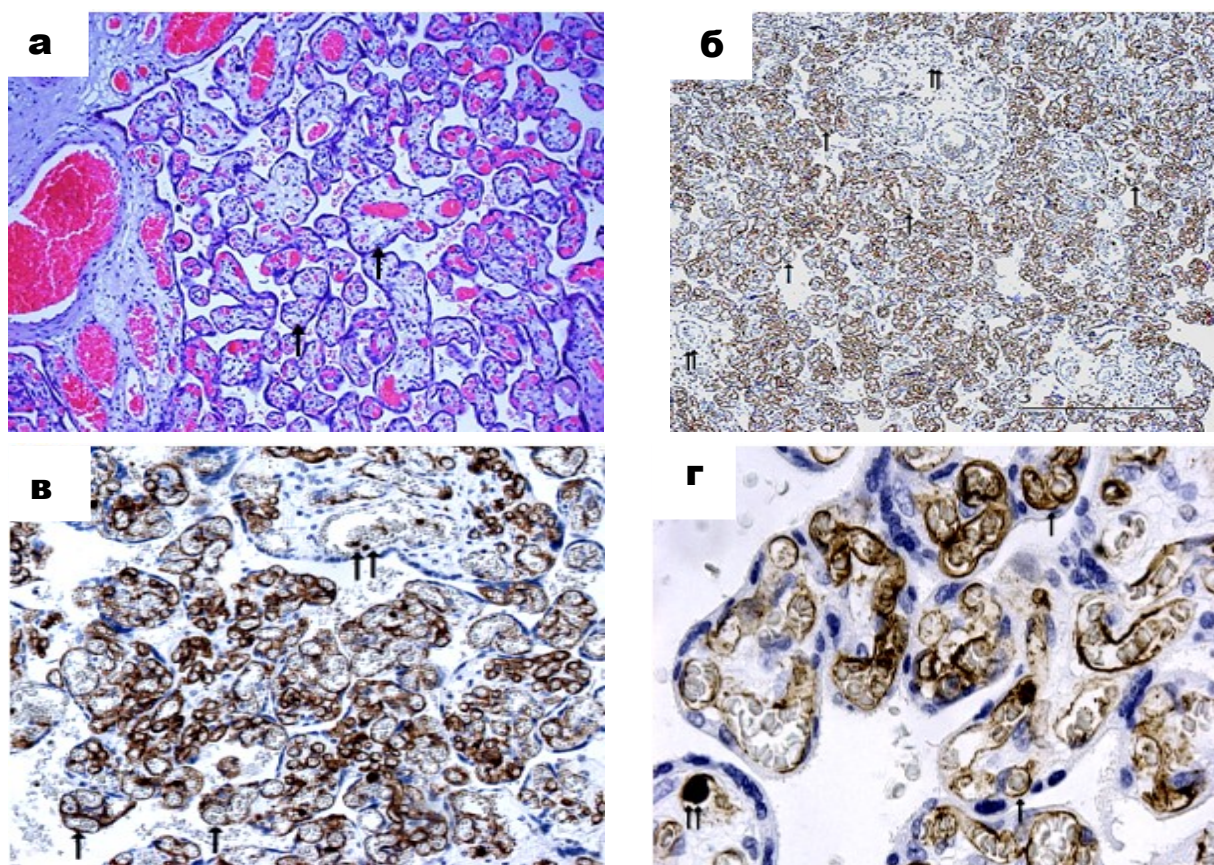
Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль
 ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода
 сЗГВ – структурная задержка развития ворсинок хориона плаценты; очаговая – от 10% до 30% незрелых форм ворсинок; умеренная степень сЗГВ – от 30% до 50% незрелых форм ворсинок хориона; тяжелая степень сЗГВ - >50% незрелых форм ворсинок хориона
 *- Статистически значимое отличие от плацент с очаговой структурной незрелостью для гестационного срока (p<0,01)
 **- Статистически значимое отличие от плацент с очаговой и умеренной степенью структурной незрелости для гестационного срока и нормальной и пониженной массе (p<0,01)
^{^^} - Статистически значимое отличие от плацент с очаговой и умеренной степенью структурной незрелости для гестационного срока и гетерогенной массе (p<0,01)



Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сЗГВ – структурная задержка развития ворсинок хориона; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода; *- Статистически значимое отличие от плацент с очаговой структурной незрелостью для гестационного срока (p<0,01); ** - Статистически значимое отличие от плацент с очаговой и умеренной степенью структурной незрелости для гестационного срока и нормальной и пониженной массе (p<0,01); ^^ - Статистически значимое отличие от плацент с очаговой и умеренной степенью структурной незрелости для гестационного срока и гетерогенной массой (p<0,01)

Рисунок 15 - Относительное количество CD15+ макро-, микрососудов и кПБ при структурной незрелости плаценты

Результатами нашего исследования выявлено, что плаценты с очаговой персистенцией незрелых форм ворсинок (10-29%) демонстрировали константно низкое относительное количество CD15+ макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера с единичными и слабоокрашенными (IRS 1-2) CD15+ эндотелиальными клетками по сравнению с плацентами при умеренной и тяжёлой степени структурной задержки развития ворсинок хориона. Наблюдения со структурной незрелостью умеренной и тяжелой степени ворсинок хориона характеризовались повышением степени (IRS) экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток и относительного количества CD15+ макро- и микрососудов в отличие от плацент с очаговой персистенцией незрелых форм ворсинок. Плаценты с умеренной степенью структурной незрелости (30-49% незрелых ворсинок) демонстрировали легкую (IRS 3-4) и умеренную (IRS 6-8) степень экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток с преимущественной локализацией в микроваскулярном русле (рисунок 16).

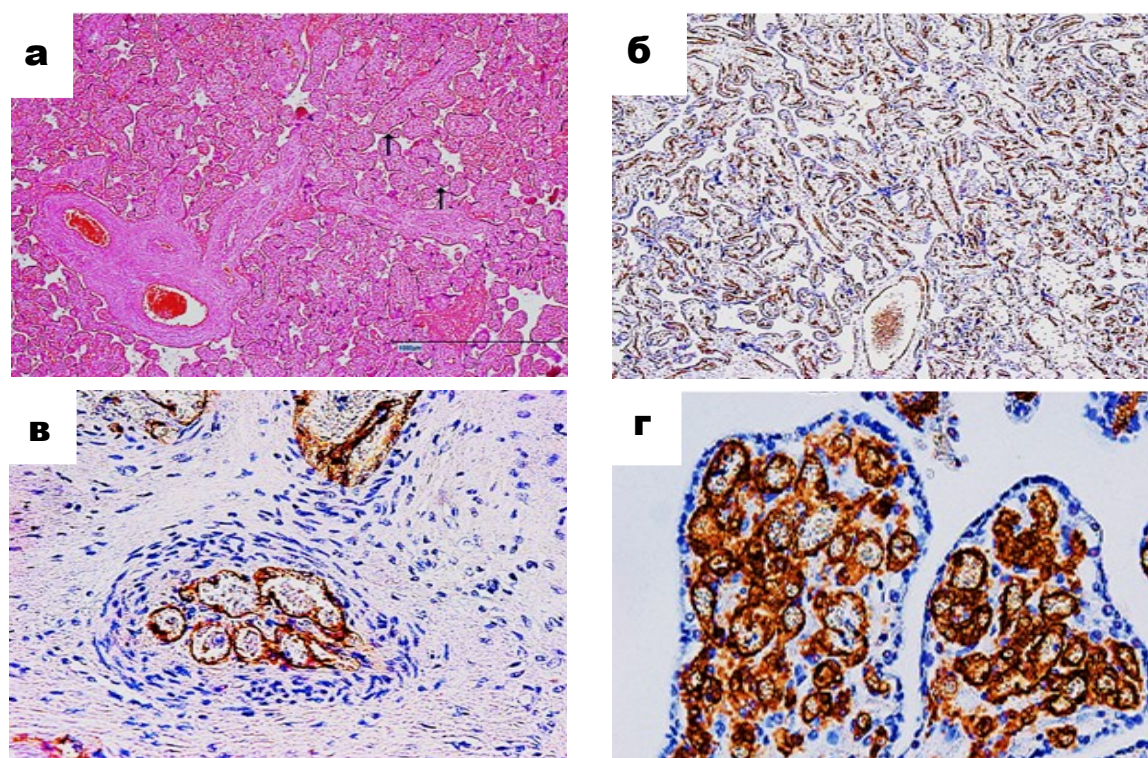


а – относительное увеличение незрелых форм и снижение количества зрелых ворсинок хориона. Окраска: гематоксилин и эозин, Ув.:x100. б – CD15-негативный иммунофенотип макрососудов с очаговой и прерывистой экспрессией CD15+ ЭК. в и г – функционально «незрелый» CD15- позитивный иммунофенотип микроваскулярного русла со снижением терминально дифференцированных CD15 негативных ЭК. Иммуногистохимическая окраска антителами против CD15, Ув.:б x100, в x200, г x400

Рисунок 16 - Патологическая умеренная степень структурной незрелости и функциональная «незрелость» микроваскулярного русла при ГСД

Уровень относительного количества CD15+ макрососудов в плацентах при умеренной степени структурной задержки созревания не показал специфической разницы между различными клиническими подгруппами и массой плаценты и в среднем составил 22%. В то же время, микроваскулярное русло этих же плацент с повышенной массой характеризовалось значительным повышением (>50%) относительного количества CD15+ микрососудов и капилляров плацентарного барьера при легкой и умеренной эндотелиальной экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в сравнении с плацентами с нормальной и пониженной массой при ЗВУР плода, БГВП и ГСД.

Плаценты с тяжелой степенью структурной незрелости (>50% незрелых ворсинок) характеризовались значительным повышением относительного количества CD15+ макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера с сильной (IRS 9-12) степенью экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток по сравнению с плацентами, ассоциированными с умеренной степенью структурной незрелости для гестационного возраста (рисунок 17).



а – значительное увеличение относительного количества незрелых форм ворсинок с дефицитом терминальных ворсинок и синцитиокапиллярных мембран. Окраска: гематоксилин и эозин, Ув.:x100. б – преимущественно непрерывная и сильная степень экспрессии CD15 макро- и микроваскулярного эндотелия в - облитерирующая ангиопатия макрососудов створковых ворсинок с сильной степенью экспрессии CD15+ ЭК, г – функционально «незрелый» CD15-позитивный иммунофенотип микроваскулярного русла и капилляров плацентарного барьера. Иммуногистохимическая окраска антителами против CD15, Ув.:б x100, вх400, гх400

Рисунок 17 - Патологическая структурная незрелость плацент тяжелой степени и функционально «незрелое» CD15+ макро- и микроваскулярное русло плацент при антенатальной гибели плода неясного генеза

С целью получения статистически значимых данных о тесноте связи между уровнем экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макро- и микроваскулярном русле и степенью структурной незрелости ворсинок хориона, был проведен расчет коэффициента корреляции Спирмена. Результаты корреляционного анализа представлены в таблице 7 и на рисунках 18, 19, 20.

Таблица 7 - Результаты корреляционного анализа Спирмена между структурной задержкой развития ворсин хориона и относительным количеством CD15+ макро-, микрососудов и кПБ

Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток	Структурная задержка развития ворсин хориона		
	Очаговая	Умеренная	Тяжелая
Макрососуды	-0,007	-0,155	0,738*
Микрососуды	0,233	0,796*	0,661**
кПБ	0,150	0,769*	0,722*

Структурная задержка развития ворсинок хориона плаценты: очаговая – от 10% до 29% незрелых форм ворсинок; умеренная степень сЗГВ– от 30% до 49% незрелых форм ворсинок хориона; тяжелая степень сЗГВ - >50% незрелых форм ворсинок хориона;
 * - сильная положительная связь;
 ** - умеренная положительная связь.

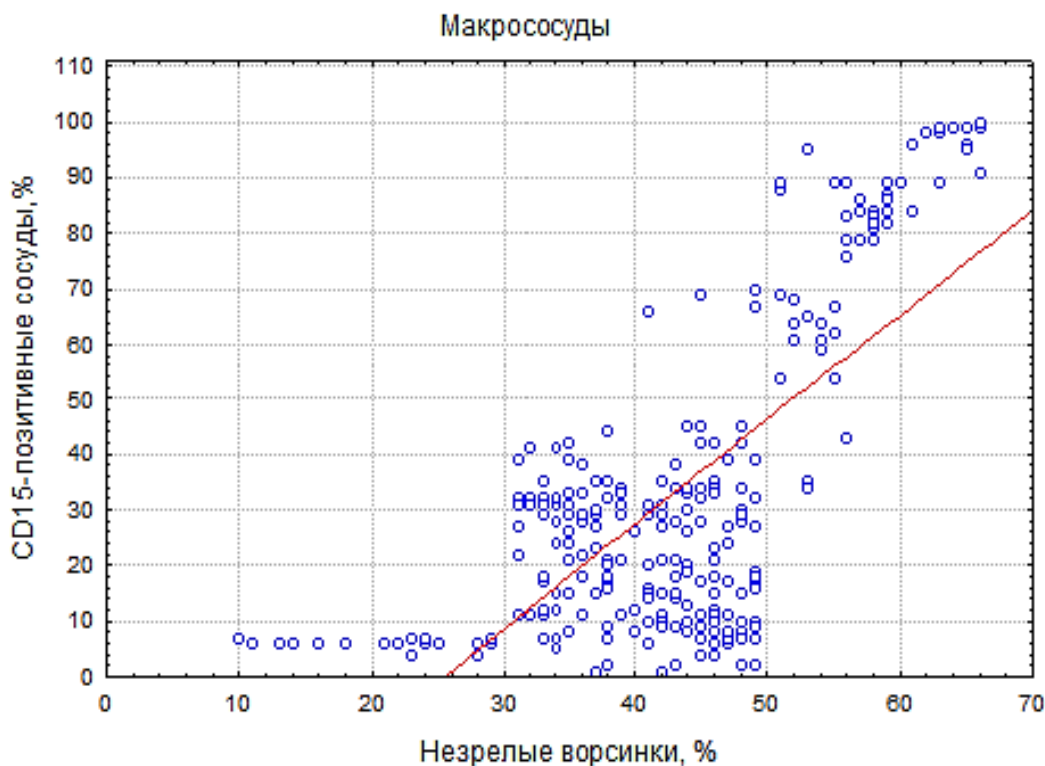


Рисунок 18 - Оценка связи относительного количества CD15+ макрососудов и степени структурной незрелости плацент

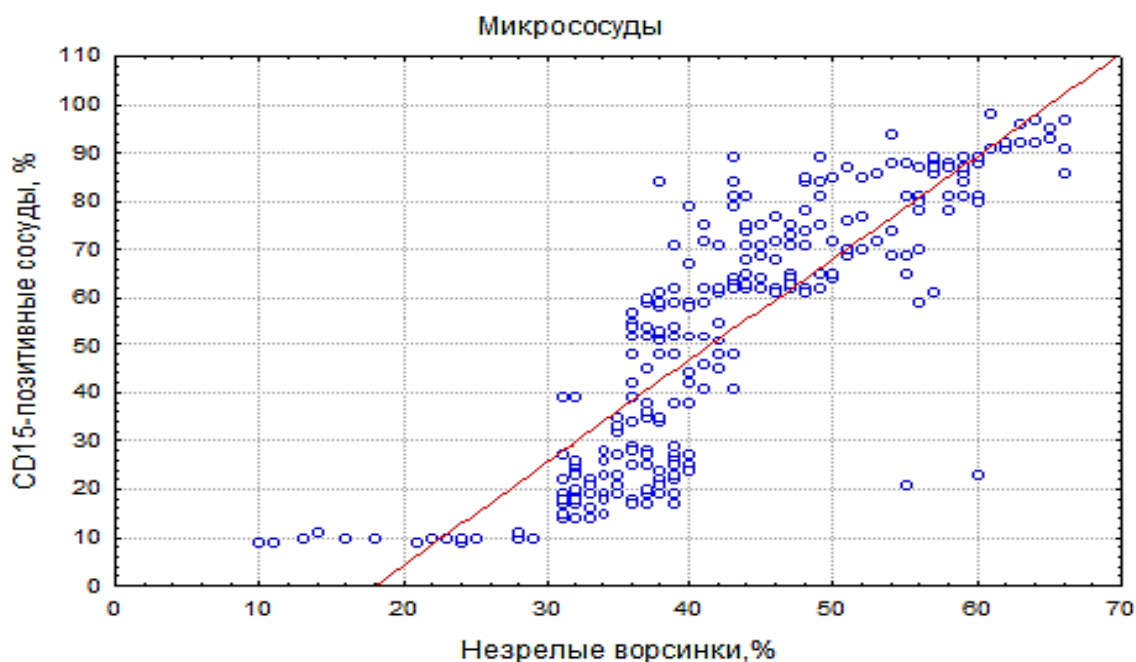


Рисунок 19 - Оценка связи относительного количества CD15+ микрососудов и степени структурной незрелости плацент

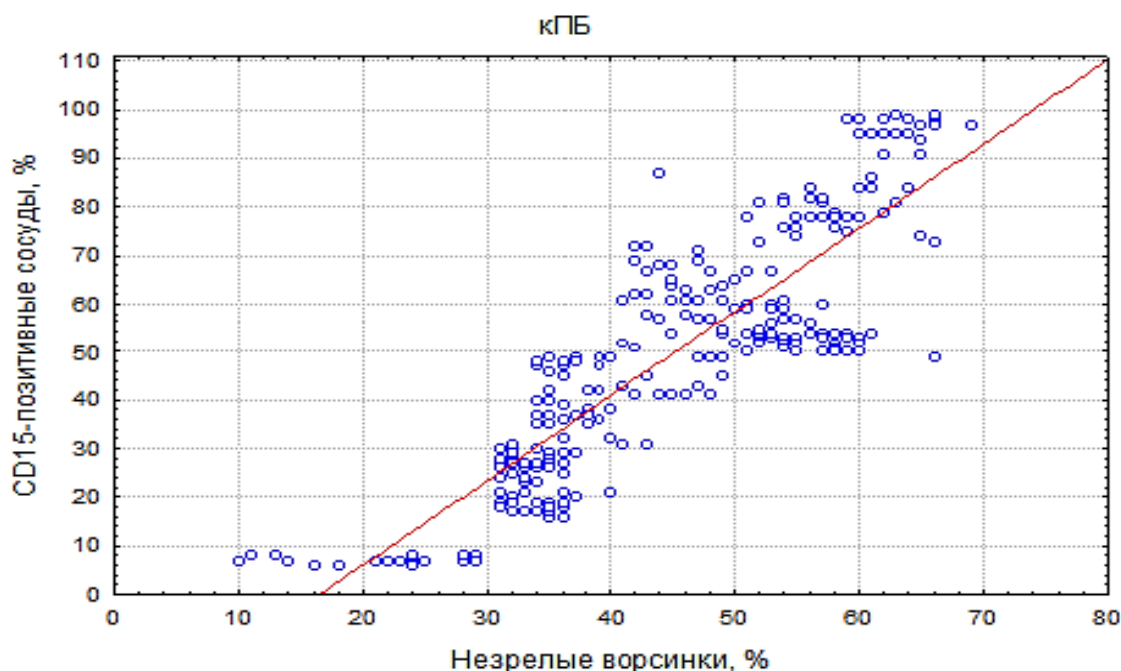


Рисунок 20 - Оценка связи относительного количества CD15+ капилляров плацентарного барьера и степени структурной незрелости плацент

Результаты корреляционного анализа показали, что в плацентах с умеренной степенью структурной незрелости выявлена прямая корреляционная взаимосвязь средней и высокой силы ($r_s=0,5-0,9$) между относительным количеством незрелых форм ворсинок (30-49% незрелых форм ворсинок) и повышением количества CD15+ микрососудов и капилляров плацентарного барьера. Повышение относительного количества CD15+ как макро-, так и

микрососудов коррелирует с тяжелой степенью структурной задержки развития ворсинок хориона.

Таким образом, статистически значимо установлено, что повышение экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макро- и микроваскулярном русле плацент ассоциируется с нарушением структурного созревания ворсинок хориона. Уровень патологической персистенции CD15+ эндотелиальных клеток в макрососудах хориальной пластинки и стволовых ворсинок и в микроваскулярном русле периферических ворсинок коррелирует со степенью структурной задержки созревания ворсинок хориона. Данный феномен свидетельствует о возможном прямом влиянии степени структурной незрелости ворсинок хориона на изменение уровня экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток. Однако данная корреляция степени структурной незрелости плаценты и степени CD15+ васкулярной экспрессии не может являться строго специфичной для данного явления, так как CD15-позитивная реакция также отмечалась и в плацентах со структурным нормальным созреванием и акселерацией развития ворсинок хориона плацент с гетерогенной массой и в различных клинических подгруппах.

На основании полученных результатов исследования мы полагаем, что повышение экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток может свидетельствовать о компенсаторной реакции плацентарных сосудов в стресс-индуцированных условиях фетоплацентарного юнита, сопровождающихся нарушением потенциалов созревания и роста плаценты при патологическом течении беременности. Кроме того, уровень CD15+ эндотелиальных клеток макро- и микроваскулярного русла плацентарных сосудов может отображать не только компенсаторный и адаптационный механизм в условиях нарушенного роста и созревания плаценты, но и степень антенатального гипоксического дистресса плода и служить одним из диагностических критериев при оценке антенатальной плацентарной недостаточности.

3.3 Сравнительная иммуногистохимическая оценка эндотелиальной экспрессии CD15 в макрососудах клинических групп плацент

Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток в макрососудах плацент с нормальной, пониженной и повышенной массой, ассоциированных с такими структурными фенотипами созревания ворсинок как структурная зрелость для гестационного возраста, структурная акселерация созревания плаценты для гестационного возраста и структурная незрелость для гестационного возраста представлена на рисунке 21 и таблице 8.

Отрицательный CD15-иммунофенотип (IRS 0-2) макроваскулярного эндотелия отмечался в плацентах при физиологической беременности и МГВП, которые ассоциировались со зрелым для гестационного возраста гистологическим фенотипом. CD15+ положительные сосуды плацент при физиологическом течении беременности ($6,7 \pm 1,9\%$ и $5,3 \pm 3,1\%$) и МГВП ($6,3 \pm 4,3\%$) характеризовались единичными и слабоокрашенными (IRS 1-2) CD15+ эндотелиальными клетками.

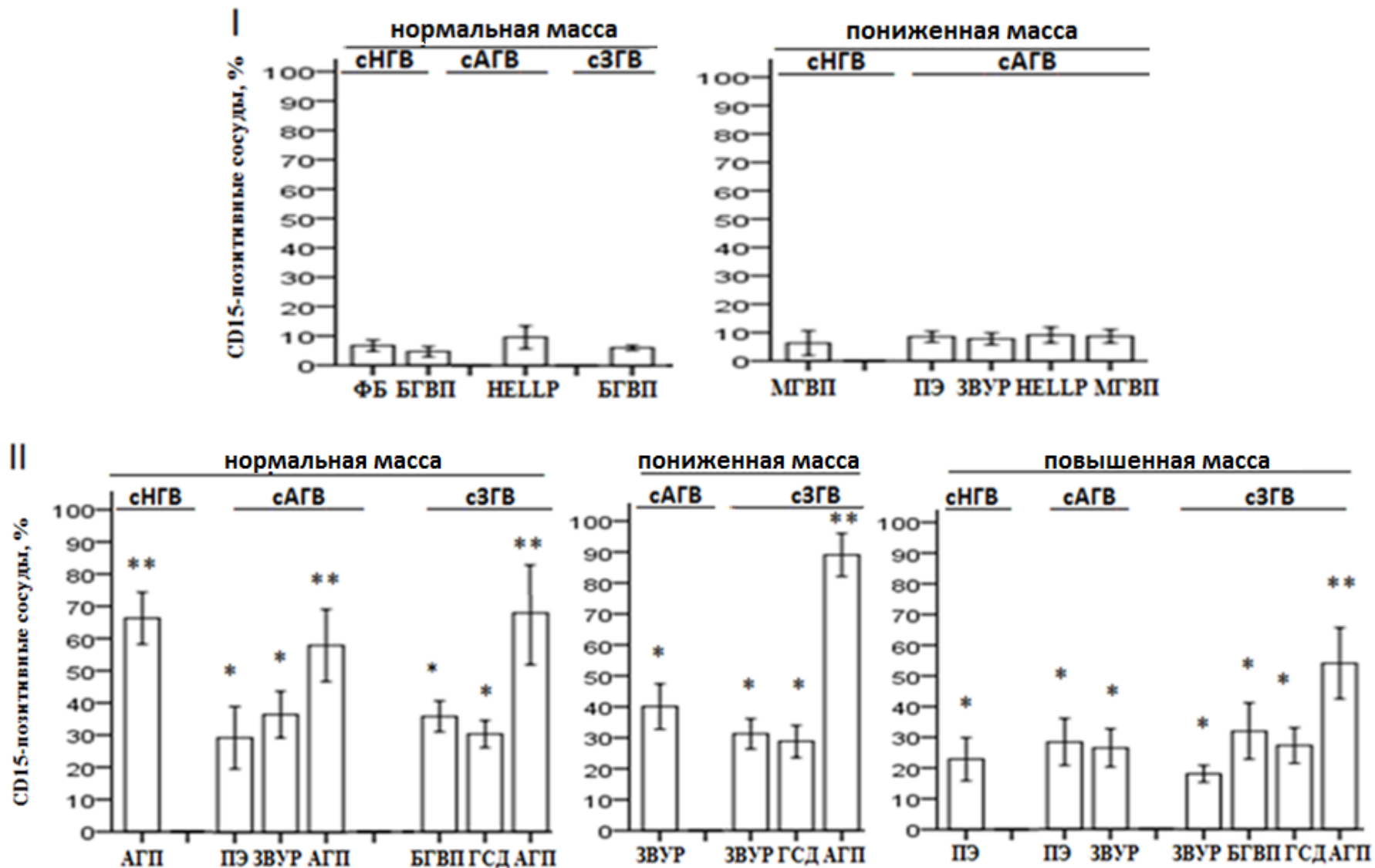
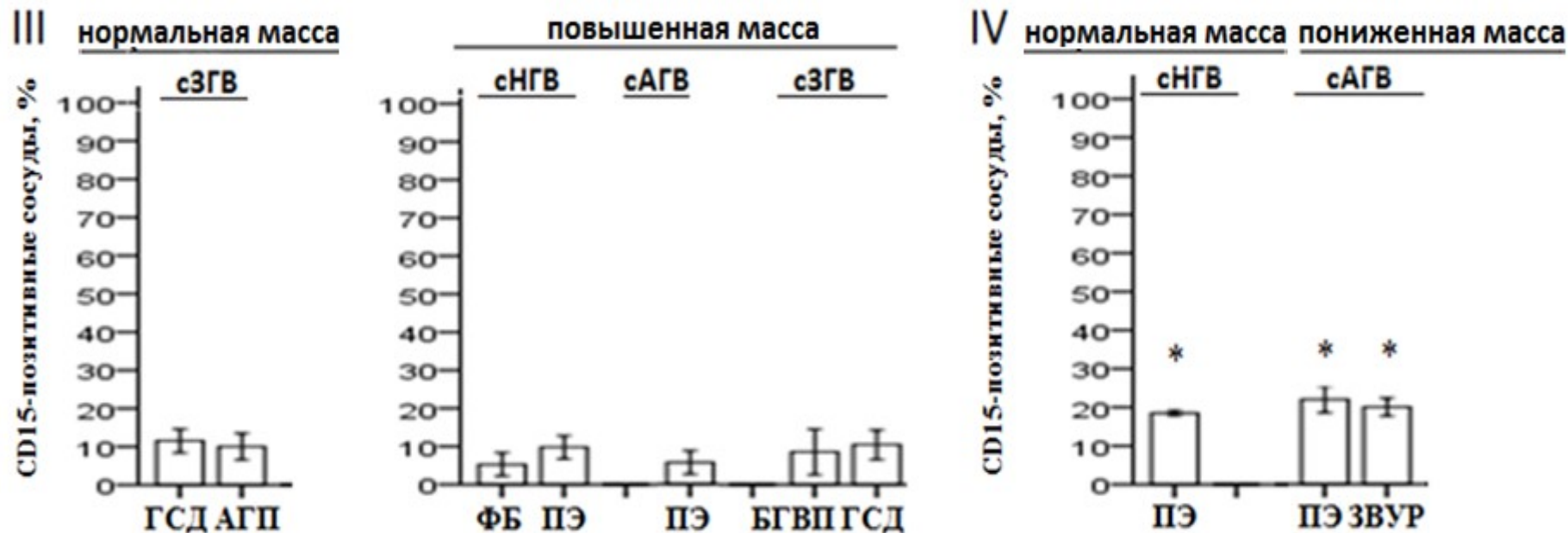


Рисунок 21 - Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток в сосудах макроваскулярного русла плацент исследуемых групп с гетерогенными массами и гистологическими фенотипами при различных клинических состояниях, лист 1



I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера; II – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием макрососудов; Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона; ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода; *- Статистически значимое отличие от ФБ ($p<0,01$); ** - Статистически значимое отличие от нормальных и патологических плацент с гетерогенными массами и гистологическими фенотипами ($p<0,01$)

Рисунок 21, лист 2

Таблица 8 - Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток в макроvasкулярном русле плацент исследуемых групп при физиологической и патологической беременности

Подгруппы			Группы (n- 593)								
Масса плацент ы	Гистологический фенотип	Клинические группы	I CD15 – макро и микрососуды (n-159)		II CD15 + макро- и микрососуды (n-315)		III CD15 - макрососуды CD15+ микрососуды (n-110)		IV CD15 + макрососуды CD15- микрососуды (n-9)		
			Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Нормальная масса (n-196)	сНГВ (n-59)	ФБ (n-34)	6,7±1,9	0,8±0,4	-	-	-	-	-	-	-
		ПЭ (n-2)	-	-	-	-	-	-	18,5±0,7*	4,0±0,0*	
		БГВП (n-12)	4,7±1,8	1,0±0,4	-	-	-	-	-	-	-
		АГП (n-11)	-	-	66,3±8,1**	11,2±0,8**	-	-	-	-	-
	сАГВ (n-47)	ПЭ (n-14)	-	-	29,8±10,6*	4,9±1,1*	-	-	-	-	-
		HELLP(n-5)	9,6±3,8	1,8±0,4	-	-	-	-	-	-	-
		ЗВУР (n-11)	-	-	36,6±7,2*	5,3±1,3*	-	-	-	-	-
		АГП (n-17)	-	-	58,2±11,3**	10,5±1,5**	-	-	-	-	-
	сЗГВ (n-90)	БГВП (n-18)	6,1±0,9	1,1±0,7	-	-	-	-	-	-	-
		БГВП (n-12)	-	-	35,9±4,8*	4,7±1,5*	-	-	-	-	-
		ГСД (n-15)	-	-	30,4±4,2*	5,3±1,2*	-	-	-	-	-
		ГСД (n-20)	-	-	-	-	11,6±3,1	0,8±0,5	-	-	-
		АГП(n-12)	-	-	68,1±16,1**	10,2±1,6**	-	-	-	-	-
АГП(n-13)	-	-	-	-	10,0±3,5	2,6±1,3	-	-	-		
Пониженная масса (n-198)	сНГВ (n-17)	МГВП (n-17)	6,3±4,3	1,1±0,3	-	-	-	-	-	-	
	сАГВ (n-109)	ПЭ (n-33)	8,5±1,9	1,1±0,7	-	-	-	-	-	-	
		ПЭ (n-3)	-	-	-	-	-	-	22,0±3,5*	3,7±0,6*	
		HELLP(n-8)	9,1±2,7	1,6±0,5	-	-	-	-	-	-	
		МГВП(n-13)	8,7±2,4	1,3±0,6	-	-	-	-	-	-	

Продолжение таблицы 8

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
		ЗВУР (n-19)	7,8±2,0	0,9±0,7	-	-	-	-	-	-
		ЗВУР (n-29)	-	-	40,1±7,3*	6,7±0,9*	-	-	-	-
		ЗВУР (n-4)	-	-	-	-	-	-	20,0±2,3*	4,5±0,6*
	сЗГВ (n-72)	ЗВУР (n-15)	-	-	31,1±4,9*	4,8±1,0*	-	-	-	-
		ГСД (n-16)	-	-	28,8±5,2*	5,1±1,0*	-	-	-	-
		АГП(n-41)	-	-	88,9±7,0**	11,7±0,5**	-	-	-	-
Повыше нная масса (n-199)	сНГВ (n-30)	ФБ (n-11)	-	-	-	-	5,3±3,1	1,3±0,5	-	-
		ПЭ (n-10)	-	-	22,9±7,0*	4,0±0,0*	-	-	-	-
		ПЭ (n-9)	-	-	-	-	9,8±3,0	1,2±0,7	-	-
	сАГВ (n-53)	ПЭ (n-18)	-	-	28,4±7,7*	4,2±0,7*	-	-	-	-
		ПЭ (n-12)	-	-	-	-	5,7±3,1	0,8±0,7	-	-
		ЗВУР (n-23)	-	-	26,5±6,2*	6,5±2,0*	-	-	-	-
	сЗГВ (n-116)	ЗВУР (n-15)	-	-	18,0±2,7*	5,8±1,6*	-	-	-	-
		БГВП (n-25)	-	-	31,9±9,1*	5,2±1,1*	-	-	-	-
		БГВП (n-23)	-	-	-	-	8,6±6,0	1,3±0,8	-	-
		ГСД (n-20)	-	-	27,2±5,8*	4,7±1,7*	-	-	-	-
		ГСД (n-22)	-	-	-	-	10,5±3,9	1,6±0,5	-	-
	АГП (n-11)	-	-	54,0±11,6**	10,8±1,1**	-	-	-	-	
<p>Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;</p> <p>ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода;</p> <p>* - Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01);</p> <p>** - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с гетерогенными массами и гистологическими фенотипами(p<0,01).</p>										

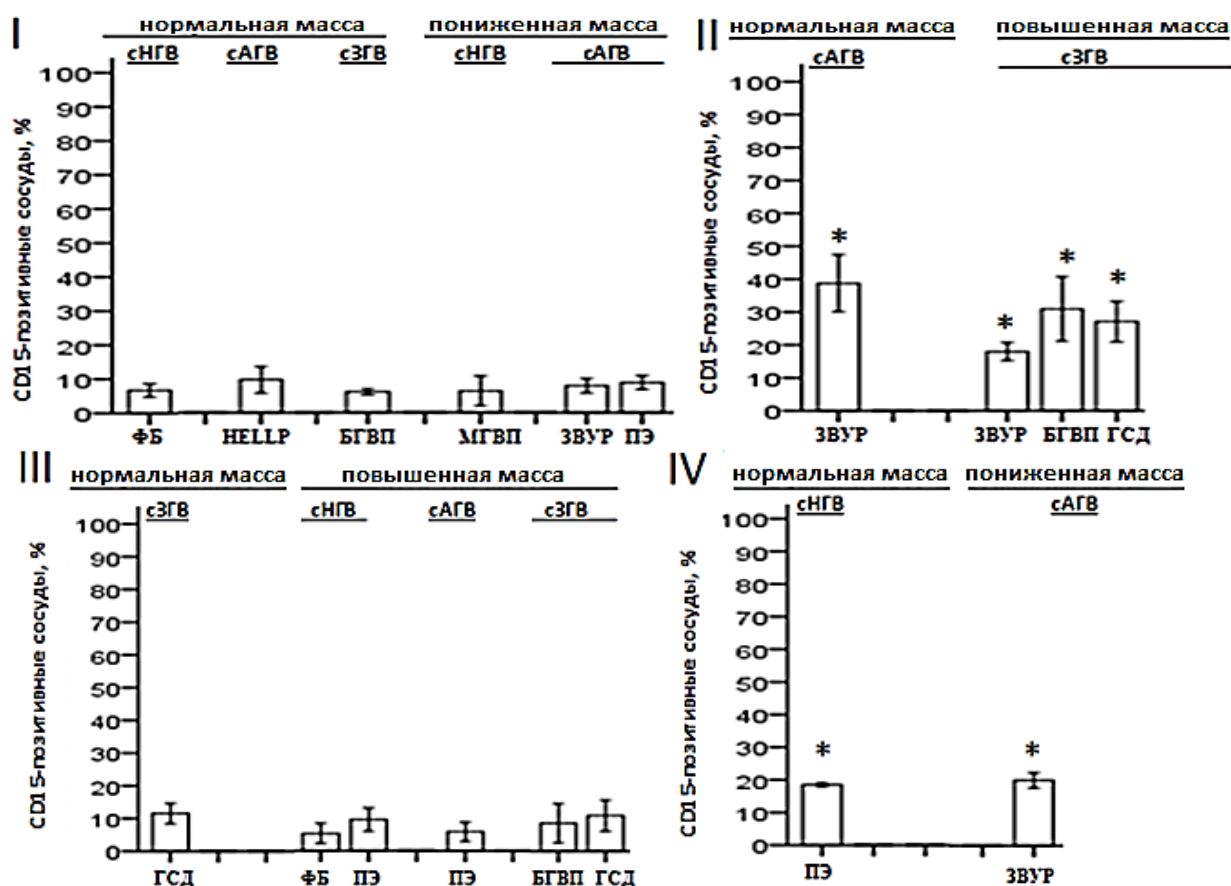
Плаценты при патологическом течении беременности с нормальной и пониженной массой при HELLP-синдроме, также имели отрицательный CD15 иммунофенотип, что составило $9,6 \pm 3,8\%$ и $9,1 \pm 2,7\%$ CD15+ сосудов соответственно, с единичными слабоокрашенными (IRS 1-2) CD15+ эндотелиальными клетками. В ряде плацент с нормальной, пониженной и повышенной массой при беременности с задержкой внутриутробного развития плода, большим для гестационного возраста плодом, гестационным сахарным диабетом и преэклампсией определялся CD15-положительный иммунофенотип макрососудов с прерывистым и фокальным умеренным CD15+ иммуноокрашиванием эндотелиальных клеток, ассоциированных со сНГВ, сАГВ и сЗГВ. Повышение макроваскулярного CD15+ иммуноокрашивания эндотелиальных клеток отмечалось в плацентах с гистологически незрелым фенотипом при беременностях с гестационным сахарным диабетом и большим для гестационного возраста плодом. Плаценты при гестационном сахарном диабете, как и при большом для гестационного возраста плоде, характеризовались статистически значимо не отличимым друг от друга относительным количеством CD15+ макрососудов, что составило менее $<50\%$ CD15+ сосудов с легкой (IRS 3-4) и умеренной (IRS 6-8) внутрисосудистой экспрессией CD15+ эндотелиальных клеток.

Уровень экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток и относительное количество CD15+ макрососудов в плацентах при задержке внутриутробного развития плода и преэклампсии статистически значимо не отличались от плацент при беременности с гестационным сахарным диабетом и БГВП и характеризовались прерывистой и фокальной легкой и умеренной степенью экспрессии CD15+ маркера. В плацентах при ЗВУР плода и ПЭ при позитивном CD15+ иммунофенотипе макрососудов хориальной пластинки и стволовых ворсинок в ряде наблюдений отмечался CD15-негативный иммунофенотип микрососудов, ассоциированных со сНГВ и сАГВ, нормальной и пониженной массой плацент.

Исследования показали, что в плацентах при патологических беременностях осложненных антенатальной гибелью плода установлено значительное повышение уровня экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток. При этом отмечено, что они ассоциировались с гетерогенным гистологическим фенотипом (сНГВ, сАГВ и сЗГВ), различной массой (нормальная, пониженная и повышенная) и демонстрировали непрерывное и сильное (IRS 9-12) CD15-положительное иммуноокрашивание макроваскулярных эндотелиальных клеток. Относительное количество CD15+ макрососудов превышало 50% и статистически значимо отличалось от других плацент при патологическом течении беременности. Стоит отметить, что только 12% плацент при беременности с антенатальной гибелью плода с нормальной массой показали CD15-негативный иммунофенотип макрососудов с единичными слабоокрашенными эндотелиальными клетками, что составило $10,0 \pm 3,5\%$ CD15+ сосудов.

3.3.1 Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток макроvascularного русла плацент при физиологическом и патологическом течении беременности без клинических признаков антенатальной гипоксии/асфиксии плода

Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток в макрососудах плацент при беременности без клинических признаков антенатальной плацентарной недостаточности с гипоксическим дистрессом плода представлена на рисунке 22 и таблице 9.



I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера (кПБ); II – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием макрососудов.

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона; ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; *- Статистически значимое отличие от нормальных плацент при ФБ (p<0,01)

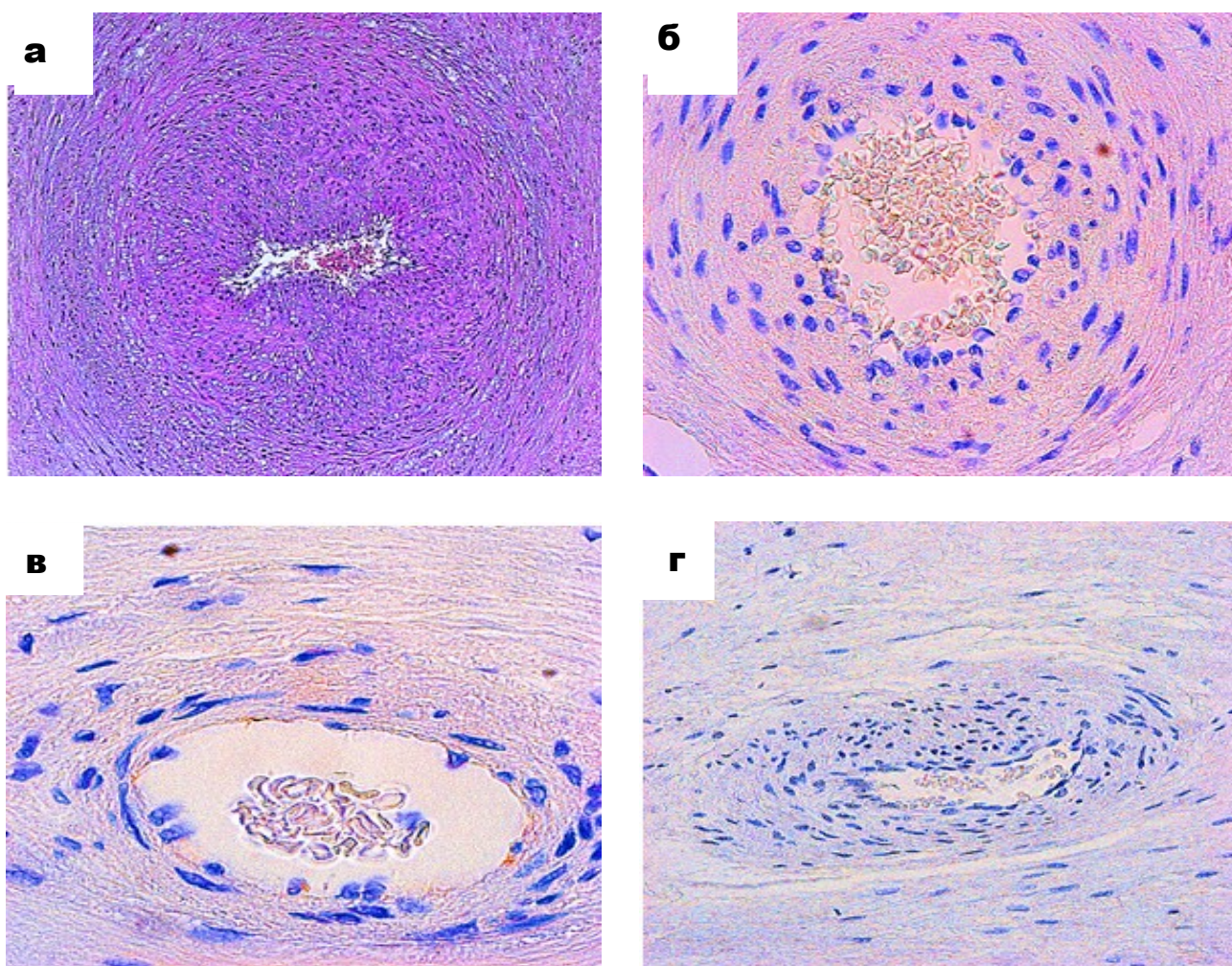
Рисунок 22 - Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макрососудах плацент без клинических признаков фетальной гипоксии/асфиксии

Таблица 9 - Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток макроvasкулярного русла плацент при отсутствии клинических признаков фетальной гипоксии/асфиксии

Подгруппы			Группы (n- 223)								
Масса плаценты	Гистологический фенотип	Клинические группы	I CD15 – макро и микрососуды (n-103)		II CD15 + макро- и микрососуды (n-37)		III CD15 – макрососуды CD15+ микрососуды (n-77)		IV CD15 + макрососуды CD15- микрососуды (n-6)		
			Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	
Нормальная масса (n-83)	сНГВ(n-36)	ФБ (n-34)	6,7±1,9	0,8±0,4	-	-	-	-	-	-	
		ПЭ(n-2)	-	-	-	-	-	-	18,5±0,7*	4,0±0,0*	
	сАГВ(n-9)	HELLP (n-5)	9,6±3,8	1,8±0,4	-	-	-	-	-	-	
		ЗВУР (n-4)	-	-	38,8±8,7*	5,8±1,3*	-	-	-	-	
	сЗГВ(n-38)	БГВП (n-18)	6,1±0,9	1,1±0,7	-	-	-	-	-	-	
ГСД (n-20)		-	-	-	-	11,6±3,1	0,8±0,5	-	-		
Пониженная масса (n-50)	сНГВ (n-17)	МГВП (n-17)	6,3±4,3	1,1±0,3	-	-	-	-	-	-	
		ПЭ (n-10)	8,7±2,0	1,6±0,5	-	-	-	-	-	-	
	сАГВ (n-33)	ЗВУР (n-19)	7,8±2,0	0,9±0,7	-	-	-	-	-	-	
		ЗВУР (n-4)	-	-	-	-	-	-	20,0±2,3*	4,5±0,6*	
Повышенная масса (n-90)	сНГВ (n-17)	ФБ (n-11)	-	-	-	-	5,3±3,1	1,3±0,5	-	-	
		ПЭ (n-6)	-	-	-	-	9,5±3,6	1,0±0,6	-	-	
	сАГВ (n-6)	ПЭ (n-6)	-	-	-	-	5,8±2,9	1,3±0,5	-	-	
		сЗГВ (n-67)	ЗВУР (n-15)	-	-	18,0±2,7*	5,8±1,6*	-	-	-	-
			БГВП (n-10)	-	-	31,0±9,8*	5,1±1,2*	-	-	-	-
			БГВП (n-23)	-	-	-	-	8,6±6,0	1,3±0,8	-	-
			ГСД (n-8)	-	-	27,1±6,2*	5,0±1,1*	-	-	-	-
ГСД (n-11)	-	-	-	-	10,9±4,8	1,7±0,5	-	-			

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;
 ФБ–физиологическая беременность; ПЭ-преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод;
 *- Статистически значимое отличие от плацент при ФБ (p<0,01).

Отсутствие клинических признаков гипоксии/асфиксии плода было обнаружено в 223 случаях (38%). Плаценты преимущественно были представлены случаями с CD15-негативной экспрессией макроvascularного эндотелия (81%), ассоциированными с нормальной, пониженной и повышенной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом при физиологическом течении беременности, HELLP-синдроме, преэклампсии, БГВП, МГВП, ЗВУР плода и ГСД. Плаценты при физиологическом и патологическом течении беременности демонстрировали структурно зрелую мышечную стенку крупных сосудов хориальной пластинки и стволовых ворсинок с хорошей визуализацией наружного и внутреннего слоев васкулярных мышечных волокон (рисунок 23).



а - нормально развитый мышечный слой крупных сосудов хориальной пластинки и стволовых ворсинок. Окраска: гематоксилин и зозин, Ув.:x400. б – функционально «зрелый» CD15-негативный иммунофенотип (IRS 0-2) крупных сосудов плаценты при физиологической беременности. CD15. в - CD15-негативный иммунофенотип (IRS 0-2) макрососудов при HELLP-синдроме. CD15. г - CD15-негативный иммунофенотип (IRS 0-2) макроvascularного эндотелия при преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты. CD15, Ув.:x400

Рисунок 23 - Структурная зрелость и функциональная CD15 «зрелость» макроvascularного русла плацент при физиологическом и патологическом течении беременности

Плаценты при физиологической беременности демонстрировали единичные слабоокрашенные (IRS 1-2) CD15+ эндотелиальные клетки макроваскулярного русла ($6,7 \pm 1,9\%$ CD15+ сосудов) и ассоциировались со структурно нормальным для гестационного возраста развитием ворсинок хориона и нормальной массой в пределах 25-75 перцентиль. В 11 случаях (24%) при физиологическом течении беременности плаценты характеризовались повышенной массой с CD15+ иммунофенотипом микроваскулярных эндотелиальных клеток при константно низкой экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макрососудах (IRS 0-2, $5,3 \pm 3,1\%$ CD15+ сосудов).

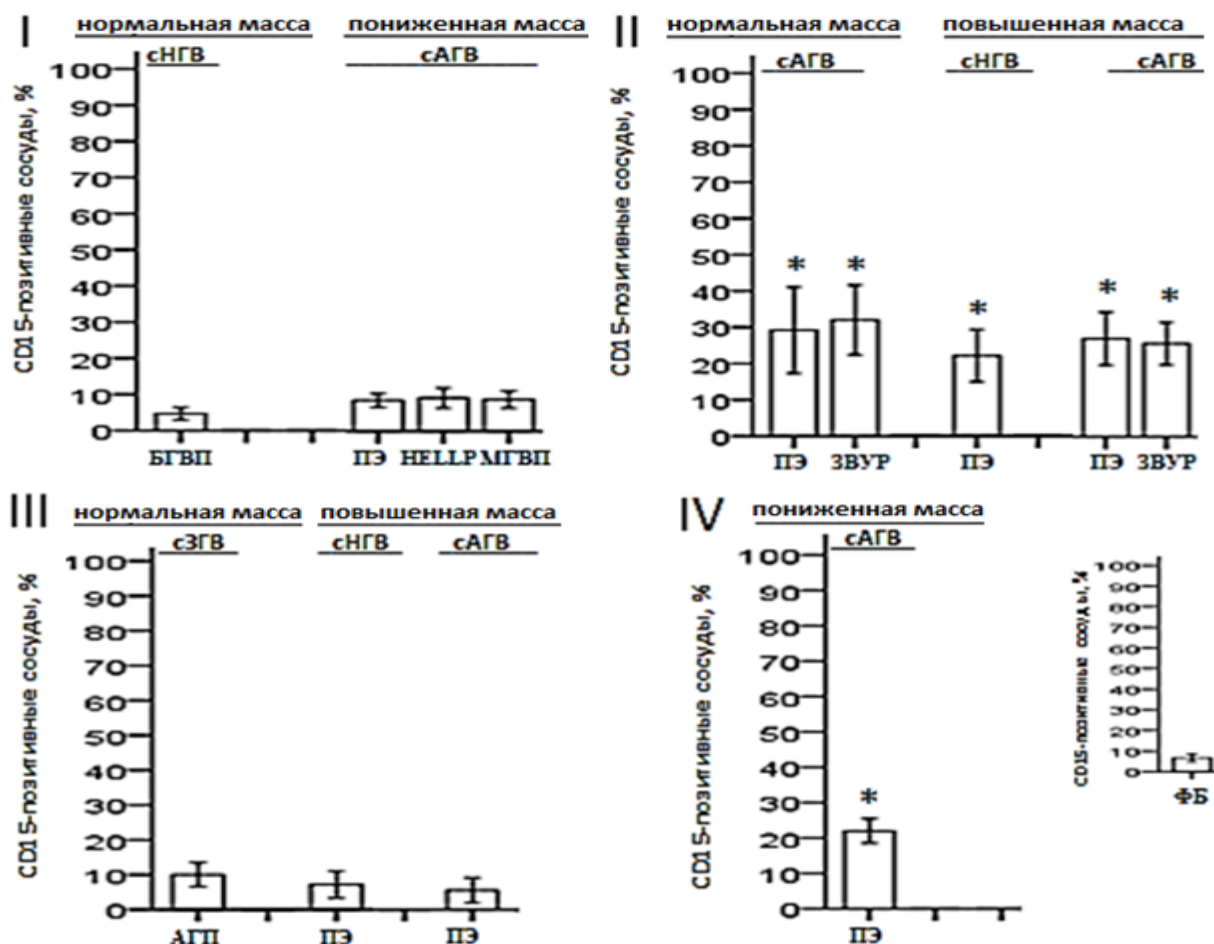
Установлено, что макроваскулярное русло плацент при HELLP-синдроме и малом для гестационного возраста плоде характеризовалось CD15-негативным иммунофенотипом с единичными слабоокрашенными CD15+ эндотелиальными клетками. Относительное количество CD15+ макрососудов при HELLP-синдроме и малом для гестационного возраста плоде статистически значимо не отличалось от плацент при физиологическом течении беременности, что составило $9,6 \pm 3,8\%$ и $6,3 \pm 4,3\%$ CD15+ сосудов соответственно. В большинстве случаев плаценты при преэклампсии характеризовались единичными слабоокрашенными CD15+ эндотелиальными клетками (IRS 1-2) макрососудов, относительное количество которых статистически значимо не отличалось от плацент при физиологическом течении беременности и только в 2 наблюдениях отмечалось незначительное повышение относительного количества CD15+ макрососудов, что составило $18,5 \pm 0,7\%$ с умеренной степенью внутрисосудистой экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток.

Популяция плацент при патологическом течении беременности с задержкой внутриутробного развития плода, большим для гестационного возраста плодом, гестационным сахарным диабетом характеризовалась гетерогенной экспрессией CD15+ эндотелиальных клеток. Плаценты с CD15+ иммунофенотипом макрососудов были выявлены только в 43 случаях (19%) и преимущественно были ассоциированы со структурной задержкой для гестационного возраста (77%) и повышенной массой при задержке внутриутробного развития плода, большом для гестационного возраста плоде, гестационном сахарном диабете. Относительное количество CD15+ макрососудов в популяции выше указанных плацент отличалось от плацент при физиологическом течении беременности и характеризовалось прерывистой и фокальной легкой и умеренной внутрисосудистой экспрессией CD15+ эндотелиальных клеток.

3.3.2 Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток макроваскулярного русла плацент при клинических признаках антенатальной плацентарной недостаточности с гипоксией/асфиксией плода

В группе плацент с клиническими признаками плацентарной недостаточности с анте-, интранатальной гипоксией плода преобладали плаценты с CD15+ иммунофенотипом макроваскулярного русла (n-314, 85%).

Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток в макрососудах плацент при острой плацентарной недостаточности при преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты с клиническими признаками антенатальной гипоксии плода представлена на рисунке 24 и таблице 10.



I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера (кПБ); II – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием макрососудов.

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сHGВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона; ФБ–физиологическая беременность; ПЭ-преэклампсия; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.

*- Статистически значимое отличие от нормальных плацент при ФБ (p<0,01)

Рисунок 24 - Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток макроваскулярного русла плацент при клинических признаках острой плацентарной недостаточности

Таблица 10 - Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток макроваскулярного русла плацент при клинических признаках острой плацентарной недостаточности

Подгруппы			Группы (n-112)							
Масса плаценты	Гистологический фенотип	Клинические группы	I CD15 – макро и микрососуды (n-56)		II CD15 + макро- и микрососуды (n-31)		III CD15 - макрососуды CD15+ микрососуды (n-22)		IV CD15+ макрососуды CD15- микрососуды (n-3)	
			Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS
<u>Норма</u>	<u>Норма</u>	<u>ФБ</u>	6,7±1,9	0,8±0,4						
Нормальная масса (n-34)	сНГВ (n-12)	БГВП (n-12)	4,7±1,8	1,0±0,4	-	-	-	-	-	-
	сАГВ (n-9)	ПЭ (n-6)	-	-	29,2±1,9*	4,7±1,0*	-	-	-	-
		ЗВУР (n-3)		-	-	32,0±9,5*	4,7±1,2*	-	-	-
сЗГВ (n-13)	АГП (n-13)		-	-	-	-	10,0±3,5	2,6±1,3	-	-
Пониженная масса (n-47)	сАГВ (n-47)	ПЭ (n-13)	8,4±1,9	0,9±0,7	-	-	-	-	-	-
		ПЭ (n-3)	-	-	-	-	-	-	22,0±3,5*	3,7±0,6*
		HELLP (n-8)	9,1±2,7	1,6±0,5	-	-	-	-	-	-
		МГВП (n-13)	8,7±2,4	1,3±0,6	-	-	-	-	-	-
Повышенная масса (n-31)	сНГВ (n-8)	ПЭ (n-5)	-	-	22,2±7,2*	4,0±0,0*	-	-	-	-
		ПЭ (n-3)	-	-	-	-	10,3±2,1	1,3±0,6	-	-
	сАГВ (n-23)	ПЭ (n-9)	-	-	27,0±7,3*	4,1±0,8*	-	-	-	-
		ПЭ (n-6)	-	-	-	-	5,5±3,6	0,3±0,5	-	-
		ЗВУР (n-8)	-	-	25,6±5,8*	4,3±0,7*	-	-	-	-

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;

ФБ–физиологическая беременность; ПЭ-преэклампсия; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода;

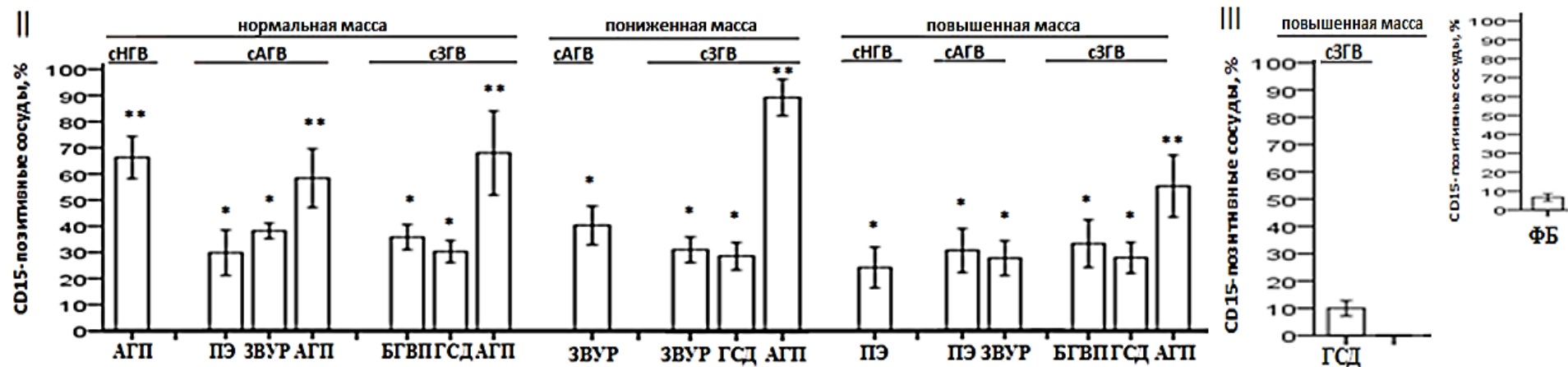
*- Статистически значимое отличие от плацент при ФБ (p<0,01).

Острая антенатальная плацентарная недостаточность при преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты выявлена в 112 случаях (19%). 70% плацент ассоциировалось с CD15-негативным иммунофенотипом макрососудов с единичными слабоположительными (IRS 1-2) CD15+ эндотелиальными клетками со структурной акселерацией и нормальным развитием ворсинок хориона при преэклампсии, HELLP-синдроме, малом и большом для гестационного возраста плоде. Плаценты со структурной задержкой развития ворсинок хориона были выявлены при антенатальной гибели плода и характеризовались CD15-негативной экспрессией эндотелиальных клеток в макрососудах, статистически значимо не отличающейся от плацент при физиологическом течении беременности.

Установлено, что CD15-позитивный иммунофенотип эндотелиальных клеток макрососудов хориальной пластинки и стволых ворсинок был выявлен в 33 случаях (30%) и ассоциировался со структурной акселерацией и нормальным развитием ворсинок хориона для гестационного возраста при преэклампсии и внутриутробной задержке развития плода. CD15-позитивные макрососуды плацент в исследуемых клинических группах демонстрировали прерывистую и фокальную, легкую и умеренную внутрисосудистую CD15+ экспрессию эндотелиальных клеток и составили менее 40% CD15+ макрососудов. Следует отметить, что статистически значимых качественных и количественных отличий экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток между плацентами при патологическом течении беременности при преэклампсии и внутриутробной задержке развития плода в зависимости от массы и гистологического фенотипа не было выявлено.

Хроническая плацентарная недостаточность с клиническими признаками гипоксии/асфиксии плода была установлена в 258 случаях (44%). Из них повышение CD15+ эндотелиальных клеток отмечалось в 247 плацентах (96%). Показатели оценки экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток макроваскулярного русла плацент при клинических признаках хронической плацентарной недостаточности, осложненной антенатальной гипоксией или асфиксией плода представлены на рисунке 25 и таблице 11.

Плаценты в клинических группах исследования при внутриутробной задержке развития плода, большом для гестационного возраста плоде, преэклампсии и гестационном сахарном диабете характеризовались очаговой и прерывистой внутрисосудистой экспрессией CD15+ эндотелиальных клеток в менее 50% CD15-позитивно окрашенных макрососудов хориальной пластинки и стволых ворсинок. В данной популяции клинических групп, при исследовании плацент выявлено, что отсутствовала статистически значимая разница экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток как внутри, так и межгрупповая в зависимости от массы и гистологического фенотипа.



II – группа плацент с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа плацент с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ. Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона; ФБ– нормальные плаценты при физиологической беременности; ПЭ-преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.

*- Статистически значимое отличие от плацент при ФБ ($p < 0,01$);

** - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной, пониженной, повышенной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом ($p < 0,01$)

Рисунок 25 - Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток макроvascularного русла плацент при клинических признаках хронической плацентарной недостаточности

Таблица 11 - Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток макроvasкулярного русла плацент при клинических признаках хронической плацентарной недостаточности

Подгруппы			Группы (n- 258)							
Масса плаценты	Гистологический фенотип	Клинические группы	I CD15 – макро и микрососуды (n-0)		II CD15 + макро- и микрососуды (n-247)		III CD15 - макрососуды CD15+ микрососуды (n-11)		IV CD15 + макрососуды CD15- микрососуды (n-0)	
			Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS
<i>Норма</i>	<i>Норма</i>	<i>ФБ</i>	6,7±1,9	0,8±0,4						
Нормальная масса (n-79)	сНГВ (n-11)	АГП (n-11)	-	-	66,3±8,1**	11,2±0,8**	-	-	-	-
		ПЭ (n-8)	-	-	29,8±10,6*	4,9±1,1*	-	-	-	-
	сАГВ (n-29)	ЗВУР (n-4)	-	-	38,0±2,9*	5,3±1,5*	-	-	-	-
		АГП (n-17)	-	-	58,2±11,3**	10,5±1,5**	-	-	-	-
	сЗГВ (n-39)	БГВП (n-12)	-	-	35,9±4,8*	4,7±1,5*	-	-	-	-
		ГСД (n-15)	-	-	30,4±4,2*	5,3±1,2*	-	-	-	-
АГП (n-12)	-	-	68,1±16,1**	10,2±1,6**	-	-	-	-	-	
Пониженная масса (n-101)	сАГВ (n-29)	ЗВУР (n-29)	-	-	40,1±7,3*	6,7±0,9*	-	-	-	-
		ЗВУР (n-15)	-	-	31,1±4,9*	4,8±1,0*	-	-	-	-
	сЗГВ (n-72)	ГСД (n-16)	-	-	28,8±5,2*	5,1±1,0*	-	-	-	-
		АГП (n-41)	-	-	88,9±7,0**	11,7±0,5**	-	-	-	-
Повышенная масса (n-78)	сНГВ (n-5)	ПЭ (n-5)	-	-	23,6±7,6*	4,0±0,0*	-	-	-	-
		ПЭ (n-9)	-	-	29,8±8,2*	4,2±0,7*	-	-	-	-
	сАГВ (n-24)	ЗВУР (n-15)	-	-	18,0±2,7*	5,8±1,6*	-	-	-	-
		БГВП (n-15)	-	-	32,5±8,9*	5,3±1,0*	-	-	-	-
	сЗГВ (n-49)	ГСД(n-12)	-	-	27,3±5,8*	4,5±2,0*	-	-	-	-
		ГСД(n-11)	-	-	-	-	10,0±2,8	1,5±0,5	-	-
АГП (n-11)	-	-	54,0±11,6**	10,8±1,1**	-	-	-	-	-	

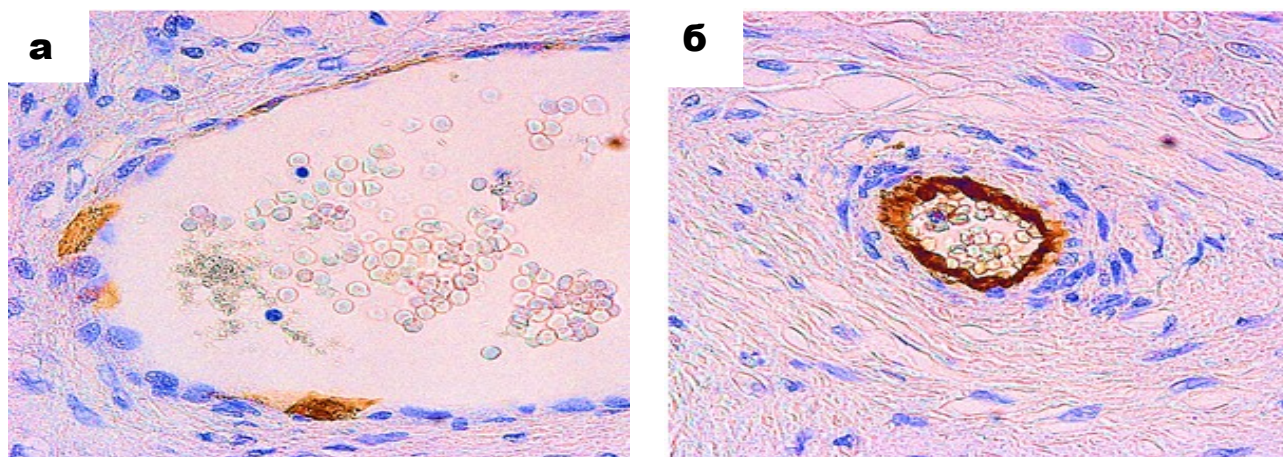
Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;

ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода;

*- Статистически значимое отличие от плацент при ФБ (p<0,01);

** - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной, пониженной, повышенной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01).

Значительное повышение макроvascularной экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток отмечалось в плацентах при хронической плацентарной недостаточности с антенатальной гибелью плода. Относительное количество CD15+ эндотелиальных клеток макрососудов превышало 50% во всех случаях с антенатальной гибелью плода и характеризовалось сильной (IRS 9-12) непрерывной внутрисосудистой CD15+ экспрессией эндотелиальных клеток (рисунок 26).



а – прерывистая легкая (IRS 3-4) CD15+ экспрессия эндотелиальных клеток при ГСД. CD15. б – непрерывная сильная (IRS 9-12) CD15+ экспрессия эндотелиальных клеток при АГП. CD15, Ув.:x400

Рисунок 26 - Структурная зрелость и функциональная CD15+ «незрелость» макроvascularного русла плацент при патологическом течении беременности с антенатальным гипоксическим дистрессом плода

Результаты исследования показали, что макроvascularное русло плацент при хронической антенатальной плацентарной недостаточности с антенатальной гибелью плода демонстрировало статистически значимое отличие внутрисосудистой степени экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток и относительного количества CD15+ макрососудов в сравнении с плацентами при физиологическом течении беременности и плацентами при ЗВУР плода, ГСД, БГВП, осложненными антенатальной гипоксией плода. В плацентах при антенатальной гибели плода при хронической плацентарной недостаточности статистически значимого внутрigrуппового отличия как качественной, так и количественной CD15+ эндотелиальной экспрессии в зависимости от массы плаценты не выявлено.

CD15-негативная экспрессия эндотелиальных клеток макроvascularного русла отмечалась только в 11 случаях (4%) при гестационном сахарном диабете со слабоокрашенными единичными эндотелиальными клетками, без статистически значимого отличия относительного количества CD15+ эндотелиальных клеток макрососудов ($10,0 \pm 2,8\%$) от плацент при физиологическом течении беременности. Данные плаценты ассоциировались со

структурной задержкой развития ворсинок хориона, повышенной массой и демонстрировали CD15-позитивный иммунофенотипом микроваскулярного русла.

3.4 Сравнительная иммуногистохимическая оценка эндотелиальной экспрессии CD15 в микрососудах клинических групп плацент

Результаты оценки экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в микрососудах плацент с нормальной, пониженной и повышенной массой, ассоциированных с такими структурными фенотипами созревания ворсинок как структурная зрелость для гестационного возраста, структурная акселерация созревания плаценты для гестационного возраста и структурная задержка развития для гестационного возраста представлены на рисунке 27 и таблице 12.

Микрососудистый эндотелий периферических ворсинок хориона плацент при физиологическом течении беременности и плацент при преэклампсии, HELLP-синдроме, малом для гестационного возраста плоде характеризовался CD15-отрицательным иммунофенотипом и демонстрировал единичные слабоокрашенные (IRS 1-2) CD15+ эндотелиальные клетки. Плаценты этих клинических групп ассоциировались с нормальной и пониженной массой, структурной акселерацией и нормальным развитием ворсинок хориона. Было отмечено, что плаценты при HELLP-синдроме демонстрируют статистически значимое снижение количества CD15+ микрососудов в сравнении с плацентами при физиологическом течении беременности, и лишь в небольшой группе плацент при преэклампсии с нормальной массой плаценты и гистологически нормальной зрелостью ворсинок хориона выявлено повышение уровня CD15+ микрососудов с прерывистой и фокальной умеренной экспрессией CD15+ эндотелиальных клеток.

Плаценты с нормальной и пониженной массой при патологическом течении беременности при большом для гестационном возрасте плоде и внутриутробной задержке развития плода демонстрировали гетерогенное неспецифическое CD15-иммуноокрашивание эндотелиальных клеток микроваскулярного русла, без статистически значимой разницы между данными клиническими группами, вне зависимости от гистологического фенотипа. Нами отмечено, что большая часть плацент с нормальной массой при БГВП сопровождалась CD15-негативным иммунофенотипом с единичными и слабоокрашенными CD15+ эндотелиальными клетками, статистически значимо не отличающимся от плацент при физиологической беременности. В то же время плаценты при ЗВУР плода преимущественно характеризовались CD15+ иммунофенотипом микрососудов с очаговой и прерывистой умеренной экспрессией CD15+ эндотелиальных клеток.

Все плаценты при гестационном сахарном диабете с нормальной и пониженной массой характеризовались прерывистой и фокальной умеренной экспрессией CD15+ эндотелиальных клеток. Количество CD15+ микрососудов плацент при гестационном сахарном диабете статистически значимо не отличалось от плацент при БГВП и ЗВУР плода с CD15+ иммунофенотипом.

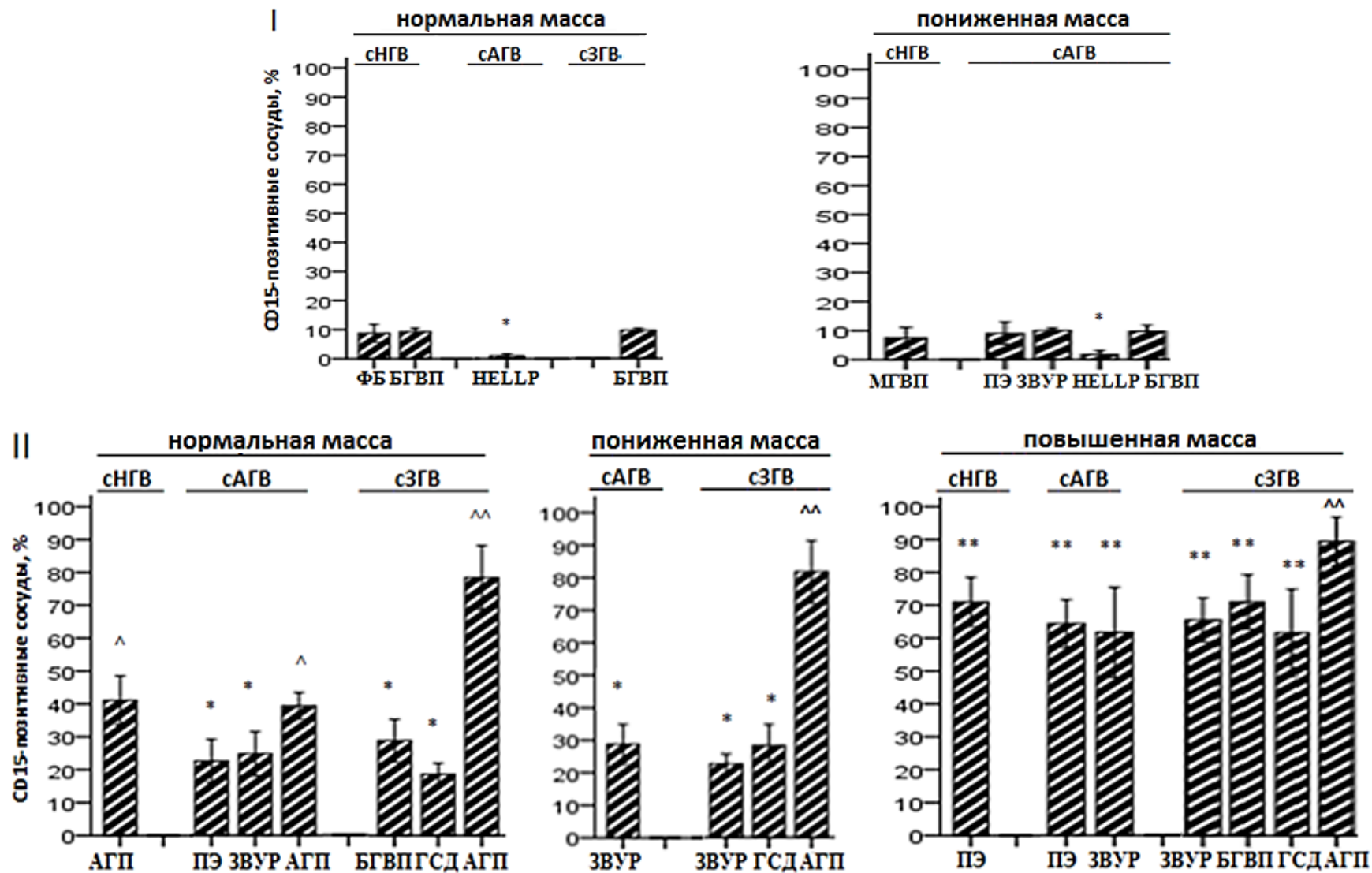
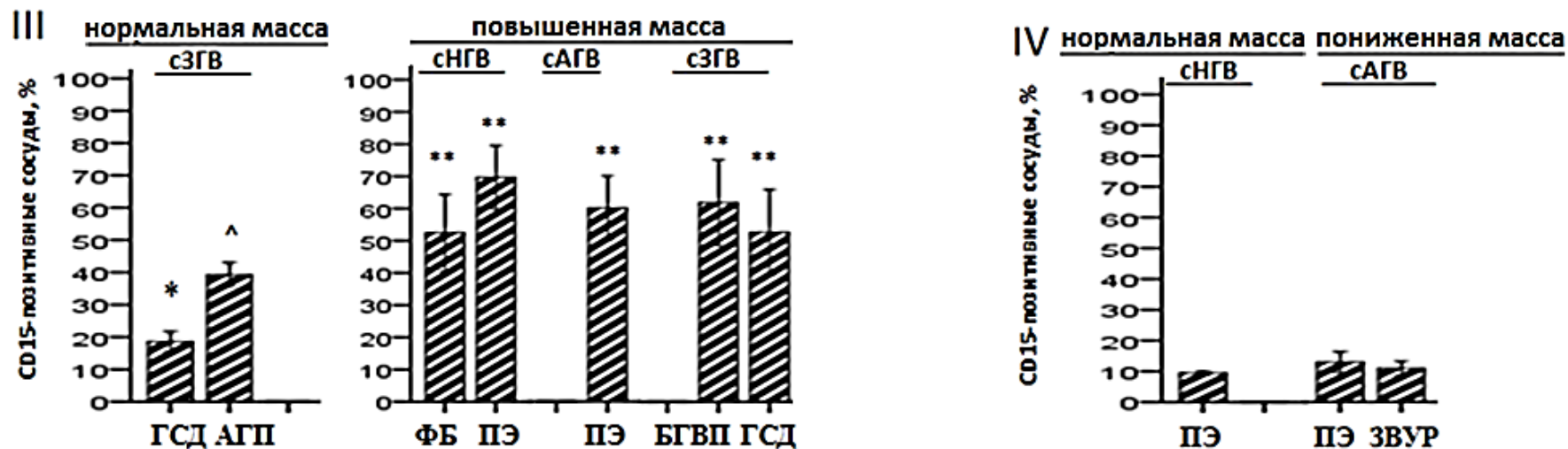


Рисунок 27- Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток в микрососудах плацент при физиологической и патологической беременности с гетерогенными массой и гистологическим фенотипом при различных клинических состояниях, лист 1



I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера (кПБ); II – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием макрососудов. Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты- < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона; ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода; *- Статистически значимое отличие от ФБ ($p<0,01$); ** - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой, кроме АГП ($p<0,01$); ^ - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой плаценты и гетерогенным гистологическим фенотипом ($p<0,01$); ^^ - Статистически достоверное отличие от нормальных и патологических плацент с гетерогенными массой и гистологическим фенотипом

Рисунок 27, лист 2

Таблица 12 - Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток в микроваскулярном русле плацент при физиологической и патологической беременности исследуемых групп

Подгруппы			Группы (n- 593)							
Масса плаценты	Гистологический фенотип	Клинические группы	I CD15 – макро и микрососуды (n-159)		II CD15 + макро- и микрососуды (n-315)		III CD15 - макрососуды CD15+ микрососуды (n-110)		IV CD15 + макрососуды CD15- микрососуды (n-9)	
			позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Нормальная масса (n-196)	сНГВ (n-59)	ФБ (n-34)	8,8±3,1	0,7±0,5	-	-	-	-	-	-
		ПЭ (n-2)	-	-	-	-	-	-	9,5±0,7	3,0±0,0
		БГВП (n-12)	9,3±1,2	0,9±0,5	-	-	-	-	-	-
		АГП (n-11)	-	-	41,3±7,4 [^]	11,1±0,5 ^{^^}	-	-	-	-
	сАГВ (n-47)	ПЭ (n-14)	-	-	22,4±6,5*	6,9±0,9*	-	-	-	-
		HELLP(n-5)	1,0±0,7*	0,6±0,5	-	-	-	-	-	-
		ЗВУР (n-11)	-	-	24,6±6,6*	6,3±1,0*	-	-	-	-
		АГП (n-17)	-	-	39,1±4,0 [^]	10,6±1,1 ^{^^}	-	-	-	-
	сЗГВ (n-90)	БГВП (n-18)	9,9±0,6	1,0±0,3	-	-	-	-	-	-
		БГВП (n-12)	-	-	28,8±6,4*	6,3±0,7*	-	-	-	-
		ГСД (n-15)	-	-	18,5±3,4*	6,5±0,6*	-	-	-	-
		ГСД (n-20)	-	-	-	-	18,6±3,1*	3,5±0,5*	-	-
		АГП(n-12)	-	-	78,3±9,7 ^{^^}	10,8±1,1 ^{^^}	-	-	-	-
		АГП(n-13)	-	-	-	-	39,3±3,7 [^]	7,5±0,7 [^]	-	-
Пониженная масса (n-198)	сНГВ (n-17)	МГВП (n-17)	7,5±3,6	1,2±0,5	-	-	-	-	-	
	сАГВ (n-109)	ПЭ (n-33)	9,0±3,9	-	-	-	-	-	-	
		ПЭ (n-3)	-	-	-	-	-	-	13,0±3,5	1,3±1,2
		HELLP(n-8)	1,8±1,3*	1,5±0,5*	-	-	-	-	-	-
		МГВП(n-13)	9,6±2,2	1,2±0,4	-	-	-	-	-	-
		ЗВУР (n-19)	9,9±0,9	0,9±0,7	-	-	-	-	-	-
		ЗВУР (n-29)	-	-	28,8±6,1*	6,2±0,4*	-	-	-	-
		ЗВУР (n-4)	-	-	-	-	-	-	-	11,0±2,3

Продолжение таблицы 12

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	сЗГВ (n-72)	ЗВУР (n-15)	-	-	22,3±3,1*	6,3±1,1*	-	-	-	-
		ГСД (n-16)	-	-	27,9±6,5*	6,8±0,8*	-	-	-	-
		АГП(n-41)	-	-	80,2±9,6 ^{^^}	11,4±0,7 ^{^^}	-	-	-	-
Повышенная масса (n-199)	сНГВ (n-30)	ФБ (n-11)	-	-	-	-	52,5±11,9**	3,4±0,5*	-	-
		ПЭ (n-10)	-	-	71,0±7,4**	6,0±1,2*	-	-	-	-
		ПЭ (n-9)	-	-	-	-	69,7±9,9**	4,5±1,9*	-	-
	сАГВ (n-53)	ПЭ (n-18)	-	-	64,5±7,4**	6,0±0,8*	-	-	-	-
		ПЭ (n-12)	-	-	-	-	59,9±9,9**	5,0±1,5*	-	-
		ЗВУР (n-23)	-	-	61,8±13,7**	7,0±1,0*	-	-	-	-
	сЗГВ (n-116)	ЗВУР (n-15)	-	-	65,5±6,6**	7,1±0,8*	-	-	-	-
		БГВП (n-25)	-	-	71,0±8,3**	6,8±0,7*	-	-	-	-
		БГВП (n-23)	-	-	-	-	61,7±13,3**	6,5±0,5*	-	-
		ГСД (n-20)	-	-	61,6±13,3**	6,7±0,7*	-	-	-	-
		ГСД (n-22)	-	-	-	-	52,6±13,3**	5,7±2,0*	-	-
		АГП (n-11)	-	-	89,4±7,4 ^{^^}	11,8±0,4 ^{^^}	-	-	-	-

I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера (кПБ); II – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием макрососудов.

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;

ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода;

*- Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01);

** - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой, кроме АГП (p<0,01);

Λ - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01);

ΛΛ - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с гетерогенными массами и гистологическими фенотипами.

Установлено, что значительное увеличение относительного количества CD15+ микрососудов определялось в плацентах с повышенной массой с непрерывным и умеренным CD15-положительным иммуноокрашиванием эндотелиальных клеток. В этих группах исследования плаценты характеризовались следующими структурными фенотипами созревания ворсинок: структурная зрелость для гестационного возраста, структурная акселерация созревания плаценты для гестационного возраста и структурная незрелость для гестационного возраста. Отмечено, что плаценты с повышенной массой демонстрировали CD15-положительный иммунофенотип микрососудов для всех клинических подгрупп при физиологической беременности, преэклампсии, ЗВУР плода, большом для гестационного возраста плоде, гестационном сахарном диабете по сравнению с плацентами с нормальной и пониженной массой при физиологическом и патологическом течении беременности, при этом случаев с повышенной массой плацент при HELLP-синдроме не отмечалось.

Следует отметить, что внутрисосудистая экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток сильной степени (IRS 9-12) отмечалась только в плацентах при антенатальной гибели плода в отличие от других плацент с нормальной, пониженной и повышенной массой при физиологическом и патологическом течении беременности при преэклампсии, внутриутробной задержке плода, большом для гестационного возраста плоде и гестационном сахарном диабете.

3.4.1 Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток микрососудов плацент при физиологическом и патологическом течении беременности без клинических признаков антенатальной гипоксии/асфиксии плода

Результаты оценки экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в микрососудах периферических ворсинок хориона плацент при отсутствии клинических признаков антенатальной гипоксии плода представлены на рисунке 28 и в таблице 13.

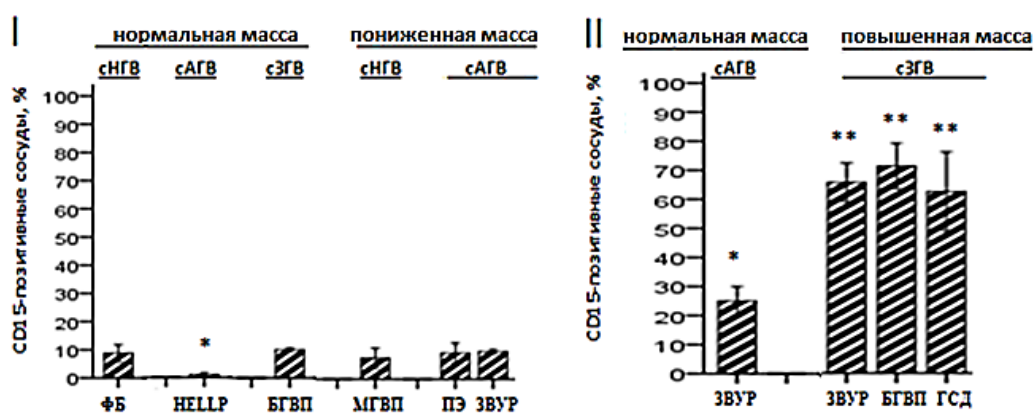
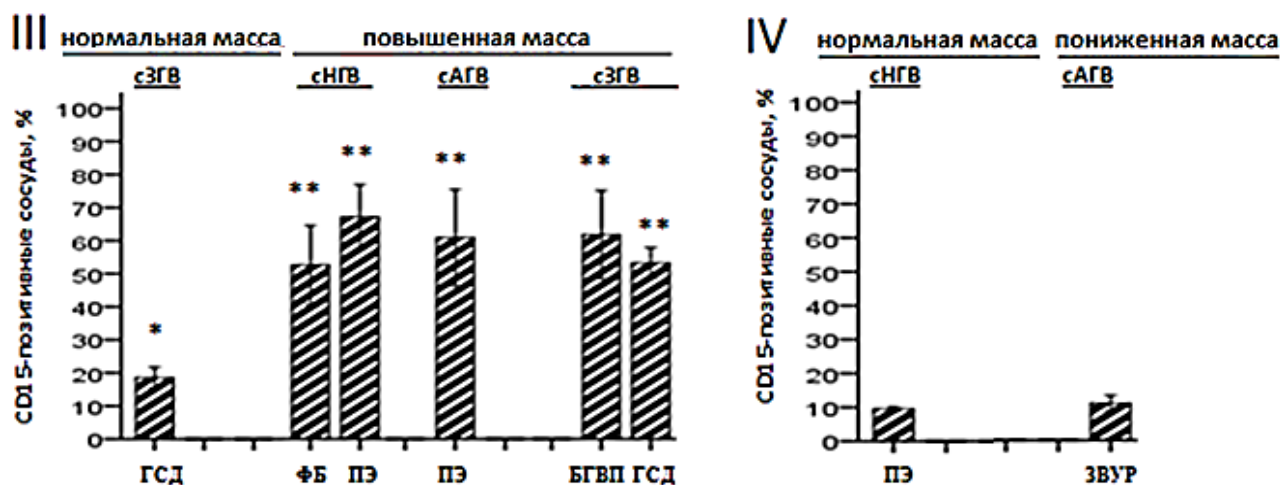


Рисунок 28 - Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в микроваскулярном русле плацент без клинических признаков фетальной гипоксии /асфиксии, лист 1



I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера (кПБ); II – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием макрососудов; Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона; ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.
 *- Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01); **.- Статистически значимое отличие от нормальных и патологических плацент с нормальной и пониженной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01)

Рисунок 28, лист 2

Таблица 13 - Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток микроваскулярного русла плацент при отсутствии клинических признаков фетальной гипоксии/асфиксии

Подгруппы			Группы (n- 223)							
Масса плаценты	Гистологический фенотип	Масса плаценты	I CD15 – макро и микрососуды (n-103)		II CD15 + макро- и микрососуды (n-37)		III CD15 - макрососуды CD15+ микрососуды (n-77)		IV CD15 + макрососуды CD15- микрососуды (n-6)	
			позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Нормальная масса (n-83)	сНГВ (n-36)	ФБ (n-34)	8,8±3,1	0,7±0,5	-	-	-	-	-	-

Продолжение таблицы 13

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Нормальная масса (n-83)	сНГВ (n-36)	ПЭ(n-2)	-	-	-	-	-	-	9,5±0,7	3,0±0,0
	сАГВ (n-9)	HELLP (n-5)	1,0±0,7	0,6±0,5	-	-	-	-	-	-
		ЗВУР (n-4)	-	-	-	25,5±5,0*	6,8±1,0*	-	-	-
	сЗГВ (n-38)	БГВП (n-18)	9,9±0,6	1,0±0,3	-	-	-	-	-	-
		ГСД (n-20)	-	-	-	-	-	18,6±3,1*	3,5±0,5*	-
Пониженная масса (n-50)	сНГВ (n-17)	МГВП (n-17)	7,5±3,6	1,2±0,5	-	-	-	-	-	
	сАГВ (n-33)	ПЭ (n-10)	9,4±3,5	1,5±0,7	-	-	-	-	-	
		ЗВУР (n-19)	9,9±0,9	0,9±0,7	-	-	-	-	-	
		ЗВУР (n-4)	-	-	-	-	-	-	11,0±2,3	2,5±1,5
Повышенная масса (n-90)	сНГВ (n-17)	ФБ (n-11)	-	-	-	-	52,5±1,9**	3,4±0,5*	-	
		ПЭ (n-6)	-	-	-	-	67,0±9,8**	3,3±0,5*	-	
	сАГВ (n-6)	ПЭ (n-6)	-	-	-	-	60,8±1,4**	3,6±0,5*	-	
	сЗГВ (n-67)	ЗВУР (n-15)	-	-	-	65,5±6,6**	7,1±0,8*	-	-	
		БГВП (n-10)	-	-	-	71,1±7,8**	6,5±0,5*	-	-	
		БГВП (n-23)	-	-	-	-	-	61,7±1,3**	3,5±0,5*	
		ГСД (n-8)	-	-	-	62,4±13,6**	6,8±0,9*	-	-	
ГСД (n-11)		-	-	-	-	-	53,2±4,7**	3,8±0,4*		

I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера (кПБ); II – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием макрососудов.

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;

ФБ–физиологическая беременность; ПЭ-преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.

*- Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01);

**-. Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01).

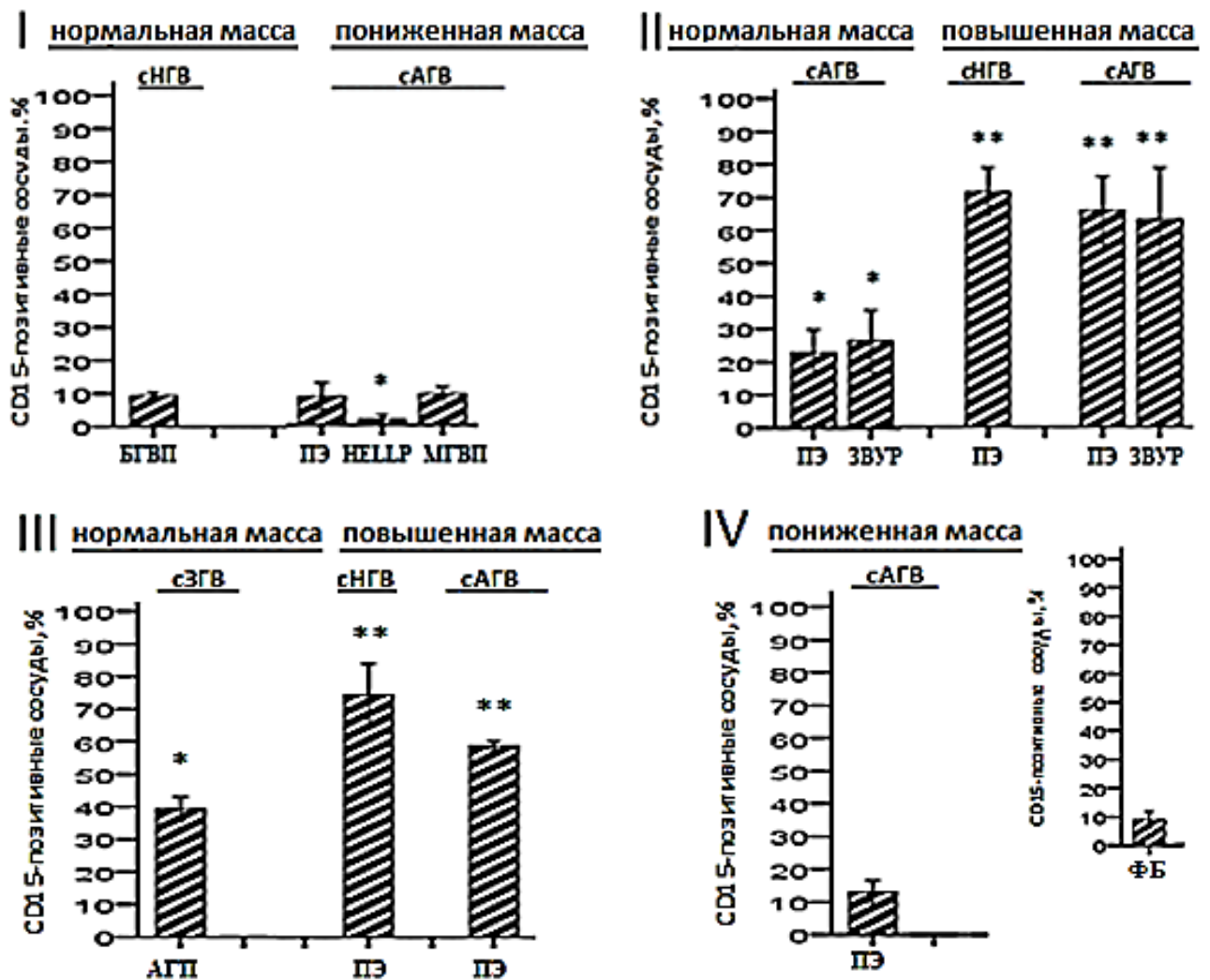
Отсутствие клинических признаков гипоксии/асфиксии плода было обнаружено в 223 случаях (38%). Микрососуды плацент с нормальной и пониженной массой демонстрировали CD15-негативный иммунофенотип с единичными и слабоокрашенными CD15+ эндотелиальными клетками при физиологической беременности и преэклампсии, HELLP-синдроме, малом для гестационного возраста плоде, внутриутробной задержке развития плода и большом для гестационного возраста плоде. Следует подчеркнуть, что в плацентах при HELLP-синдроме отмечалось пониженное количество CD15+ эндотелиальных клеток микрососудов, статистически значимо отличающееся от плацент при физиологическом течении беременности, однако в ряде случаев, ассоциированных с нормальной массой плаценты при внутриутробной задержке развития плода и гестационном сахарном диабете, отмечено повышение относительного количества CD15+ микрососудов с прерывистой легкой и умеренной экспрессией CD15+ эндотелиальных клеток.

Плаценты, ассоциированные с повышенной массой, демонстрировали непрерывное легкое и умеренное CD15+иммуноокрашивание эндотелия микрососудов при физиологическом и патологическом течении беременности при преэклампсии, ЗВУР плода, большом для гестационного возраста плоде и гестационном сахарном диабете. К тому же отмечено, что в этой популяции клинических групп плацент сильной (IRS 9-12) степени экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток не выявлено.

Результаты исследования показали, что изменение эндотелиальной CD15+ экспрессии микрососудов ассоциируется с отклонениями массы плацент как при физиологическом, так и патологическом течении беременности. Повышение CD15+ относительного количества микрососудов сопровождается повышением массы плаценты. В то же время следует отметить, что плаценты при HELLP-синдроме демонстрировали значительное снижение количества CD15+ микрососудов, а также следует указать, что не было выявлено сочетания HELLP-синдрома с повышенной массой плаценты.

3.4.2 Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток микроваскулярного русла плацент при патологическом течении беременности с клиническими признаками антенатальной плацентарной недостаточности с гипоксией/асфиксией плода

При клинических признаках плацентарной недостаточности с ante-, интранатальной гипоксией плода значительно преобладала популяция плацент с CD15+иммунофенотипом эндотелиальных клеток микроваскулярного русла (n-311, 84%). Характеристика экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в плацентах с острой недостаточностью при ее преждевременной отслойке и клинических признаках фетальной гипоксии представлена на рисунке 29 и таблице 14.



I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера (кПБ); II – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием только микрососудов; Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сHGВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона; ФБ–физиологическая беременность; ПЭ-преэклампсия; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода; *- Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01); **- Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой плаценты и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01)

Рисунок 29 - Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток микрососудов плацент при клинических признаках острой плацентарной недостаточности

Таблица 14 - Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток микрососудов плацент при клинических признаках острой плацентарной недостаточности

Подгруппы			Группы (n-112)							
Масса плаценты	Гистологический фенотип	Клинические группы	CD15 – макро и микрососуды (n-56)		CD15 + макро- и микрососуды (n-31)		CD15 - макрососуды CD15+ микрососуды (n-22)		CD15 + макрососуды CD15- микрососуды (n-3)	
			позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS
		ФБ (n-34)	8,8±3,1	0,7±0,5	-	-	-	-	-	-
Нормальная масса (n-34)	сНГВ (n-12)	БГВП (n-12)	9,3±1,2	0,9±0,5	-	-	-	-	-	-
	сАГВ (n-9)	ПЭ (n-6)	-	-	22,8±7,1*	6,3±0,5*	-	-	-	-
		ЗВУР (n-3)	-	-	26,3±9,5*	6,7±0,6*	-	-	-	-
	сЗГВ (n-13)	АГП (n-13)	-	-	-	-	39,3±3,7*	7,5±0,7*	-	-
Пониженная масса (n-47)	сАГВ (n-47)	ПЭ (n-23)	8,8±4,1	1,2±0,8	-	-	-	-	-	-
		ПЭ (n-3)	-	-	-	-	-	-	13,0±3,5	1,3±1,2
		HELLP (n-8)	1,8±1,3*	1,5±0,5	-	-	-	-	-	-
		МГВП (n-13)	9,6±2,2	1,2±0,4	-	-	-	-	-	-
Повышенная масса (n-31)	сНГВ (n-8)	ПЭ (n-5)	-	-	71,0±7,3**	6,3±0,5*	-	-	-	-
		ПЭ (n-3)	-	-	-	-	75,0±9,5**	7,0±0,0*	-	-
	сАГВ (n-23)	ПЭ (n-9)	-	-	65,4±10,3**	6,3±0,5*	-	-	-	-
		ПЭ (n-6)	-	-	-	-	59,0±1,4**	6,3±0,5*	-	-
		ЗВУР (n-8)	-	-	62,8±15,5**	6,6±0,7*	-	-	-	-

I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера (кПБ); II – группа с CD15-позитивным иммуоокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуоокрашиванием макрососудов; Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона; ФБ – физиологическая беременность; ПЭ – преэклампсия; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.

*- Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01).;

**-. Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01).

Острая антенатальная плацентарная недостаточность при преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты была выявлена в 112 случаях (19%), среди которых плаценты с CD15-негативным иммунофенотипом отмечались в 59 случаях (53%) и в 53 (47%) с CD15+ иммунофенотипом микрососудов.

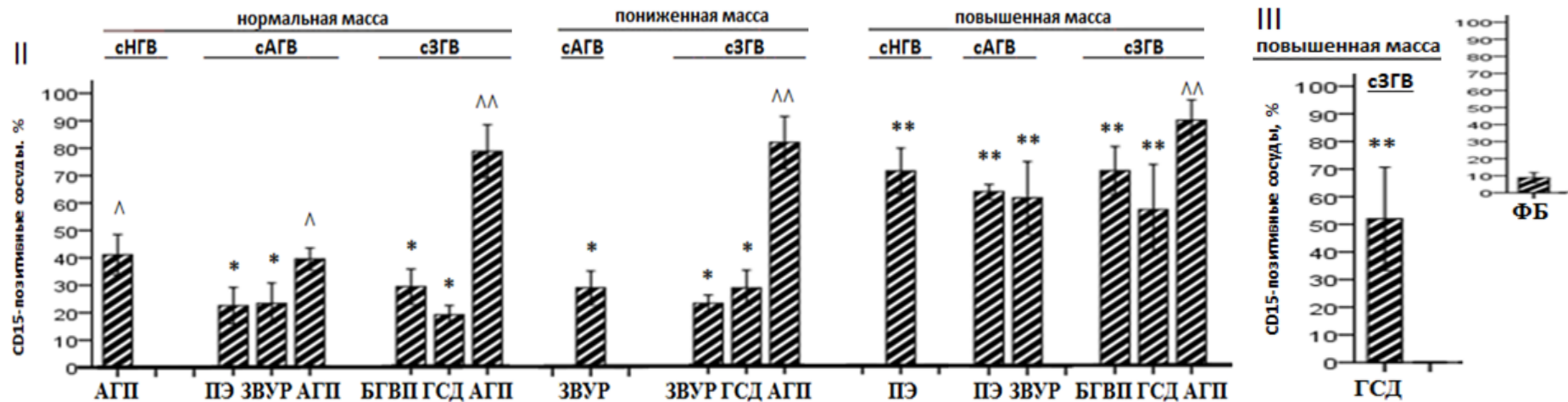
Плаценты с CD15-негативным иммуноокрашиванием микроваскулярного русла показали единичные и слабоположительные (IRS 1-2) CD15+ эндотелиальные клетки и ассоциировались с нормальной и пониженной массой и зрелым для гестационного возраста гистологическим фенотипом при физиологическом и патологическом течении беременности при преэклампсии, HELLP-синдроме, малом для гестационного возраста плоде и большом для гестационного возраста плоде. Относительное количество CD15+ микрососудов статистически значимо не отличалось от плацент при физиологическом течении беременности.

Популяция плацент с CD15-позитивным иммунофенотипом показала непрерывную легкую и умеренную CD15+ внутрисосудистую экспрессию эндотелиальных клеток микрососудов и преимущественно была представлена плацентами с повышенной массой при преэклампсии и задержке внутриутробного развития плода. Плаценты с повышенной массой показали значительное повышение относительного количества CD15+ микрососудов по сравнению с плацентами с нормальной и пониженной массой. Случаев с сильной (IRS 9-12) CD15+ эндотелиальной экспрессией выявлено не было.

В части случаев, в плацентах с нормальной массой, ассоциированных с антенатальной гибелью плода, преэклампсией и задержкой внутриутробного развития плода, отмечалось повышение иммуноэкспрессии CD15+ микроваскулярных эндотелиальных клеток. При этом относительное количество CD15+ микрососудов в плацентах при антенатальной гибели плода было выше, чем в плацентах при преэклампсии и внутриутробной задержке развития плода, но в то же время, статистически значимо ниже, чем в плацентах с повышенной массой.

Таким образом отмечается тенденция, что уровень CD15+ эндотелиальной экспрессии микроваскулярного русла, как и в макроvasкулярном русле, не зависит от выраженности острой антенатальной плацентарной недостаточности и степени острого антенатального гипоксического дистресса плода. Но в то же время повышение эндотелиальной CD15+ экспрессии может быть связано с хроническим характером и длительностью гипоксического состояния плода.

Результаты и характер экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток микроваскулярного русла плацент при патологическом течении беременности с клиническими признаками хронической антенатальной плацентарной недостаточности, сопровождающейся гипоксией или асфиксией плода представлены на рисунке 30 и таблице 15.



II – группа плацент с CD15-положительным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа плацент с CD15-положительным окрашиванием микрососудов и кПБ; Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона; ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.

*- Статистически значимое отличие от ФБ ($p < 0,01$); ** - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом, кроме плацент при антенатальной гибели плода ($p < 0,01$); \wedge - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой плаценты и гетерогенным гистологическим фенотипом ($p < 0,01$); $\wedge\wedge$ - Статистически достоверное отличие от нормальных и патологических плацент с гетерогенных весом и гистологическим фенотипом ($p < 0,01$)

Рисунок 30 - Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток микроваскулярного русла плацент при клинических признаках хронической плацентарной недостаточности

Таблица 15 - Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток микроваскулярного русла плацент при клинических признаках хронической плацентарной недостаточности

Подгруппы			Группы (n- 258)							
Масса плаценты	Гистологический фенотип	Клинические группы	CD15 – макро и микрососуды		CD15 + макро- и микрососуды (n-247)		CD15 - макрососуды CD15+микрососуды (n-11)		CD15 + макрососуды CD15-микрососуды	
			позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
		<i>ФБ (n-34)</i>	<i>8,8±3,1</i>	<i>0,7±0,5</i>						
Нормальная масса (n-79)	сНГВ (n-11)	АГП (n-11)	-	-	41,1±7,4 [^]	11,1±0,5 ^{^^}	-		-	
	сАГВ (n-29)	ПЭ (n-8)	-	-	22,1±6,6*	7,4±0,9*	-		-	
		ЗВУР (n-4)	-	-	23,0±7,4*	5,5±1,0*	-		-	
		АГП (n-17)	-	-	39,1±4,0 [^]	10,6±1,1 ^{^^}	-		-	
	сЗГВ (n-39)	БГВП (n-12)			28,8±6,4*	6,3±0,7*	-		-	
		ГСД (n-15)	-	-	18,5±3,4*	6,5±0,6*			-	
		АГП (n-12)	-	-	78,3±9,7 [^]	10,8±1,1 ^{^^}			-	
Пониженная масса (n-101)	сАГВ (n-29)	ЗВУР (n-29)			28,8±6,1*	6,2±0,4*	-			
	сЗГВ (n-72)	ЗВУР (n-15)	-	-	22,3±3,1*	6,3±1,1*	-		-	
		ГСД (n-16)	-	-	27,9±6,5*	6,8±0,8*	-		-	
		АГП (n-41)	-	-	80,2±9,6 [^]	11,4±0,7 ^{^^}	-		-	

Продолжение таблицы 15

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Повышен ная масса (n-78)	сНГВ (n-5)	ПЭ (n-5)	-	-	71,0±7, 4**	5,2±1, 1*			-		
	сАГВ (n-24)	ПЭ (n-9)	-	-	63,6±2, 7**	5,7±1, 0*			-		
		ЗВУР (n- 15)	-	-	61,3±13 ,2**	7,2±1, 1*	-		-		
	сЗГВ (n-49)	БГВП (n-15)	-	-	70,9±8, 8**	6,9±0, 7*				-	
		ГСД(n- 12)			61,0±13 ,7**	6,6±0, 5*					
		ГСД(n- 11)						52,0±18 ,6**	7,6± 0,5*		
		АГП (n- 11)	-	-	89,4±7, 4^^	11,8 ±0,4^ ^	-			-	

II – группа плацент с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа плацент с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ.

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;

ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.

*- Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01);

** - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом, кроме плацент при антенатальной гибели плода (p<0,01).

^ - Статистически значимое отличие от плацент от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой плаценты и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01);

^^ - Статистически значимое отличие от плацент от плацент при физиологической и патологической беременности с гетерогенными массами и гистологическими фенотипами (p<0,01).

Результаты исследования показали, что хроническая плацентарная недостаточность с клиническими признаками антенатальной гипоксии или асфиксии плода была выявлена в 258 случаях (44%). Иммуногистохимическое исследование показало позитивный CD15+ иммунофенотип микроваскулярного русла во всех плацентах, которые ассоциировались с нормальной, пониженной и повышенной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом созревания ворсинок хориона (сНГВ, сАГВ и сЗГВ).

Установлено, что значительное повышение относительного количества CD15+ микрососудов отмечалось в плацентах с повышенной массой при преэклампсии, задержке внутриутробного развития плода, большом для гестационного возраста плоде, гестационном сахарном диабете, осложненных антенатальным гипоксическим дистрессом плода в сравнении с плацентами с нормальной и пониженной массой при физиологическом и патологическом течении беременности аналогичных клинических подгрупп. CD15+ иммунофенотип микрососудов плацент с повышенной массой при этих наблюдениях характеризовался непрерывной и преимущественно умеренной (IRS 6-8) экспрессией CD15+ эндотелиальных клеток.

Также отмечено, что плаценты, ассоциированные со структурной незрелостью при антенатальной гибели плода, демонстрировали значительное повышение количества CD15+ микрососудов, которое статистически значимо превышало количество CD15+ микрососудов в плацентах с повышенной массой и клиническими признаками фетальной гипоксии (преэклампсия, внутриутробная задержка развития плода, большой для гестационного возраста плод и гестационный сахарный диабет). Относительное количество CD15+ микрососудов в плацентах при антенатальной гибели плода со структурной зрелостью ворсинок хориона (структурно нормальное развитие ворсинок хориона и структурная акселерация развития ворсинок хориона) для гестационного возраста составило $41,1 \pm 7,4\%$ и $39,1 \pm 4,0\%$ соответственно и статистически значимо отличалось только от плацент с нормальной и пониженной массой при физиологическом и патологическом течении беременности. В то же время, все плаценты при антенатальной гибели плода, вне зависимости от количества CD15+ микрососудов и гистологического фенотипа, показывали сильную (IRS 9-12) экспрессию CD15+ эндотелиальных клеток.

Установлено, что плаценты, ассоциированные с нормальной и пониженной массой при патологическом течении беременности, осложненной антенатальной гипоксией плода при преэклампсии, внутриутробной задержке развития плода, большом для гестационного возраста плоде и гестационном сахарном диабете, демонстрировали неспецифическое повышение экспрессии микроваскулярных CD15+ эндотелиальных клеток, статистически значимо не отличающееся внутри данных подгрупп. В микрососудах плацент отмечалась фокальная легкая (IRS 3-4) и умеренная (IRS 6-8) экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток, статистически значимо отличимая от плацент при физиологическом течении беременности. Кроме того, определяется зависимость и ассоциация между хроническим характером антенатального гипоксического дистресса плода и повышением уровня эндотелиальной экспрессии CD15+ интраваскулярных клеток. Уровень эндотелиальной экспрессии CD15+ клеток в микроциркуляторном русле ассоциируется со степенью антенатального гипоксического повреждения плода.

3.5 Сравнительная иммуногистохимическая оценка экспрессии CD15 в капиллярах плацентарного барьера клинических групп плацент

Результаты сравнительной иммуногистохимической оценки экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в капиллярах плацентарного барьера плацент при физиологическом и патологическом течении беременности представлены на рисунке 31 и таблице 16.

Негативный CD15-иммунофенотип (IRS 0-2) эндотелия капилляров плацентарного барьера выявился в плацентах при физиологическом течении беременности и плацентах с нормальной и пониженной массой и гетерогенной гистологической картиной созревания ворсинок хориона (структурно нормальное развитие ворсинок хориона, структурная акселерация развития ворсинок хориона и структурная задержка развития ворсинок хориона для гестационного возраста) при преэклампсии, HELLP-синдроме, малом для гестационного возраста плоде и большом для гестационного возраста плоде. Плаценты демонстрировали единичные и слабоокрашенные (IRS 1-2) CD15+ эндотелиальные клетки. Относительное количество CD15+ капилляров плацентарного барьера в плацентах одноименных клинических групп не превышало 15%.

В плацентах при HELLP-синдроме отмечалось статистически значимое снижение относительного количества CD15+ капилляров плацентарного барьера в сравнении с плацентами при физиологическом течении беременности. Плаценты при патологическом течении беременности, ассоциированной с преэклампсией показали гетерогенный CD15-иммунофенотип. Из них в 38 случаях с нормальной и пониженной массой, нормальной и акселерированной гистологической структурной зрелостью ворсинок хориона отмечался негативный (IRS 0-2) CD15-иммунофенотип. В 14 плацентах с нормальной массой и нормальным развитием ворсинок хориона при преэклампсии отмечалось незначительное повышение относительного количества CD15+ капилляров плацентарного барьера, что составило $23,1 \pm 5,4\%$. Данные случаи, ассоциированные с CD15+ иммунофенотипом при преэклампсии, характеризовались прерывистым и легким (IRS 3-4) CD15-положительным иммуноокрашиванием капилляров плацентарного барьера в отличие от плацент при физиологическом течении беременности.

В клинических группах при большом для гестационного возраста плоде и внутриутробной задержке развития плода, ассоциированных с нормальной и пониженной массой плаценты отмечалось гетерогенное неспецифическое CD15-иммуноокрашивание капилляров плацентарного барьера, без статистически значимой разницы между данными клиническими группами. В плацентах с нормальной массой и зрелым гистологическим фенотипом при БГВП в 30 (33%) случаях и в 19 (16%) случаях при ЗВУР плода определялись единичные слабоокрашенные (IRS 0-2) CD15+ эндотелиальные клетки капилляров плацентарного барьера. Относительное количество CD15+ кПБ не превышало 15% и статистически не отличалось от количества CD15+ кПБ плацент при физиологическом течении беременности.

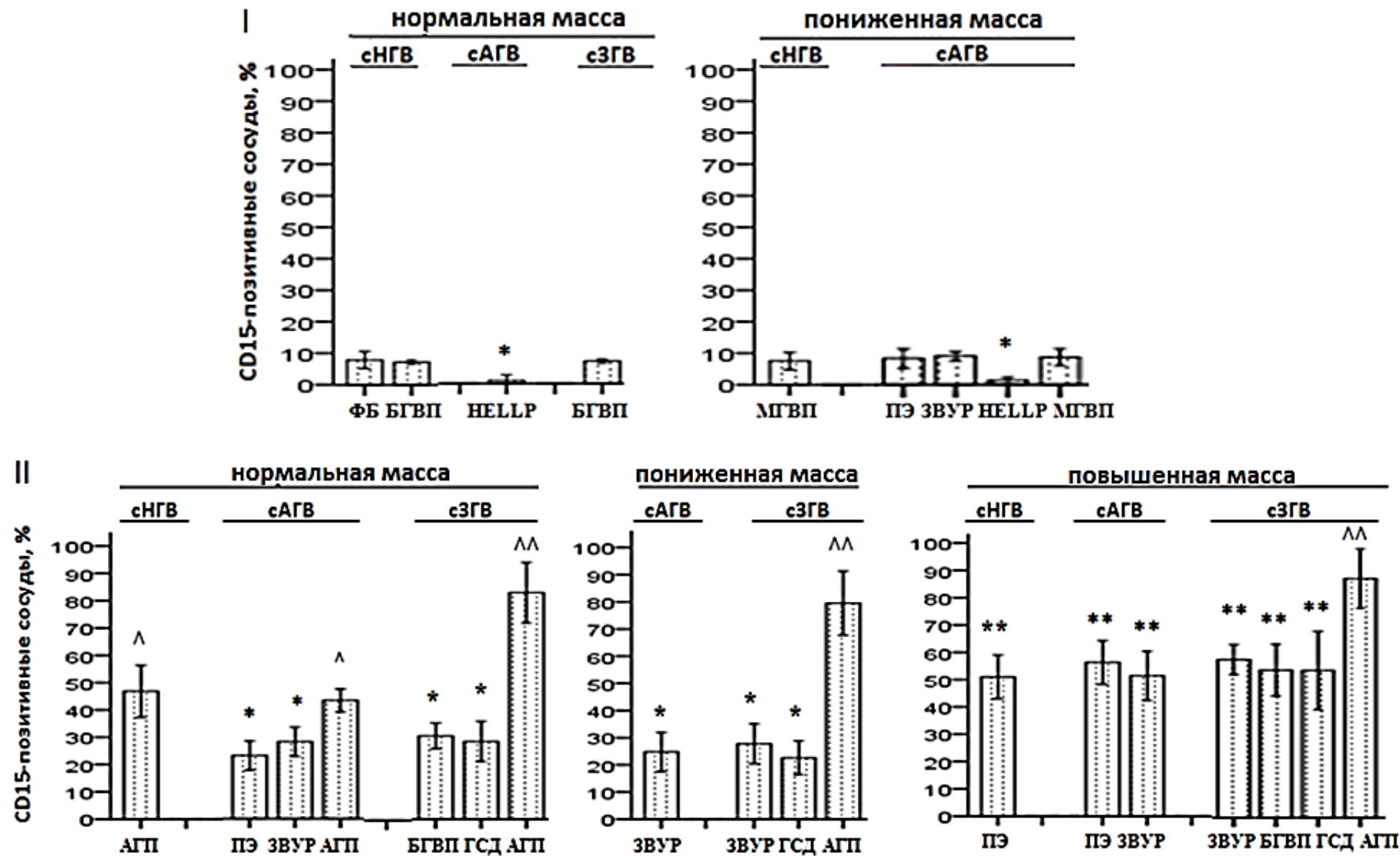
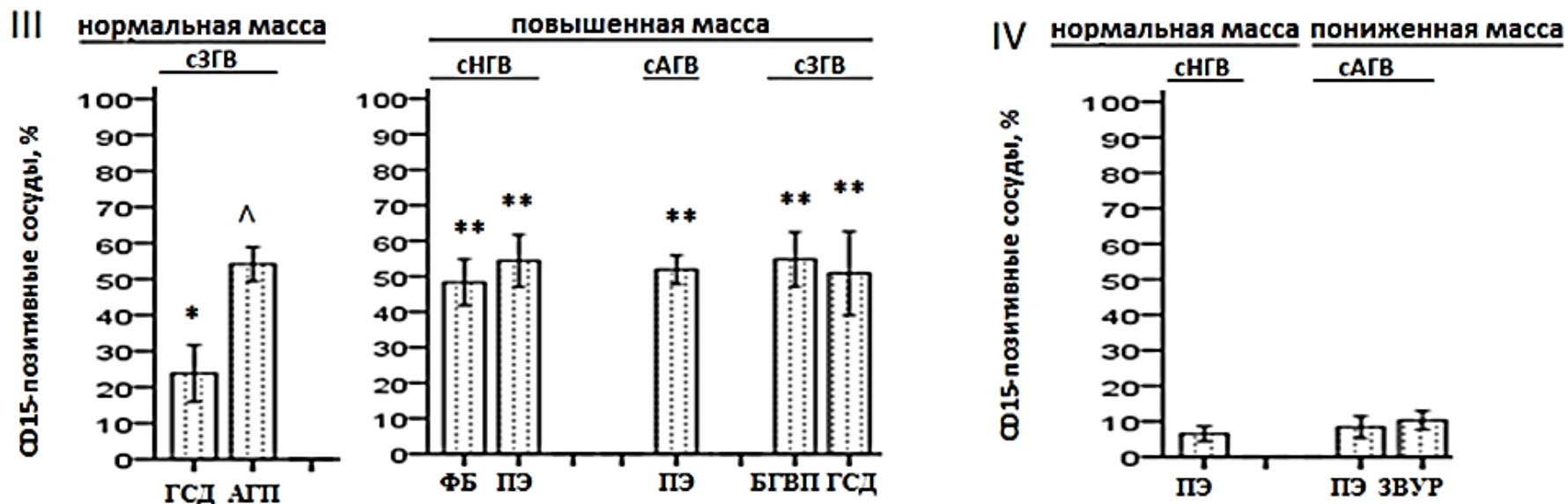


Рисунок 31 - Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток в кПБ плацент исследуемых групп плацент при физиологической и патологической беременности, лист 1



I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и синцитиокапиллярных мембранах; II – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и СКМ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и СКМ; IV – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием макрососудов.

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;

ФБ–физиологическая беременность; ПЭ-преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.

*- Статистически значимое отличие от ФБ ($p < 0,01$);

** - Статистически значимое отличие от нормальных и патологических плацент с нормальной и пониженной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом, кроме плацент при антенатальной гибели плода ($p < 0,01$).

Δ - Статистически значимое отличие от нормальных и патологических плацент с нормальной и пониженной массой плаценты и гетерогенным гистологическим фенотипом ($p < 0,01$);

ΔΔ - Статистически значимое отличие от нормальных и патологических плацент с гетерогенными массами и гистологическими фенотипами

Рисунок 31, лист 2

Таблица 16 - Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток в кПБ плацент при физиологической и патологической беременности

Подгруппы			Группы (n- 593)								
Масса плацент ы	Гистологич еский фенотип	Клинические группы	I CD15 – макро и микрососуды (n-159)		II CD15 + макро- и микрососуды (n-315)		III CD15 - макрососуды CD15+ микрососуды (n- 110)		IV CD15 + макрососуды CD15- микрососуды (n-9)		
			позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Нормаль ная масса (n-196)	сНГВ (n-59)	ФБ (n-34)	7,9±2,7	0,9±0,5	-	-	-	-	-	-	-
		ПЭ (n-2)	-	-	-	-	-	-	6,5±2,1	1,5±0,7	
		БГВП (n-12)	7,2±0,7	1,1±0,7	-	-	-	-	-	-	-
		АГП (n-11)	-	-	46,8±9,5 [^]	11,7±0,5 ^{^^}	-	-	-	-	-
	сАГВ (n-47)	ПЭ (n-14)	-	-	23,1±5,4*	4,3±0,7*	-	-	-	-	-
		HELLP(n-5)	1,0±1,7*	1,4±0,9	-	-	-	-	-	-	-
		ЗВУР (n-11)	-	-	28,2±5,4*	5,2±1,4*	-	-	-	-	-
		АГП (n-17)	-	-	43,4±4,2 [^]	11,6±0,5 ^{^^}	-	-	-	-	-
	сЗГВ (n-90)	БГВП (n-18)	7,1±0,7	1,0±0,5	-	-	-	-	-	-	-
		БГВП (n-12)	-	-	30,5±4,7*	5,2±1,3*	-	-	-	-	-
		ГСД (n-15)	-	-	28,5±7,3*	6,9±0,7*	-	-	-	-	-
		ГСД (n-20)	-	-	-	-	23,8±7,9*	3,5±0,5*	-	-	-
АГП(n-12)		-	-	82,9±11,1 ^{^^}	11,9±0,3 ^{^^}	-	-	-	-	-	
АГП(n-13)		-	-	-	-	54,2±4,8 [^]	7,8±0,4*	-	-	-	
Понижен ная масса (n-198)	сНГВ (n-17)	МГВП(n-17)	7,5±2,8	1,2±0,5	-	-	-	-	-	-	
		ПЭ (n-33)	6,9±2,5	1,3±0,6	-	-	-	-	-	-	
	сАГВ (n-109)	ПЭ (n-3)	-	-	-	-	-	-	8,3±3,1	1,3±0,6	
		HELLP(n-8)	1,1±0,8*	0,6±0,7	-	-	-	-	-	-	
		МГВП(n-13)	7,2±2,2	1,3±0,6	-	-	-	-	-	-	
		ЗВУР (n-19)	7,5±1,2	1,2±0,7	-	-	-	-	-	-	
		ЗВУР (n-29)	-	-	24,8±7,2*	7,4±0,5*	-	-	-	-	
		ЗВУР (n-4)	-	-	-	-	-	-	10,3±2,6	0,5±0,6	

Продолжение таблицы 16

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	сЗГВ (n-72)	ЗВУР (n-15)	-	-	27,7±7,4*	5,3±1,2*	-	-	-	-
		ГСД (n-16)	-	-	22,6±6,3*	6,1±1,3*	-	-	-	-
		АГП (n-41)	-	-	79,5±11,8 ^{^^}	11,8±0,4 ^{^^}	-	-	-	-
Повыше нная масса (n-199)	сНГВ (n-30)	ФБ (n-11)	-	-	-	-	48,3±6,5**	3,4±0,5*	-	-
		ПЭ (n-10)	-	-	51,0±8,0**	5,7±0,9*	-	-	-	-
		ПЭ (n-9)	-	-	-	-	54,3±7,3**	3,6±0,5*	-	-
	сАГВ (n-53)	ПЭ (n-18)	-	-	56,6±8,0**	6,6±1,0*	-	-	-	-
		ПЭ (n-12)	-	-	-	-	51,9±4,1**	3,3±0,5*	-	-
		ЗВУР (n-23)	-	-	51,7±9,0**	6,7±1,4*	-	-	-	-
	сЗГВ (n-116)	ЗВУР (n-15)	-	-	57,9±5,5**	6,5±0,5*	-	-	-	-
		БГВП (n-25)	-	-	54,0±9,5**	6,9±1,2*	-	-	-	-
		БГВП (n-23)	-	-	-	-	54,9±7,7**	7,3±0,8*	-	-
		ГСД (n-20)	-	-	53,9±14,4**	6,1±1,4*	-	-	-	-
ГСД (n-22)		-	-	-	-	51,0±11,8**	5,8±2,1*	-	-	
		АГП (n-11)	-	-	87,5±10,9 ^{^^}	11,8±0,4 ^{^^}	-	-	-	-

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты- < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;

ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода;

*- Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01);

** - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом, кроме плацент при антенатальной гибели плода (p<0,01);

Λ - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой плаценты и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01);

ΛΛ - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с гетерогенными массами и гистологическими фенотипами.

Выявлено, что CD15+ иммунофенотип капилляров плацентарного барьера плацент с нормальной и пониженной массой в 40 (64%) случаях при задержке внутриутробного развития плода и в 12 (29%) случаях при большом для гестационного возраста плоде демонстрировал очаговое и прерывистое CD15+ иммуноокрашивание эндотелиальных клеток легкой (IRS 3-4) и умеренной степени (IRS 6-8). Отмечено, что плацент с пониженной массой при большом для гестационного возраста плоде не установлено как с CD15-позитивным, так и негативным иммунофенотипом капилляров плацентарного барьера.

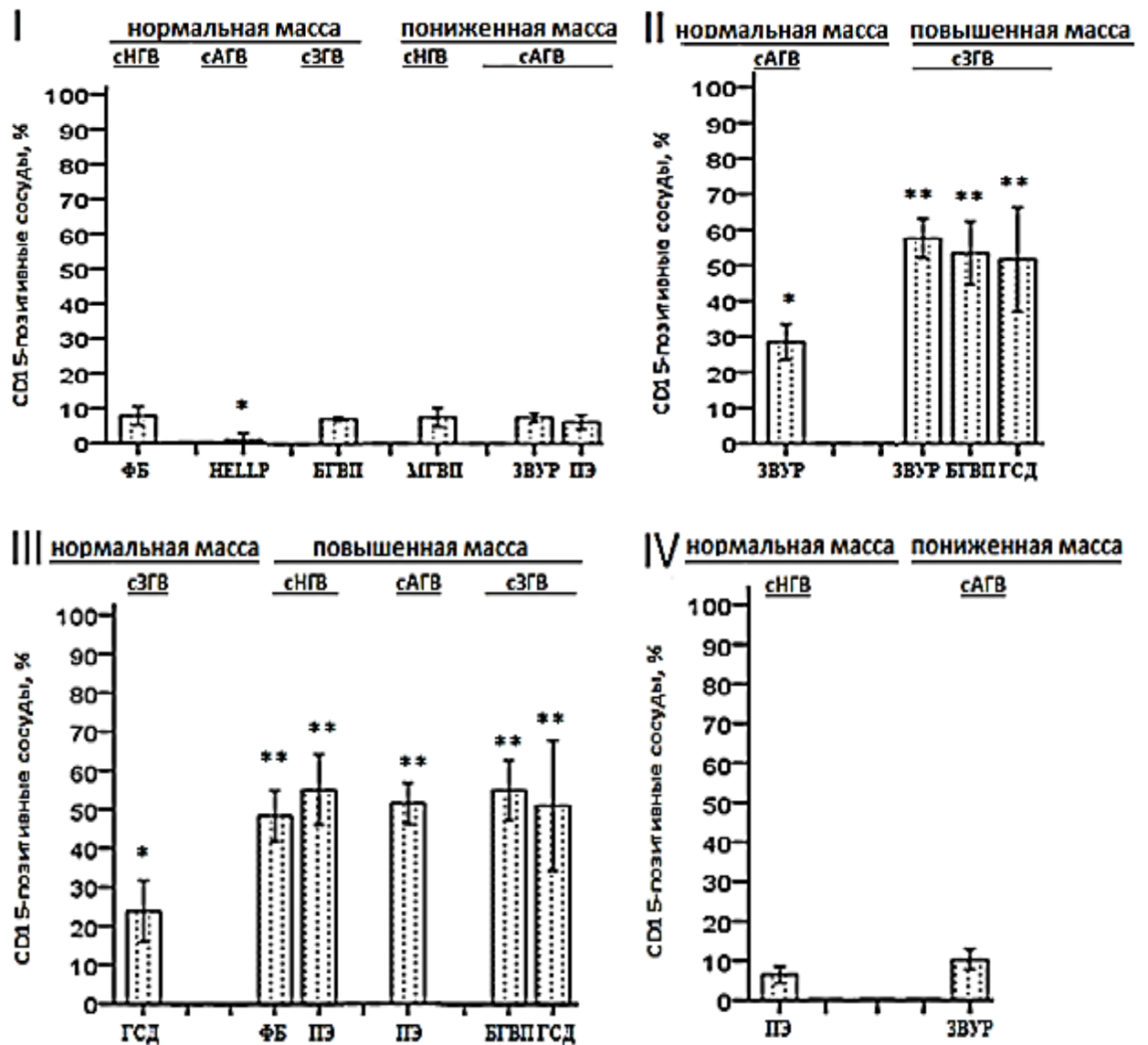
В представленных случаях при гестационном сахарном диабете все плаценты с нормальной и пониженной массой характеризовались прерывистой и фокальной умеренной (IRS 6-8) CD15+ экспрессией эндотелиальных клеток. Относительное количество CD15+ капилляров плацентарного барьера при гестационном сахарном диабете статистически значимо не отличалось от плацент с CD15-позитивным иммунофенотипом капилляров плацентарного барьера при ГВП и ЗВУР плода, ассоциированных с нормальной и пониженной массой.

Установлено, что значительное увеличение относительного количества CD15+ капилляров плацентарного барьера определялось в плацентах с повышенной массой. Плаценты показали CD15-положительный иммунофенотип капилляров плацентарного барьера с непрерывным и прерывистым умеренным и сильным CD15+ иммуноокрашиванием эндотелиальных клеток при физиологическом и патологическом течении беременности и ассоциировались с гетерогенным гистологическим фенотипом (сНГВ, сАГВ и сЗГВ) для гестационного возраста. Данные случаи с повышенной массой плацент показали CD15-положительный иммунофенотип капилляров плацентарного барьера для всех клинических подгрупп (ФБ, ПЭ, ЗВУР плода, БГВП, ГСД и АГП) по сравнению с плацентами с нормальной и пониженной массой как при физиологическом, так и патологическом течении беременности.

Следует отметить, что внутрисосудистая экспрессия сильной степени (IRS 9-12) CD15+ эндотелиальных клеток капилляров плацентарного барьера была выявлена только в случаях при антенатальной гибели плода, в отличие от плацент при малом для гестационного возраста плоде, преэклампсии, HELLP-синдроме, ЗВУР плода, большом для гестационного возраста плоде и гестационном сахарном диабете, ассоциированных с нормальной, пониженной и повышенной массой плацент.

3.5.1 Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в капиллярах плацентарного барьера плацент при физиологическом и патологическом течении беременности без клинических признаков гипоксии/асфиксии плода

Результаты оценки экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в кПБ периферических ворсинок хориона плацент при отсутствии клинических признаков фетальной гипоксии представлены на рисунке 32 и таблице 17.



I – группа плацент с CD15- негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера (кПБ); II – группа с CD15-позитивным иммуоокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15+ позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуоокрашиванием микрососудов.

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;

ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод;

*- Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01);

** - Статистически значимое отличие от нормальных и патологических плацент с нормальной и пониженной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01)

Рисунок 32- Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в кПБ плацент без клинических признаков фетальной гипоксии/асфиксии

Таблица 17 - Оценка экспрессии CD15+ клеток в кПБ плацент без клинических признаков фетальной гипоксии/асфиксии

Подгруппы			Группы (n- 223)							
Масса плацент	Гистологический фенотип	Клинические группы	I CD15 – макро и микрососуды (n-103)		II CD15 + макро- и микрососуды (n-37)		III CD15 – макрососуды CD15+ микрососуды (n-77)		IV CD15 + макрососуды CD15- микрососуды (n-6)	
			позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS
Нормальная масса (n-83)	сНГВ(n-36)	ФБ (n-34)	7,9±2,7	0,9±0,5	-	-	-	-	-	-
		ПЭ (n-2)	-	-	-	-	-	-	6,5±2,1	1,5±0,7
	сАГВ(n-9)	HELLP (n-5)	1,0±1,7*	1,4±0,9	-	-	-	-	-	-
		ЗВУР (n-4)	-	-	28,5±5,0*	3,5±0,6*	-	-	-	-
сЗГВ(n-38)	БГВП (n-18)	7,1±0,7	1,0±0,5	-	-	-	-	-	-	
	ГСД (n-20)	-	-	-	-	23,8±7,9*	3,5±0,5*	-	-	
Пониженная масса (n-50)	сНГВ (n-17)	МГВП (n-17)	7,5±2,8	1,2±0,5	-	-	-	-	-	-
		ПЭ (n-10)	6,2±2,0	1,5±0,7	-	-	-	-	-	-
	сАГВ (n-33)	ЗВУР (n-19)	7,5±1,2	1,2±0,7	-	-	-	-	-	-
		ЗВУР (n-4)	-	-	-	-	-	-	10,3±2,6	0,5±0,6
Повышенная масса (n-90)	сНГВ (n-17)	ФБ (n-11)	-	-	-	-	48,3±6,5**	3,4±0,5*	-	-
		ПЭ (n-6)	-	-	-	-	55,0±9,1**	3,3±0,5*	-	-
	сАГВ (n-6)	ПЭ (n-6)	-	-	-	-	51,3±5,2**	3,3±0,5*	-	-
		ЗВУР (n-15)	-	-	57,9±5,5**	6,5±0,5**	-	-	-	-
		БГВП (n-10)	-	-	53,7±8,9**	6,4±0,8**	-	-	-	-
		БГВП (n-23)	-	-	-	-	54,9±7,7**	7,3±0,8**	-	-
		ГСД (n-8)	-	-	51,9±14,7**	7,4±0,5**	-	-	-	-
ГСД (n-11)	-	-	-	-	51,0±16,7**	6,2±0,9**	-	-		

I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера (кПБ); II – группа с CD15-позитивным иммуоокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуоокрашиванием макрососудов.

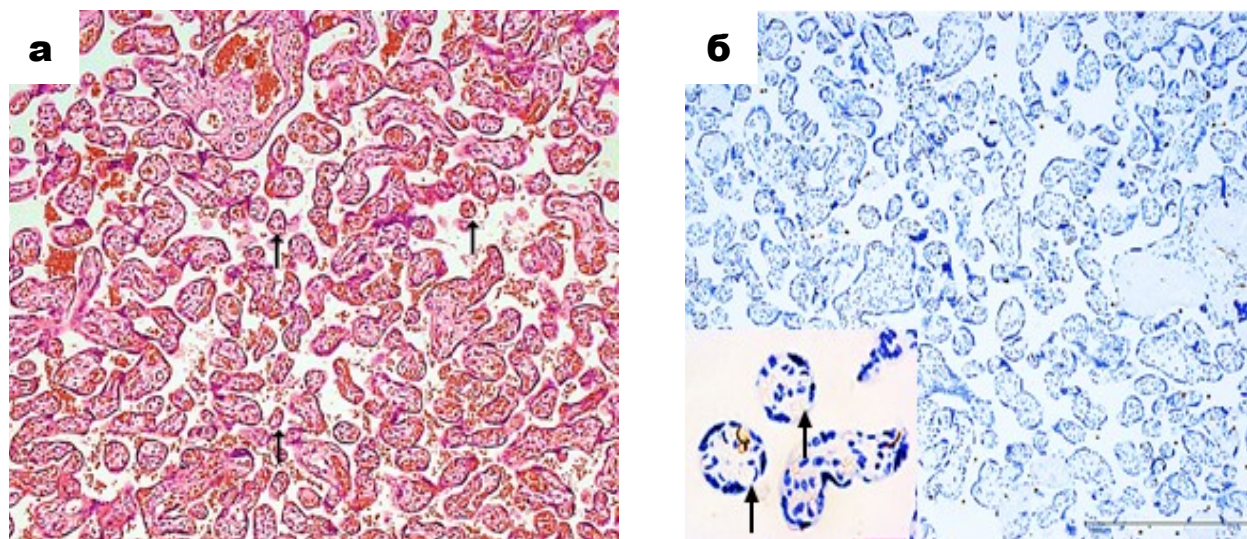
Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;

ФБ–физиологическая беременность; ПЭ-преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод.

*- Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01);

** - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01).

Отсутствие клинических признаков гипоксии/асфиксии плода было выявлено в 223 наблюдениях (38%). Капилляры плацентарного барьера плацент с нормальной и пониженной массой имели CD15-негативный иммунофенотип при физиологическом и патологическом течении беременности. Капилляры плацентарного барьера демонстрировали единичные и слабоокрашенные CD15+ эндотелиальные клетки во всех группах (рисунок 33).



а - нормально развитые терминальные ворсины с тонкими и непрерывными синцитио-капиллярными мембранами. Окраска: гематоксилин и эозин, Ув.: :x100; б – функционально зрелый CD15-негативный иммунофенотип сосудов плаценты (одинарные стрелки); на врезке – функционально зрелый фенотип капилляров плацентарного барьера; Иммуногистохимическая окраска антителами против CD15, Ув.:x100

Рисунок 33 - Структурная зрелость и функциональная сосудистая зрелость плацент при физиологической беременности (нормальная масса плаценты)

В плацентах при HELLP-синдроме отмечалось пониженное количество CD15+ капилляров плацентарного барьера, статистически значимо отличающееся от экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток плацент при физиологическом течении беременности. В 24 наблюдениях, ассоциированных с внутриутробной задержкой развития плода и гестационным сахарным диабетом, при нормальной массе плаценты определялось незначительное повышение относительного количества CD15+ капилляров плацентарного барьера с прерывистой и фокальной легкой (IRS 3-4) экспрессией CD15+ эндотелиальных клеток, что составило $28,5 \pm 5,0\%$ и $23,8 \pm 7,9\%$ CD15+ капилляров.

Отмечено, что плаценты с повышенной массой при физиологическом и патологическом течении беременности (ПЭ, ЗВУР плода, БГВП, ГСД) показали непрерывное CD15+ иммуноокрашивание эндотелия капилляров плацентарного барьера легкой (IRS 3-4) и умеренной степени (IRS 6-8) в отличие от плацент с нормальной и пониженной массой в аналогичных клинических группах. Идентичный характер CD15+ иммунофенотипа плацент мы наблюдали при

оценке уровня экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в центрально расположенных микрососудах периферических ворсинок хориона плацент с повышенной массой, тогда как в макрососудах подобной связи не наблюдалось.

Следует отметить, что случаев с сильной (IRS 9-12) степенью CD15+ эндотелиальной экспрессии в капиллярах плацентарного барьера плацент при беременности без клинических признаков фетальной гипоксии не выявлено. Значительное повышение CD15+ экспрессии в капиллярах плацентарного барьера отмечалось только в плацентах с повышенной массой, ассоциированных с гетерогенным гистологическим фенотипом в различных клинических группах.

3.5.2 Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в капиллярах плацентарного барьера плацент при патологическом течении беременности с клиническими признаками антенатальной плацентарной недостаточности с гипоксией/асфиксией плода

Результаты оценки экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток при клинических признаках плацентарной недостаточности с анте-, интранатальной гипоксией плода показали, что в данной выборке значительно преобладала популяция плацент с CD15+иммунофенотипом капилляров плацентарного барьера (n-311, 84%).

Иммуногистохимическая характеристика экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в капиллярах плацентарного барьера плацент при преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты с острой антенатальной плацентарной недостаточностью представлена на рисунке 34 и таблице 18.

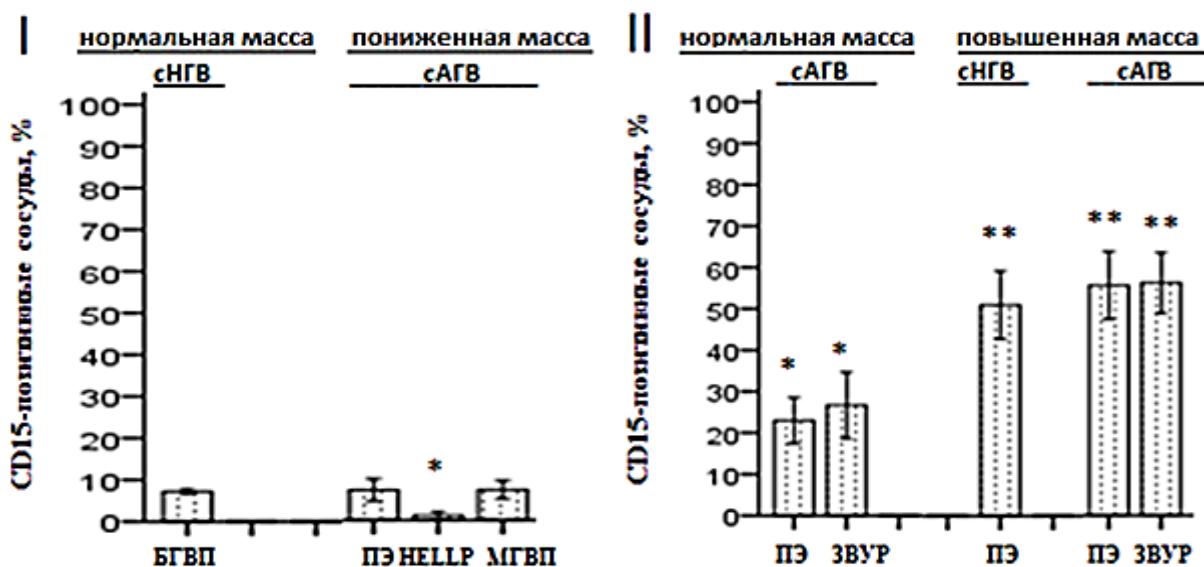
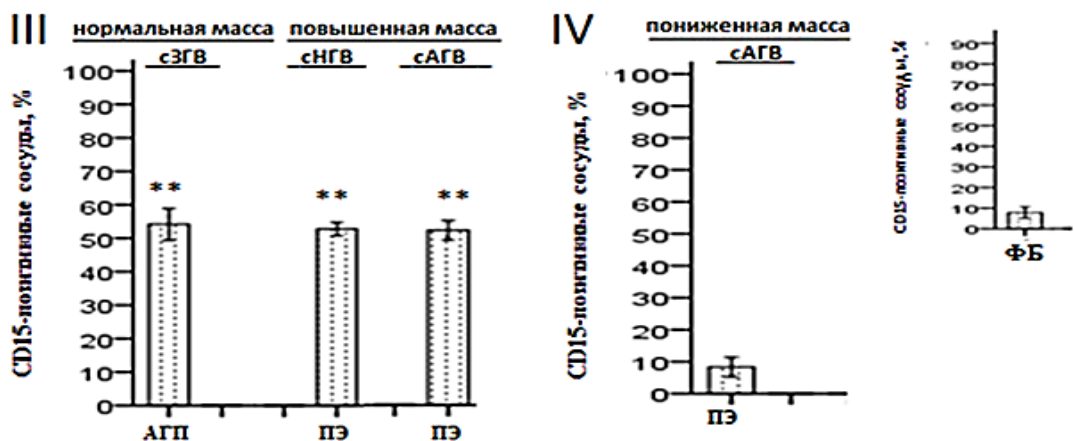


Рисунок 34 - Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток кПБ плацент при клинических признаках острой плацентарной недостаточности, лист 1



I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера (кПБ); II – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием макрососудов.

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;

ФБ–физиологическая беременность; МГВП – малый для гестационного возраста плод ПЭ-преэклампсия; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.

*- Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01);

** - Статистически значимое отличие от нормальных и патологических плацент с нормальной и пониженной массой плаценты и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01)

Рисунок 34, лист 2

Таблица 18 - Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток кПБ плацент при клинических признаках острой плацентарной недостаточности

Подгруппы			Группы (n-112)							
Масса плаценты	Гистологический фенотип	Клинические группы	CD15 – макро и микрососуды (n-56)		CD15 + макро- и микрососуды (n-31)		CD15 - макрососуды CD15+ микрососуды (n-22)		CD15 + макрососуды CD15- микрососуды (n-3)	
			позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS	позитивные сосуды (%)	IRS
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
		ФБ (n-34)	7,9±2,7	0,9±0,5						
Нормальная масса (n-34)	сНГВ (n-12)	БГВП (n-12)	7,2±0,7	1,1±0,7	-		-		-	
	сАГВ (n-9)	ПЭ (n-6)	-		23,0±5,6*	4,3±0,8*	-		-	
		ЗВУР (n-3)		-		26,7±8,0*	6,3±0,6*	-		-
	сЗГВ (n-13)	АГП (n-13)	-				54,2±4,8**	7,8±0,4*	-	

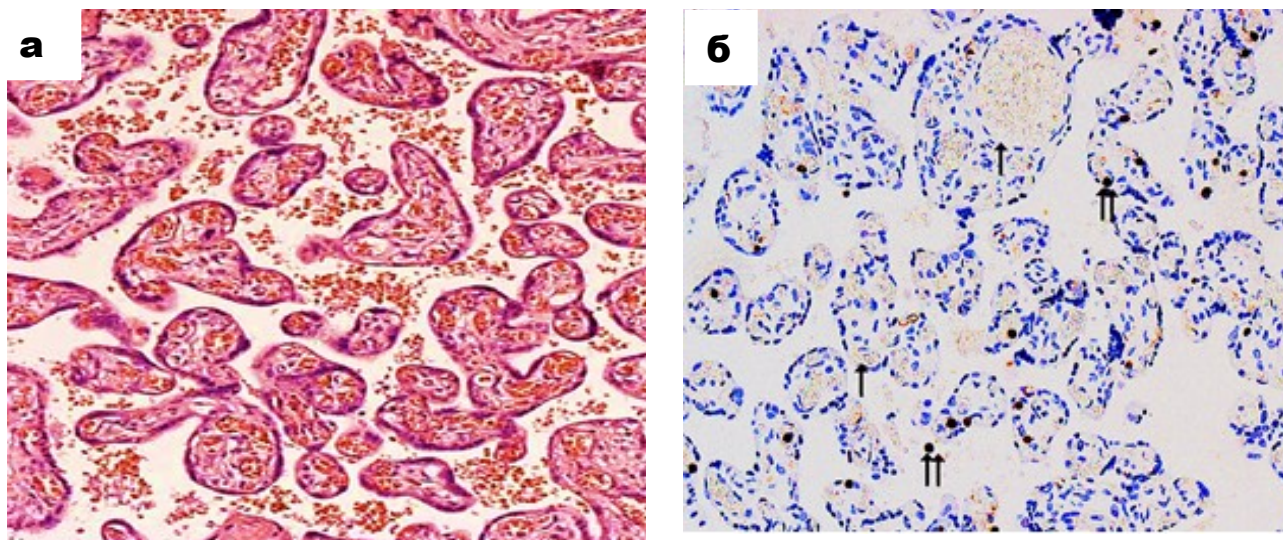
Продолжение таблицы 18

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Пониженная масса (n-47)	сАГВ (n-47)	ПЭ (n-23)	7,2±2,7	1,3±0,5							
		ПЭ (n-3)							8,3±3,1	1,3±0,6	
		HELLP (n-8)	1,1±0,8	0,6±0,7	-			-		-	
		МГВП (n-13)	7,2±2,2	1,3±0,6	-			-		-	
Повышенная масса (n-31)	сНГВ (n-8)	ПЭ (n-5)			50,8±8,2**	5,4±1,3*					
		ПЭ (n-3)					53,0±2,0**	4,0±0,0*			
	сАГВ (n-23)	ПЭ (n-9)			55,7±8,2**	6,9±1,3*					
		ПЭ (n-6)					52,5±2,9**	3,2±0,4*			
		ЗВУР (n-8)	-		56,3±7,4**	7,6±0,5*	-		-		
<p>I – группа плацент с CD15-негативной экспрессией в макро-, микрососудах и капиллярах плацентарного барьера (кПБ); II – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ; IV – группа с CD15-позитивным иммуноокрашиванием микрососудов.</p> <p>Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;</p> <p>ФБ–физиологическая беременность; МГВП – малый для гестационного возраста плод; ПЭ–преэклампсия; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.</p> <p>*- Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01);</p> <p>**-. Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой плаценты и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01).</p>											

Острая плацентарная недостаточность при преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты была выявлена в 112 случаях (19%). Популяция плацент с CD15-негативным иммунофенотипом отмечалась в 59 (53%) и в 53 (47%) наблюдениях с CD15+ иммунофенотипом микрососудов.

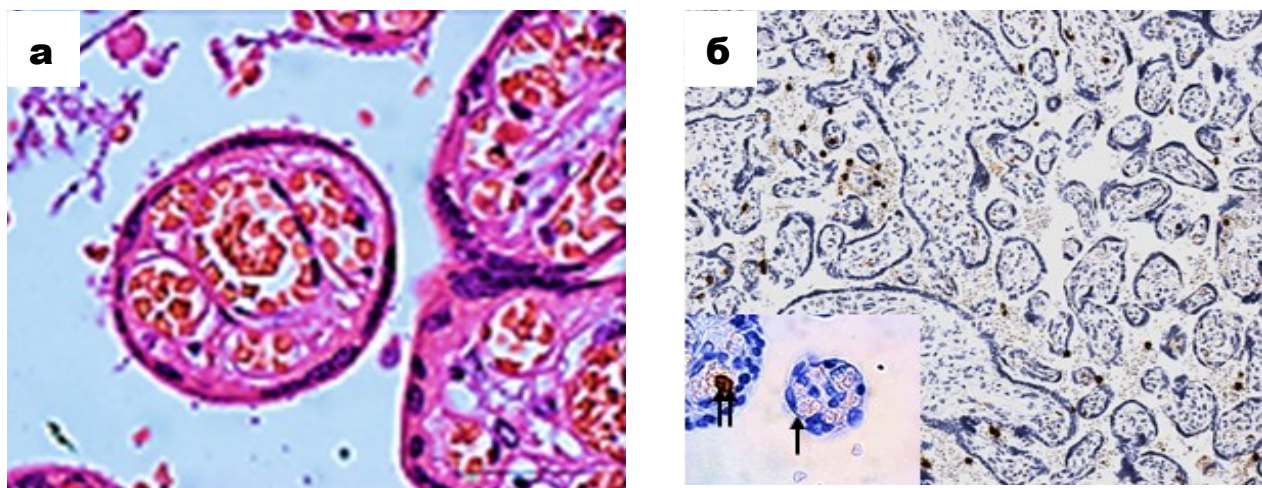
Плаценты с CD15-негативным иммуноокрашиванием капилляров плацентарного барьера показали единичные и слабоположительные (IRS 1-2) CD15+ эндотелиальные клетки при приэклампсии, HELLP-синдроме, малом для гестационном возрасте плода и большом для гестационного возраста плоде, ассоциирующиеся с нормальной и пониженной массой и зрелым гистологическим фенотипом. Установлено, что относительное количество CD15+ капилляров плацентарного барьера статистически значимо не отличалось от плацент при физиологическом течении беременности. Однако при этом отмечено, что в плацентах при HELLP-синдроме отмечалось пониженное количество CD15+ капилляров плацентарного барьера

статистически значимо отличающееся от плацент при физиологическом течении беременности (рисунок 35 и 36).



а – преобладание терминальных форм ворсин с непрерывными СКМ. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув.:x200; б – функциональная зрелость микрососудов и капилляров плацентарного барьера с CD15-негативным иммунофенотипом (двойные стрелки - CD15+ гранулоциты материнской и фетальной крови). Иммуногистохимическая окраска антителами против CD15, Ув.:x200

Рисунок 35 - сАГВ и функционально зрелый фенотип плаценты при МГВП

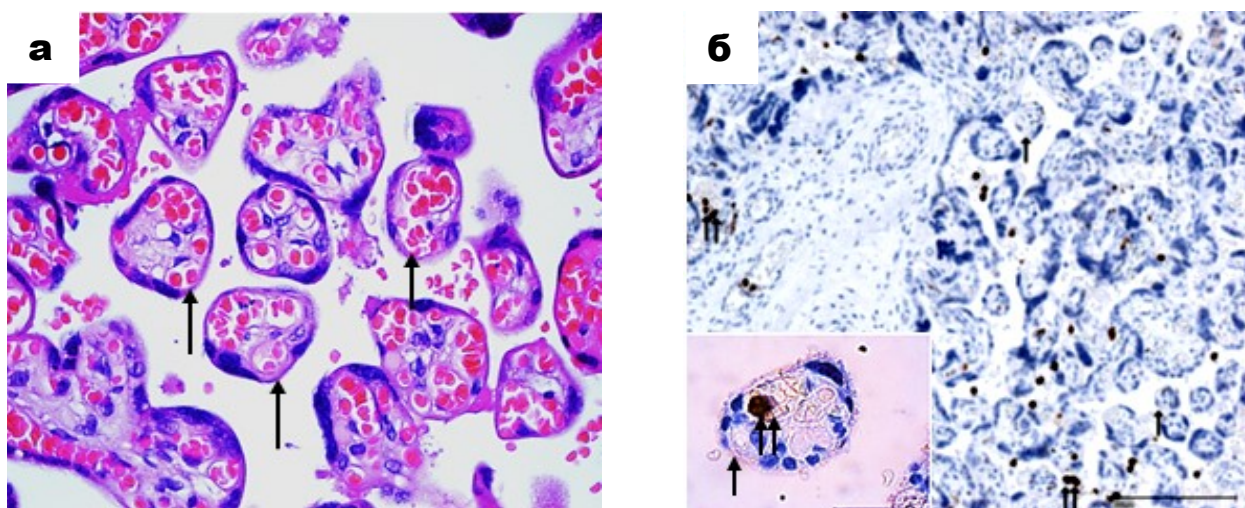


а – задержка развития ворсинок хориона с дефицитом терминальных ворсинок и кПБ. Окраска: гематоксилин и эозин, Ув.:x400. б – Функционально «зрелый» CD15-негативный иммунофенотип микроваскулярного русла. Дифференцированные CD15-негативные эндотелиальные клетки синцитиокапиллярных мембран (стрелка) и отсутствие CD15+ ЭК. CD15+ миеломоноцитарные клетки в фетальной крови (двойные стрелки). На врезке - CD15-негативный иммунофенотип кПБ. Иммуногистохимическая окраска антителами против CD15, Ув.:x100

Рисунок 36 - Структурная незрелость (сЗГВ) и функциональная зрелость микроваскулярного русла и кПБ в плацентах с нормальной массой при БГВП

Популяция плацент с CD15-позитивным иммунофенотипом показала непрерывную CD15+ внутрисосудистую экспрессию эндотелиальных клеток и преимущественно была представлена плацентами с повышенной массой при преэклампсии и внутриутробной задержке развития плода и ассоциировалась с нормальным и акселерированным гистологическими фенотипами развития ворсинок хориона. Плаценты с повышенной массой продемонстрировали значительное повышение относительного количества CD15+ капилляров плацентарного барьера с легкой (IRS 3-4) и умеренной (IRS 6-8) степенью экспрессии эндотелиальных клеток в сравнении с плацентами с нормальной и пониженной массой.

Плаценты ассоциированные с нормальной и пониженной массой при преэклампсии и ЗВУР плода показали зрелый гистологический фенотип и гетерогенный CD15+ эндотелиальный иммунофенотип. При преэклампсии и ЗВУР плода с нормальной массой плаценты отмечалось повышение CD15+ позитивных капилляров плацентарного барьера, 23% и 26%, соответственно, с прерывистой легкой и умеренной степени экспрессией CD15+ эндотелиальных клеток в отличие от плацент при физиологической беременности. В то же время отмечено, что в плацентах ассоциированных с пониженной массой и акселерированным гистологическим фенотипом развития ворсинок хориона при преэклампсии определялся CD15-негативный иммунофенотип капилляров плацентарного барьера с наличием в просвете сосудов позитивно окрашенных миеломоноцитарных клеток (рисунок 37).



а- Преобладание терминальных ворсинок хориона с тонкими и непрерывными синцитиокапиллярными мембранами (стрелки). Окраска: гематоксилин и эозин, Ув.:x200.

б- Функционально «зрелый» CD15-негативный иммунофенотип сосудов плаценты (стрелки). На врезке - CD15-негативный иммунофенотип капилляров плацентарного барьера. Дифференцированные CD15-негативные эндотелиальные клетки СКМ (стрелка) и отсутствие CD15+ ЭК. CD15+ миеломоноцитарные клетки в фетальной крови (двойные стрелки). Иммуногистохимическая окраска антителами против CD15, Ув.:x100

Рисунок 37 - Структурная акселерация развития (сАГВ) и функциональная сосудистая зрелость плацент при преэклампсии и пониженной массе плацент

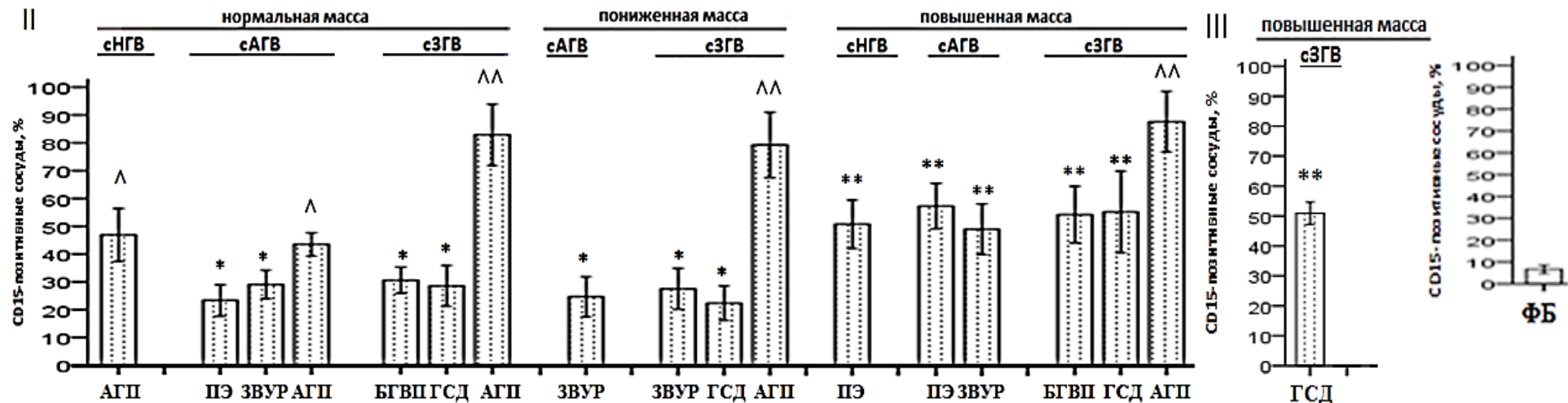
Выявлено, что умеренная степень (IRS 6-8) эндотелиальной CD15+ экспрессии в капиллярах плацентарного барьера отмечалась во всех плацентах при преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты с антенатальной гибелью плода. Данные плаценты ассоциировались с нормальной массой и структурной задержкой развития ворсинок хориона для гестационного возраста с непрерывной эндотелиальной CD15+ экспрессией капилляров плацентарного барьера. Относительное количество CD15+ капилляров плацентарного барьера в плацентах при антенатальной асфиксии плода при острой плацентарной недостаточности статистически значимо не отличалось от плацент ассоциированных с повышенной массой и составило $54,2 \pm 4,8\%$. Следует отметить, что случаев с сильной (IRS 9-12) степенью экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток капилляров плацентарного барьера в плацентах при острой плацентарной недостаточности не определялось.

По результатам исследования определяется связь между степенью CD15+ экспрессии эндотелиальных клеток в капиллярах плацентарного барьера и характером плацентарной недостаточности. Выявлено, что CD15+ иммунофенотип плацент при преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты с антенатальной гибелью плода качественно и количественно не отличается от CD15+ иммунофенотипа плацент при патологическом течении беременности с благоприятным исходом и рождением доношенного и живорожденного ребенка.

Нашим исследованием выявлено, что в плацентах с нормальной массой и структурно зрелым гистологическим фенотипом при задержке внутриутробного развития плода и преэклампсии отмечалось повышение экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в микроциркуляторном русле со статистически значимым отличием от плацент при физиологическом течении беременности. Можно полагать, что при задержке внутриутробного развития плода и преэклампсии, стресс-индуцированные процессы связанные с латентной плацентарной недостаточностью приводят к адаптационным процессам, характеризующимся реактивацией незрелых CD15+ эндотелиальных клеток капилляров плацентарного барьера.

Установлено, что капиллярные структуры плацентарного барьера плацент с повышенной массой при патологическом течении беременности демонстрируют преобладание популяции «незрелых» CD15+ эндотелиальных клеток. Это свойство является отличимым признаком от плацент с нормальной или пониженной массой при физиологическом и патологическом течении беременности. Плаценты с повышенной массой показывают функциональную незрелость плацентарного барьера, что проявляется значительным увеличением экспрессии «незрелых» CD15+ эндотелиальных клеток.

Результаты экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в капиллярах плацентарного барьера плацент при клинических признаках гипоксии или асфиксии плода при хронической плацентарной недостаточности представлены на рисунке 38 и таблице 19.



II – группа плацент с CD15-позитивным иммуноокрашиванием эндотелия макро-, микрососудов и кПБ; III – группа плацент с CD15-позитивным окрашиванием микрососудов и кПБ.

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты – < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты – >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;

ФБ – физиологическая беременность; ПЭ – преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет; ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; МГВП – малый для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.

* – Статистически значимое отличие от ФБ ($p < 0,01$);

** – Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом, кроме плацент при антенатальной гибели плода ($p < 0,01$).

Δ – Статистически значимое отличие от нормальных и патологических плацент с нормальной и пониженной массой плаценты и гетерогенным гистологическим фенотипом ($p < 0,01$);

ΔΔ – Статистически значимое отличие от нормальных и патологических плацент с гетерогенными массами и гистологическими фенотипами ($p < 0,01$).

Рисунок 38 - Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток кПБ плацент при клинических признаках хронической плацентарной недостаточности с гипоксией/асфиксией плода

Таблица 19 - Оценка экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток кПБ плацент при клинических признаках хронической плацентарной недостаточности с фетальной гипоксией/асфиксией

Подгруппы			Группы (n- 258)							
Масса плацент	Гистологический фенотип	Клиническая группа	CD15 – макро и микрососуды		CD15 + макро- и микрососуды (n-247)		CD15 - макрососуды CD15+ микрососуды (n-11)		CD15 + макрососуды CD15- микрососуды	
			Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS	Позитивные сосуды (%)	IRS
		<i>ФБ (n-34)</i>	<i>7,9±2,7</i>	<i>0,9±0,5</i>						
Нормальная масса (n-79)	сНГВ (n-11)	АГП (n-11)	-	-	46,8±9,5 [^]	11,7±0,5 ^{^^}	-	-	-	-
		ПЭ (n-8)	-	-	23,3±5,6*	4,3±0,7*	-	-	-	-
	сАГВ (n-29)	ЗВУР (n-4)	-	-	29,0±5,1*	6,0±0,0*	-	-	-	-
		АГП (n-17)	-	-	43,4±4,2 [^]	11,6±0,5 ^{^^}	-	-	-	-
		БГВП (n-12)	-	-	30,5±4,7*	5,2±1,8*	-	-	-	-
	сЗГВ (n-39)	ГСД (n-15)	-	-	28,5±7,3*	6,9±0,7*	-	-	-	-
АГП (n-12)		-	-	82,9±11,1 ^{^^}	11,9±0,3 ^{^^}	-	-	-	-	
Пониженная масса (n-101)	сАГВ (n-29)	ЗВУР (n-29)	-	-	24,8±7,2*	7,4±0,5*	-	-	-	-
		ЗВУР (n-15)	-	-	27,7±7,4*	5,3±1,2*	-	-	-	-
	сЗГВ (n-72)	ГСД (n-16)	-	-	22,6±6,3*	6,1±1,3*	-	-	-	-
		АГП (n-41)	-	-	79,5±11,8 ^{^^}	11,8±0,4 ^{^^}	-	-	-	-
Повышенная масса (n-78)	сНГВ (n-5)	ПЭ (n-5)	-	-	51,2±8,8**	6,0±0,0*	-	-	-	-
		ПЭ (n-9)	-	-	57,6±8,2**	6,2±0,4*	-	-	-	-
	сАГВ (n-24)	ЗВУР (n-15)	-	-	52,7±7,4**	5,3±1,0*	-	-	-	-
		БГВП (n-15)	-	-	54,2±10,2*	6,6±0,5*	-	-	-	-
	сЗГВ (n-49)	ГСД (n-12)	-	-	55,2±14,6*	5,3±1,0*	-	-	-	-
		ГСД (n-11)	-	-	-	-	50,9±3,7**	7,8±0,4*	-	-
		АГП (n-11)	-	-	87,5±10,9 [^]	11,8±0,4 ^{^^}	-	-	-	-

Нормальная масса плаценты – 25-75 перцентиль; пониженная масса плаценты - < 25 перцентиль; повышенная масса плаценты - >75 перцентиль; сНГВ – нормальное структурное развитие ворсинок хориона для гестационного срока; сАГВ – структурная акселерация развития ворсинок; сЗГВ – структурная задержка ворсинок хориона;

ФБ–физиологическая беременность; ПЭ–преэклампсия; ГСД – гестационный сахарный диабет;

ЗВУР – задержка внутриутробного развития плода; БГВП – большой для гестационного возраста плод; АГП – антенатальная гибель плода.

*- Статистически значимое отличие от ФБ (p<0,01).;

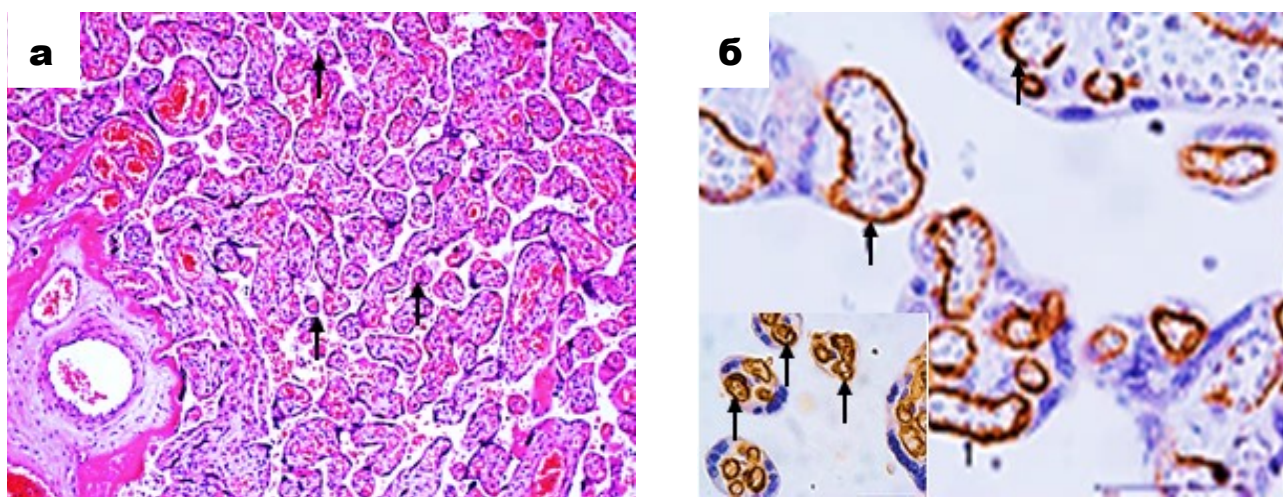
** - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом, кроме плацент при антенатальной гибели плода (p<0,01).

^ - Статистически значимое отличие от плацент с физиологической и патологической беременности с нормальной и пониженной массой плаценты и гетерогенным гистологическим фенотипом (p<0,01);

^^ - Статистически значимое отличие от плацент при физиологической и патологической беременности с гетерогенными массами и гистологическими фенотипами.

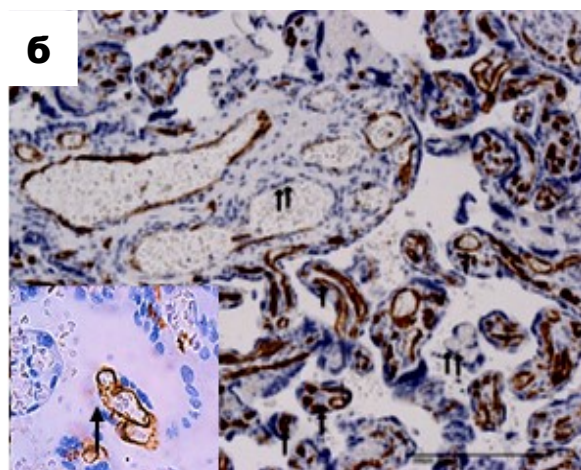
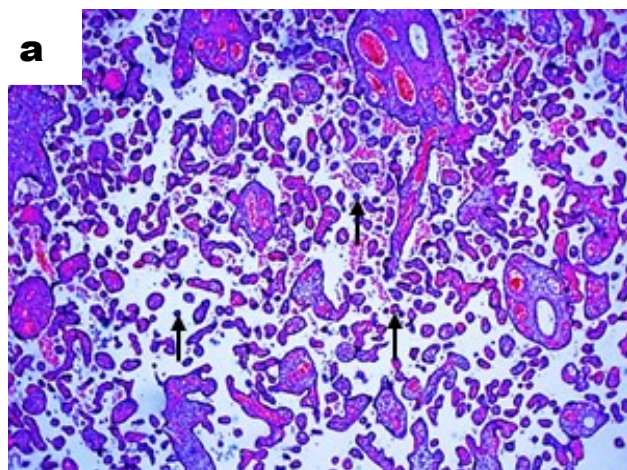
Хроническая плацентарная недостаточность с клиническими признаками антенатальной гипоксии или асфиксии плода была выявлена в 258 случаях (44%). Все плаценты демонстрировали CD15+ позитивный иммунофенотип капилляров плацентарного барьера и ассоциировались с нормальной, пониженной и повышенной массой и гетерогенным гистологическим фенотипом.

Значительное повышение относительного количества CD15+ капилляров плацентарного барьера отмечалось в плацентах с повышенной массой с гетерогенным гистологическим фенотипом (сНГВ, сАГВ и сЗГВ) в сравнении с плацентами с нормальной и пониженной массой при преэклампсии, внутриутробной задержке развития плода, большом для гестационного возраста плоде и гестационном сахарном диабете. CD15+ иммунофенотип плацент в этих же наблюдениях характеризовался непрерывной и умеренной (IRS 6-8) степенью экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток (рисунки 39, 40, 41).



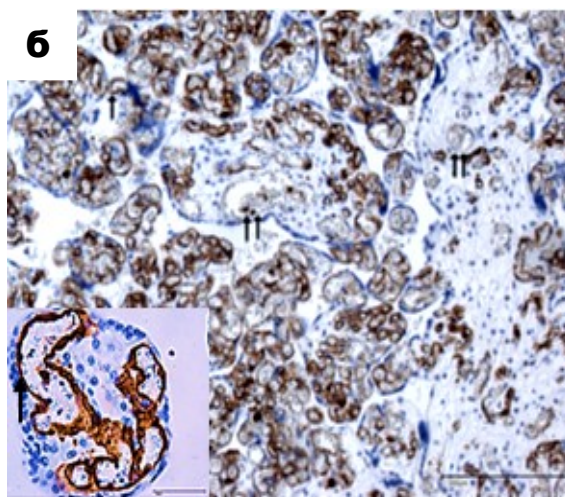
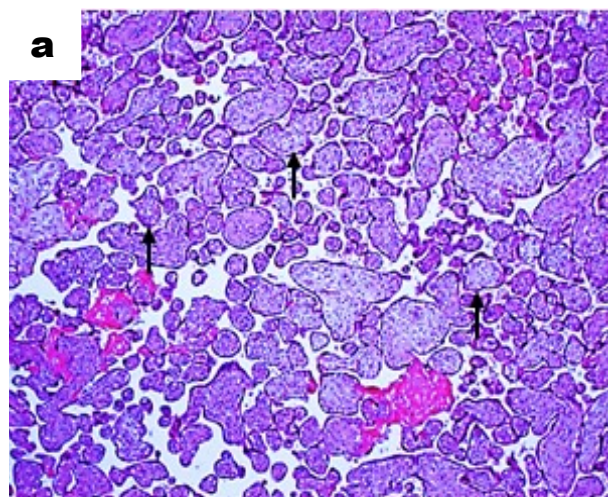
а – Нормально развитые терминальные ворсинки хориона с тонкими и непрерывными синцитиокапиллярными мембранами (СКМ, стрелки). Окраска: гематоксилин и эозин, Ув.:x100. б – Функционально «незрелый» CD15-позитивный иммунофенотип кПБ. Увеличение CD15-позитивных эндотелиальных клеток микроваскулярного русла и редукция терминально дифференцированных CD15-негативных эндотелиальных клеток. Иммуногистохимическая окраска антителами против CD15, Ув.:x400

Рисунок 39 - Нормальное структурное созревание ворсинок хориона и функциональная незрелость микроваскулярного русла капилляров плацентарного барьера при преэклампсии с повышенной массой плаценты



а – преобладание терминальных ворсинок хориона с тонкими и непрерывными синцитиокапиллярными мембранами (СКМ, стрелки), разрежение межворсинчатого пространства. Окраска: гематоксилин и эозин, Ув.:x100. б – функционально «незрелый» CD15-положительный иммунофенотип микрососудов; на врезке б – функционально «незрелый» CD15-положительный иммунофенотип кПБ. Увеличение CD15-положительных эндотелиальных клеток микроваскулярного русла и редукция терминально дифференцированных CD15-негативных эндотелиальных клеток. Иммуногистохимическая окраска антителами против CD15, Ув.:x200

Рисунок 40 - Акселерация структурного созревания ворсинок хориона и функциональная незрелость микроваскулярного русла капилляров плацентарного барьера при преэклампсии с повышенной массой плаценты



а– незрелость ворсинок хориона с дефицитом терминальных ворсинок и СКМ (стрелки). Окраска гематоксилин и эозин, Ув.:x100. б – функционально «незрелый» CD15-положительный иммунофенотип микроваскулярного русла с расширением CD15+ ЭК микрососудов. На врезке – Функционально «незрелый» CD15-положительный иммунофенотип кПБ (стрелка). Иммуногистохимическая окраска антителами против CD15, Ув.:x200

Рисунок 41 – Структурная незрелость (сЗГВ) и функциональная незрелость микрососудов и кПБ плацент при патологической беременности с повышенной массой при ГСД

Плаценты, ассоциированные с антенатальной гибелью плода и структурной задержкой развития ворсинок хориона тяжелой степени, показали непрерывную и сильную (IRS 9-12) степень экспрессии эндотелиальных клеток. Относительное количество CD15+ капилляров плацентарного барьера при антенатальной гибели плода было выше в сравнении с плацентами с повышенной массой при преэклампсии, внутриутробной задержкой развития плода, большом для гестационного возраста плоде и гестационном сахарном диабете осложнившихся антенатальной гипоксией плода. Уровень CD15+ экспрессии эндотелиальных клеток в плацентах при антенатальной гибели плода со зрелым гистологическим фенотипом ворсинок хориона достоверно отличался только в сравнении с плацентами при нормальной и пониженной массой и не превышал 50% CD15+ позитивно окрашенных капилляров плацентарного барьера. В то же время установлено, что все плаценты при клинически декомпенсированной хронической плацентарной недостаточности с антенатальной асфиксией плода, вне зависимости от количества CD15+ капилляров плацентарного барьера и гистологического фенотипа, показывали сильную степень (IRS 9-12) CD15+ эндотелиальной экспрессии капилляров плацентарного барьера, в отличие от плацент при преэклампсии, ЗВУР плода, большом для гестационного возраста плоде и гестационном сахарном диабете, осложненных антенатальной плацентарной недостаточностью с гипоксическим дистрессом плод и новорожденного.

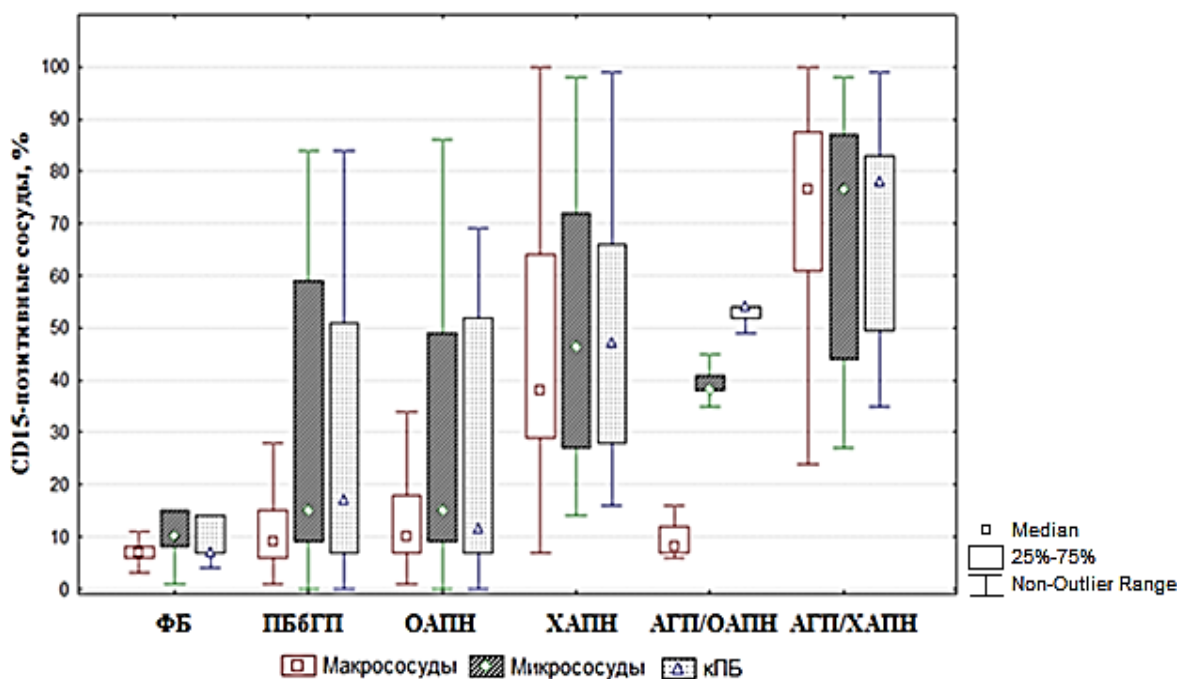
Плаценты с нормальной и пониженной массой при преэклампсии, ЗВУР плода, большом для гестационного возраста плоде и гестационном сахарном диабете продемонстрировали неспецифическую CD15+ эндотелиальную экспрессию по уровню которой статистически значимо не отличались друг от друга. В капиллярах плацентарного барьера отмечалась фокальная и прерывистая легкая и умеренная степень CD15+ экспрессии эндотелиальных клеток, имеющая отличие только от плацент при физиологическом течении беременности.

Таким образом, CD15+ эндотелиальная экспрессия макро- и микроваскулярного русла исследуемой популяции плацент по степени и характеру антенатальной плацентарной недостаточности, массе и гистологическому фенотипу была гетерогенной. Значительное повышение CD15+ экспрессии, статистически значимо отличающееся от остальных клинических групп, наблюдалось при хронической плацентарной недостаточности с антенатальной гибелью плода.

Для определения связи и ассоциации между уровнем экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток и характером/степенью антенатальной плацентарной недостаточности все плаценты данной выборки были сгруппированы по признакам наличия физиологического течения беременности, патологического течения беременности без гипоксии/с гипоксией плода, острой/хронической антенатальной плацентарной недостаточности с гибелью/без гибели плода.

Экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток макро-, микроваскулярного русла плацентах при физиологическом и патологическом течении

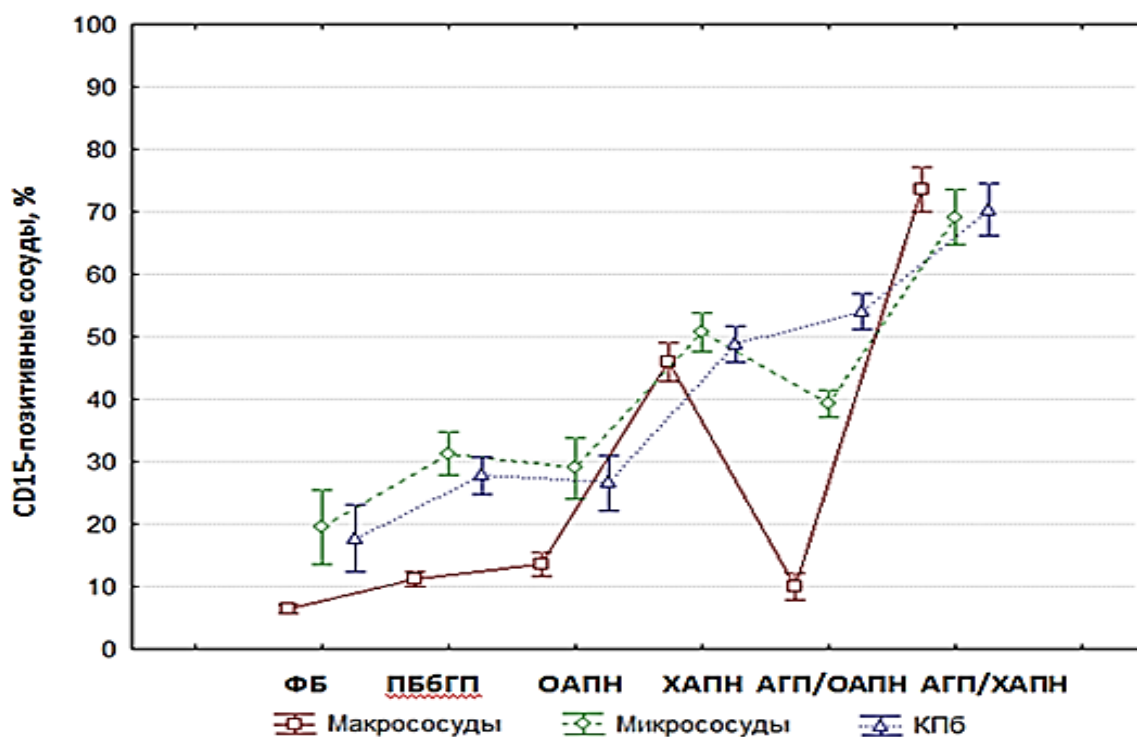
беременности при клинических признаках острой и хронической антенатальной плацентарной недостаточности представлена на рисунках 42 и 43.



ФБ – физиологическое течение беременности; ПББГП – патологическое течение беременности без антенатальной плацентарной недостаточности и гипоксии плода; ОАПН – острая антенатальная плацентарная недостаточность при остлойке нормально расположенной плаценты и гипоксическим дестрессом плода и новорожденного; ХАПН – хроническая антенатальная плацентарная недостаточность с гипоксическим дестрессом плода и новорожденного; АГП/ОАПН – острая антенатальная плацентарная недостаточность с антенатальной гибелью плода; АГП/ХАПН – хроническая антенатальная плацентарная недостаточность с антенатальной гибелью плода

Рисунок 42 – Медиана экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток макро-микрососудов и кПБ в плацентах при физиологической и патологической беременности с и без клинических признаков плацентарной недостаточности

Уровень экспрессии CD15+ макро- и микроваскулярного русла плацент без клинических признаков плацентарной недостаточности был низким (менее 15% позитивных сосудов), а группа плацент с клиническими признаками плацентарной недостаточности по критерию экспрессии CD15+ была гетерогенной. В группе плацент с клиническими признаками хронической плацентарной недостаточности с антенатальной гипоксией/асфиксией плода (ХАПН и АГП/ХАПН) уровень экспрессии CD15+ значительно выше, чем в группе плацент при физиологическом и патологическом течении беременности без признаков гипоксического дестресса плода (ПББГП).



ФБ – физиологическое течение беременности; ПББГП – патологическое течение беременности без антенатальной плацентарной недостаточности и гипоксии плода; ОАПН – острая антенатальная плацентарная недостаточность при отслойке нормально расположенной плаценты и гипоксическим дестрессом плода и новорожденного; ХАПН – хроническая антенатальная плацентарная недостаточность с гипоксическим дестрессом плода и новорожденного; АГП/ОАПН – острая антенатальная плацентарная недостаточность с антенатальной гибелью плода; АГП/ХАПН – хроническая антенатальная плацентарная недостаточность с антенатальной гибелью плода

Рисунок 43 – Среднее значение экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток макро- микрососудов и КПБ в плацентах при физиологической и патологической беременности с и без клинических признаков плацентарной недостаточности

Плаценты при хронической антенатальной плацентарной недостаточности с асфиксией плода (АГП/ХАПН) продемонстрировали значительное и статистически значимое повышение уровня экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макрососудах, в отличие от клинически гетерогенных групп плацент при большом для гестационного возраста плоде, внутриутробной задержке развития плода, преэклампсии и гестационном сахарном диабете с клиническими признаками хронической плацентарной недостаточности и гипоксического дестресса плода ((Me, 25-75%) соответственно 76,5 (61-87,25) и 9,5 (7,5-14) (0,0019; 0,00013 p<0,001)).

Клинически гетерогенные плаценты с признаками острой плацентарной недостаточности при отслойке нормально расположенной плаценты (ОАПН, АГП/ОАПН) по уровню экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток макроваскулярного русла статистически значимо не отличались от плацент при

физиологическом и патологическом течении беременности без клинических признаков гипоксического дистресса плода. Установлено, что в группе плацент при острой плацентарной недостаточности с антенатальной гибелью плода наблюдалось существенное повышение экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в микроваскулярном русле, составляющее 38 (38-41) в микрососудах и 54(52-54) в капиллярах плацентарного барьера. Уровень CD15+ эндотелиальной экспрессии в микроваскулярном русле плацент при острой антенатальной плацентарной недостаточности с антенатальной гибелью плода статистически значимо отличался от уровня CD15+ эндотелиальной экспрессии в плацентах при острой плацентарной недостаточности без антенатальной гибели плода (0,0001; 0,00009 $p < 0,001$).

Таким образом, результатами иммуногистохимического исследования выявлено, что хроническая плацентарная недостаточность с гипоксическим дистрессом плода ассоциируется с повышением экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макроваскулярном русле стволовых ворсинок и хориальной пластинки. Уровень экспрессии CD15+ макроваскулярных эндотелиальных клеток отражает степень хронической антенатальной гипоксии плода. Персистенция повышенного количества CD15+ эндотелиальных клеток в микроваскулярном русле плацент указывает на латентно протекающую плацентарную недостаточность с ограничением респираторной функции плаценты, которая в случае сочетания с острой плацентарной недостаточностью при отслойке нормально расположенной плаценты приводит к развитию тяжелой степени антенатального гипоксического дистресса и антенатальной асфиксии плода.

3.6 Обсуждение

В процессе проведения иммуногистохимического исследования плацент при физиологической и патологической беременности выявлена различной степени связь патологической персистенции CD15+ экспрессии плацентарных эндотелиальных клеток с клиническими и морфологическими отклонениями развития фетоплацентарного юнита.

Во-первых, установлена корреляция степени экспрессии CD15+ макро- и микроваскулярного эндотелия со степенью структурной незрелости плацент. Умеренная степень специфического эндотелиального CD15-иммуноокрашивания в макро- и микрососудистом русле плацентарных сосудов коррелировала с умеренной степенью патологической незрелости ворсинок хориона. В большинстве случаев CD15-положительная иммуногистохимическая реакция в макро- и микрососудистом эндотелии характеризовалась очаговой прерывистой экспрессией в макрососудах и непрерывной в микрососудах.

Результаты исследования плацент с различной степенью тяжести гестационного сахарного диабета, в случаях как с наличием, так и отсутствием клинических признаков антенатальной гипоксии плода, показали, что плацентарная незрелость ворсин хориона демонстрировала значительное

увеличение экспрессии CD15+ в макро- и микрососудистом эндотелии ворсинок по сравнению с плацентами при физиологическом течении беременности. При этом CD15-иммуноокрашивание хорошо визуализировалось, но было менее интенсивным по сравнению с плацентами при беременностях с антенатальной плацентарной недостаточностью и асфиксией плода.

Плаценты при большом для гестационного возраста плоде и ЗВУР плода были структурно гетерогенными: структурная зрелость для гестационного возраста, структурная акселерация созревания плаценты для гестационного возраста и структурная задержка развития для гестационного возраста, но в целом соответствовали CD15-иммунофенотипу плацент при гестационном сахарном диабете. Некоторые структурно зрелые плаценты при большом для гестационного возраста плоде и ЗВУР плода не отличались по степени экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток от плацент при физиологическом течении беременности. Одновременно мы наблюдали в структурно незрелых плацентах при большом для гестационного возраста плоде и ЗВУР плода повышенную экспрессию CD15+ не только в микрососудистых, но и макроваскулярных эндотелиальных клетках.

Также мы наблюдали корреляцию эндотелиального CD15-иммуноокрашивания в макрососудистом сегменте плацентарных сосудов с тяжелой степенью незрелости ворсинок хориона плацент. Выраженная CD15-экспрессия выявлялась в эндотелии крупных сосудов хориальной пластинки и стволовых ворсинок и микрососудистом сегменте периферических ворсинок хориона. Ранее проведенные исследования продемонстрировали связь CD15+ плацентарного эндотелия с физиологической незрелостью ворсин в первом и втором триместрах и постепенное стадийно-специфическое исчезновение CD15+ эндотелия в процессе созревания ворсинок хориона к III триместру беременности. Также установлено, что умеренно положительный CD15-иммунофенотип плацент с повышенной CD15+ экспрессией в микроциркуляции коррелирует с умеренной степенью структурной незрелости плаценты при гестационном сахарном диабете и идиопатических формах макросомии плода. Выраженная степень CD15+ экспрессии эндотелиальных клеток со значительным увеличением относительного количества CD15+ макро- и микрососудов коррелирует с тяжелой степенью структурной незрелости плаценты [30, с. 924].

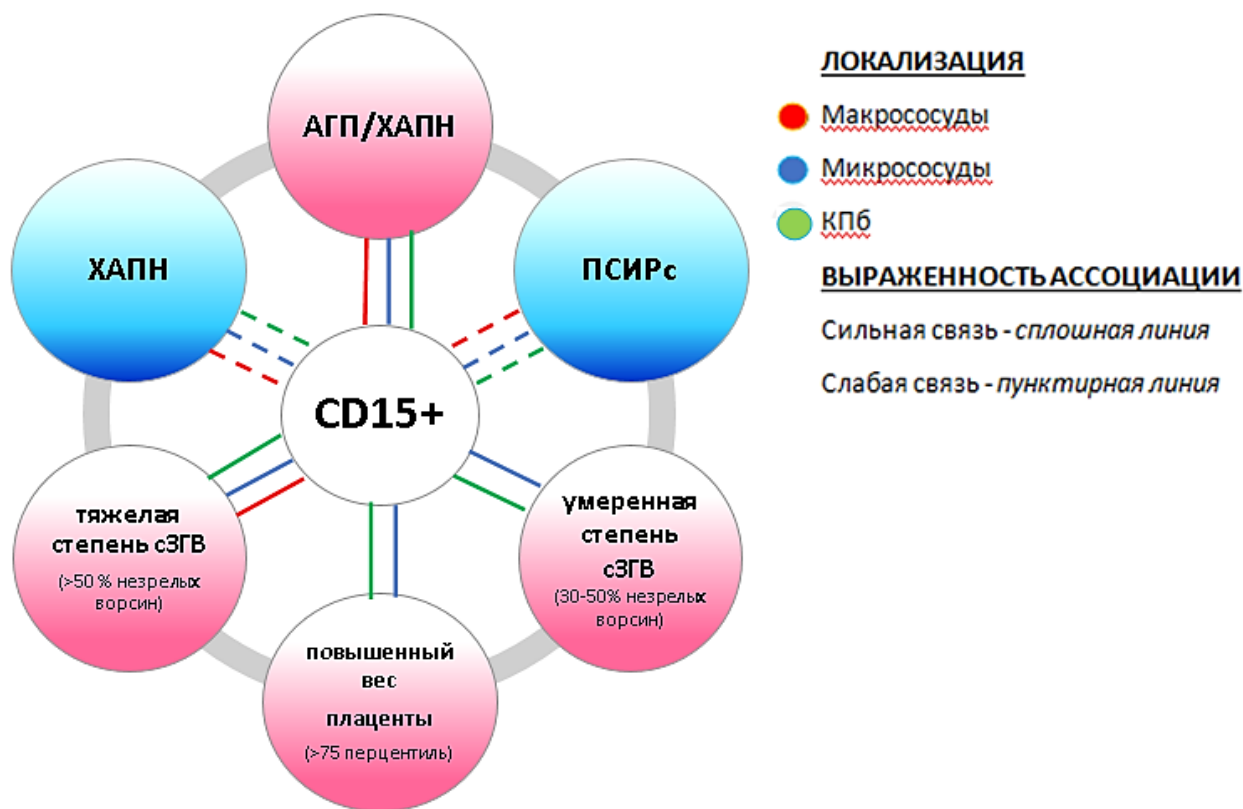
Во-вторых, результаты нашего исследования показали, что «незрелый» CD15+ иммунофенотип макро- и микрососудистого эндотелия плацент имеет сильную связь с антенатальными осложнениями беременности, а именно хронической плацентарной недостаточностью с антенатальной асфиксией плода. CD15-экспрессия в макро- и макроваскулярном русле в этой группе характеризовалась сильным непрерывным иммуноокрашиванием эндотелиальных клеток. Подобный плацентарный CD15+ иммунофенотип с сильной экспрессией CD15+ в макро- и микрососудистом эндотелии

фетоплацентарных сосудов ранее наблюдали только в физиологически незрелых плацентах первого триместра [31, с. 175].

Следует отметить, что CD15+ иммунофенотип макрососудов плацент со структурной незрелостью при острой плацентарной недостаточности с антенатальной асфиксией плода статистически значимо не отличается от плацент при физиологическом течении беременности. Данная популяция плацент демонстрировала единичные слабоокрашенные CD15+ эндотелиальные клетки макроваскулярного русла, что соответствовало CD15-негативному фенотипу. Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что значительное повышение CD15-экспрессии в макроваскулярном русле маркирует только хронические формы плацентарной недостаточности, осложняющиеся антенатальным гипоксическим дистрессом и асфиксией плода (рисунок 44).

В-третьих, мы наблюдали, что повышение CD15+ эндотелиальной экспрессии макро-, микроваскулярного русла ассоциируется не только со структурной незрелостью ворсинок хориона, но и зрелым гистологическим фенотипом плаценты для гестационного возраста. Структурно гетерогенные плаценты в клинических подгруппах плацент (большой для гестационного возраста плод, ЗВУР, преэклампсия, гестационный сахарный диабет) сопровождаются умеренной степенью эндотелиальной CD15+ экспрессии как в макро-, так и микрососудах плацент. Данные плаценты показали значительное повышение количества CD15+ макрососудов в сравнении с плацентами при физиологической беременности и острой плацентарной недостаточности. Ранее были опубликованы результаты исследования, показывающие, что в плацентах при физиологической беременности незрелые CD15+ эндотелиальные клетки макрососудов заменяются терминально дифференцированными CD15-негативными эндотелиальными клетками в середине беременности [31, с. 177]. Указано также, что патологическая беременность, ассоциированная с хронической плацентарной недостаточностью с антенатальной асфиксией плода демонстрирует эндотелиальную иммунофенотипическую трансформацию со значительным повышением незрелых CD15+ эндотелиальных клеток в макрососудах [30, с. 927; 250], а в плацентах при ЗВУР плода вне зависимости от таких факторов, как возраст матери, гестационный возраст и масса при рождении отмечается повышение экспрессии CD15+ в макро- и микроваскулярном русле [251]. Нашим исследованием выявлено, что в плацентах со структурной гетерогенностью при большом для гестационного возраста плоде, ЗВУР плода, преэклампсии, гестационном сахарном диабете как без, так и с клиническими признаками антенатальной гипоксии плода, также отмечалось повышение экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макро- и микрососудах, но со статистически значимым отличием только от плацент при физиологическом течении беременности. Можно полагать, что при большом для гестационного возраста плоде, ЗВУР плода, преэклампсии, гестационном сахарном диабете, стресс-индуцированные процессы связанные с латентной плацентарной

недостаточностью приводят к адаптационным процессам, характеризующимся реактивацией незрелых CD15+ эндотелиальных клеток и компенсаторным ремоделированием макрососудов (ПСИРС, рисунок 44).



ХАПН – хроническая антенатальная плацентарная недостаточность с гипоксическим дистрессом плода и новорожденного; АГП/ХАПН – хроническая антенатальная плацентарная недостаточность с антенатальной гибелью плода; ПСИРС - гипоксическое/метаболическое стресс-индуцированное ремоделирование сосудов плаценты

Рисунок 44 – Ассоциация CD15-экспрессии эндотелиальных клеток в макро-, микрососудах и КПБ при гипоксическом метаболическом дистрессе плода, нарушении созревания и роста плодово-плацентарного юнита

В-четвертых, полученные результаты нашего исследования продемонстрировали, что плаценты при беременности при преэклампсии, гестационном сахарном диабете и большом для гестационного возраста плоде характеризовались как пониженной, так и нормальной и повышенной массой для гестационного возраста. В ранее опубликованных работах показано, что масса плаценты коррелирует с массой плода [87, с. 252]. Патологическое отклонение массы плаценты в большинстве случаев сопровождается соответствующим отклонением массы плода [253]. Так, было установлено, что увеличение массы плаценты ассоциируется с макросомией плода, с гестационным сахарным диабетом, а снижение ростового потенциала плаценты встречается при беременностях с преэклампсией, HELLP-синдромом и задержкой внутриутробного развития плода [254-259]. Плаценты от

беременностей с преэклампсией преимущественно характеризуются пониженной массой для гестационного возраста, а при гестационном сахарном диабете и макросомии плода - повышенной массой плаценты [89, с. 115; 260; 261]. Увеличение ростового потенциала плаценты при гестационном сахарном диабете и макросомии плода является компенсаторным процессом увеличения площади диффузии для улучшения респираторной функции плаценты.

Таким образом мы полагаем, что гетерогенность плацентарной массы, ассоциированная с различными клиническими состояниями (антенатальная гибель плода, ЗВУР плода, гестационный сахарный диабет, сахарный диабет, преэклампсия и большой для гестационного возраста плод), отражает разный гестационный срок возникновения заболевания и стадию развития адаптационных возможностей плаценты. Кроме того, следует подчеркнуть, что как увеличение ростового потенциала плаценты, так и его снижение являются не причиной патологии, а следствием компенсаторно-адаптивных механизмов в ответ на гипоксическое состояние фетоплацентарного юнита.

В-пятых, проведенное исследование показывает функциональную «незрелость» сосудистой стенки микроваскулярного русла в плацентах с повышенной массой, в отличие от плацент с нормальной и пониженной массой. В ранее проведенных исследованиях L.Seidmann установлена связь функциональной незрелости микрососудов периферических ворсинок хориона с повышенной массой плацент при патологическом течении беременности в доношенном сроке. Наблюдалось значительное увеличение относительного количества сосудов CD15+ в микрососудах, характеризующихся увеличением незрелых CD15+/CD31+/CD34+ эндотелиальных клеток и уменьшением терминально дифференцированных эндотелиальных клеток CD15-/CD31+/CD34+. В этом заключалось отличие от плацент с нормальной или пониженной массой при нормальной или патологической беременности, при котором не наблюдалось увеличения незрелых CD15+/CD31+/CD34+ эндотелиальных клеток в микрососудистой интиме [262].

Известно, что плацентарный барьер является единственным физическим барьером между плодной и материнской кровью и состоит из так называемых синцитиокапиллярных мембран, в которых фетоплацентарные капилляры остаются отделены от материнской крови, но действуют как функциональный синцитий [263, с. 89]. Ведущим свойством плацентарного барьера является поддержание функционально-адекватной обменной площади плодово-материнской поверхности для обеспечения эффективной диффузии [264, с. 101]. Показано, что повышенная толщина плацентарного барьера плацент доношенного срока со структурной незрелостью для гестационного возраста приводит к гипоксии плода и значительному риску антенатальной асфиксии плода [264, с. 101].

Таким образом, настоящим исследованием установлено, что капиллярные структуры плацентарного барьера плацент с повышенной массой при патологическом течении беременности демонстрируют преобладание популяции «незрелых» CD15+ эндотелиальных клеток (рисунок 44). Это

свойство является отличимым признаком от плацент с нормальной или пониженной массой при физиологическом и патологическом течении беременности без клинических признаков антенатальной гипоксии плода (преэклампсия, большой для гестационного возраста плод, малый для гестационного возраста плод, HELLP-синдром, гестационный сахарный диабет) с преобладающей популяцией терминально дифференцированных CD15-негативных эндотелиальных клеток микроваскулярного русла. Плаценты с повышенной массой показывают функциональную незрелость плацентарного барьера, что проявляется значительным увеличением экспрессии «незрелых» CD15+ эндотелиальных клеток.

В то же время, структурно гетерогенная популяция плацент с нормальной и пониженной массой с клиническими признаками антенатальной гипоксии плода при хронической плацентарной недостаточности демонстрировала повышение CD15+ эндотелиальных клеток в капиллярах плацентарного барьера, не имеющих отношения к их плацентарным структурным нарушениям созревания и развитию терминальных ворсинок (рисунок 44).

В связи с этим следует акцентировать внимание, что в патогенезе антенатальной гипоксии плода имеет важное значение не только структурная незрелость, но и функциональная незрелость плацентарного барьера, характеризующегося CD15-позитивным иммунофенотипом.

Иммуногистохимическое исследование клинически гетерогенных подгрупп плацент повышенной массы не выявило специфического и статистически значимого отклонения относительного количества и распределения незрелых CD15+ эндотелиальных клеток в микрососудах, демонстрируя одинаковую выраженность CD15+ экспрессии во всех клинических группах (преэклампсия, ЗВУР плода, большой для гестационного возраста плод, гестационный сахарный диабет). Тем не менее, анализ плацент с нормальной и пониженной массой в клинически гетерогенных группах показал специфические отклонения количества и выраженности экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в капиллярах плацентарного барьера и микрососудах при антенатальной гибели плода и HELLP-синдроме. В то время как между выборками плацент при малом для гестационного возраста плоде и физиологическом течении беременности не было выявлено статистически значимых различий экспрессии в отношении количества CD15+ эндотелиальных клеток, плаценты с HELLP-синдромом с нормальной или пониженной массой показали значительное снижение CD15+ эндотелиальных клеток в микрососудах и капиллярах плацентарного барьера. Следует полагать, что это снижение в сочетании с уменьшенным потенциалом роста плаценты указывает на патогенетическую специфичность HELLP-синдрома.

Различные исследования показали, что плацентарные васкулогенные клетки CD15+ стволовых и прогениторных клеток инфантильных гемангиом показывают примитивный мультилинейный иммунофенотип, способный дифференцироваться в гемопоэтические или мезенхимоподобные клетки [238, с. 97]. Поскольку растущие сегменты незрелой плацентарной микроциркуляции

имеют значительное количество эндотелиальных клеток CD15+, не исключается, что они участвуют в росте плацентарного сосудистого русла. Отклонение ростового потенциала плаценты ассоциируется с нарушением гистологического строения ворсинчатого дерева [265], что отражает механизм пренатальной адаптации и ремоделирования сосудистого русла к изменениям плодового гомеостаза в условиях сниженного респираторного диффузионного и перфузионного потенциалов плаценты.

В ранее опубликованной работе L.Seidmann была предложена новая группа патологических функционально CD15+ незрелых для гестационного возраста плацент, характеризующаяся функциональной незрелостью плацентарного барьера и нарушенной диффузионной способностью плацент с высоким риском клинически неожиданной антенатальной гипоксии и асфиксии плода [262, с.138]. Плаценты доношенного срока с повышенной массой при патологическом течении беременности показывают незрелость сосудистой стенки микрососудов и капилляров плацентарного барьеров, что может быть связано с процессами персистенции ростового потенциала плаценты. Предполагается, что CD15+ эндотелиальные клетки являются маркерами «васкулогенных зон» адаптации и роста плацентарной сосудистой сети и могут обеспечить новые терапевтические цели хронической плацентарной недостаточности.

Однако, какова функциональная роль и биологическая значимость наблюдаемого явления повышения экспрессии «незрелого» эндотелия CD15+ в плацентах доношенного срока беременности остается невыясненным. Подобно уникальному эндотелию CD15+ инфантильной гемангиомы, CD15+ плацентарный эндотелий может обладать собственным гематогенным потенциалом и представлять собой часть транзитной гемопоэтической иерархии [136, с. 391; 262, с. 139]. Наблюдаемый феномен экспрессии CD15+ позитивного эндотелия макро- и микрососудов может быть обусловлен как его пролонгированной персистенцией в течение всей беременности, так и его реактивацией на любом сроке гестации. Кроме того, остается неясным, каким патогенетическим механизмом обусловлена персистенция или реактивация CD15+ позитивного иммунофенотипа: хронической антенатальной гипоксией или нарушением обмена веществ у плода. В настоящее время проводятся дальнейшие исследования уникального CD15-иммунофенотипа эндотелия плаценты. Но является очевидным, что патологические структурно незрелые плаценты с ограниченной диффузией (респираторной способностью) и риском гипоксии плода характеризуются не только структурными нарушениями созревания ворсинок хориона, но и сохранением «незрелого» эндотелиального CD15+ иммунофенотипа в сосудах фетоплацентарного юнита. Выраженность экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в макро- и микроциркуляции плацент отражает степень плацентарной незрелости по эндотелиальному типу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено проспективное слепое иммуногистохимическое исследование с целью оценки экспрессии CD15+ эндотелиальных клеток в плацентах при физиологической и патологической беременности. При оценке иммуногистохимической реакции CD15-маркера использовалась полуколичественная модифицированная шкала иммунореактивности Remmele и Stegner с морфометрией относительного количества положительно окрашенных макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера.

В процессе исследования было выявлено, что экспрессия CD15+ эндотелиальных клеток характеризуется гетерогенностью качественной и количественной внутрисосудистой распространенности и интенсивности, поэтому плаценты в зависимости от уровня экспрессии были разделены на четыре группы.

Первая группа с CD15-негативным иммунофенотипом макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера.

Вторая группа с CD15-позитивным иммунофенотипом эндотелия макро-, микрососудов и капилляров плацентарного барьера.

Третья группа с CD15-негативным иммунофенотипом макрососудов и позитивным окрашиванием микрососудов и капилляров плацентарного барьера.

Четвертая группа с CD15-позитивным иммунофенотипом макрососудов и негативной экспрессией CD15 микроваскулярного русла.

Оценка эндотелиальной экспрессии CD15 в каждой из выбранных групп плацент проводилась в подгруппах, сформированных в зависимости от массы, гистологического фенотипа и клинических групп (физиологическая беременность, преэклампсия, ЗВУР, малый для гестационного возраста плод, большой для гестационного возраста плод, HELLP-синдром, гестационный сахарный диабет, антенатальная гибель плода).

На основании анализа полученных результатов, можно сформулировать следующие выводы:

1) определено статистически значимое отличие экспрессии CD15 в макро-, микрососудистом русле и респираторно активных капиллярах плацент с хронической плацентарной недостаточностью в отличие от плацент с острой плацентарной недостаточностью и при физиологическом течении беременности ($p < 0,01$);

2) не выявлено статистически значимых отличий экспрессии CD15 в макро-, микрососудистом русле и респираторно активных капиллярах плацент с острой плацентарной недостаточностью при отслойке плаценты в отличие от плацент при физиологическом течении беременности;

3) статистически достоверное повышение CD15-ассоциированной незрелости микроциркуляторного русла было определено в плацентах с антенатальной плацентарной недостаточностью;

4) отмечалась частая ассоциация микрососудистой CD15-ассоциированной незрелости с гестационным сахарным диабетом, поздней преэклампсией, крупным для гестационного возраста плодом и ЗВУР плода;

5) отмечалась частая ассоциация изолированной макрососудистой экспрессии CD15 со ЗВУР плода, крупным для гестационного возраста плодом, гестационным сахарным диабетом, поздней преэклампсией;

6) выявлено, что стандартная структурная оценка незрелости ворсинок плаценты не отражает незрелость ее микрососудистого русла и респираторную незрелость;

7) экспрессия CD15 в макроваскулярном эндотелии плацент коррелирует с тяжелой степенью структурной незрелости ворсинок хориона ($r = 0,738$), а в микроваскулярном эндотелии коррелирует с умеренной ($r = 0,796$) и тяжелой степенью структурной незрелости плаценты ($r = 0,722$);

8) определено, что стандартная оценка массы плаценты и плода не отражает незрелость плацентарного микрососудистого русла и респираторную незрелость. Повышение экспрессии CD15 в микроваскулярном эндотелии плацент, как правило, ассоциируется с повышением массы плацент и плода, что указывает на участие незрелых сосудов в адаптационных процессах роста;

9) экспрессия CD15 в макро- и микроваскулярном эндотелии ворсинок плаценты 37-42 недели гестации ассоциирована с тяжелыми формами хронической плацентарной недостаточности, внезапной внутриутробной гибелью плода и перинатальной асфиксией;

10) экспрессия CD15 в макроваскулярном эндотелии плацент 37-42 недели гестации ассоциирована с антенатальной хронической плацентарной недостаточностью и гипоксией плода, а степень макроваскулярной CD15 экспрессии отражает степень хронической антенатальной гипоксии плода.

Таким образом, CD15 показал себя как значимый диагностический маркер незрелости фетоплацентарного юнита для гестационного срока и клинически латентных форм хронической антенатальной плацентарной недостаточности, которые могут осложниться идиопатической антенатальной гибелью плода.

Патологические CD15+ незрелые для гестационного возраста плаценты характеризуются функциональной незрелостью плацентарного барьера и ограниченной диффузионной (респираторной) способностью с высоким риском клинически неожиданной антенатальной гипоксии и асфиксии плода.

Стресс-индуцированные процессы фетоплацентарного юнита, связанные с латентной хронической плацентарной недостаточностью, приводят к механизмам адаптации и роста плацентарной сосудистой сети, связанным с реактивацией незрелых CD15+ эндотелиальных клеток и компенсаторному ремоделированию сосудистого русла плацент с пролонгированием ростового потенциала.

Гетерогенность плацентарной массы и гистологического фенотипа, ассоциированная как с физиологическим, так и с патологическим течением беременности, отражает разный гестационный срок возникновения заболевания

и стадию развития адаптационных возможностей плаценты. CD15+ эндотелиальные клетки маркируют сосудистые зоны адаптации и роста плацентарной сосудистой сети, что отражает механизм пренатальной адаптации и ремоделирования сосудистого русла к изменениям плодового гомеостаза в условиях сниженного респираторного, диффузионного и перфузионного потенциалов плаценты и может обеспечить новые возможности диагностики хронической антенатальной плацентарной недостаточности.

Дополнительное применение метода CD15-иммунофенотипирования позволяет проводить оценку зрелости фетоплацентарных сосудов и своевременно выявлять клинически латентные формы хронической плацентарной недостаточности.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Barker D.J. The developmental origins of insulin resistance // *Horm. Res.* – 2006. – №64. – P. 2–7.
- 2 Gluckman P.D., Hanson M.A. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease // *Science.* – 2004. – №305. – P. 1733-1736.
- 3 Osmond C., Barker D.J. Fetal, infant, and childhood growth are predictors of coronary heart disease, diabetes, and hypertension in adult men and women // *Environ. Health Persp.* – 2000. – №108. – P. 545–553.
- 4 Hales C.N., Barker D. J., Clark P.M. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64 // *Br. Med. J.* – 1991. – №303. – P. 1019-1022.
- 5 Ravelli A.C., van der Meulen J. H., Michels R. P. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine // *Lancet.* – 1998. – №351. – P. 173-177.
- 6 Barker D.J., Osmond C., Golding J., Kuh D., Wadsworth M. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease // *Br. Med. J.* – 1989. – №98. – P. 564-567.
- 7 Barker D.J., Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales // *Lancet.* – 1986. – №21. – P. 1077-1081.
- 8 Armitage J.A., Khan I.Y., Taylor P.D., Nathanielsz P.W. et al. Developmental programming of metabolic syndrome by maternal nutritional imbalance; how strong is the evidence from experimental models in animals // *J. Physiol.* – 2004. – №61. – P. 355-377.
- 9 Hoet J.J., Hanson M.A. Intrauterine nutrition: its importance during critical periods for cardiovascular and endocrine development // *J. Physiol.* – 1999. – №514. – P. 617-627.
- 10 Swailem A.R., Serenius F., Edresse A.W., Ohlsson A. Perinatal mortality in a Saudi Maternity Hospital // *Acta Paediatrica Scandinavica Supplement.* – 1988. – №34. – P. 57–69.
- 11 El-Gilany A. Perinatal mortality in the Northern Region of Saudi Arabia // *Middle East Paediatrics.* – 2000. – №5. – P. 38–43.
- 12 Cole S.K. Scottish Stillbirth and Neonatal Death Report. Edinburgh, Information and Statistics Division. Common Services Agency for the Scottish Health Services. – 988. – 239 p.
- 13 Grant A., Elbourne D., Valentin L., Alexander S. Routine formal fetal movement counting and risk of antepartum late death in normally formed singletons // *Lancet.* – 1989. – №3. – P. 345-349.
- 14 Tellefsen C.H., Vogt C. How important is placental examination in cases of perinatal deaths? // *Pediatr Dev Pathol.* – 2011. – №14. – P. 99-104.
- 15 Korteweg F.J., Erwich J.J., Holm J.P., Ravise J.M., van der Meer J. Diverse placental pathologies as the main causes of fetal death // *Obstet Gynecol.* – 2009. – №114. – P. 809-817.
- 16 Horn L.C., Langner A., Stiehl P., Wittekind C., Faber R. Identification of the causes of intrauterine death during 310 consecutive autopsies. // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2009. – №113. – P. 134-138.

- 17 Kidron D., Bernheim J., Aviram R. Placental findings contributing to fetal death, a study of 120 stillbirths between 23 and 40 weeks gestation // *Placenta*. – 2009. – №30. – P. 700-704.
- 18 Buitendijk S., Zeitlin J., Cuttini M., Langhoff-Roos J., Bottu J. Indicators of fetal and infant health outcomes // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. – 2003. – №111. – P. 66-77.
- 19 Incerpi M.H., Miller D.A., Samadi R., Settlege R.H., Goodwin T.M. Stillbirth evaluation: What tests are needed? // *Am J Obstet Gynecol*. – 1998. – №178. – P. 1121-1125.
- 20 Heazell A.E., Martindale E.A. Can post-mortem examination of the placenta help determine the cause of stillbirth? // *J Obstet Gynaecol*. – 2009. – №29. – P. 225-228.
- 21 Bove K.E. Practice guidelines for autopsy pathology: the perinatal and pediatric autopsy. Autopsy Committee of the College of American Pathologists // *Arch Pathol Lab Med*. – 1997. – №121. – P. 368–76.
- 22 Korteweg F.J., Erwich J.J., Timmer A., van der Meer J., Ravise J.M. Evaluation of 1025 fetal deaths: Proposed diagnostic workup // *Am J Obstet Gynecol*. – 2012. – № 206. – P. 53-55.
- 23 Greb A.E. Accuracy of fetal death reports: comparison with data from an independent stillbirth assessment program // *American Journal of Public Health*. – 1987. – №77(99). – P. 1202-1206.
- 24 Korteweg F.J., Gordijn S.J., Timmer A., Holm J.P., Ravise J.M. A placental cause of intra-uterine fetal death depends on the perinatal mortality classification system used // *Placenta*. – 2008. – № 29. – P. 71–80.
- 25 Fetal and perinatal mortality. National vital statistics reports. – National Center for Health Statistics.: United States. – 2010. – Vol. 57. – 8 p.
- 26 Туманова В.А., Баринаова И.В., Барыкина О.П., Аксенова А.А. Диагностическое значение гистологического исследования плаценты при антенатальной гибели плода // *Мать и дитя*. – 2006. – №4. – 270 с.
- 27 Vogel M. Pathologie der Plazenta: Spätschwangerschaft und fetoplazentare Einheit. Pathologie. – Heidelberg: Springer-Verlag, 2013. – P. 519-632.
- 28 Stallmach T., Hebisch G., Meier K., Dudenhausen J.W., Vogel M. Rescue by birth: defective placental maturation and late fetal mortality // *Obstet Gynecol*. – 2001. – №4. – P. 505-9.
- 29 Reddy U.M. Prediction and prevention of recurrent stillbirth // *Obstet Gynecol*. – 2007. - №5(110). – P. 1151-64.
- 30 Seidmann L., Suhan T., Kamyshanskiy Y., Nevmerzhitskaya A., Gerein V., Kirkpatrick C.J. CD15 – A new marker of pathological villous immaturity of the term placenta // *Placenta*. – 2014. – №35 (11). – P. 925-931.
- 31 Seidmann L., Suhan T., Unger R., Gerein V., Kirkpatrick C.J. Transient CD15- positive endothelial phenotype in the human placenta correlates with physiological and pathological fetoplacental immaturity // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. – 2014. – №180. – P. 172–179.

- 32 O'Leary M.A., Bloch J.I., Flynn J.J., et al. The placental mammal ancestor and the post-K-Pg radiation of placentals. – *Science*, 2013. – P. 662-667.
- 33 Larsen W. *Human Embryology*. – Philadelphia.: Churchill livingstone, 2001. – 62 p.
- 34 Witt F.D. An Historical Study on theories of the Placenta // *Journal of the History of Medicine*. – 1959. – №14. – P. 360-374.
- 35 Needham J.A. *A history of embryology*. – Cambridge University Press, 1934. – 274 p.
- 36 Longo L.D., Reynolds L.P. Some historical aspects of understanding placental development, structure and function // *Int J Dev Biol*. – 2010. – №54. – P. 237-255.
- 37 Murray M.A. *The bundle of life. Ancient Egypt*. – 1930. – P. 65–73.
- 38 Malpighi M. *De pulmonibus observationes anatomicae*. – Bononiae, 1661. – 39 p.
- 39 Seligmann C.G., Murray M.A. Note upon an early Egyptian standard // *Royal Anthropological Society of Great Britain and Ireland*. – 1911. – №11. – P. 165-171.
- 40 Pijnenborg R., Vercruyse L. Erasmus Darwin's enlightened views on placental function // *Placenta*. – 2007. – № 28. – P. 775–778.
- 41 Gude N.M. et al. Growth and function of the normal human placenta // *Thromb. Res*. – 2004. – №114. – P. 397-407.
- 42 Larsen W. *Essentials of human embryology*. – New York: Churchill Livingstone Inc, 1998. – P. 1-14.
- 43 Колобов А.В., Цинзерлинг В.А., Смирнова Е.А. *Плацента человека. Морфофункциональные основы*. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2011. – 80 с.
- 44 Александрова Н.В., Баев О.Р. Ранние этапы становления системы мать-плацента-плод // *Акушерство и гинекология*. – 2011. – №8. – С. 4-10.
- 45 Милованов А.П., Ерофеева Л.М., Золотухина И.А., Александрович Н.В. Морфогенез плаценты человека в I триместре беременности // *Морфология*. – 2011. – №2. – С. 72-76.
- 46 Милованов А.П., Ерофеева Л.М., Александрович Н.В., Золотухина И.А. Строение плаценты человека во II и III триместрах беременности // *Морфология*. – 2012. – №5. – С. 64-67.
- 47 Милованов А.П., Кирющенков П.А., Шмаков Р.Г. Плацента – регулятор гемостаза // *Акушерство и гинекология*. – 2001. – № 3. – С. 35.
- 48 Цирельников Н.И. Плацентарно-плодные взаимоотношения как основа развития и дифференцировки органов и тканей // *Архив патологии*. – 2005. – №1. – С. 54-58.
- 49 Faye-Petersen O.M., Heller D.S., Joshi V.V. *Handbook of Placental Pathology*. – United Kingdom: Taylor and Francis, 2006. – 225 p.
- 50 Соколов Д.И. Васкулогенез и ангиогенез в развитии плаценты // *Журнал акушерства и женских болезней*. – 2007. – №3. – С. 15-18.

- 51 Абдул-Оглы Л.В. Морфологическое исследование сердца и плаценты человека в первом триместре пренатального периода онтогенеза // *Морфология*. – 2008. – № 4. – С. 11-14.
- 52 Kaufmann P., Black S., Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia // *Biology of reproduction*. – 2003. – №69(1). – P. 1-7.
- 53 Benirschke K., Kaufmann P. *Pathology of the human placenta*. – New York: Springer-verlag, 1990. – 518 p.
- 54 Калашникова Е.П. Плацента человека и ее роль в норме и при патологии // *Архив патологии*. – 1986. – № 1. – С. 3-11.
- 55 Федорова М.В., Калашникова Е.П. Плацента и ее роль при беременности. – М.: Медицина, 1986. – 252 с.
- 56 Pijnenborg R., Bland J.M. // *Placenta*. – 1983. – Vol.4. – P. 397-414.
- 57 Boyd J.D., Hamulton W.J. *The Human Placenta*. – Cambridge.: Heffer and Sons, 1970. – 365 p.
- 58 Нам А.В. Cormack D.H. *Гистология*. – М.: Мир, 1983. – Т.5. – С. 156-158.
- 59 Boyd J.D., Hamilton W.J. The giant cells of the pregnant human uterus // *J. Obstet. Gynaecol. Br. Emp.* – 1960. – №67. – P. 208-211.
- 60 Klos K., Vogel M. Placentationsstörungen. Histologische Untersuchungen über Placentareifungsstörungen am Routinematerial // *Virchows Arch.* – 1968. – Bd 343. – P. 245-257.
- 61 Castellucci M., Scheper M. The development of the human placental villous tree // *Anat. Embryol.* – 1990. – №181. – P. 117-128.
- 62 Castellucci M., Kaufmann P. A three-dimensional study of the normal human placental villous core. II. Stromal architecture // *Placenta*. – 1982. – №3. – P. 269-285.
- 63 Kaufmann P., Sen D.K., Schweikhart G. Classification of human placental villi. I. Histology and scanning electron microscopy // *Cell Tissue Res.* – 1979. – №200. – P. 409-423.
- 64 Brosens V., Robertson W.B., Dixon H.G. The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy // *J. Path. Bact.* – 1967. – №93. – P. 569-579.
- 65 Милованов А.П., Расстригина И.М., Фокина Т.В. Морфометрическая оценка плотности распределения и диаметра клеток вневорсинчатого трофобласта в течение условно неосложненной беременности // *Архив патологии*. – 2013. – №3. – С. 18-21.
- 66 Grannum P.A. et al. The ultrasonic changes in the maturing placenta and their relation to fetal pulmonic maturity // *Amer. J. Obstet. Gynec.* – 1979. – Vol. 133. – №8. – P. 915-922.
- 67 Милованов А.П., Фукс М.А. и др. Морфологические особенности ультразвуковых критериев стадии зрелости плаценты при физиологическом течении беременности // *Акуш. и гин.* – 1990. – № 5. – С. 19-23.

- 68 Милованов А.П. О рациональной морфологической классификации нарушений созревания плаценты // Архив патологии. – 1991. – № 12. – С. 3-5.
- 69 Милованов А.П., Захарова О.Ю. Варианты патологической незрелости ворсин и их роль в развитии плода // Архив патологии. – 1988. – №5. – С. 92-99.
- 70 Jansson T., Powell T.L. Role of the placenta in fetal programming: underlying mechanisms and potential interventional approaches // Clin Sci (Lond). – 2007. – №113. – P. 1-13.
- 71 Coan P.M, Vaughan O.R., McCarthy J., Mactier C., Burton G.J. Constancia M, et al. Dietary composition programmes placental phenotype in mice // J Physiol. – 2011. – № 58. – P. 3659-70.
- 72 Cetin I., Antonazzo P. The role of the placenta in intrauterine growth restriction // Geburtshilfe Neonatol. – 2009. – №213. – P. 84-8.
- 73 McCormik M.C., Behrman R.E. The quiet epidemic of premature birth: commentary on a recent Institute of medicine report // Ambul Pediatr. – 2007. – №7. – P. 8-9.
- 74 Глуховец Б.И., Иванова Л.А. Клиническое значение и методологические основы макроскопического исследования последов новорожденных // Архив патологии. – 2010. – №6. – С. 47-49.
- 75 Доброхотова Ю.Э., Милованов А.П., Хейдар Л.Х., Юшина М.В. Состояние фетоплацентарного комплекса у беременных с гестационным сахарным диабетом // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2006. – № 5. – С. 37-42.
- 76 Евсюкова И.И., Ильчукова О.В., Зубжицкая Л.Б. Роль плаценты в механизмах программирования заболеваний потомства при акушерской патологии // Съезд Российского общества детских патологов. – СПб.: Зеленогорск, 2012. – С. 34-37.
- 77 Захарова О.А., Забозлаев Ф.Г., Одновалов В.В. Роль морфологического скрининга плацент в оценке перинатальной патологии // «Внутриутробные инфекции плода и новорожденного»: мат. Всероссийской междисциплинарной науч.-практ. конф.. – Саратов, 2000. – С. 73-74.
- 78 Иванова Л.А., Белая Н.Б. Сравнительный анализ показателей массы плода и плаценты у мертво- живорожденных детей // Архив патологии. – 2010. – №6. – С. 50-51.
- 79 Ballantyne J.W. The diseases and deformities of the fetus: an attempt towards a system of antenatal pathology. – Edinburgh: Oliver and Boyd, 1892. – P34-39.
- 80 Karsdorp V.H., van Vugt J.M., van Geijn H.P. Clinical significance of absent or reversed end diastolic velocity waveforms in umbilical artery // Lancet. – 1994. – №344. – P. 1664-1668.
- 81 Thornburg K.L., Louey S. Fetal roots of cardiac disease // Heart. – 2005. – №91. – P. 867-868.
- 82 Economides D.L., Nicolaides K.H. Blood glucose and oxygen tension in small-for-gestational-age fetuses // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1989. – №160. – P. 120-126.

83 Li G., Xiao Y., Estrella J.L., Ducsay C.A., Gilbert R.D., Zhang L. Effect of fetal hypoxia on heart susceptibility to ischemia and reperfusion injury in the adult rat. *J. // Soc. Gynecol. Invest.* – 2003. – №10. – P. 265-274.

84 Fowden A.L., Giussani D.A., Forhead A.J. Endocrine and metabolic programming during intrauterine development // *Early Hum Dev.* – 2005. – № 81. – P. 723-734.

85 McMillen I., Robinson J.S. Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming // *Physiol Rev.* – 2005. – № 85. – P. 571-633.

86 Bertram C.E., Hanson M.A. Annual models and programming of metabolic syndrome // *Br Med Bull.* – 2001. – № 60. – P. 103-121.

87 Benirschke K., Kaufmann P., Baergen R. Pathology of the human placenta. – New York: Springer, 2006. – P. 380-451.

88 Roescher A.M., Timmer A., Hitzert M.M. et al. Placental pathology and neurological morbidity in preterm infants during first two weeks after birth // *Early Hum Dev.* – 2014. – № 90. – P. 21-5.

89 Камышанский Е.К., Костылева О.А., Тусупбекова М.М., Мусабекова С.А., Журавлев С.Н. Нарушение роста и незрелость плаценты как независимые факторы риска перинатальных осложнений // *Medicine.* – 2016. – № 12(174). – С. 113-117.

90 Лукьянова Е.В., Волощук И.Н., Липман А.Д., Михайлова А.И., Тютюнник В.Л. Роль нарушений формирования ворсинчатого дерева в патогенезе плацентарной недостаточности // *Акушерство и гинекология.* – 2009. – №2. – С. 5-8.

91 Милованов А.П., Федорова М.В. Корреляционные связи морфологических функциональных показателей плаценты и новорожденного при нормально доношенной, пролонгированной и истинно переношенной беременности // *Архив патологии.* – 2011. – №3(74). – С. 50-53.

92 Драндров Г.Л., Смирнова Т.Л. Патоморфологические особенности плацентарной недостаточности // *Казанский медицинский журнал.* – 2010. – №5. – С. 587-591.

93 Ожиганова И.Н. Патология беременности // Библиотека патологоанатома: науч.-практ. журнал. – СПб.: ГПАБ, 2015. – 128 с.

94 Hutcheon J., McNamara H., Platt R.W., Benjamin A., Kramer M.S. // *Obstet Gynecol.* – 2012. – №6. – P. 1251-8.

95 McNamara H., Hutcheon J.A., Platt R.W., Benjamin A., Kramer M.S. Risk factors for high and low placental weight // *Paediatr Perinat Epidemiol.* – 2014. – №28(2). – P. 97-105.

96 Шорманов С.В., Павлов А.В., Гансбургский А.Н., Яльцев А.В. Адаптационные структуры артериального русла плода и плаценты в условиях хронической фетоплацентарной недостаточности // *Архив патологии.* – 2014. – №3. – С. 41-46.

97 Тезиков Ю.В., Липатов И.С. Прогнозирование и диагностика тяжёлых форм плацентарной недостаточности // Акушерство и гинекология. – 2012. – №1. – С. 35-42.

98 Гриневич В.Н. Морфологические особенности гестационной перестройки спиральных артерий в первом триместре беременности при незрелости плаценты // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 5 – С. 37-42.

99 Кузнецов Р.А., Рачкова О.В., Перетятко Л.П. Морфологические критерии первичной плацентарной недостаточности // Вестник Российского университета дружбы народов. – 2011. – № 5. – С. 34-39.

100 Стрижаков А.Н., Волощук И.Н., Тимохина Е.В. Морфофункциональные изменения в плаценте при плацентарной недостаточности различной степени тяжести // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2010. – № 2. – С. 5-11.

101 Зубжицкая Л.Б. Изменения плаценты при сахарном диабете 1-го типа // Архив патологии. – 2008. – №2. – С. 14-17.

102 Баринова И.В. Патогенез антенатальной смерти: фенотипы плодовых потерь и танатогенез // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2015. – №15(1). – С. 68-78.

103 Глуховец Б.И., Глуховец Н.Г., Власюк В.В. Патогенетические основы гипоксической болезни плодов и новорожденных // Съезд Российского общества детских патологов. – СПб.: Зеленогорск, 2012. – С. 23-30.

104 Губина-Вакулик Г.И., Дороганова, А.В., Беляев, С.Г., Назаренко, Л.Г. Морфофункциональные особенности плаценты при малоподвижном образе жизни беременной // Здоровье женщины. – 2016. – № 3. – С. 83–87.

105 Доброхотова Ю.Э., Милованов А.П., Джобава Э.М., Дзейгова Э.А. Плацентарная недостаточность у беременных с хронической венозной недостаточностью: некоторые аспекты этиологии, патогенеза и диагностики // Вестник Российской ассоциации акушеров и гинекологов. – 2007. – № 1. – С. 11-13.

106 Kamyshanskiy Y.K., Vykova T., Vykova S., Altaev N., Dombaev A. Structural placental immaturity - A morphological diagnostic marker for assessment of hypoxic fetal distress // Материалы VIII международной научной конференции. – М., 2017. – С. 117-119.

107 Рец Ю.В. Роль плацентарных факторов в формировании перинатальной патологии при плацентарной недостаточности // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2010. – №3. – С. 92-96.

108 Смирнова Т.Л., Алексеева Т.А., Сергеева В.Е. Морфология плаценты при плацентарной недостаточности // Фундаментальные исследования. – 2009. – № 7. – С. 62-63.

109 Кузьмин В.Н. Фетоплацентарная недостаточность: проблема современного акушерства // Лечащий врач. – 2011. – № 3. – С. 2-7.

- 110 Забозлаев Ф.Г., Чехонацкая М.Л. Морфофункциональные особенности плаценты, плацентарного ложа и миометрия при нарушении родовой деятельности // Архив патологии. – 2004. – №5. – С. 24-27.
- 111 Кулида Л.В., Панова А., Перетятко Л.П. Роль плацентарных факторов в формировании перинатальной патологии при различных степенях тяжести гестоза // Архив патологии. – 2005. – №1. – С. 17-21.
- 112 Милованов А.П. Системный поход в акушерстве с позиции патолога // Вестник Российской ассоциации акушеров и гинекологов. – 1999. – № 2. – С. 98-101.
- 113 Милованов А.П., Решетникова О.С., Борзых А.Н. Морфофункциональная адаптация плаценты в условиях высокогорной гипоксии // Архив патологии. – 1988. – №2. – С. 52-56.
- 114 Павлов К.А., Дубова Е.А., Щеголев А.И. Мезенхимальная дисплазия плаценты // Акушерство и гинекология. – 2010. – №5. – С. 15-20.
- 115 Саимова С.Р. Плацентанын жеткіліксіз дамуы бойынша қауіп-қатерлі топтығы жүктілікті дифференциалдау әдісімен жүргізу // Астана медициналық журналы. – 2010. – №2. – С. 118-120.
- 116 Сухих Г.Т., Вихляева Е.М., Ванько Л.В. и др. Эндотелиальная дисфункция в генезе перинатальной патологии // Акушерство и гинекология. – 2008. – №5. – С. 3-7.
- 117 Тулекеев Т.М., Кенешбаев Б.К., Скайбаев К.Ш., Карамышева А.В., Бокеева Н.К. Особенности морфометрических показателей венозных сосудов плаценты жительниц юга Кыргызстана // Морфология. – 2008. – №2. – С. 137-139.
- 118 Щеголев А.И. Современная морфологическая классификация повреждений плаценты // Акушерство и гинекология. – 2016. – №4. – С. 16-23.
- 119 Камышанский Е. Нарушение роста и незрелость плаценты как независимые факторы риска перинатальных осложнений // Медицина. - 2016. - №12. - С. 113-117.
- 120 Evers I.M., Nikkels P.G., Sikkema J.M., Visser G.H. Placental pathology in women with type 1 diabetes and in a control group with normal and large-for-gestational-age infants // Placenta. – 2003. – №24. – P. 819-25.
- 121 Баринаова И.В., Котов Ю.Б., Складенко Г.А., Гурьева В.М., Бурумкулова Ф.Ф., Мельников А.П. Диагностическая ценность массы плаценты как критерия функционального состояния фетоплацентарного комплекса // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2010. – № 5. – С. 3-6.
- 122 Баринаова И.В., Савельев С.В., Котов Ю.Б. Особенности морфологической и пространственной структуры плаценты при антенатальной гипоксии плода // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2015. – №11. – С. 25-29.
- 123 Закурина А.Н., Коржевский Д.Э., Павлова Н.Г. Плацентарная недостаточность - морфо-функциональные параллели // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – № 5. – С. 51-55.

- 124 Глуховец Б.И., Рец Ю.В. Компенсаторные и патологические реакции плода при хронической фетоплацентарной недостаточности // Архив патологии. – 2008. – №2(70). – С. 59-62.
- 125 Lewis S.H., Perrin E. Pathology of the placenta. – Pennsylvania.: Churchill Livingstone, 1999. – 328 p.
- 126 Mikkola H.K. et al.: Placenta as a site for hematopoietic stem cell development // Exp. Hematol. – 2005. – №33. – P. 1048-1054.
- 127 Dieterlen-Lièvre F. On the origin of haemopoietic stem cells in the avian embryo: an experimental approach // J. Embryol. Exp. Morphol. – 1975. – №33. – P. 607-619.
- 128 Alvarez-Silva M. et al.: Mouse placenta is a major hematopoietic organ // Development. – 2003. – №130. – P. 5437-5444.
- 129 Gekas C. et al.: The placenta is a niche for hematopoietic stem cells // Dev. Cell. – 2005. – №8. – P. 365-375.
- 130 Ottersbach K., Dzierzak E. The murine placenta contains hematopoietic stem cells within the vascular labyrinth region // Dev. Cell. – 2005. – №8. – P. 377-387.
- 131 Rhodes K.E. et al.: The emergence of hematopoietic stem cells is initiated in the placental vasculature in the absence of circulation // Cell Stem Cell. – 2008. – №2. – P. 252-263.
- 132 Challier J.C. et al.: Immunocytological evidence for hematopoiesis in the early human placenta // Placenta. – 2005. – №26. – P. 282-288.
- 133 Barcena A. et al.: The human placenta is a hematopoietic organ during the embryonic and fetal periods of development // Dev. Biol. – 2009. – №327. – P. 24-33.
- 134 Zhang Y. et al.: Human placenta-derived mesenchymal progenitor cells support culture expansion of long-term culture initiating cells from cord blood CD34+ cells // Exp. Hematol. – 2004. – №32. – P. 657-664.
- 135 Barcena A. et al.: A new role for the human placenta as a hematopoietic site throughout gestation // Reprod. Sci. – 2009. – №16. – P. 178-187.
- 136 Robin C., Bollerot K., Mendes S. et al. Human placenta is potent hematopoietic niche containing hematopoietic stem and progenitor cells throughout development // Cell Stem Cell. – 2009. – №5. – P. 386-95.
- 137 Tavian M. et al.: The human embryo, but not its yolk sac, generates lymphomyeloid stem cells: mapping multipotent hematopoietic cell fate in intraembryonic mesoderm // Immunity. – 2001. – №15. – P. 487-495.
- 138 Tavian M., Peault B. Embryonic development of the human hematopoietic system // Int. J. Dev. Biol. – 2005. – №49. – P. 243-250.
- 139 Samokhvalov I.M. Deconvoluting the ontogeny of the hematopoietic stem cells // Cell Mol Life Sci. – 2014. – №71. – P. 957-78.
- 140 Lloyd J.E. Studies on the flash communication systems in Photinus fireflies // Univ Mich Misc Publ. - 1966. - №130. - P. 1-95.
- 141 Lloyd K.O., Kabat E.A. Immunochemical studies on blood groups. XLI. Proposed structures for the carbohydrate portions of blood group A, B, H, Lewis-a,

and Lewis-b substances // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1968. – №61. – P. 1470-1477.

142 Lloyd K.O., Kabat E.A., Licerio E. Immunochemical studies on blood groups XXXVIII. Structures and activities of oligosaccharides produced by alkaline degradation of blood group Lewis substance. Proposed structure of the carbohydrate chains of human blood group. A, B, H, Lea and Leb substances // Biochemistry. – 1968. – №7. – 2976 p.

143 Mourant A.E. A «New» Human Blood Group Antigen of Frequent Occurrence // Nature. – 1946. – №158. – P. 237-238.

144 Solter D., Knowles B.B. Monoclonal antibody defining a stage-specific mouse embryonic antigen (SSEA-1) // Proc Natl Acad Sci USA. – 1978. – №75(11). – P. 5565-9.

145 Eggens I., Fenderson B., Toyokuni T., Dean B., Stroud M., Hakomori S. Specific interaction between Lex and Lex determinants. A possible basis for cell recognition in preimplantation embryos and in embryonal carcinoma cells // J. Biol. Chem. – 1989. – №264. – P. 9476-9484.

146 Perez S., Mouhous-Riou N., Nifant'ev N.E., Tsvetkov Y.E., Bachet B., Imberty A. Crystal and molecular structure of a histo-blood group antigen involved in cell adhesion: the Lewis x trisaccharide // Glycobiology. – 1996. – №6. – P. 537-542.

147 Miller K.E., Mukhopadhyay C., Cagas P., Bush C.A. Solution structure of the Lewis x oligosaccharide determined by NMR spectroscopy and molecular dynamics simulations // Biochemistry. – 1992. – №31. – P. 6703-6709.

148 de la Fuente J., Eaton P., Barrientos A., Mene M. Thermodynamic Evidence for Ca²⁺-Mediated Self-Aggregation of Lewis X Gold Glyconanoparticles. A Model for Cell Adhesion via Carbohydrate-Carbohydrate Interaction // American Chemical Society. – 2005. – №127. – P. 6192-6197.

149 Nishihara S., Iwasaki H., Nakajima K., Togayachi A., Ikehara Y., Kudo T., Kushi Y., Furuya A., Shitara K., Narimatsu H. Alpha1,3-fucosyltransferase IX (Fut9) determines Lewis X expression in brain // Glycobiology. – 2003. – №13. – P. 445-455.

150 Shimoda Y., Tajima Y., Osanai T., Katsume A., Kohara M., Kudo T., Narimatsu H., Takashima N., Ishii Y., Nakamura S., Osumi N., Sanai Y. Pax6 controls the expression of Lewis x epitope in the embryonic forebrain by regulating alpha 1,3- fucosyltransferase IX expression // J Biol Chem. – 2002. – №277. – P. 2033-2039.

151 Becker D.J., Lowe J.B. Fucose: biosynthesis and biological function in mammals // Glycobiology. – 2003. – №13. – P. 41-53.

152 National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=4571095. pubchem.ncbi.nlm.nih.gov. 05.10.2018.

153 Florman H.M., Wassarman P. M. O-linked oligosaccharides of mouse egg ZP3 account for its sperm receptor activity // Cell. – 1985. – №41. –P. 313-324.

154 Johnston D.S., Wright W.W., Shaper J.H., Hokke C.H., Van. den. Eijnden D.H., Joziassse D.H., Murine sperm-zona binding, a fucosyl residue is required for a

high affinity sperm-binding ligand. A second site on sperm binds a nonfucosylated, β -galactosyl-capped oligosaccharide // *J. Biol. Chem.* – 1998. – №273. – P. 1888-1895.

155 Kerr C.L., Hanna W.F., Shaper J.H., Wright W.W. Lewis X-containing glycans are specific and potent competitive inhibitors of the binding of ZP3 to complementary sites on capacitated mouse sperm // *Biol Reprod.* – 2004. – №71(3). – P. 778-89.

156 Hanna W.F., Kerr C.L., Shaper J.H., Wright W.W. Lewis X-containing neoglycoproteins mimic the intrinsic ability of zona pellucida glycoprotein ZP3 to induce the acrosome reaction in capacitated mouse sperm *Biol Reprod* // *Biol Reprod.* – 2004. – №71(3). – P. 78-89.

157 Hakomori S. Carbohydrate-to-carbohydrate interaction, through glycosynapse, as a basis of cell recognition and membrane organization // *Glycoconj.* – 2004. – №21. – P. 125-137.

158 Fenderson B., Zehavi U., Hakomori S., A multivalent lacto-N-fucopentaose III-lysyllysine conjugate decompacts preimplantation mouse embryos, while the free oligosaccharide is ineffective // *J. Exp. Med.* – 1984. – №160. – P. 1591-1596.

159 Bird J.M., Kimber S.J. Oligosaccharides containing fucose linked $\alpha(1,3)$ and $\alpha(1,4)$ to N-acetylglucosamine cause decompaction of mouse morulae // *Dev. Biol.* – 1984. – №104(2). – P. 449-60.

160 Cui L., Johkura K., Yue F., Ogiwara N., Okouchi Y., Asanuma K., Sasaki K. Spatial distribution and initial changes of SSEA-1 and other cell adhesion-related molecules on mouse embryonic stem cells before and during differentiation//*J. Histochem. Cytochem.* – 2004. – №52 – P. 1447-1457.

161 Kudo Y., Guardavaccaro D., Santamaria P.G., Koyama-Nasu R., Latres E., Bronson R., Yamasaki L., Pagano M. 2004. Role of F-box protein *Trop1* in mammary gland development and tumorigenesis // *Mol. Cell. Biol.* – 2004. – №24. – P. 8184-8194.

162 Urven L.E., Abbott U.K. Erickson C.A. Distribution of extracellular matrix in the migratory pathway of avian primordial germ cells // *The Anatomical Record.* – 1988. – №224. – P. 14-21.

163 Loveless W., Beilairs R. Thorpe S.J., Page M., Feizi T. Developmental patterning of the carbohydrate antigen FC 10.2 during early embryogenesis in the chick// *Development.* – 1990. – №108. – P. 97-106.

164 Karagenç L., Cinnamon Y., Ginsburg M., Petite J.N. Origin of primordial germ cells in the prestreak chick embryo // *Dev. Genet.* – 1996. – №19. – P. 290-301.

165 Fox M., Damjanov I., Martinez-Hernandez A., Knowles B.B., Solter, D. Immunohistochemical localization of the early embryonic antigen (SSEA1) in postimplantation mouse embryos and foetal and adult tissues// *Dev. Biol.* – 1981. – №83. – P. 391-398.

166 Draper J.S., Pigott C., Thomson J.A., Andrews P.W. Surface antigens of human embryonic stem cells: changes upon differentiation in culture // *J. Anat.* – 2002. – №20. – P. 249-258.

- 167 Donovan P.J., Stott D., Cairns L.A., Heasman J., Wylie C.C. Migratory and post migratory germ cells behave differently in culture // *Cell*. – 1986. – №44. – P. 831-838.
- 168 Halfter W., Schurer B., Hasselhorn H.M., Christ B., Gimpel E., Epperlein H.H. An ovomucin-like protein on the surface of migrating primordial germ cells of the chick and rat // *Development*. – 1996. – №122. – P. 915-923.
- 169 Takagi Y. et al.: Identification of elongin C sequences required for interaction with the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein // *J Biol Chem*. – 1997. – №272(43). – P. 27444-9.
- 170 D'Costa S., Petitte J.N., Characterization of stage-specific embryonic antigen-1 (SSEA-1) expression during early development of the turkey embryo // *Int J Dev Biol*. – 1999. – №43. – P. 349-356.
- 171 Ukeshima A., Yoshinaga K., Fujimoto T. Scanning and transmission electron microscopic observations of chick primordial germ cells with special reference to the extravasation in their migration course // *Journal of Electron Microscopy*. – 1991. – №40. – P. 124-128.
- 172 Gomberts M., Garcia-Castro M., Wylie C., Heasman J. Interactions between primordial germ cells play a role in their migration in mouse embryos // *Development*. – 1994. – №120. – P. 135-141.
- 173 Gomberts M., Wylie C., Heasman J. Primordial germ cell migration // *Germline development. Ciba Found Symp*. – 1994. – №182. – P. 121-134.
- 174 Yue W., Pi Q.M., Zhang W.J., Zhou G.D., Cui L., Liu W., Cao Y. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1, stage-specific embryonic antigen-1, and Flk-1 mark distinct populations of mouse embryonic stem cells during differentiation toward hematopoietic/endothelial cells // *Stem Cells Dev*. – 2010. – №19(12). – P. 1937-48.
- 175 French-Constant C., Hollingsworth A., Heasman J., Wylie C.C. Response to fibronectin of mouse primordial germ cells before, during and after migration // *Development*. – 1991. – №113. – P. 1365-74.
- 176 Stevens L.C. (1964) Experimental production of testicular teratomas in mice // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 1964. – № 52. – P. 654-661.
- 177 Martin G.R., Lock L.F. Pluripotent cell lines derived from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. In *Teratocarcinoma Stem Cells* // Cold Spring Harbor Laboratory. – 1983. – P. 65-68.
- 178 Pain B., Clark H., Nakazawa M., Sakurai J., Etches R.J. Long term culture and characterization of avian embryonic stem cells with multiple morphogenetic capabilities // *Development*. – 1996. – №122. – P. 2339-2348
- 179 Resnick J.L., Bixler L.S., Cheng L., Donovan P.J. Long-term proliferation of mouse primordial germ cells in culture // *Nature*. – 1992. – №359. – P. 550-551.
- 180 Furusawa T., Ohkoshi K., Honda C., Takahashi S., Tokunaga T. Embryonic stem cells expressing both platelet endothelial cell adhesion molecule-1 and stage-specific embryonic antigen-1 differentiate predominantly into epiblast cells in a chimeric embryo // *Biol Reprod*. – 2004. – №70. – P. 1452-1457.

- 181 Liu S., Liu H., Tang S., Pan Y., Ji K., Ning H., Wang S., Qi Z., Li L. Characterization of stage-specific embryonic antigen-1 expression during early stages of human embryogenesis // *Oncol. Rep.* – 2004. – №12(6). – P. 1251-6.
- 182 Wenxiu Z., Xiang J., Fangfang Z., Liang L., Lan M.. Embryonic Stem Cell Markers // *Molecules.* – 2012. – №17. – P. 6196-6236.
- 183 Capela A., Temple S. LeX is expressed by principle progenitor cells in the embryonic nervous system, is secreted into their environment and binds Wnt-1// *Dev Biol.* – 2006. – №291. – P. 300-313.
- 184 Ashwell K.W., Mai J.K. A transient CD15 immunoreactive sling in the developing mouse cerebellum // *Int J Dev Neurosci.* – 1997. – №15 – P. 883-889.
- 185 Brito C., Danglotc L., Gallic T., Costaa J. Subcellular localization of the carbohydrate Lewisx adhesion structure in hippocampus cell cultures // *Brain Res.* – 2009. – №1287. – P. 39-46.
- 186 Sajdel-Sulkowska E.M. Immunofluorescent detection of CD15-fucosylated glycoconjugates in primary cerebellar cultures and their function in glial-neuronal adhesion in the central nervous system // *Acta Biochim Pol.* – 1998. – №45. – P. 781-790.
- 187 Streit A., Yuen C.T., Loveless R.W., Lawson A.M., Finne J., Schmitz B., Feizi T., Stern C.D. The Le(x) carbohydrate sequence is recognized by antibody to L5, a functional antigen in early neural development // *J Neurochem.* – 1996. – №66. – P. 834-844.
- 188 Gocht A. The subcellular localization of the carbohydrate epitope 3-fucosyl-Nacetyllactosamine is different in normal and reactive astrocytes // *Acta Anat. (Basel).* – 1999. – №145. – P. 434-441.
- 189 Lagenaur C., Schachner M., Solter D., Knowles B. Monoclonal antibody against SSEA-1 is specific for a subpopulation of astrocytes in mouse cerebellum // *Neurosci Lett.* – 1982. – №31. – P. 181-184.
- 190 Gocht A., Struckhoff G., Lohler J. The carbohydrate epitope 3-fucosyl-Nacetyllactosamine is region-specifically expressed in astrocytes of the rat brain. Light- and electron-microscopical observations // *Acta Anat (Basel).* – 1994. – №150. – P. 205-216.
- 191 Yamamoto M., Boyer A.M., Schwarting G.A. Fucose-containing glycolipids are stage- and region-specific antigens in developing embryonic brain of rodents // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 1985. – №82. – P. 3045-3049.
- 192 Oudega M., Marani E., Thomeer R.T. Transient expression of stage-specific embryonic antigen-1 (CD15) in the developing dorsal rat spinal cord // *Histochem. J.* – 1992. – №24. – P. 869- 877.
- 193 Plank J., Mai J.K. Developmental expression of the 3-fucosyl-N-acetyllactosamine/CD15 epitope by an olfactory receptor cell subpopulation and in the olfactory bulb of the rat // *Brain Res Dev Brain Res.* – 1992. – №66. – P. 257-261.
- 194 Mai J.K., Winking R., Ashwell K.W. Transient CD15 expression reflects stages of differentiation and maturation in the human subcortical central auditory pathway // *J Comp Neurol.* – 1999. – №404. – P. 197-211.

- 195 Koso H., Ouchi Y., Tabata Y., Aoki Y., Satoh S., Arai K., Watanabe S. SSEA-1 marks regionally restricted immature subpopulations of embryonic retinal progenitor cells that are regulated by the Wnt signaling pathway // *Dev Biol.* – 2006. – №292. – P. 265-276.
- 196 Andressen C., Mai J.K. Localization of the CD15 carbohydrate epitope in the vertebrate retina // *Vis. Neurosci.* – 1997. – №14. – P. 253-262.
- 197 Sun D., Kalloniatis M. Mapping glutamate responses in immunocytochemically identified neurons of the mouse retina // *J. Comp Neurol.* – 2006. – №494. – P. 686-703.
- 198 Meyer zum G.A., Mai J.K. Pre- and postnatal expression of glycoconjugates (3- fucosyl-N-acetyllactosamine and HNK-1 epitopes) in the mouse inner // *Int. J. Dev. Neurosci.* – 1997. – №15. – P. 645-656.
- 199 Hozawa K., Wataya H., Takasaka T., Fenderson B.A., Hakomori S. Hearing and glycoconjugates: localization of Le(y), Le(x) and sialosyl-Le(x) in guinea pig cochlea, particularly at the tectorial membrane and sensory epithelia of the organ of Corti // *Glycobiology.* – 1993. – №3. – P. 47-55.
- 200 Mai J.K., Andressen C., Ashwell K.W. Demarcation of prosencephalic regions by CD15-positive radial glia // *Eur J Neurosci.* – 1998. – №10. – P. 746-751.
- 201 Mai J.K., Bartsch D., Marani E. CD15 and HNK-1 reveal cerebellar compartments with a complex overlap // *Eur J Morphol.* – 1995. – №33. – P. 101-107.
- 202 Bartsch D., Mai J.K. Distribution of the 3-fucosyl-N-acetyl-lactosamine (FAL) epitope in the adult mouse brain // *Cell Tissue Res.* – 1991. – №263. – P. 353-366.
- 203 Capela A., Temple S. LeX/ssea-1 is expressed by adult mouse CNS stem cells, identifying them as nonependymal // *Neuron.* – 2006. – №35. – P. 865-875.
- 204 Imura T., Nakano I., Kornblum H.I., Sofroniew M.V. Phenotypic and functional heterogeneity of GFAP-expressing cells in vitro: differential expression of LeX/CD15 by GFAP-expressing multipotent neural stem cells and non-neurogenic astrocytes // *Glia.* – 2006. – №53. – P. 277- 293.
- 205 Santos-Benito F.F., Fernandez-Mayoralas A., Martin-Lomas M., Nieto-Sampedro M. Inhibition of proliferation of normal and transformed neural cells by blood group-related oligosaccharides // *J. Exp. Med.* – 1992. – №176. – P. 915-918.
- 206 Kerr M.A., Stocks S.C. The role of CD15-(LeX)-related carbohydrates in neutrophil adhesion // *Histochem. J.* – 1992. – №24. – P. 811-826.
- 207 Nakayama F., Nishihara S., Iwasaki H., Kudo T., Okubo R. et al.: CD15 expression in mature granulocytes is determined by alpha 1,3-fucosyltransferase IX, but in promyelocytes and monocytes by alpha 1,3-fucosyltransferase IV // *J. Biol. Chem.* – 2001. – №276. – P. 16100-16106.
- 208 Thorpe S.J., Feizi T. Species differences in the expression of carbohydrate differentiation antigens on mammalian blood cells revealed by immunofluorescence with monoclonal antibodies//*Bioscience Reports.* – 1984. – №4. – P. 673-685.

- 209 Bergman M., Prete G., Del van Kooyk Y., Appelmelk B. Helicobacter pylori phase variation, immune modulation and gastric autoimmunity // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2006. – №4. – P. 151-159.
- 210 Duck W., Sobel J., Pruckler J. et al.: Antimicrobial resistance incidence and risk factors among Helicobacter pylori-infected persons // *United States. Emerg Infect Dis.* – 2004. – №6. – P. 1088-1094.
- 211 Appelmelk B.J., Shibaru B., Trinks C. et al.: Phase variation in Helicobacter pylori lipopolysaccharide // *Infect. Immun.* – 1998. – №66. – P. 70-76.
- 212 Taylor K.L., Mall A.S., Barnard R.A., Ho S.B., Cruse J.P. Immunohistochemical detection of gastric mucin in normal and disease states // *Oncol. Res.* – 1998. – №10. – P. 465-473.
- 213 Edwards N.J., Monteiro M.A., Faller G., Walsh E.J., Moran A.P., Roberts I.S., and High N.J. Lewis x structures in the O-chain side-chain promote adhesion of Helicobacter pylori to the gastric epithelium // *Mol. Microbiol.* – 2000. – №35. – P. 1530-1539.
- 214 Sheu S.M., Sheu B.S., Yang H.B., Lei H.Y., Wu J.J. Anti-Lewis X antibody promotes Helicobacter pylori adhesion to gastric epithelial cells // *Infection and Immunity.* – 2007. – №75. – P. 2661-2667.
- 215 Appelmelk B.J., Appelmelk B.J., Monteiro M.A., Martin S. L., Moran A. P., Vandenbroucke-Grauls C. M. Why Helicobacter pylori has Lewis antigens // *Trends Microbiol.* – 2000. – №8(12). – P. 565-70.
- 216 Guruge J.L., Falk P.G., Lorens R.G. et al.: Epithelial attachment alters the outcome of Helicobacter pylori infection // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – №95 (7). – P. 3925-3930.
- 217 Takata T., Aras R., Tavakoli D., Ando T., Olivares A.Z., Blaser M.J. Phenotypic and genotypic variation in methylases involved in type II restriction-modification systems in Helicobacter pylori // *Nucleic Acids Res.* – 2002. – №30 (11). – P. 2444-2452.
- 218 Ko A.I., Drager U.C., Harn D.A. A Schistosoma mansoni epitope recognized by a protective monoclonal antibody is identical to the stage-specific embryonic antigen 1 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1990. – №87 (11). – P. 4159-4163.
- 219 Wuhrer M., Koeleman C.A., Fitzpatrick J.M., Hoffmann K.F., Deelder A.M., Hokke C.H. Gender-specific expression of complex-type N-glycans in schistosomes // *Glycobiology.* – 2006. – №16 (10). – P. 991-1006.
- 220 Velupillai P, dos Reis E.A., dos Reis M.G., et al.: Lewis(x)-containing oligosaccharide attenuates schistosome egg antigen-induced immune depression in human schistosomiasis // *Hum. Immunol.* – 2000. – № 61(3). – P. 225-232.
- 221 Van Die I. et al.: The dendritic cell-specific C-type lectin DC-SIGN is a receptor for Schistosoma mansoni egg antigens and recognizes the glycan antigen Lewis x // *Glycobiology.* – 2003. – №13. – P. 471-478.
- 222 Van Gisbergen K.P., Sanchez-Hernandez M., Geijtenbeek T.B. and van Kooyk Y. Neutrophils mediate immune modulation of dendritic cells through

glycosylation-dependent interactions between Mac-1 and DC-SIGN // *J. Exp. Med.* – 2005. – № 201(8). – P. 1281-1292.

223 Van Gisbergen K.P., Ludwig I.S., Geijtenbeek T.B., van Kooyk Y. Interactions of DC-SIGN with Mac-1 and CEACAM1 regulate contact between dendritic cells and neutrophils // *FEBS Lett.* – 2005. – №579. – P. 6159-6168.

224 Van Gisbergen K.P. Aarnoudse C.A., Meijer G.A., Geijtenbeek T.B., Van Kooyk Y. Dendritic cells recognize tumor-specific glycosylation of carcinoembryonic antigen on colorectal cancer cells through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin // *Cancer Res.* – 2005. – №65. – P. 5935-5944.

225 Naarding M.A., Ludwig I.S., Groot F., Berkhout B., Geijtenbeek T.B., Pollakis G., et al.: Lewis X component in human milk binds DC-SIGN and inhibits HIV-1 transfer to CD4⁺ T lymphocytes // *J. Clin. Invest.* – 2005. – №115 (11). – P. 3256-3264.

226 Naarding M.A., Dirac A.M., Ludwig I.S., Speijer D., Lindquist S., Vestman E.L. et al.: Bile salt-stimulated lipase from human milk binds DC-SIGN and inhibits human immunodeficiency virus type 1 transfer to CD4⁺ T cells // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2006. – №50. – P. 3367-3374.

227 Cebulla C.M., Miller D.M., Knight D.A., Briggs B.R., McGaughy V., Sedmak D.D. Cytomegalovirus induces sialyl Lewis(x) and Lewis(x) on human endothelial cells // *Transplantation.* – 2000. – №69(6). – P. 1202-1209.

228 Fox N., Damjanov I., Knowles B.B., Solter D. Immunohistochemical localization of the mouse stage-specific embryonic antigen 1 in human tissues and tumors // *Cancer Res.* – 1983. – №43. – P. 669-678.

229 Gocht A., Gocht A., Struckhoff G., Lhler J. CD15-containing glycoconjugates in the central nervous system // *Histol. Histopathol.* – 1996. – №11. – P. 1007-1028.

230 Dinand V., Dinand V., Malik A., Unni R. Proliferative index and CD15 expression in pediatric classical Hodgkin lymphoma // *Pediatr. Blood Cancer.* – 2008. – №50. – P. 280-283.

231 Pellegrini E., Mouriec K., Anglade I., et al.: Identification of aromatase-positive radial glial cells as progenitor cells in the ventricular layer of the forebrain in zebrafish // *J. Comp. Neurol.* – 2007. – №501. – P. 150-167.

232 Sakamoto J., Furukawa K., Cordon-Cardo C. et al. Expression of Lewis^a, Lewis^b, X, and Y blood group antigens in human colonic tumors and normal tissue and in human tumor-derived cell lines // *Cancer Res.* – 1986. – №46. – P. 1553-1561.

233 Murata K., Egami H., Shibata Y., Sakamoto K., Misumi A., Ogawa M. Expression of blood group-related antigens, ABH, Lewis (a), Lewis (b), Lewis (x), Lewis (y), CA19-9, and CSLEX1 in early cancer, intestinal metaplasia, and uninvolved mucosa of the stomach // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1992. – №98. – P. 67-75.

234 Yin B.W., Finstad C.L., Kitamura K et al.: Serological and immunochemical analysis of Lewis y (Ley) blood group antigen expression in epithelial ovarian cancer // *Int. J. Cancer.* – 1996. – №65. – P. 406-410.

- 235 Leong A., Cooper K., Leong F. Manual of Diagnostic Cytology. – Greenwich Medical Media, 2003. – P. 83-84.
- 236 Son M.J., Woolard K., Nam D.H. et al.: SSEA-1 is an enrichment marker for tumor-initiating cells in human glioblastoma // Cell Stem Cell. – 2009. – № 4. – P. 440-452.
- 237 Reifenberger G., Sieth P., Niederhaus M., Wechsler W. Expression of CD15 in tumours of the nervous system // Histochem J. – 1992. – №24. – P. 890-901.
- 238 Seidmann L., Anspach L., Roth W. The embryo-placental CD15-positive «vasculogenic zones» as a source of propranolol-sensitive pediatric vascular tumors // Placenta. – 2016. – №38. – P. 93-99.
- 239 Halloran M.M., Carley W.W., Polverini P.J., Haskell C.J., Phan S., Anderson B.J, Woods J.M., Campbell P.L., Volin M.V., Bäcker A.E., Koch A.E. Ley/H: an endothelial-selective, cytokine-inducible, angiogenic mediator // J Immunol. – 2000. – №1/164(9). – P. 4868-77.
- 240 Berkowitz R.S., Alberti O. Jr., Hunter N.J. et al.: Localization of stage-specific embryonic antigens in hydatidiform mole, normalplacenta, and gestational choriocarcinoma // Gynecol. Oncol. – 1985. – №20. – P. 71-77.
- 241 Candelier J.J., Frappart L., Diatta A.L. et al.: Differential expression of E-cadherin, β -catenin, and Lewis x between invasive hydatidiform moles and post-molar choriocarcinomas // Virchows Arch. – 2013. – №462. – P. 653-663.
- 242 Ritter M.R., Reinish J., Friendlander S.F., Friendlander M. Myeloid cells in infantile hemangioma // Am J Pathol. – 2006. – №168. – P. 621-628.
- 243 Knight T.T. Gonzales J.A. Rary J.M. Rush D.S. Current concepts for the surgical management of carotid body tumor//American Journal of Surgery. – 2006. – №191 (1). – P. 104- 110.
- 244 Itinteang T., Tan S.T., Brasch H.D. et al.: Infantile haemangioma expresses embryonic stem cell markers // J Clin Pathol. – 2012. – №65. – P. 394-8.
- 245 Navarrete M., Hernández A., Collado-Ortiz M. et al.: Brain vascular lesions: a clinicopathologic, immunohistochemistry, and ultrastructural approach // Annals of Diagnostic Pathology. – 2014. – №18. – P. 193-198
- 246 Цинзерлинг В.А. Методические рекомендации по построению диагноза у умерших детей/плодов и по исследованию последов. – Санкт-Петербург.: Зеленогорск, 1995. – 21 с.
- 247 Raymond W. Redline Classification of placental lesions //American Journal of Obstetrics & Gynecology. – 2015. – №213. – P. 21-28.
- 248 Vogel M. Atlas der morphologischen Plazentadiagnostik. – Berlin: Springer. 1996. – 314 p.
- 249 Remmele W., Stegner H.E. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue // Pathologie. – 1987. –№ 8. – P. 138-140.
- 250 Зайдман Л.Н., Камышанский Е.К., Тусупбекова М.М. Латентная хроническая недостаточность плаценты с антенатальной гибелью плода сопровождается увеличением CD15+ прогениторов в макроваскулярных

сосудах плаценты // Материалы V Съезда Российского общества патологоанатомов. – Челябинск, 2017. – С. 108.

251 Ravikumar G., Crasta J., Prabhu J., Thomas T., Dwarkanath P. CD15 as a marker of fetoplacental endothelial immaturity in IUGR placentas // The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. – 2017. – DOI: 10.1080 / 14767058.2017.1414179. – P. 1-8.

252 Baschat A.A, Gembruch U., Reiss I. et al.: Relationship between arterial and venous Doppler and perinatal outcome in fetal growth restriction // Ultrasound in obstetrics gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. – 2000. – №16(5). – P. 407-13.

253 Molteni R.A. Placental growth and placental fetal weight p/f ratios throughout gestation their relationship to patterns of fetal growth // Seminars in Perinatology. – 1984. – №8. – 94 p.

254 Baptiste K.R., Salafia C.M., Nicholson W.K., Anne D., Wang N.Y., Brancati F.L. Maternal risk factor for abnormal placental growth//The National Collaborative Perinatal Project. – 2008. – №8. – 44 p.

255 Coan P.M., Angiolini E., Sandovici I. et al. Adaptations in placental nutrient transfer capacity to meet fetal growth demands depend on placental size in mice // The Journal of physiology. – 2008. – №1. – P. 4567-76.

256 Jitendra P., Ravi D.P., Ritesh K.S. Morphological study of placenta in normal uncomplicated pregnancy in Gujarat region // International Journal of Biological & Medical Research. – 2013. – №4(2). – P. 3155-3158.

257 Kouvalainen K., Pynnonen A.I., Mkaarainen M., Peltonen T. Weights of placental membranes and Umbilical cord // Duodecim. – 1971. – №87(17). – P. 1210-1214.

258 Lorijn R.H., Longo L.D. Clinical and physiologic implications of increased fetal oxygen consumption // American journal of obstetrics and gynecology. – 1980. – №136(4). – P. 451-7.

259 Misra D.P., Salafia C.M., Miller R.K., Charles A.K. Non-linear and gender-specific relationships among placental growth measures and the fetoplacental weight ratio // Placenta. – 2009. – №30. – P. 1052-57.

260 Thomson A.M., Billewicz W.Z., Hytten F.E. The weight of the placenta in relation to birthweight// The Journal of obstetrics and gynaecology of the British Commonwealth. – 1969. – №76(10). – P. 865-72.

261 Soma H., Yoshida K., Mukaida T., Tabuchi Y. Morphologic changes in the hypertensive placenta // Contributions to gynecology and obstetrics. – 1982. – №9. – P. 58-75.

262 Seidmann L, Kamyshanskiy Y., Martin S.Z., Fruth A, Roth W. Immaturity for gestational age of microvasculature and placental barrier in term placentas with high weight // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2017. – №15. – P. 134-140.

263 Sankar K.D., Bhanu P.S., Kiran S., Ramakrishna B.A., Shanthi V. Vasculosyncytial membrane in relation to syncytial knots complicates the placenta in preeclampsia: a histomorphometrical study // Anat Cell Biol. – 2012. – №45(2). – P. 86–91.

264 Gordijn S.J., Korteweg F.J., Erwich J.J., et al.: Placental villus immaturity as an important cause of term fetal death. In: Gordijn SJ, editor. On perinatal pathology: aspects of perinatal autopsy, placental pathology and classification of perinatal mortality // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2009. – №144. – P. 99–104.

265 Charlton V., Johengen M. Fetal intravenous nutritional supplementation ameliorates the development of embolization-induced growth retardation in sheep // *Pediatricresearch*. – 1987. – №22(1). – P. 55-61.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права

СВИДЕТЕЛЬСТВО о государственной регистрации прав на объект авторского права	№ <u>2468</u> г. <u>24 октября 2017</u>
<p>Настоящим удостоверяется, что в Министерстве юстиции Республики Казахстан зарегистрированы исключительные имущественные права на объект авторского права под названием «Алгоритм клинико-морфологической оценки недостаточности плаценты от одноплодной берменности третьего триместра» (произведение науки), авторами которого по заявлению авторов являются Камышанский Евгений Константинович, Тусупбекова Майда Масхаповна, Костылева Ольга Андреевна.</p> <p>По заявлению авторов исключительные имущественные права на объект авторского права, созданный 22 сентября 2017 года, принадлежат Камышанскому Е.К., Тусупбековой М.М., Костылевой О.А. и авторы гарантируют, что при создании вышеуказанного объекта не были нарушены права интеллектуальной собственности других лиц.</p> <p>Запись в реестре за № <u>2468</u> от <u>24 октября 2017</u> года имеется.</p>	
<p>Заместитель министра Ж. Ешмагамбетов</p>  <p>ИС 010202</p>	

Авторлық құқық объектісіне құқықтарды мемлекеттік тіркеу туралы	№ <u>2468</u> ж. <u>24 қазан 2017</u>
ҚУӘЛЖ	
<p>Қазақстан Республикасы Әділет министрлігінде авторлардың өтініші бойынша авторлары Евгений Константинович Камышанский, Майда Масхаповна Тусупбекова, Ольга Андреевна Костылева болып табылатын авторлық құқықпен қорғалатын объектіге айрықша мүлдік құқықтар «Алгоритм клинико-морфологической оценки недостаточности плаценты от одноплодной берменности третьего триместра» (ғылыми туынды) атауымен тіркелгені куәландырылады.</p> <p>Авторлардың өтініші бойынша авторлық құқықпен қорғалатын объектіге айрықша мүлдік құқықтар және 2017 жылы 22 қыркүйекте жасаған объекті Е.К. Камышанский, М.М. Тусупбекова, О.А. Костылеваға тиесілі және авторлар жоғарыда көрсетілген объектіні жасаған кезде басқа адамдардың зияткерлік меншік құқығы бұзылмағандығына кепілдік береді.</p> <p>Тізілімде 2017 жылы 24 қазанда жасалған № <u>2468</u> жазба бар.</p>	
<p>Министрдің орынбасары Ж. Ешмагамбетов</p> 	

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Акты внедрения алгоритма клинико-морфологической оценки исследования недостаточности плаценты от одноплодной беременности третьего триместра

Ф КГМУ 4/7-04/04
ПП КГМУ 4/04



УТВЕРЖДАЮ
Директор КГП
«Областная клиническая больница»
Абеуов М.Е.

АКТ

Внедрения результатов научно-исследовательской работы

КГП «Областная клиническая больница», патологоанатомическое отделение
(наименование учреждения, где внедряется работа)

Наименование предложения «Протокол клинико-морфологического исследования плаценты»

Работа внедрена в инициативном порядке, из объекта авторского права (произведения науки) «Алгоритм клинико-морфологической оценки недостаточности плаценты от одноплодной беременности третьего триместра», (свидетельство о регистрации прав на объект авторского права №2468 от 24 октября 2017г. ИС 010202)

(союзного, республиканского, областного планов внедрения, планов внедрения научно-исследовательских, учебных институтов, внедрения в инициативном порядке, заимствована из методических рекомендаций, журнальных статей, диссертаций, монографий – указать)

Форма внедрения протокол (бланк) клинико-морфологического исследования плаценты
(внедрения метода, способа, аппарата в лечебно-профилактическом учреждении, лекции, семинары, подготовки на рабочем месте и прочее – указать)

Ответственный за внедрение и исполнитель: Тусупбекова М.М., заведующий кафедрой патологической анатомии Карагандинского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор; Камышанский Е.К., врач-патологоанатом КГП «Областной медицинский центр», докторант PhD специальности 6D 110100 «Медицина»; Костылева О.А., ассистент кафедры патологической анатомии Карагандинского государственного медицинского университета

Эффективность внедрения оптимизация клинико-патологоанатомического исследования плаценты

Предложения, замечания учреждения, осуществляющего внедрение

Сроки внедрения: с _____ 2017 года

Председатель комиссии _____ Тусупбекова М.М.

Члены (ответственные за внедрение):

Тусупбекова М.М.
Камышанский Е.К.
Костылева О.А.

Исполнитель:

Камышанский Е.К.

Ф КГМУ 4/7-04/04
ПП КГМУ 4/04



АКТ

Внедрения результатов научно-исследовательской работы

КГП «Областной медицинский центр», патологоанатомическое отделение
(наименование учреждения, где внедряется работа)

Наименование предложения «Протокол клинко-морфологического исследования плаценты»

Работа внедрена в инициативном порядке, из объекта авторского права (произведения науки) «Алгоритм клинко-морфологической оценки недостаточности плаценты от одноплодной беременности третьего триместра», (свидетельство о регистрации прав на объект авторского права №2468 от 24 октября 2017г. ИС 010202)

(союзного, республиканского, областного планов внедрения, планов внедрения научно-исследовательских, учебных институтов, внедрения в инициативном порядке, заимствована из методических рекомендаций, журнальных статей, диссертаций, монографий – указать)

Форма внедрения протокол (бланк) клинко-морфологического исследования плаценты
(внедрения метода, способа, аппарата в лечебно-профилактическом учреждении, лекции, семинары, подготовки на рабочем месте и прочее – указать)

Ответственный за внедрение и исполнитель: Тусупбекова М.М., заведующий кафедрой патологической анатомии Карагандинского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор; Камышанский Е.К., врач-патологоанатом КГП «Областной медицинский центр», докторант PhD специальности 6D 110100 «Медицина»; Костылева О.А., ассистент кафедры патологической анатомии Карагандинского государственного медицинского университета

Эффективность внедрения оптимизация клинко-патологоанатомического исследования плаценты

Предложения, замечания учреждения, осуществляющего внедрение

Сроки внедрения: с _____ 2017 года

Председатель комиссии _____ Тусупбекова М.М.

Члены (ответственные за внедрение):

Тусупбекова М.М.
Камышанский Е.К.
Костылева О.А.

Исполнитель:

Камышанский Е.К.