

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ПЕДІАТРІЇ, АКУШЕРСТВА І
ГІНЕКОЛОГІЇ ІМЕНІ АКАДЕМІКА О.М. ЛУК'ЯНОВОЇ НАЦІОНАЛЬНОЇ
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

БОНДАРЕНКО ЮРІЙ МИХАЙЛОВИЧ

УДК 618.3-06:611.013.85+576.362:616.891

ДИСЕРТАЦІЯ
МОРФОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТОВБУРОВИХ
КЛІТИН ПЛАЦЕНТАРНОГО БАР'ЄРУ ЖІНОК НА ФОНІ ХРОНІЧНОГО
СТРЕСУ У ВАГІТНИХ ПРИ НЕВИНОШУВАННІ

222 «Медицина»
22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 Ю.М. Бондаренко

Науковий керівник - Задорожна Тамара Данилівна, завідувачка лабораторії
патоморфології, член-кор. НАМН України, професор.

Київ – 2023

АНОТАЦІЯ

Бондаренко Ю. М. Морфологічні та імуногістохімічні особливості стовбурових клітин плацентарного бар'єру жінок на фоні хронічного стресу у вагітних при невиношуванні. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктор філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (22 Охорони здоров'я). - ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України», Київ 2023.

Зміст анотації.

Дисертаційна робота присвячена удосконаленню діагностики та прогнозування уражень плаценти жінок за хронічного стресу різного генезу.

Діагностика уражень гістопатологічних змін плаценти, котрі впливають на здоров'я плода та матері, а також прогнозування перебігу вагітності мають важливе значення для працівників наукової та клінічної сфери. Особливо це актуально у зв'язку з появою нових стресових факторів (радіаційні катастрофи, пандемія COVID-19, воєнний стан). Також дуже важливим є визначення регенераторних можливостей стовбурових клітин плаценти та впливу на них факторів хронічного стресу.

На даний час є не вивченими і потребують уточнення особливості впливу COVID-19 на плаценту, а також структурні особливості стовбурових клітин під впливом патологічних факторів, пов'язаних з хронічним стресом.

Дисертаційна робота виконана в ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України», є фрагментом науководослідних робіт: «Розробити новітні та вдосконалити існуючі технології діагностики, профілактики та лікування передчасного переривання вагітності у жінок з невиношуванням з урахуванням паспорта плаценти» (№ держреєстрації: 0118U000039); «Дослідити стан системи згортання крові матково-плацентарно-плодового кровообігу та плаценти у вагітних, що перенесли коронавірусне інфікування» (№ держреєстрації 0121U110585).

Метою даної роботи було визначення морфологічних та імуногістохімічних особливостей стовбурових клітин плацентарного бар'єру жінок на фоні хронічного стресу, який обумовлений хронічним внутрішнім опроміненням; пост-COVID періодом, передчасними пологами.

У зв'язку з тим, що проаналізовані нами данні досліджень проведених в інших країнах мають суперечливий характер, ціллю нашого дослідження було виявлення морфологічних та імуногістохімічних особливостей плацент жінок в залежності від терміну перенесеного COVID-19.

В основу дисертаційної роботи покладено результати власних спостережень з застосуванням патоморфологічних, імуногістохімічних, ультраструктурних методів дослідження плаценти жінки.

Для визначення гістопатологічних особливостей та закономірностей уражень плаценти (плацентарної дисфункції) на базі ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України» було проведено гістологічне та імуногістохімічне дослідження 100 плацент жінок з урахуванням новітньої класифікації уражень плаценти Amsterdam (2015-16 р.), та сертифікату плаценти (авторське право 2016 р.) на основі протоколу плаценти (затвердженого наказом МОЗ України від 19.08.2004 № 417). Було досліджено плаценти жінок з передчасними пологами в терміні 22-36 тижнів гестації, плаценти від жінок з хронічним стресом, обумовленим внутрішнім опроміненням із вмістом радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг, та плаценти від жінок, котрі перенесли COVID-19 під час вагітності в порівнянні з I групою 39-40 тижнів вагітності.

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуальної наукової задачі патологічної анатомії – визначення морфологічних та імуногістохімічних особливостей стовбурових клітин плацентарного бар'єру жінок на фоні хронічного стресу у вагітних, обумовленого передчасними пологами, хронічним внутрішнім опроміненням; постковідним періодом.

Для досягнення мети та вирішення завдань нашої дисертаційної роботи проведено морфологічний аналіз 100 плацент. Матеріал розподілено на чотири групи:

I група. Плаценти від жінок з фізіологічним перебігом вагітності та терміном 39-40 тижнів (20 спостережень).

II група. Плаценти жінок з передчасними пологами в терміні 22-36 тижнів гестації (живонароджені – 30 спостережень, мертвнонароджені – 10 спостережень).

III група. Плаценти від жінок з хронічним стресом, обумовленим внутрішнім опроміненням із вмістом радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг (20 спостережень).

IV група. Плаценти від жінок, котрі перенесли COVID-19 під час вагітності (20 спостережень).

Встановлені загальні гістологічні зміни структур плацентарного бар'єру при дії хронічного стресу, обумовленого різними факторами (COVID-19, внутрішнє опромінення, передчасні пологи): відшарування децидуальної оболонки; порушення перфузії материнських факторів в структурах плацентарного бар'єру.

Гістологічні та ультраструктурні дослідження синцитіальних вузликів ворсинчастого хоріона – маркерів стресу, виявили достовірне їх збільшення у плацентах жінок з хронічним стресом обумовленим перенесеним COVID-19 та внутрішнім опроміненням.

Виявлене статистично доведене збільшення синцитіальних вузликів ворсинок хоріона (як маркерів хронічного стресу) особливо у плацентах жінок з перенесеним COVID-19 в першій половині вагітності, що можливо впливає на появу деструкції судин та тромбів в материнській частині плаценти та є предиктором уражень плода. Оскільки, фетальні судини та синцитіокапілярні мембрани є важливим фактором для переносу від матері до плода кисню та білку для участі в процесах гестації, то тромбоз цих судин веде до ураження плодових плацентарних судинних процесів.

Визначено статистично доведене збільшення експресії імуногістохімічних маркерів стовбурових клітин CD-117 та CD-44 у досліджуваних групах порівнянно з I групою. Встановлено важливий факт дистрофії та апоптозу цих клітин в групах з передчасними пологам, внутрішнім опроміненням та перенесеним COVID-19.

Найбільш виражені (статистично доведені) деструктивні зміни стовбурових клітин, які експресують CD-117 на 90 % більше, ніж в групі порівняння, виявлені в плацентах з внутрішнім опроміненням. Підтверджене за рахунок більш виразної експресії CD-44 на 132 % більше ніж в групі порівняння.

Імуногістохімічний маркер тромбозу (тромбоспондин-1 – TSP-1) фетальних мікросудин ворсинок хоріона плацент жінок, що хворіли на COVID-19 під час вагітності (статистично доведено), вищий порівняно з іншими групами; експресія тромбоспондину-1 на 20 % вища в першій, та на 40% в другій половині гестації.

Виявлена експресія карциноембріонального антигену (CEA) у групі плацент жінок з внутрішнім опроміненням за інкорпорування радіонуклідами ($\geq 4,8$ Бк/кг) була відсутня у інших досліджуваних групах.

Встановлені зміни в **материнських** структурах плаценті жінок з передчасними пологам, що проявлялось відшаруванням децидуальної оболонки (90 %) з порушенням перфузії у ворсинчатих фетальних судинах. Також, виявлено децидуальну артеріопатію з поверхневою імплантацією на тлі відсутності імуногістохімічної експресії судинних маркерів (CD-31, CD-105, VEGF) у стінках судин термінальних та середніх ворсин плацентарного бар'єру. У структурах з **плодовими** плацентарними судинними пошкодженнями виявлено: затримка дозрівання ворсин з наявністю незрілих аваскулярних середніх та стовбурових ворсин хоріона з порушенням перфузії та зниженням експресії імуногістохімічного маркеру CD-31 в ендотелії судин.

Розроблені морфологічні, імуногістохімічні та ультраструктурні критерії ушкоджень плаценти за хронічного стресу в досліджуваних групах, важливі для клініцистів.

Наукова новизна отриманих результатів.

Уперше визначено морфологічні та імуногістохімічні особливості стовбурових клітин плаценти за хронічного стресу, обумовленого передчасними пологами, внутрішнім опроміненням плаценти, перенесеним COVID-19 під час вагітності. Встановлено статистично доведене збільшення експресії імуногістохімічних маркерів CD-117 та CD-44 з проявами дистрофії апоптозу стовбурових клітин у плацентарних структурах.

Встановлено, що в разі пошкодження плаценти збільшується кількість вузликів синцитіотрофобласта, що може бути критерієм хронічного стресу (авторське право на науковий твір №112810).

Виявлено, що імуногістохімічна експресія тромбоспондин-1 є маркером тромбозу фетальних судин ворсинок плаценти жінок, які хворіли на COVID-19 під час вагітності (авторське право на науковий твір №112810).

Експресія карциноембріонального антигену (СЕА) в синцитії і ендотелії фетальних судин ворсинок хоріона в плацентах жінок з внутрішнім опроміненням може слугувати предиктором в перинатальному онкогенезі.

Розроблені морфологічні, імуногістохімічні та ультраструктурні критерії пошкодження плаценти за хронічного стресу в досліджуваних групах, важливі для клініцистів і наведені в практичних рекомендаціях.

Практичне значення отриманих результатів.

Результати дослідження мають значну практичну цінність, оскільки виявляють морфологічні критерії, які важливі для предикторів здоров'я в майбутньому. До цих критеріїв можна віднести:

1) Гістологічні:

-відшарування децидуальної оболонки (передчасні пологи, перенесений COVID-19);

-вузлики багатоядерного синцитіотрофобласта як критерій хронічного стресу;

2) Імуногістохімічні:

-експресія CD-117 та CD-44 (маркерів стовбурових клітин) з вогнищами дистрофії та апоптозу як можливий фактор хронічного стресу;

-експресія СЕА (онкомаркер) в структурах фетальних судин на тлі внутрішнього опромінення плацентарних структур;

-експресія тромбоспондін-1 в структурах тромбів мікросудин термінальних та середніх ворсин плацент жінок, які перенесли COVID-19;

3)Ультраструктурні:

-сладжи і тромбоз фетальних судин, як фактор порушення перфузії материнсько-плодових структур;

-пікноз ядер, деструкція крист мітохондрій синцитіотрофобласта ворсин на тлі внутрішнього опромінення;

-наявність віріона COVID-19 у плацентарному бар'єрі на тлі набряку строми без клітин запалення при коронавірусній патології.

Ключові слова: вагітність, плаценти, хронічний стрес, стовбурові клітини, COVID-19, карциноембріональний антиген, синцитіотрофобласт, гістопатологія, тромбоспондін-1, внутрішнє опромінення, передчасні пологи, антенатальна загибель плода, структури хоріона, плацентарна дисфункція.

ANNOTATION

Bondarenko Y. M. Morphological and immunohistochemical features of the women`s placental barrier stem cells against the background of pregnant women chronic stress with preterm delivery. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

The dissertation for the scientific degree of a Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 “Healthcare” on a specialty 222 – “Medicine” - State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O.M. Lukyanova National Academy of Sciences of Ukraine", Kyiv 2023.

Abstract content.

The dissertation work is devoted to the improvement of diagnosis and prognosis of lesions of the women`s placenta under the influence of various genesis chronic stress.

Diagnosis of placental lesions that affects the fetus and mother health, as well as predicting the course of pregnancy, have great importance to scientists around the world. This is especially relevant in connection with the emergence of new stress factors (radiation disasters, the COVID-19 pandemic, martial law). It is also very important to determine the regenerative capabilities of placental stem cells and the effects of chronic stress factors on them.

At present, the features of the impact of COVID-19 on the placenta, as well as the structural features of stem cells under the influence of pathological factors associated with chronic stress, are not studied and require clarification.

The dissertation work was completed at the State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O.M. Lukyanova National Medical University of Ukraine", is a fragment of the research work: "Develop the latest and improve existing technologies for diagnosis, prevention and treatment of premature termination of pregnancy in women with miscarriage, taking into account the placenta passport" (state registration number: 0118U000039); "Investigate the state of the blood coagulation system of the uterine-placental-fetal blood circulation and the placenta in pregnant women who have undergone a coronavirus infection" (state registration number 0121U110585).

The purpose of this work was to determine the morphological and immunohistochemical characteristics of the women`s placental barrier stem cells against the background of chronic stress caused by chronic internal irradiation; post-COVID period, premature birth.

Due to the fact that the data analyzed by us from studies conducted in other countries have contradiction nature, the goal of our study was to identify the morphological and immunohistochemical features of the women`s placenta depending on the duration of the COVID-19 infection.

The dissertation is based on the results of own observations of pathomorphological, immunohistochemical, and ultrastructural methods of woman`s placenta researching.

To determine the histopathological features and regularities of placenta lesions (placental dysfunction) on the basis of State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O.M. Lukyanova National Medical University of Ukraine" a histological and immunohistochemical study of 100 women's placentas was carried out taking into account the latest classification of placental lesions Amsterdam (2015-16), and a placenta certificate (copyright 2016) based on the placenta protocol (order No. 417 approved by the Ministry of Health of Ukraine 19.08.2004). Placentas from women with premature births in the period of 22-36 weeks of gestation, placentas from women with chronic stress caused by internal irradiation with a content of radionuclides of $\geq 4,8$ Bq/kg, placentas from women who suffered from COVID-19 during pregnancy in comparison with the control group of 39-40 weeks of pregnancy.

The dissertation provides a theoretical generalization and a new solution to the actual scientific problem of pathological anatomy - the determination of morphological and immunohistochemical features of stem cells of the women`s placental barrier against the background of chronic stress in pregnant women caused by premature birth, chronic internal radiation; post-COVID period.

In order to achieve the goal and solve the tasks of our dissertation, a morphological analysis of 100 placentas was carried out. The material is divided into four groups:

Group I. Placentas from women with a physiological course of pregnancy and a term of 39-40 weeks (20 observations).

Group II. Placentas from women with premature birth at 22-36 weeks of gestation (live births – 30 observations, stillbirths – 10 observations).

Group III. Placentas from women with chronic stress caused by internal irradiation with a radionuclide content of $\geq 4,8$ Bq/kg (20 observations).

Group IV. Placentas from women who had COVID-19 before and during pregnancy (20 observations).

General histological changes in the structures of the placental barrier under the influence of chronic stress caused by various factors (COVID-19, internal irradiation, miscarriage) have been established: detachment of the decidual membrane; violation of the maternal factors perfusion in the placental barrier structures.

We established the histological and ultrastructural studies data of villous chorion syncytial nodules in the women`s placenta with chronic stress caused by the transferred COVID-19 and internal irradiation.

A statistically proven increase in syncytial nodules was detected, especially in the women`s placenta of group IV with COVID-19 in the first half of pregnancy, which affects the appearance of destruction of blood vessels and blood clots in the maternal part of the placenta, which is a predictor for the fetal lesions diagnosis. Since fetal vessels and syncytiocapillary membranes are an important factor of participation in the processes of gestation for the oxygen and protein transfer from the mother to the fetus, therefore, the detection of thrombosis of these vessels leads to fetal placental vascular processes damage.

A statistically proven increase in the expression of stem cells CD-117, CD-44 immunohistochemical markers was determined in the studied groups in comparison with the I group. An important fact of these cells dystrophy and apoptosis was established in the groups with premature birth, internal irradiation and experienced COVID-19.

The most pronounced (statistically proven) changes in the destruction of CD-117 stem cells by more than 90 % in the comparison group, were found in placentas with internal irradiation. Confirmed due to more pronounced expression of CD-44 by more than 132 % in the comparison group.

It was established that immunohistochemical markers of the fetal microvessels thrombosis (trombospondin-1 – TSP-1) of women`s placental chorionic villi who had COVID-19 during pregnancy are significantly higher (statistically proven) compared to other groups; the expression of thrombospondin-1 is increased by 20 % in the first and by 40 % in the second half of gestation.

The carcinoembryonic antigen (CEA) expression in the women`s placenta was detected in group with internal irradiation when incorporated with radionuclides (≥ 4.8 Bq/kg) was absent in the other studied groups.

Characteristic changes were established in the women`s placenta with premature birth in most **maternal** structures, in 90 % it was manifested by detachment of the decidual membrane with malperfusion in villous fetal vessels. Also, decidual arteriopathy with surface implantation was detected against the background of vascular markers (CD-31, CD-105, VEGF) immunohistochemical expression absence in the terminal and middle villi vessels walls of the placental barrier. In parallel with the detected **fetal** placental vascular processes: delayed villi maturation with the presence of immature avascular middle and trunk villi of the chorion with malperfusion and immunohistochemical marker CD-31 decreased expression in the vascular endothelium.

Morphological, immunohistochemical, and ultrastructural criteria for placental damage under the influence of chronic stress in the studied groups, important for clinicians, were developed.

Scientific novelty of the obtained results.

For the first time, the morphological and immunohistochemical features of placental stem cells were determined under the influence of chronic stress caused by premature birth, placenta internal irradiation, COVID-19 during pregnancy. Statistically proven immunohistochemical markers CD-117, CD-44 expression increase with manifestations of stem cells dystrophy and apoptosis in placental structures was observed.

It was established that when the placenta is damaged, the number of syncytiotrophoblast nodules increases, which can be a criterion of chronic stress (copyright of scientific work №112810).

It was found that the immunohistochemical expression of thrombospondin-1 in placental villi fetal vessels of women who had COVID-19 during pregnancy is thrombosis marker (copyright of scientific work №112810).

Expression of carcinoembryonic antigen (CEA) in the syncytia and endothelium of chorionic villi fetal vessels in women`s placenta with internal irradiation can serve as a predictor in perinatal oncogenesis.

Morphological, immunohistochemical and ultrastructural damage criteria to the placenta under the influence of chronic stress in the studied groups, important for clinicians, presented in practical recommendations, were developed.

Practical significance of the obtained results.

The results of the study have significant practical value, as they reveal important morphological criteria for predictors of health in the future. These criteria include:

1) Histological:

- decidual membrane detachment (preterm birth, COVID-19);
- multinucleated syncytiotrophoblast nodules as a criteria of chronic stress;

2) Immunohistochemical:

-expression of CD-44 and CD-117 (stem cell markers) with foci of destruction and dystrophy as a factor of chronic stress;

-expression of CEA (tumor marker) in the structures of fetal vessels as a criteria of internal irradiation;

- expression of thrombospondin-1 in the structures of women`s placenta terminal and middle villi microvessels thrombi due to COVID-19;

3) Ultrastructural:

- sludge and the beginning of fetal vessels thrombosis, as a factor of maternal-fetal structures malperfusion;

- nuclei pyknosis and destruction of villi syncytiotrophoblast mitochondrial cristae as a criteria of internal irradiation;

- the presence of the COVID-19 virion in the placental barrier against the background of stroma swelling without inflammatory cells in coronavirus pathology.

Key words: pregnancy, placentas, chronic stress, stem cells, COVID-19, carcinoembryonic antigen, syncytiotrophoblast, histopathology, thrombospondin-1, internal irradiation, preterm birth, antenatal death, chorionic structures, placental dysfunction.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації.

1. Живецька-Денисова АА, Воробйова І, Скрипченко НЯ, Толкач СМ, Раздайбедін СМ, Бондаренко ЮМ. Плацентарні маркери невиношування вагітності. Патологія. 2021;18 3(53). 328-339. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2021.3.232302>

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних).

2. Бондаренко ЮМ. Особливості імуногістохімічних маркерів стовбурових клітин CD-117, CD-44 в плацентах жінок на тлі хронічного стресу. Репродуктивна ендокринологія. 2022;(65):71-79. <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2022.65.71-79>

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

3. Бондаренко ЮМ, Задорожна ТД. Морфологічні особливості маркерів стресу в плаценті. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2022;Том12,№3(45):60–64. <https://doi.org/10.24061/2413-4260.XII.3.45.2022.9>

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

4. «Morphological predictors of the placental complex, as prognostic criteria of health according to the «Certificate of the placenta» for 35 years after the Chernobyl accident (30 years)», Thirtyfive years of the Chernobyl disaster: radiological and medical consequences, strategies of protection and revival: National Report of Ukraine. Kyiv, 2022. 164-171 p.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, підготовка статті до друку).

5. Задорожна ТД, Бондаренко ЮМ, Килихевич СМ, Подольский ВВ, Скрипченко НЯ, Подольский ВВ. Науковий твір №112810 тромбоспондин 1-імуногістохімічний маркер критерію тромбозу фетальних (мікро) судин ворсинок хоріону плаценти у жінок, що хворіли COVID-19 під час вагітності. Свідоцтво №112810/ 2022 року про реєстрацію авторського права на твір.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних).

6. Задорожна Т.Д., Бондаренко Ю.М. Науковий твір №112811 морфологічні критерії синцитіотрофобласта багатоядерного епітелію ворсинок плаценти у жінок з хронічним стресом. Свідоцтво №112811/ 2022 року про реєстрацію авторського права на твір.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних).

7. Zadorozhna , T., Bondarenko , Y., Skripchenko , N., & Kilikhevich , S. MORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF A WOMAN'S PLACENTA DURING MISCARRIAGE ON THE BACKGROUND OF INTERNAL IRRADIATION. I International Scientific and Practical Conference. «EDUCATION AND SCIENCE OF TODAY: INTERSECTORAL ISSUES AND DEVELOPMENT OF SCIENCES», MARCH 19, 2021; CAMBRIDGE, GBR., VOLUME 3. Збірник наукових праць ЛОГОΣ. <https://doi.org/10.36074/logos-19.03.2021.v3.56>

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

8. Задорожна ТД, Бондаренко ЮМ. Клінічно важливі ураження плаценти (морфологічна та імуногістохімічна особливість). Академічні лекції з акушерства і гінекології. Київ; 2021. 424 с. (412-416).

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників).

9. Бондаренко ЮМ, Задорожна ТД, Килихевич СМ. Карциноембріональний антиген в діагностиці та прогнозуванні уражень плаценти в жінки при внутрішньому опраміненні. VI Міжнародна науково-практична конференція. НАУКОВА СПІЛКА: МІЖДИСЦИПЛІНАРНІ ДОСЛІДЖЕННЯ, 2022 січ. 26-28; Гамбург, Німеччина.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних).

10. Бондаренко ЮМ, Задорожна ТД, Скрипченко НЯ, Килихевич СМ. Попереднє дослідження морфологічних особливостей плаценти жінок, що хворіли COVID-19. IX Міжнародна науково-практична конференція. МІЖНАРОДНИЙ ФОРУМ: ПРОБЛЕМИ ТА НАУКОВІ РІШЕННЯ, 2022 лют. 6-8; Мельбурн, Австралія.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	20
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНИЙ СТАН, ПАТОМОРФОЛОГІЯ, ГІСТОЛОГІЧНІ, ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ТА ДІАГНОСТИЧНІ ПАРАМЕТРИ ПЛАЦЕНТИ ПРИ ДІЇ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДАНИХ).....	26
1.1 Структурні особливості стовбурових клітин плаценти, як фактора діагностики впливу хронічного стресу.....	36
1.2 Передчасні пологи як наслідок дії хронічного стресу на плаценту.....	40
1.3 Особливості впливу внутрішнього опромінення на плаценту людини...	41
1.4 Вплив коронавірусної інфекції на плаценту людини.....	42
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	45
2.1 Макроскопічний аналіз матеріалу плацент, які зазнали хронічного стресу.....	45
2.2 Морфологічні, гістологічні та імуногістохімічні методи дослідження плацент, які зазнали впливу хронічного стресу.....	46
2.3 Радіометричний аналіз плацент, які зазнали впливу хронічного стресу.....	50
2.4 Електронно-мікроскопічне дослідження плацент за хронічного стресу.....	51
2.5 Статистичний аналіз.....	51
РОЗДІЛ 3. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	53
3.1 Морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок з фізіологічним перебігом вагітності.....	53
3.2 Морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу на фоні передчасних пологів.....	70

3.3 Морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу, який обумовлений внутрішнім опроміненням з накопиченням радіонуклідів.....	89
3.4 Морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу, який обумовлений перенесеним COVID-19.....	98
3.5 Морфометричне дослідження багатоядерного синцитіотрофобласта.....	106
3.6 Імуногістохімічне дослідження маркерів стовбурових клітин CD-117 та CD-44.....	110
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	124
ВИСНОВКИ.....	130
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	132
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	133
ДОДАТКИ.....	148

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

BM	–	кістковий мозок
CD-105	–	cluster of differentiation 105
CD-117	–	cluster of differentiation 117
CD-11b	–	cluster of differentiation 11b
CD-31	–	cluster of differentiation 31
CD-34	–	cluster of differentiation 34
CD-44	–	cluster of differentiation 44
CD-45	–	cluster of differentiation 45
CD-56	–	cluster of differentiation 56
CD-73	–	cluster of differentiation 73
CD-80	–	cluster of differentiation 80
CD-86	–	cluster of differentiation 86
CD-90	–	cluster of differentiation 90
CEA	–	carcinoembryonic antigen
COVID-19	–	Coronavirus disease 2019
Cs137	–	Цезій 137
FCS	–	фетальна теляча сироватка
HLA	–	людський лейкоцитарний антиген
HSC	–	кровотворні стовбурові клітини
MSC	–	мезенхімальні стовбурові/стромальні клітини
M	–	середнє значення
m	–	похибка середньої арифметичної
OR	–	співвідношення шансів
CI	–	довірчий інтервал
n	–	кількість обстежених плацент
SARS-	–	тяжкий гострий респіраторний синдром

CoV-2	коронавірус 2
TSP-1	– тромбоспондин-1
UCB	– пуповинна кров
VEGF	– васкулярний судинно-ростковий фактор
BCL-2	– антиапоптичний онкопротеїн
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота
Ki-67	– маркер регенерації та проліферації
МКАТ	– мультиклональні антитіла

ВСТУП

Актуальність роботи. Плацента є провізорним органом, який забезпечує розвиток плода і народження життєздатної дитини. Плацента також приймає участь в системо- і ембріогенезі органів плода, може слугувати предиктором здоров'я. Тому різні патологічні зміни материнської і плодової частини плаценти впливають на життєздатність плода, порушуючи умови його розвитку [1].

Це також унікальний орган в тому плані, що це – суміш двох геномних внесків і клітин, отриманих від плаценти до з'єднання з материнською тканиною під час вагітності. Також плацента слугує захистом від інфекцій упродовж розвитку плода [1].

Стресові збурення материнського середовища передаються в ембріон через плаценту - посередник матері та плода, відповідальний за підтримку внутрішньоутробного гомеостазу. Порушення життєво важливих функцій плаценти може мати значний вплив на розвиток плода. Програмаічні наслідки пренатального стресу, імовірно, передбачають складну взаємодію між генетичним фоном плода, статтю та гестаційним віком на момент впливу [2]. Оскільки плацента знаходиться на межі розділу між матір'ю та плодом, вона унікально розташована для модуляції взаємодій у несприятливому внутрішньоутробному середовищі. Плацента активно підтримує внутрішньоутробний гомеостаз завдяки життєво важливим функціям, у тому числі обмін поживними речовинами, киснем та відходами, імунозахист напівалогенного плода, буферизацію від шкідливих материнських факторів та секрецію гормонів і факторів росту як у материнські, так і в плодові відділи [3]. Порушення органогенезу та функції плаценти може в цілому вплинути на розвиток плода, надаючи тривалі наслідки для мозку [4].

Стресові фактори та зв'язок із структурними особливостями плаценти наведено в поодиноких дослідженнях [5].

Установлено, що плацента має велику кількість стовбурових клітин (плюрипотентних, мультипотентних та інших). Плюрипотентні стовбурові

клітини є нащадками тотипотентних і можуть давати початок майже всім тканинам і органам. Стовбурові клітини в цей час широко обговорюються і застосовуються як регенераторний фактор за різних регенераторних процесів (мезенхімальних, гемопоетичних) [6]. Але в плацентарних тканинах вони застосовуються без врахування хронічного стресу та патології матері обумовленої передчасними пологами, внутрішнім опроміненням та перенесеним COVID-19.

Однак є лише поодинокі дослідження, в яких досліджено індуковані стовбурові клітини вагітних жінок з преєклампсією [7], для цього використано структурні ДНК, які реагували на зміни викликані гіпоксією, пов'язаною з плацентарною дисфункцією [8, 9].

Тому наші дослідження стовбурових клітин в плаценті важливі для виявлення структурних та молекулярних механізмів при дії хронічного стресу, пов'язаного з внутрішнім опроміненням, передчасними пологами та перенесеним COVID-19.

Вищезазначене визначило вибір напрямку, мету та завдання дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана в ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України», є фрагментом науководослідних робіт: «Розробити новітні та вдосконалити існуючі технології діагностики, профілактики та лікування передчасного переривання вагітності у жінок з невиношуванням з урахуванням паспорта плаценти» (№ держреєстрації: 0118U000039); «Дослідити стан системи згортання крові матково-плацентарно-плодового кровообігу та плаценти у вагітних, що перенесли коронавірусне інфікування» (№ держреєстрації 0121U110585).

Мета роботи. Визначення морфологічних та імуногістохімічних особливостей стовбурових клітин плацентарного бар'єру жінок на тлі хронічного стресу у вагітних, обумовленого внутрішнім опроміненням, постковідним періодом і передчасними пологами.

Завдання дослідження

1. Дослідити морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок з фізіологічним перебігом вагітності.

2. Вивчити морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок за хронічного стресу на тлі передчасних пологів.

3. Визначити морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок за хронічного стресу, обумовленого внутрішнім опроміненням з накопиченням радіонуклідів.

4. Дослідити морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок за хронічного стресу, обумовленого перенесеним COVID-19.

5. Визначити морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні критерії впливу хронічного стресу (різної етіології) на стовбурові клітини (CD-44, CD-117 c-Kit) плацентарного бар'єру для виявлення предикторів прогнозування здоров'я в майбутньому.

Об'єкт дослідження: хронічний стрес у вагітних при невиношуванні.

Предмет дослідження: морфологічні та імуногістохімічні особливості клітин плаценти на тлі хронічного стресу у вагітних при передчасних пологах.

Методи дослідження виконані в залежності від поставлених завдань:

1. Морфологічний
2. Імуногістохімічний.
3. Ультраструктурне дослідження хоріальних структур плаценти.
4. Морфометричний.
5. Статистичний аналіз (статистичну обробку отриманих результатів виконано за допомогою програми «STATISTIKA 10.0» («StatSoftInc.», серія № STA999K347156-W) і програмного забезпечення «Microsoft Excel 2013»).

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше визначено морфологічні та імуногістохімічні особливості стовбурових клітин плаценти за хронічного стресу, обумовленого передчасними пологами, внутрішнім опроміненням плаценти, перенесеним COVID-19 під час вагітності. Встановлено достовірне збільшення експресії імуногістохімічних маркерів CD-117 і CD-44 з проявами дистрофічно-деструктивних змін в плацентарних стовбурових клітинах.

Встановлено, що в разі пошкодження плаценти збільшується кількість вузликів синцитіотрофобласта, що може бути критерієм хронічного стресу (авторське право на науковий твір №112810).

Виявлено, що імуногістохімічна експресія тромбоспондин-1 (TSP-1) є маркером тромбозу фетальних судин ворсинок плаценти жінок, які хворіли на COVID-19 під час вагітності (авторське право на науковий твір №112810).

Експресія карциноембріонального антигена (CEA) в синцитії і ендотелії фетальних судин ворсинок хоріона в плацентах жінок з внутрішнім опроміненням може слугувати предиктором в перинатальному онкогенезі.

Розроблено морфологічні, імуногістохімічні та ультраструктурні критерії пошкодження плаценти при дії хронічного стресу в досліджуваних групах, важливих для клініцистів, що представлені в практичних рекомендаціях.

Практичне значення отриманих результатів. Результати дослідження мають значну практичну цінність, оскільки виявляють морфологічні критерії, які важливі для предикторів здоров'я в майбутньому.

Особистий внесок здобувача. Досліджено та проаналізовано останні данні літератури, сформульовано мету та завдання дослідження, проведено аналіз гістологічних досліджень, а також імуногістохімічних досліджень із застосуванням методик виявлення стовбурових клітин, тромбоспондину-1, багатоядерного синцитіотрофобласта, проліферативного маркера, карциноембріонального антигена, ультраструктурних особливостей.

Апробація матеріалів дисертації.

Основні положення і результати дослідження дисертаційної роботи висвітлені на:

VI Міжнародній науково-практичній конференції НАУКОВА СПІЛКА: МІЖДИСЦИПЛІНАРНІ ДОСЛІДЖЕННЯ, (26-28 січня 2022 р., Гамбург, Німеччина), доповідь «Карциноембріональний антиген в діагностиці і прогнозуванні уражень плаценти жінки при внутрішньому опроміненні»;

Конференції молодих вчених на базі ДУ «Інститут Педіатрії, Акушерства і Гінекології НАМН України ім. академіка О.М. Лук'янової», Київ 2021, доповідь «Морфологічні особливості плаценти з урахуванням імуногістохімічних маркерів»;

Конференції Українського дивізіону Інтернаціональної Академії Патології на базі Запорізького Державного Медичного Університета, 17-18 вересня 2021, доповідь «Морфологічні та імуногістохімічні особливості карциноембріонального антигену при пошкодженні плаценти жінок»;

IX Міжнародній науково-практичній конференції "МІЖНАРОДНИЙ ФОРУМ: ПРОБЛЕМИ ТА НАУКОВІ РІШЕННЯ" (6-8 лютого 2022 року в м. Мельбурн, Австралія), доповідь «Попереднє дослідження морфологічних особливостей плаценти жінок, що хворіли на COVID-19».

Публікації.

За даними дисертації опубліковано 10 наукових праць, з них 3 оригінальні статті у фахових наукових виданнях, рекомендованих Департаментом атестації кадрів МОН України, 3 тези у матеріалах наукових конгресів, в тому числі з міжнародною участю, опубліковано 2 розділи у колективних монографіях, отримано 2 свідоцтва про реєстрацію авторського права на твір та 2 рішення про реєстрацію договору, який стосується права автора на твір. Із усіх статей 1 опублікована в журналі, що індексується в Scopus та 2 статті – у журналах, які індексуються у Web of Science. Зміст проведеного дослідження повністю відображений у публікаціях.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертаційна робота написана українською мовою на 160 сторінках. Робота складається зі змісту, анотації, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів, розділу власних досліджень, розділу аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Список літератури складається з 104 джерел, із них 96 латиницею та 8 кирилицею. Дисертація ілюстрована 72 рисунками та 7 таблицями.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ СТАН, ПАТОМОРФОЛОГІЯ, ГІСТОЛОГІЧНІ, ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ТА ДІАГНОСТИЧНІ ПАРАМЕТРИ ПЛАЦЕНТИ ПРИ ДІЇ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДАНИХ)

Плацента є провізорним органом, який забезпечує розвиток плода і народження життєздатної дитини. Плацента також приймає участь в системо- і ембріогенезі органів плода. Це також унікальний орган в тому плані, що це суміш двох геномних внесків і клітин, отриманих від плаценти до з'єднання з материнською тканиною під час вагітності. Також плацента служить захистом плода від інфекцій впродовж розвитку плода. Тому різні патологічні зміни материнської і плодової частини плаценти впливають на життєздатність плода, порушуючи умови його розвитку. [1]

Плацента людини в нормі достатньо вивчена і описана ембріологами, гістологами та цитологами [1, 3, 4, 10, 11, 12, 13, 14, 15]. Плацента як орган, формується і починає функціонувати на 9-12-му тижні вагітності, набуваючи повної морфологічної зрілості до 32-го тижня [1, 10, 12, 13, 14].

Плацента утворюється з тканинних елементів материнської та плодової частин.

Материнська поверхня фетальної плаценти складається з базальної пластинки (*decidua basalis*), в ділянці якої прикріплені якірні ворсинки. Децидуальна оболонка складається зі світлих та темних децидуальних клітин, дрібних сполучнотканинних клітин, капілярів і лімфогістіоцитарної інфільтрації. Наприкінці вагітності багато децидуальних клітин набувають дегенеративних змін. До складу децидуальної оболонки входять дві смуги фібриноїду: смуга Рора – тонка, розташована на межі з міжворсинчастим простором, і ширша смуга – Нітабух, на межі з міометрієм. Смуга фібриноїду Рора розташована на межі міжворсинчастого простору та базальної пластинки, вона схожа за будовою зі смугою Лангганса, оскільки і та, і інша вистилають міжворсинчастий простір. В цьому фібриноїді зменшена кількість периферійного цитотрофобласта, а в його складі переважають нитки фібрину, тому

він віднесений до фібринного типу [1, 10, 11, 12, 14]. Смуга фібриноїду Нітабух складається з білків фібрин та фібриногена. Серед факторів, які сприяють утворенню базального фібриноїду переважно матричного типу, виділено імунологоензиматичні, а також механічні фактори, оскільки по фібриноїду Нітабух здійснюється відділення плаценти, що народжується. Слід відмітити наявність у ній ділянок відкладення солей кальцію – кальцифікатів, які в невеликій кількості виявляються в більшості доношених плацент.

Основну масу плаценти становить плодова частина, представлена пуповиною, хоріанічною пластинкою та ворсинчастим хоріоном [1, 10, 11, 16, 17, 18, 19, 20].

Пуповина вкрита одношаровим амніальним епітелієм. Шар, розташований під епітелієм, представлений пучками сполучної тканини з численними печерками та щілинами, які утворюють повздовжню систему каналів (Вартонові драгли). Судини пуповини представлені двома артеріями та однією веною. Оскільки артеріями пуповини тече венозна кров, їхня будова відрізняється від будови артерій іншої локалізації. Парні артерії пуповини - це судини м'язового типу з вузьким чи відносно широким просвітом. Їхня стінка складається з двох шарів: 1) внутрішнього – повздовжнього; 2) зовнішнього – циркуляторного. Вена пуповини – це судина еластичного типу. Особливістю її є наявність еластичного матеріалу в субепітеліальній зоні [1, 10, 12, 16, 17, 18, 19, 20].

Хоріонічна пластинка вкрита плацентарним амніоном, який складається з 1, 2 і 3 шарів кубічних клітин. Строма хоріонічної пластинки складається з колагенових волокон, фіброblastів та поодиноких клітин Кащенко-Гофбауера. В стромі також розташовані судини, які є продовженням судин пуповини. Артеріальні судини розміщені безпосередньо під амніальним епітелієм, вище венозних судин. Артерії у складі хоріонічної пластинки втрачають внутрішній м'язовий шар і зберігають лише циркулярні пучки. Хоріонічна пластинка з боку міжворсинчастого простору вкрита пухкою смугою фібриноїду (шар Лангганса). Фібриноїд субхоріального простору (смуга Лангганса) – вистилає хоріонічну пластинку з боку міжворсинчастого простору і представляє нерівномірний за товщиною шар з еозинофільного матеріалу, в якому розташовані скупчення

цитотрофобласта. Накопичення фібриноїду найбільш виражене в центральних та крайових зонах плаценти. В крайових ділянках смуга Лангганса різко потовщена за рахунок матриксного типу. Там вона з'єднується з фібриноїдом у складі базальної пластинки та переходить у фібриноїд плідних оболонок [16, 18, 20].

Між базальною та хоріонічною пластинками розташований міжворсинчастий простір, заповнений материнською кров'ю [16, 18].

В структурному відношенні зріла плацента має часточкову будову. Серед численних моделей її будови, які пояснюють взаємодію основних плацентарних компонентів з материнським кровообігом, загально визнаною стала сучасна модель котиледона – структурно-функціональної одиниці плаценти. Зріла плацента складається з 30-50 котиледонів, кожен з яких представлений деревоподібним розгалуженням стовбурової ворсинки, гілочки якої діляться на сегменти, відмінні за калібром, будовою строми і судин та розташуванням останніх у стромі ворсинок. Відповідно до вказаних критеріїв, усі ворсинки класифікуються на п'ять основних типів: стовбурові, зрілі проміжні, термінальні, незрілі проміжні та мезенхімальні ворсинки [16, 20]. А за своїм структурно-функціональним призначенням – на стовбурові (великі), проміжні (середні) та кінцеві, термінальні (малі) [11, 16, 18, 20].

Епітеліальне покриття великих стовбурових ворсин потоншене, одношарове, з дефектами, які закриті фібриноїдними масами. Бічні малі гілки відсутні. Від них паралельно хоріонічній пластинці розгалужуються довгі стовбурові ворсинки, калібром 500-1000 мкм. У їх складі відбувається перехід плодових артерій в артеріоли, вен – у венули за рахунок потоншення м'язової оболонки. Стовбурові ворсинки діаметром 160-500 мкм оточують центральну площину котиледона, а деякі з ворсинок у дистальних відділах втрачають трофобласт і прикріплюються до децидуального шару (так звані якірні ворсинки). У їхній стромі зазвичай розміщена одна артеріола і одна венула, епітелій одношаровий, ядра синцитіотрофобласта розташовані рівномірно. Всі стовбурові ворсинки складають приблизно 20 % тканини доношеної плаценти [1, 10, 12, 16, 17, 18, 19, 20].

Проміжний рівень розгалуження ворсинчастого дерева представлений численними дрібними гілочками (70-150 мкм), які відходять від стовбурових

ворсин. Основною їх відмінністю є наявність розгалуженої капілярної сітки в стромі. За класифікацією Р.Кaufmann [18], вони мають назву проміжних зрілих ворсин. Ці ворсинки складають 30-40 % всіх ворсин у плаценті. Епітелій цих ворсин представлено тільки синцитіотрофобластом, капіляри нечисленні, зазвичай вузькі, розташовані по центру і містять еритроцити.

Термінальні (або кінцеві, резорбтивні) ворсинки – це найбільш численний різновид ворсин зрілої плаценти (складає близько 45-50 % усіх ворсин). Діаметр їх становить 30-80 мкм. Специфічність їхньої будови та функції забезпечує гомеостаз фетоплацентарної системи та взаємозв'язок з материнським організмом [1, 10, 12, 16, 17, 18, 19, 20].

У свою чергу, останні поділяють на два види: термінальні та термінальні спеціалізовані ворсинки. Термінальні ворсинки відходять головним чином від проміжних диференційованих гілок (95 %) і стовбурових ворсинок I та II порядку. У зрілій доношеній плаценті вони переважно вкриті синцитіотрофобластом, але близько 20 % їхньої поверхні займають двошарові ділянки з підлеглим цитотрофобластом. Строма термінальних ворсинок представлена пухкою сполучною тканиною, яка містить фібробласти, гістіоцити, макрофаги, стовбурові та недиференційовані мезенхімальні клітини з високим рівнем ферментативної активності [21, 22], і вміщує до 5-8 капілярів, розташованих як у центрі, так і під епітелієм ворсинок. Калібр капілярів різний: від синусоїдів до капілярів з вузьким прозором. У таких ворсинах є 1-2 синцитіокапілярні мембрани.

Термінальні спеціалізовані ворсинки активно формуються в останні тижні вагітності; усі капіляри перетворюються в широкі синусоїди, які концентруються під потоншеними, без'ядерними ділянками синцитіотрофобласта та утворюють синцитіокапілярні мембрани або плацентарний бар'єр. Окрім того, у таких ворсинах повністю зникає ворсинчастий цитотрофобласт, а ядра синцитіотрофобласта перегруповуються і утворюють скупчення тільки поза синцитіокапілярними мембранами [7, 20].

Термінальні спеціалізовані ворсинки в доношеній плаценті становлять близько 20 % усіх ворсин. Їхня діагностика та кількісна оцінка важливі, тому що, по-перше, вони є маркером зрілості ворсинчастого дерева, оскільки їхній

максимум формується на 38-40 тижні вагітності; по-друге, вони є важливою структурною ознакою компенсації ворсинчастого дерева, якщо реєструються раніше 36 тижня або їх кількість перевищує 21 % усіх ворсин плаценти.

20-25 % всіх гілочок ворсинчастого дерева утворюють горноподібні скупчення ворсинок з розширеними капілярами або термінальних ворсинок, з'єднаних між собою синцитіальними місточками [15].

Отже, розподіл перерахованих вище типів ворсин не випадковий, оскільки абсолютно відповідає їх функціональній спеціалізації. Усі великі гілки та якірні ворсинки відіграють переважно опорну роль, складаючи каркас котиледона біля центральної порожнини. Проміжні та численні термінальні гілки формують умовну стінку котиледона і є основним місцем, де проходять процеси дифузії.

За своєю будовою плацента людини належить до структури гемохоріального типу. Тканинні шари, які відокремлюють материнський і плодовий кровообіг, утворюють плацентарний бар'єр, структура якого змінюється в залежності від стадії розвитку плаценти людини [22, 23].

Універсальна структура плацентарного бар'єру представлена такими шарами: 1) безперервний шар синцитіотрофобласта, який покриває ззовні поверхню ворсинок і безпосередньо межує з міжворсинчастим простором; 2) спочатку цілісний (у першому триместрі вагітності), а пізніше (у другому і третьому триместрах) переривчастий шар цитотрофобласта клітини Ланганса; 3) базальна мембрана трофобласта; 4) сполучна тканина; 5) ендотелій капіляра, який в останньому триместрі оточений виключно базальною мембраною [22, 23].

Процеси диференціювання ворсинчастого дерева паралельно супроводжується якісними і кількісними змінами плацентарного бар'єру, до яких належать: потоншення синцитіотрофобласта від 20 мк до 3,5 мк; розрідження цитотрофобласта, який наприкінці вагітності становить лише 20 % площі поверхні ворсинок; зменшення середнього діаметра ворсинок; диференціювання судин та зміна їхнього місцезрештування в стромі ворсинок відносно хоріонічного епітелію з подальшим формуванням синцитіокапілярних мембран. Отже, у результаті росту та диференціювання ворсинчастого дерева потоншується

плацентарний бар'єр з 50-100 мк на протязі другого місяця вагітності до 4-5 мк в зрілій плаценті [24, 25].

Важливо наголосити, що, окрім вищеописаної плацентарної частини, в основі котиледона виявляються матково-плацентарні артерії та вени, а додатковими бічними межами котиледонів є розподільні септи, які відходять від базальної пластинки і у вигляді тонких перетинок ідуть вертикально в середню частину плаценти. Основу септ складає фібриноід з вогнищами периферійного цитотрофобласта. Ділянки септ, розташовані біля базальної мембрани, містять поодинокі децидуальні клітини материнського походження.

У субхоріальній зоні та всередині плаценти зустрічаються позаборсинчасті утворення – клітинні острівці. Основу їх складає фібриноід з центральною порожниною, заповненою еозинофільним секретом (мікрокіста), в її стінках завжди виявляється цитотрофобласт. Зазвичай їх багато в субхоріальній та серединній зонах плаценти, біля базальної пластинки вони не зустрічаються.

Наступною позаборсинчастою структурою плаценти є фібриноід. Багаторічна дискусія про будову та джерело утворення фібриноїду була підсумована гістологічними, імунофлюоресцентними та електронно-мікроскопічними дослідженнями. Відкладення фібриноїду між материнською кров'ю і плацентарними тканинами виникають з фібрину материнської крові, частіше на поверхні ушкодженого синцитіотрофобласта; відкладення фібриноїду всередині плацентарних структур, без контакту з материнською кров'ю, утворюються з продуктів секреторної діяльності цитотрофобласта глікопротеїнової природи, а також з протеїнів материнської крові; фібриноід – це фізіологічна структура, яка має гетерогенну будову і залежить від місця та часу його утворення в плаценті. В роботі Н.Г. Frank та співавт. [26, 27], за результатами застосування трансмісійної електронної мікроскопії та імуногістохімічного дослідження було виділено два типи фібриноїду: матриксний та фібринний з різними компонентами.

Окрім смуг фібриноїду Ланганса, Рора і Нітабух, існують такі типові локалізації фібриноїда в плаценті: міжборсинчастий фібриноід, фібриноід стінок матково-плацентарних артерій, фібриноід плодових оболонок.

Найчастіше в плаценті зустрічається міжворсинчастий фібриноїд у вигляді відкладень на поверхні ворсин. Грудки фібриноїда заміщують дефекти епітеліального покриття і лежать безпосередньо на базальному шарі. За результатами вивчення напівтонких зрізів вдалося простежити етапи утворення міжворсинчастого фібриноїду: на місці десквамації синцитіотрофобласта оголюється базальний шар. В цьому місці адсорбуються еритроцити, тромбоцити та фібрин, і починається інтенсивна проліферація цитотрофобластичного шару, який продукує мембранний колаген IV типу, адгезивний білок фібронектин та інші агенти, які сприяють переходу фібрин і фібронектина в матриксний тип фібриноїду. Основне завдання міжворсинчастого фібриноїду – закрити дефект епітеліального покриву ворсин.

Фібриноїд у складі септ та клітинних острівців також належить до стабільних структур плаценти. Більшість авторів висловлюються за те, що острівці та септи є структурами, які складаються з особливої субпопуляції позаворсинчастого цитотрофобласта, який виникає з ворсинчастого цитотрофобласта оточуючих чи прилеглих ворсин. Перші клітинні острівці з'являються вже на 6-8 тижні гестації і формуються при активній участі цитотрофобласта, повторюючи етапи утворення міжворсинчастого фібриноїда в більш зрілій плаценті [28]. Цитотрофобласт (Х-клітини) у складі острівців та септ зберігає здатність до самоутворення за допомогою мітозу. Поряд з участю в утворенні фібриноїду, Х-клітини здійснюють і ендокринну функцію.

Таким чином, плацентарний фібриноїд типових локалізацій є неодмінною структурною особливістю нормальної плаценти і формується на протязі всього її розвитку. Смуги Лангганса та Рора, вистилаючи міжворсинчастий прстір, відіграють переважно роль буфера. Смуга Нітабух розділяє материнські та плацентарні клітинні елементи; інші види фібриноїда є пластичним матеріалом для формування постійних структур плаценти – клітинних острівців та септ. Безумовно, що плацентарний фібриноїд слід вважати фізіологічною структурою, яка відображає закономірну еволюцію плаценти і взаємодію елементів материнської крові та позаворсинчастого цитотрофобласта.

Серія основоположних досліджень, опублікованих у період 1970-1995 років, заклала основу для нашого теперішнього розуміння патології плаценти. Rijnenborg R. та інші встановили концепцію порушень імплантації плаценти та їхніх наслідків. Blanc W. вперше окреслив послідовність змін плаценти, які характеризують інфекцію амніотичної рідини. Hartis V.A. відрізняв крайове венозне відшарування від значно менш поширеного синдрому розриву артерії та відшарування плаценти. Benirschke K. та його колеги описали, як раннє крайове венозне відшарування може прогресувати до хронічної послідовності маловоддя, і були першими, хто описав важливе ураження, відоме як материнський етажний інфаркт.

Stallmach T. та інші показали зв'язок між затримкою дозрівання ворсинок (дефект дозрівання) і внутрішньоутробною смертю. Altshuler G. і Russell P. звернули увагу на ідіопатичний хронічний віліт, а Altshuler G. був першим, хто описав ворсинчастий хорангіоз. Нарешті, Sander C.H. описав закономірності, які пізніше будуть відомі як фетальна тромботична васкулопатія (нині сегментарна фетальна васкулярна дисперфузія).

Більш систематичний підхід до плацентарної діагностики запропонований перинатальною секцією товариства дитячої патології, починаючи з 1998 року. Наступні публікації запропонували та підтвердили класифікацію та визначення стадій уражень, пов'язаних з інфекцією амніотичної рідини та судинними розладами збоку матері та плода. Спираючись на цю роботу, на зустрічі Міжнародної федерації плацентарних асоціацій у 2006 році була представлена схематична структура всіх уражень плаценти. Ці зусилля забезпечили основу для комплексної системи, запропонованої 26 плацентологами з усього світу, надалі була представлена новітня класифікація патології плаценти (Амстердам, 2015-16 р.), яка має значення для визначення уражень плаценти, клінічних кореляцій та спрямована на майбутнє дослідження пологів і патологій плода. Уперше була запропонована інтегрована система класифікації, яка включає в себе всі зміни материнського і плодового компоненту судинних, інфекційних та ідіопатичних/імунних запальних процесів. В зв'язку з цим виник проект "Плацента людини", обговорений та затверджений в 2015 році у Амстердамі з новою класифікацією плацентарних уражень, який

затвердив інтернаціональний консенсус критеріїв для діагностики плацентарних змін [29] Нами була адаптована класифікація уражень плаценти. [30].

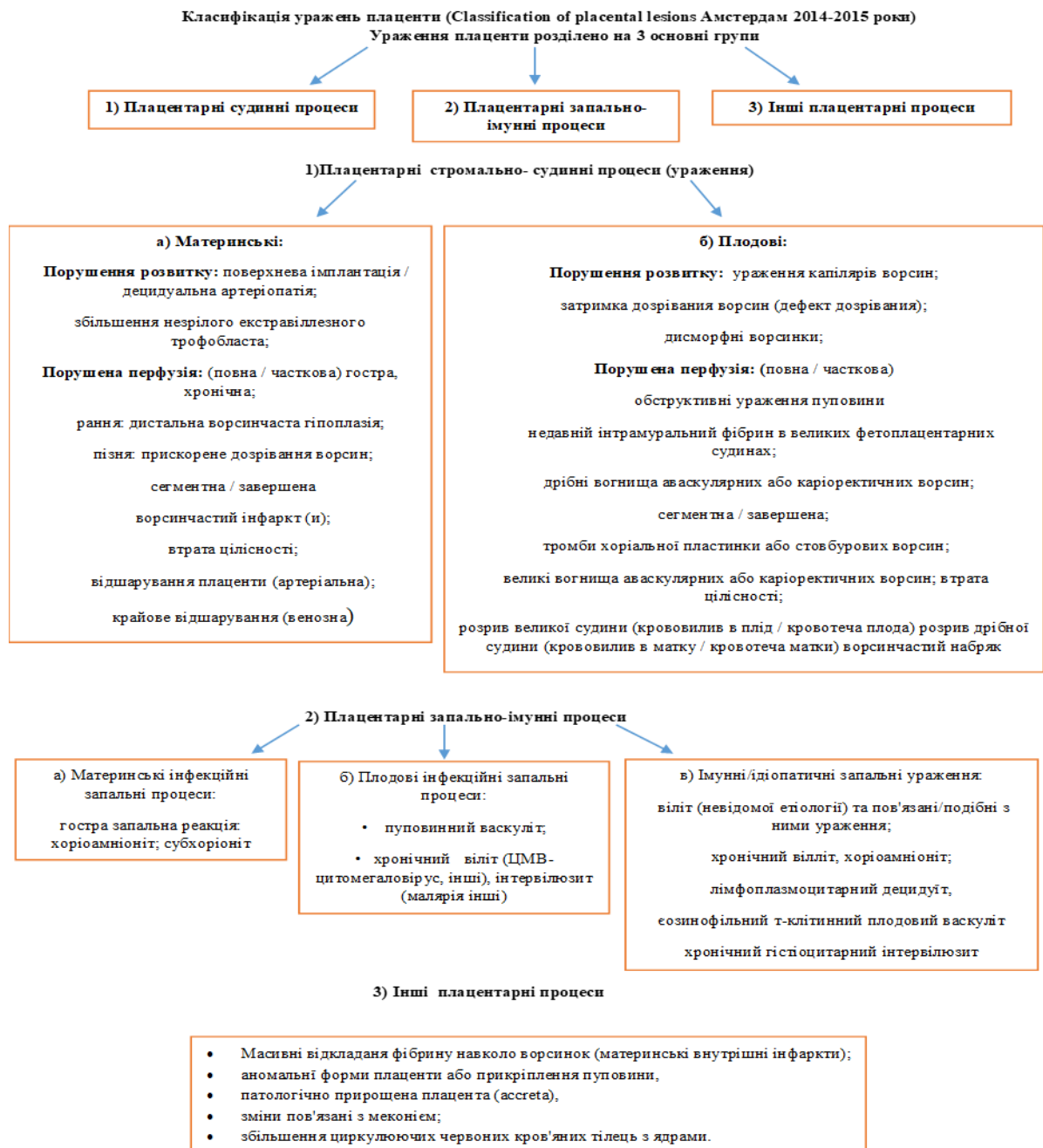


Рис. 1.1 – Адаптована класифікація уражень плаценти

Наведена класифікація має деякі важливі положення, які необхідні для клініцистів. До них відносяться: 1) Материнські та плодові судинні процеси; 2) материнські та плодові запальні процеси; 3) відкладення фібрину; 4) аномальні форми плаценти.

Загальні основні плацентарні причини несприятливих результатів:

Одними з важливих процесів являються судинно-плацентарно-плодові відносини для живлення плода, які в нормі здійснюються без проблем. Але є важливі фактори: генетичні (материнські), вплив навколишнього та внутріматкового середовища, які порушують життєдіяльність плода та призводять до зниження материнської судинної перфузії, що може закінчитися **передчасною смертю плода**:

- прискорене дозрівання ворсинок та порушенні кровообігу у матері;
- патології пуповини;
- відшарування плаценти;

Материнські фактори також впливають на виникнення **самовільних передчасних пологів** при гострому хоріоамніоніті; [31].

Фетальні стромально-васкулярні пошкодження зі зниженням перфузії спричиняються такими плацентарними факторами:

- 1) дефект дозрівання судин з центральним розташуванням капілярів, який призводить до зниження фетоплацентарної маси і затримка внутрішньоутробного розвитку;
- 2) зниження кількості синцитіо-капілярних мембран підвищує ризик фетальної смерті;
- 3) обструкція судин пуповини та набряк термінальних ворсинок клінічно корелює з пошкодженням центральної нервової системи плода;

Інші важливі патологічні процеси (Плацентарні ураження), які не підходять до судинного або запального процесу:

- відхилення плацентарної форми;
- плацента акрета; перкрета та інкрета.

Також несприятливими наслідками є **масивне перивільозне відкладення фібрину**, часто відомий як **материнський внутрішній інфаркт**. Він характеризується великою кількістю фібрину і фібриноїдного матриксу, що оточує значну частку дистальної ворсинки (не менше 30%). Це процес може бути

присутнім у будь-якому гестаційному віці і сильно пов'язаний з рецидивуючим викиднем плода, передчасними пологами, травмами центральної нервової системи. Її патогенез залишається недостатньо вивченим. Але дані свідчать, що це можуть бути різні стресорні фактори, у тому числі аутоімунні захворювання, материнська тромбофілія, гестаційна гіпертонія, мутації 3-гідроксіацил-КоА дегідрогенази, та вірус Coxsackie. [32]

Визначення клінічної актуальності кожного фенотипу все ще потребує додаткового вивчення встановлення тяжкості (ступінь), тривалість (етап), ступіня участі та різних комбінацій ураження плаценти для запобігання несприятливим наслідкам у подальших вагітностях.

Таким чином, представлена класифікація визначає правильність встановлення діагнозу плацентарних уражень для клінічних випадків патології матері та дитини.

1.1 Структурні особливості стовбурових клітин плаценти, як фактора діагностики впливу хронічного стресу

Останні десятирічні дослідження встановили, що плацента становить інтерес серед біологів та клініцистів для впровадження стовбурових клітин у регенераторній медицині, оскільки плацента багата на стовбурові клітини та їхні попередники. Стовбурова клітина визначається як клітина, здатна самовідновлюватися і диференціюватися на потомство (дочірні клітини) одного або кількох зародкових листків. Ці клітини класифікуються як тотипотентні, плюрипотентні або мультипотентні. Найпримітивніша стовбурова клітина, з найбільшою здатністю до диференціювання є тотипотентна клітина зиготи або першого бластомеру [33]. Ця клітина виникає з першого поділу зиготи і має здатність утворювати цілісний організм. Як тільки ці тотипотентні клітини починають ділитися, вони дають початок ембріону і плаценті. На 32-клітинній стадії ембріона, відомій як морула, клітини втрачають тотипотентність і стають

плюрипотентними [33, 34]. Ці плюрипотентні клітини сприяють розвитку всіх трьох зародкових листків ембріона, ентодерма, мезодерма та ектодерма. Стовбурові клітини з обмеженою здатністю до диференціювання відомі як мультипотентні стовбурові клітини і можуть диференціюватися на декілька типів клітин всередині того самого зародкового листка. Мультипотентні стовбурові клітини прикріплюються до певного органу або тканини і є найбільш зрілим типом стовбурових клітин [34].

Пуповинна кров (UCB) тепер визнається як перспективне альтернативне тканинне джерело HSC і воно має деякі переваги перед звичайним джерелом, оскільки вони легкодоступні та їх легко зібрати. Найголовніше, що UCB можна використовувати для трансплантації пацієнтам з меншим значенням, ніж оптимальний показник HLA-відповідності лейкоцитарного антигену системи донор-реципієнт, що забезпечує більш широке застосування стовбурових клітин пуповинної крові.

Інший тип мультипотентних стовбурових клітин Friedenstein A.J. виявив в кістковому мозку понад 40 років тому [35]. Ці клітини зараз широко відомі як мезенхімальні стовбурові/стромальні клітини (MSC) і є такими, що породжують тканини мезодермального типу, у тому числі кістки, хрящі, м'язи, сухожилля та жирову тканину. Багато їхніх переваг включають відносну простоту ізоляції, потенціал розширення, стабільний фенотип і сумісність з різними методами доставки і рецептурами (переглянуто в «Терапевтичні застосування мезенхімальних стромальних клітин») [36, 37].

Відомо, що традиційно отримані MSC кісткового мозку (BM) є рідкісною популяцією клітин (~0,001 % мононуклеарних клітин BM) *in vivo*, що призводить до низького виходу MSC при виділенні. Отже, вирощування *ex vivo* необхідне для отримання достатньої кількості для клінічного застосування. Загалом, MSC виділяють за допомогою градієнта щільності або лізису клітин, після чого мононуклеарні клітини культивують у базальному середовищі, такому як модифіковане середовище Ігла в модифікації Дульбекко та 10-20 % фетальної телячої сироватки (FCS) [38, 39, 40]. Клітини згодом витримують у культурі

кілька днів, протягом яких заражені, невідповідні гемопоетичні клітини, такі як макрофаги, відсіюються. MSC людини мають характерний (але не унікальний) фенотип клітинної поверхні CD90+, CD105+, CD73+, CD44+, HLA I+, CD45-, CD34-, CD11b-, HLA II- [28, 41, 42]. MSC є унікальними серед ядерних клітин ссавців в тому, що вони мало стимулюють алогенну реактивність при введенні до МНС-невідповідних дорослих імунокомпетентних реципієнтів, можливо, через відсутність у них, принаймні у людських, виражених коstimуляторів молекул клітинної поверхні, таких як CD-80 і CD-86 [43, 44]. Крім того, вони активно пригнічують функцію Т-клітин, дендритних клітин і В-клітин [43, 44, 45], і це, ймовірно, пов'язано з їхньою здатністю зменшувати сильне запалення, яке згодом може призвести до патології ремоделювання та надмірний фіброз.

Запропоновано, що сучасні методи культивування тканин, що використовуються для вирощування MSC, зменшують мультипотентність і призводить до зниження здатності вирощених MSC мігрувати/приживлюватися. Також показано, що у людей і тварин спостерігається знижена швидкість виробництва мезенхімальних стовбурових та клітини-попередників у кістковому мозку зі старінням [46]. Кілька досліджень показали сильну кореляцію між віком і потенціалом проліферації MSC, що проявився *in vitro* [47, 48, 49]. Таким чином, пул попередників може бути виснажений після екстенсивної проліферації. Отже, це призводить до зниження здатності забезпечити регенерацію після травми або захворювання залежно від віку MSC [50]. Таке зниження якості клітин є неоптимальним для терапевтичного застосування.

З цих причин нові джерела MSC зараз досліджуються для клінічного використання в захворювання, при яких регенеративна та імуномодулююча функції MSC можуть бути корисними [51, 52, 53, 54]. Легкодоступне та молодше джерело, яке можна отримати за допомогою неінвазивної процедури та дає велику кількість MSC для вирощування *ex vivo*, було б ідеальною альтернативою кістковому мозку дорослих.

Були досліджені MSC, отримані з тканин, які зазвичай утилізуються, таких як народжена плацента та інші гестаційні тканини, які походять від плода [55, 56,

57, 58, 59], щоб побачити, чи відповідають вони цим критеріям. Описано різні джерела гестаційної тканини для людських MSC як альтернативи кістковому мозку, виділення MSC з цих джерел та їх застосування в клініці.

Народжена плацента людини є привабливим джерелом MSC завдяки своїй розповсюдженості, легкодоступності без інвазивних процедур і відсутності етичних проблем, які оточують використання ембріональних стовбурових клітин. MSC, отримані з плаценти, мають материнське походження, було показано, що вони усувають ряд дисфункцій, ремонтують деформації, або регенерують і відновлюють функцію тканин [41].

Однак, слід відмітити, що у світовій літературі були знайдені поодинокі дослідження по структурі та функції стовбурових клітин в плаценті за наявності патології в матері, а також впливу різних зовнішніх факторів [60].

Також нами відмічено відсутність даних щодо впливу патологічних факторів, пов'язаних із хронічним стресом, обумовлених патологією матері при передчасних пологах та перенесеним COVID-19. При цьому такі маркери стовбурових клітин (CD-34, CD-105, CD-117 C-kit) мають особливість, як похідні хоріальних структур плаценти та амніотичної рідини, тому є важливими для дослідження впливу стресових факторів на плаценту людини.

Відмічено, що найбільш вивченими фенотипами клітинної поверхні є CD-34 та CD-44 [42]. Особливу увагу ми звернули на C-kit, який експресується рецептором CD-117. C-kit-cells - це плюрипотентні клітини, які є безпосередньою похідною хоріальних структур плаценти та амніотичної рідини, не мають поверхневого антигена та мають нормальний каріотип [61]. Також встановлено, що вони будучи нащадками тотипотентних стовбурових клітин, можуть давати початок майже всім тканинам і органам [62].

Важливим є антиген CD-44, який є унікальним серед ядерних клітин ссавців тим, що мало стимулює алогенну реактивність [43, 44, 62].

Також встановлено, що плацента має велику кількість плюрипотентних та мультипотентних стовбурових клітин, які є нащадками тотипотентних стовбурових клітин і можуть давати початок майже всім тканинам і органам [62].

Таким чином, проведено дослідження стовбурових клітин в плаценті при патології матері, обумовленій хронічним стресом, який викликає пошкодження плацентарних структур. Відомо, що внутрішньоутробний розвиток плода багато в чому визначається функцією ворсинчастого хоріона; плацента має комплекс специфічних взаємовідносин з окремими органами плода (легенями, нирками, системою травлення та ін.) і виконує їхню функцію, оскільки плацента також бере участь в системо- і ембріогенезі органів плода [1, 18, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69].

1.2 Передчасні пологи як наслідок дії хронічного стресу на плаценту

Патологія плацентарних структур є важливим фактором для розуміння причин смерті плода, спонтанних та передчасних пологів.

Передчасні пологи зазвичай визначаються як втрата вагітності до появи життєздатності. За оцінками, щороку у світі відбувається 23 мільйони викиднів, що означає 44 втрати вагітності щохвилини. Загальний ризик викидня становить 15,3 % (95 % СІ: 12,5-18,7) від усіх визнаних вагітностей. Популяційна поширеність жінок, у яких був один викидень, становить 10,8 % (95 % СІ: 10,3-11,4), два викидні — 1,9% (95 % СІ: 1,8-2,1), три або більше викиднів — 0,7 % (95 % СІ: 0,5-0,8). Фактори ризику викидня включають дуже молодий або старший вік жінки (молодше 20 років і старше 35 років), літній вік чоловіків (старше 40 років), дуже низький або дуже високий індекс маси тіла, попередні викидні, стрес, робота в нічні зміни, екологічні фактори. Викидень, і особливо повторний викидень, також є додатковим маркером ризику акушерських ускладнень, включаючи передчасні пологи, затримку розвитку плода.

Плацентарні фактори при передчасних пологах, особливо структурні їх зміни в літературі мають різні погляди [70].

Одним із важливих факторів передчасних пологів є відшарування плаценти різного ступеню з подальшим мертвонародженням [60, 68, 69, 71].

Одним з чинників, який може порушувати гістіоархітектоніку плацентарної тканини і впливати на розвиток утробного плода внутрішнє опромінення, в

результаті інкорпорування радіонуклідами. На тлі тривалого впливу радіації низької інтенсивності відбуваються більш виражені зміни у клітинних мембранах, їх розриви тощо, ніж у разі одномоментного опромінення значної інтенсивності. Внутрішнє опромінення становить більшу небезпеку ніж зовнішнє. Це обумовлено тим, що за інкорпорування радіонуклідів клітини опромінюються не тільки гамма-іонізуючою радіацією, але й корпускулярним випроміненням, а також значною нерівномірністю його. Зовнішнє та внутрішнє іонізуюче випромінення, діє на структури тканини у якій є високо-радіочутливі структури, такі як капіляри артеріального та венозного типу до яких відноситься і плацента [72, 73, 74]. Дослідженнями вчених щодо дії внутрішнього опромінення виявлено його роль у підвищенні ризику внутрішньоутробної загибелі плода на ранніх етапах гестації, а також у зростанні частоти безпліддя та онкологічної патології в жінок після масштабних катастроф світового рівня [75, 76].

1.3 Особливості впливу внутрішнього опромінення на плаценту людини

В результаті проведених багаторічних досліджень (більше 30 років) плацентарного бар'єру людини в лабораторії патологічної анатомії ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України імені академіка О.М. Лук'янової» встановлено зміни в структурах плацентарного бар'єру залежно від внутрішнього опромінення внаслідок накопичення радіонуклідів з урахуванням питомої маси радіонуклідів [69]. Виявлено, що в разі накопичення радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг відмічається часткове та повне зниження судинної перфузії в материнській та плодовій структурах плаценти (відповідно до новітньої класифікації патологія плаценти, Амстердам, 2015-16 р.). Виявлено виразну експресію СЕА в цитоплазмі ендотелію судин фетального типу та вогнищ децидуальної оболонки в разі внутрішнього опромінення інкорпоруванням радіонуклідами $\geq 4,8$ Бк/кг.

Дослідження проведено за даними «Сертифіката плаценти» (додаток А2), який був створений у лабораторії патоморфології для моніторингу змін плаценти та запропонований для клінічних досліджень з урахуванням результатів радіометрії, гістологічних, гістохімічних, імуногістохімічних та ультраструктурних досліджень тканин плаценти жінок, постраждалих від радіаційного ураження. [52] «Сертифікат плаценти» (додаток А2) має авторське право та супроводжує «Протокол плаценти» (затверджений наказом МОЗ України від 19.08.2004 № 417).

Останні дані літератури, представлені вченими Японії, свідчать про вплив внутрішнього опромінення за хронічного стресу на клітинні структури [77].

Таким чином, представлені дані наукових досліджень світової літератури мають фрагментарні згадки про вплив внутрішнього опромінення на структури плацентарного бар'єру.

1.4 Вплив коронавірусної інфекції на плаценту людини

У період коронавірусної інфекції, в медичній літературі почали з'являтися данні про зміни структурних особливостей плаценти жінок, які перенесли COVID-19.

Щодо змін плаценти у вірусопозитивних вагітних жінок, то в перші місяці пандемії реєструвалися лише поодинокі випадки [78, 79, 80, 81]. Проте з часом описувалося все більше випадків інфікування плаценти SARS-CoV-2 [81, 82, 83].

Дослідження сучасної літератури показує, що передача вірусу новонародженим є дуже рідкісною, і що немає специфічних гістопатологічних змін плаценти SARS-CoV-2, які спостерігаються за несприятливих перинатальних результатів, а також немає очевидного вищого ризику спонтанного аборту, прееклампсії, передчасних пологів або мертвонародження [78, 82, 83].

Дослідження, проведені в різних країнах, є суперечливими в отриманих результатах, особливо в дослідженні плаценти SARS-CoV-2-позитивних вагітних жінок.

Більшість досліджень свідчать, що у випадках SARS-CoV-2-позитивних вагітних жінок без передачі захворювань плода плацента в основному не уражена запаленням [84].

Деякі автори вказують на переважання різних фаз запального процесу з подальшим фіброзом в хоріонічних структурах плаценти з переважанням хоріоамніоніту [85].

В останні місяці нові роботи [84, 85, 86, 87] вказують, що відбувається на фетально-плацентарному рівні у вірусопозитивних жінок і пропонують різні механізми патогенезу. Під час досліджень плацент жінок з позитивним результатом на коронавірусну хворобу (COVID-19) [96] встановлена гістологічна, імуногістохімічна та електронно-мікроскопічна поширеність мальперфузії судин у матері, що не відрізнялось від випадків групи порівняння. Достовірних відмінностей у відсотках термінальної гіперплазії ворсинок та хоріоамніоніту між групою порівняння та хворими на COVID-19 не виявлено [84, 86, 87].

Таким чином, дані літератури, наведенні нами в огляді, вказують, що останніми роками змінилися підходи до вивчення плаценти людини. Показано, що мають значення структури, відповідальні за материнські та плодові ураження. Цей консенсус внесений до класифікації уражень плаценти на з'їзді плацентологів (Амстердам, 2015-16 р.), який наголосив інтегровану систему, що включає в себе всі зміни материнського та плодового компонентів, особливо важливих структурних компонентів стромально-судинних процесів; запально-імуних та материнських інфарктів, тобто масивних відкладень фібрину з порушенням цих процесів у структурах плацентарного бар'єру, які відповідають за патологію материнських і плодових функцій. Дані цих досліджень важливі для розуміння причин смерті плода, спонтанних і передчасних пологів у клінічній практиці.

Але, за даними літератури, нами виявлено тільки поодинокі дослідження впливу стресогенного фактора як функціонального компоненту при різних патологічних станах у жінок. Також мало досліджено регенераторні механізми стовбурових клітин за хронічного стресу (передчасні пологи, екологічні та інфекційні фактори COVID-19).

Наведені дані вказують на значення стовбурових клітин для сучасної науки, але вони не розроблені і потребують подальших досліджень.

Тому ми вважаємо за доцільне виконати невирішене завдання щодо впливу стресогенних факторів передчасних пологів, внутрішнього опромінення та перенесеного COVID-19.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Робота виконана в лабораторії патоморфології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України».

Для досягнення мети та вирішення завдань нашої дисертаційної роботи проведений морфологічний аналіз 100 плацент:

1. Плаценти від жінок з фізіологічним перебігом вагітності та терміном 39-40 тижнів (20 спостережень).
2. Плаценти жінок з передчасними пологами в терміні 22-36 тижні гестації (живонароджені – 30 спостережень, мертвнонароджених – 10 спостережень).
3. Плаценти від жінок з хронічним стресом, обумовленим внутрішнім опроміненням з вмістом радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг (20 спостережень).
4. Плаценти від жінок, які перенесли COVID-19 під час вагітності (20 спостережень).

2.1 Макроскопічний аналіз матеріалу плацент, які зазнали впливу хронічного стресу

Макроскопічно – вивчався за стигмами. Це – цілісність тканин плаценти, її реконструкція, форма материнської, плодової поверхні, пупковий канатик.

Оглядаючи плодову поверхню, звертали увагу на колір, наявність гематом, валику, обідку, варикозного розширення судин, кіст, вогнищевих ущільнень, пухлин, набряку та травматичних ушкоджень. Оглядаючи плідні оболонки звертали увагу на їхню товщину, колір, а також наявність включень.

Вивчаючи пуповину, оцінювали її товщину, поперечний розріз, прикріплення, наявність набряку, тромбозу судин, справжніх та несправжніх вузлів, гематом, ушкоджень, варикозного розширення судин.

Оглядаючи материнську поверхню, визначали цілісність децидуальної тканини, форму, розмір плаценти, наявність допоміжних часточок, їхню кількість та розміри, виразність та глибину борозн, вираженість і глибину зон з нетиповим забарвленням і щільністю, а також кількість свіжих і старих згортків крові. Оглядаючи плодову поверхню плаценти, звертали увагу на форму та контури, кількість основних судин хоріона, забарвлення амніону, місце прикріплення пуповини, ділянки пошкодження, відшарування, присутність обідка на плаценті. Відмічали також наявність утворень, які деформують поверхню, зокрема, кіст і пухлин; плодових оболонок, відмічали їхню товщину, забарвлення, включення (кров, меконій) та набряк.

2.2 Морфологічні, гістологічні та імуногістохімічні методи дослідження плацент, які зазнали впливу хронічного стресу

Морфологічне дослідження плаценти проводили відповідно з урахуванням новітньої класифікації уражень плаценти (Amsterdam, 2015), та сертифіката плаценти (авторське право 2016) на основі протоколу плаценти (затвердженого наказом МОЗ України від 19.08.2004 № 417). Після макроскопічного дослідження зразки плацентарної тканини вирізали з парацентральної зони плацентарного диска та фіксували в 10% нейтральному формаліні.

Морфологічний аналіз досліджуваних плацент, проводили на підставі даних "Сертифіката плаценти" та «Протоколу плаценти» (додаток А1, А2).

Гістологічне дослідження проводили на парафінових зрізах, забарвлених гематоксиліном та еозином. Кількість синцитіальних вузлів і міжворсинчастих містків оцінювали в термінальних і незрілих проміжних ворсинках у 10 полях зору мікроскопа за збільшення $\times 200$. Для аналізу даних використовували достовірний статистичний метод.

а) Забарвлення гематоксилін-еозином - дана методика дає загальну уяву про структуру органа, добре виявляє усі клітинні елементи та деякі неклітинні структури. На предметне скло наливають відфільтрований розчин гематоксиліну

Бомера, залишають на 5-10 хв. Зливають гематоксилін назад до колби, вміщують зрізи у воду на 1-10 хв. Просвітлюють 1% солянокислим спиртом і знов вміщують в чисту водопровідну воду до посиніння зрізів (30хв.). Забарвлюють 1 % еозином 1-2 хв. і вміщують у воду, а потім в 70° і 96° спирти. Підсушують фільтрувальним папером та вміщують в ксилол до просвітлення зрізів, а потім – у бальзам.

Препарат нормально пофарбований, коли ядра мають червоно-фіолетове забарвлення з чітко вираженим ядерцем та хроматином, а цитоплазма помірно рожево-жовтуватого кольору;

б) забарвлення пікрофуксином за ван-Гізоном - дана методика дозволяє виявити сполучну тканину. На предметне скло наливають одну частину офіційного розчину заліза і 2 частини залістистого гематоксиліну – 5 хв. Зливають барвник, промивають водою і вміщують у воду. Просвітляють 1 % солянокислим спиртом і вміщують у воду до посиніння зрізів – 15-30 хв. Забарвлюють пікрофуксином – 3-5 хв. Вміщують зрізи у воду на 1-10 хв. і просвітлюють 1% солянокислим спиртом і знов вміщують в чисту водопровідну воду до посиніння зрізів (30хв.), потім – у 70° і 96° спирти, підсушують фільтрувальним папером і вміщують у ксилол до просвітлення зрізів. Поміщують у бальзам.

Колагенові волокна сполучної тканини після забарвлення пікрофуксином мають червоний колір, м'язові та еластичні - бурувато-жовтий чи жовто-зелений. Ядра забарвлені в темно-коричневий колір.

в) Забарвлення сполучної тканини за методом Малорі – колагенові та ретикулярні волокна забарвлюються в темно-синій колір, еритроцити – у червоно-помаранчевий, хроматин – червоного з жовтим відтінком, секреторні гранули – у червоний колір.

г) Імуногістохімічні методи дослідження. Це – методи полімерної детекції виявлення антигенів за допомогою системи Ultra Vision Quanto Пероксидаза полімер і DAB плюс хромоген. Використовували реагенти фірми «Thermo scientific». Усі етапи процедури проводили за кімнатної температури. Досліджували судинні маркери: CD-31 (Clone JS/70A) [88], CD-105 (Endoglin/TGF

beta 1/3 Receptor) [89], васкулярний судинно-ростковий фактор (VEGF Ab-1) [90]; мезенхімальний фактор віментину (Clone SP20) [91], антиапоптозного фактор BCL-2 (100/D5) [92], загальнолейкоцитарний фактор CD-45/T200/LCA Ab-2 (Clone PD7/26/16+2B11) [93]; натуральних кілерів CD-56 (56C04; 123A8) [94, 95]; маркери стовбурових клітин CD-44 (Clone 156-3C11) [96] і CD-117 (c-Kit/SCF-Receptor) [97], проліферативний маркер Ki-67 (Clone SP6) [98]; маркер критерію тромбозу Тромбоспондин-1 (TSP-1) [99]; карциноембріональний антиген СЕА ((Carcinoembryonic Antigen) / CD66e Ab-2) [100].

Протокол забарвлення:

- 1.Депарафінізувати та зневоднити зріз тканини.
- 2.Промити буфером.
3. Провести високотемпературне демаскування антигена в цитратному буфері рН 6,0.
- 4.Промити буфером.
5. Для зменшення неспецифічного фонового забарвлення із-за ендогенної пероксидази інкубувати скло в Hydrogen Peroxide Block протягом 10 хв.
6. Промити буфером
7. Нанести реагент UltraVision Protein block для блокування неспецифічних реакцій фонового забарвлення та інкубувати протягом 5 хв.
8. Промити буфером.
9. Нанести первинні антитіла фірми «Thermo scientific» та інкубувати протягом 30 хв.
10. Промити буфером.
11. Нанести Primary Antibody Amplifier Quanto та інкубувати протягом 10хв.
12. Промити буфером.
13. Нанести HRP Polymer Quanto і інкубувати протягом 10 хв.
14. Промити буфером.

15. Додати 1 краплю DAB Chromogen Quanto до 1 мл DAB Substrate Quanto, перемішати і нанести на зріз, інкубувати протягом 5 хв залежно від потрібного ступеня забарвлення.

16. Промити дистильованою водою 4 рази.

17. Провести контрастне забарвлення та помістити в бальзам.

Поширеність та інтенсивність реакції оцінювали напівкількісним методом у балах – від 0 до 3:

поширеність:

- 1) 0 – немає забарвлення;
- 2) 1 – менше 10% позитивно забарвлених клітин;
- 3) 2 – більше 10% і менше 50% позитивно забарвлених клітин;
- 4) 3- гомогенне забарвлення більше 50% клітин;

інтенсивність реакції:

- 1) 0 – немає видимого забарвлення;
- 2) 1 – слабе забарвлення;
- 3) 2 – помірне забарвлення;
- 4) 3 – виразне забарвлення.

д) Морфометричний аналіз багатоядерного синцитіотрофобласта ворсин проводився окремим дослідженням багатоядерного синцитіотрофобласта 40 плацент жінок (39-40 тижнів вагітності), поділених на чотири групи. Досліджували плаценти жінок, які перенесли COVID-19 у першій (до 20 тижнів) половині вагітності (IVa група, 10 випадків) та у другій (39-40 тижнів) половині вагітності (IVб група, 10 випадків); плаценти жінок з хронічним стресом унаслідок внутрішнього опромінення з вмістом радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг (III група, 10 випадків). У порівняльній групі I було 10 випадків плаценти жінок з фізіологічною вагітністю без COVID-19 (переважно 39-40 тижнів вагітності).

Проводили комп'ютерну морфометрію з мікроописом, оснащену програмою цифрового аналізу «OLYMPUS cellSens Entry».

Проводили морфометричний аналіз кількості синцитіальних вузликів, які оцінювалися в термінальних і незрілих проміжних ворсинках у 10 полях зору мікроскопа «Olympus BX43» за збільшення x200.

В парафінових зрізах плаценти проводили імуногістохімічні реакції із застосуванням антитіл та системи детекції.

Результати імуногістохімічної експресії у кожному випадку оцінювали в 5 стандартизованих полях зору на мікроскопі «OLYMPUS BX43» за збільшення x200.

Результати імуногістохімічної експресії маркерів стовбурових клітин CD-117 і CD-44 у кожному випадку оцінювали в 10 стандартизованих полях зору на мікроскопі «OLYMPUS BX43» за збільшення x100.

Наявність клітин з проліферацією оцінювали за ядерною експресією МКАТ Ki-67 клон (Clon SP6).

Оцінку результатів гістопатологічних та імуногістохімічних змін проводили на мікроскопі «OLYMPUS BX43» за програмою «OLYMPUS cellSens Entry» напівкількісним методом у балах.

2.3 Радіометричний аналіз плацент, які зазнали впливу хронічного стресу

Радіометричні вимірювання внутрішнього опромінення за інкорпорування Cs137 проводили за допомогою:

Ү-спектрометра фірми «Селена»*;

Ү-спектрометра фірми «Самберра» з сцинтиляційним детектором*;

Ү-спектрометра фірми «Самберра» детектор колодязного типу*;

аналізатора ізотопних зразків «RC-101».

*Примітка: * – виконано на базі «Національного наукового центру радіаційної медицини НАМН України», зав. лаб. Циганков Микола Якович.*

2.4 Електронно-мікроскопічне дослідження плацент за хронічного стресу

Для електронної мікроскопії у плацентах вирізали дрібні шматочки з центру плацентарної тканини (завжди з одного місця), які фіксували у 2,5 % глютаровому альдегіді на 0,1 М фосфатному буфері, в 1% оксиді осмію, зневоднювали в спиртах, в 2,5 % ураніл-ацетаті на 70° спирті та заливали в епон-аралдит, контрастування за Reynolds.

Ультратонкі зрізи отримали на ультратомі «LKB» (Швеція), на трансмісійному електронному мікроскопі «JEM 1230» (Джеол, Токіо, Японія) вивчали зрізи.

2.5 Статистичний аналіз

Статистичну обробку отриманих результатів проводили на персональному комп'ютері за допомогою програми «Statistica 10.0».

Статистичне опрацювання результатів здійснювали за допомогою програми «Statistica 10.0» («StatSoft Inc.»), використовували програмне забезпечення «Microsoft Excel» («Microsoft office 2013 Professional Plus»).

Для статистичного аналізу отриманих результатів використовували стандартні методики оцінки достовірності відмінностей у порівнюваних групах, базові статистичні показники, методи параметричного і непараметричного статистичного аналізу. Проводили розрахунок середнього значення (M), похибки середньої арифметичної (m); відносних величин (%).

Для порівняння сукупностей за кількісними ознаками застосовували параметричний аналіз (t-критерій Стюдента) або непараметричний (U-критерій Манна-Уїтні (U)). Для усіх розрахованих статистичних оцінок здійснили перевірку статистичної значущості на рівні не нижче ніж 95 % ($p < 0,05$). Для статистичної обробки матеріалів дослідження використовували показники

співвідношення шансів (OR – odds ratio) та їхні довірчі інтервали (95 % CI – confidence interval). Відмінності вважали достовірними при значенні $p < 0,05$.

Дослідження здійснювали відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол №8 від 24.05.2021 схвалений локальним етичним комітетом ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України».

РОЗДІЛ 3

ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок з фізіологічним перебігом вагітності

За результатами морфологічного дослідження плацент першої групи (порівняння) виявлені зміни, описані в роботах лабораторії морфології протягом ряду років, починаючи з 1968 року.

Вага плацент жінок групи порівняння варіювала в межах 470-610 грамів ($M=550 \pm 35,5$ г.).

Було відмічено, що в 10 % плацент виявлено обідок шириною від 1.0 до 2.0 см. Прикріплення пуповини в більшості плацент парацентральне або центральне.

Плідні оболонки у 90 % спостережень тонкі, сірувато-білі, з помірно вираженим набряком і дрібними вогнищевими ущільненнями. У 10 % плацент пуповина потовщена за рахунок помірного набряку.

Материнська поверхня губчастої консистенції, середньодольчаста. Борозни переважно неглибокі, в більшості плацент відмічається повнокрів'я (70 %).

За результатами гістологічного дослідження, у 20 % спостережень у децидуальному шарі виявлено вогнища набряку, судини децидуальної оболонки розширені, повнокровні, місцями з тромбами та переваскулярними крововиливами в підлеглі тканини.

У пуповині 20 % плацент відмічено помірний набряк Вартонових драглів. Амніотичне покриття представлене переважно одношаровим кубічним або циліндричним епітелієм з вогнищевими ознаками дистрофії, десквамації.

Колагенові волокна хоріанічної пластинки нерівномірної щільності та неоднорідної орієнтації. Просвіти судин пластинки нерівномірної ширини та

кровонаповнення. Стінки більшості вен нерівномірно потовщені, просвіти їх розширені, повнокровні.

В групі порівняння (I гр.) відмічаються структурні зміни, які відповідають фізіологічній вагітності і терміновим пологам (табл.3.1), (рис. 3.1, 3.2).

Таблиця 3.1

Морфологічні особливості плацентарної тканини у жінок з хронічним стресом за класифікацією уражень плаценти (Амстердам, 2015-16 р.)

Групи	Вік	Плацентарні стромально-судинні процеси						
		Материнські			Плодові			
		Поверхнева імплантація, децидуальна артеріопатія	Відшарування децидуальної оболонки	Порушення перфузії, прискорене дозрівання	Внутрішні материнські інфаркти	Плацентарні запальні процеси	Порушення перфузії, незрілі ворсинки, затримка ворсинного дозрівання	Тромбоз пуловини
I порівняння, n= 20	22-35	0	0	1*	1*	0	1*****	0
II а, передчасні пологи живонароджені, n= 30	21-41	0	90%**	60%**	5%**	0	1%*	0
II б, передчасні пологи мертвонароджені, n= 10		1	6%***,****	3%***,*****	8%*****	3	8%	1
III внутрішнє опромінення, n= 20	28-37	0	3	3	1	1	3	2
IV перенесений COVID-19, n= 20	24-35	0	1	3	2	1	3	3

*Примітки: *-поодинокі; **-часткові; ***-повне; ****-поєднане; *****-нерівномірне; *****-виражене; *****-мікроевгніща.*

В поодиноких ворсинах відмічається порушення перфузії, прискорене дозрівання, а також поодинокі внутрішні материнські інфаркти (рис. 3.1).

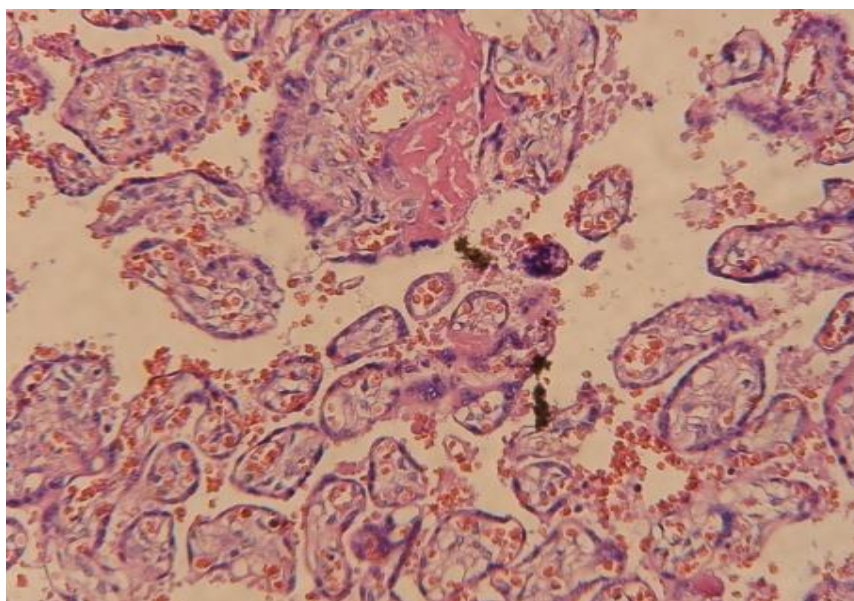


Рис. 3.1 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Будова ворсинок відповідає гестаційному терміну вагітності. Забарвлення гематоксилін-еозином. x200. № 5810

У плодовій частині виявлено мікровогнища порушень плацентарних судинних процесів, таких як збільшення незрілого екстравілезного трофобласта і порушення перфузії, незрілість ворсин і затримка ворсинного дозрівання (табл.3.1), (рис.3.1, 3.2).

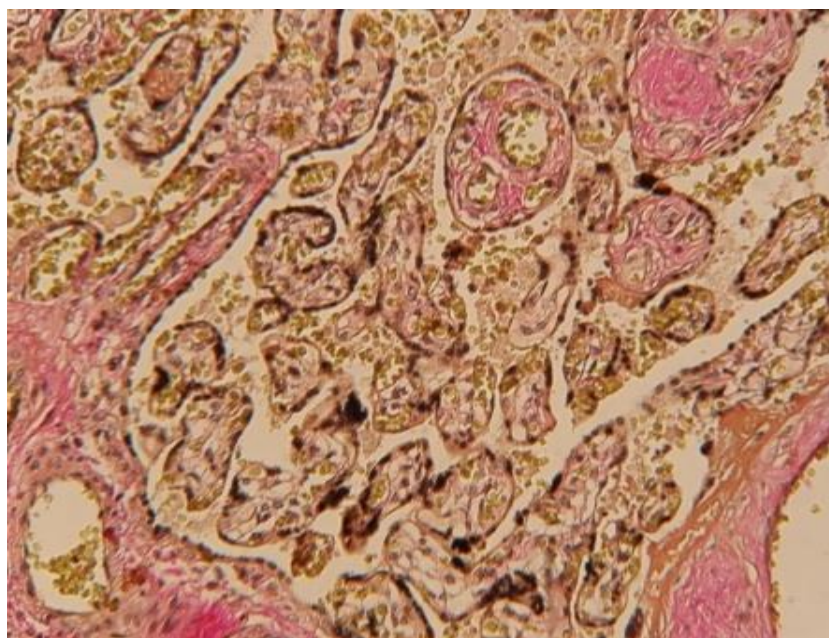


Рис. 3.2 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Будова ворсинок відповідає гестаційному терміну вагітності. Забарвлення пікрофуксином. x200. № 5810

Гістоархітектоніка ворсинчастого дерева характеризується пропорційним розгалуженням, характерною щільністю ворсинок в міжворсинчастому просторі. Децидуальна оболонка рівномірної товщини з фібриноідною лінією Нітабух. З поодинокими лімфоцитами в більшості досліджуваних плацент цієї групи. Будова ворсинок в 90% спостережень відповідала гестаційному терміну 39-40 тижнів (рис. 3.3).

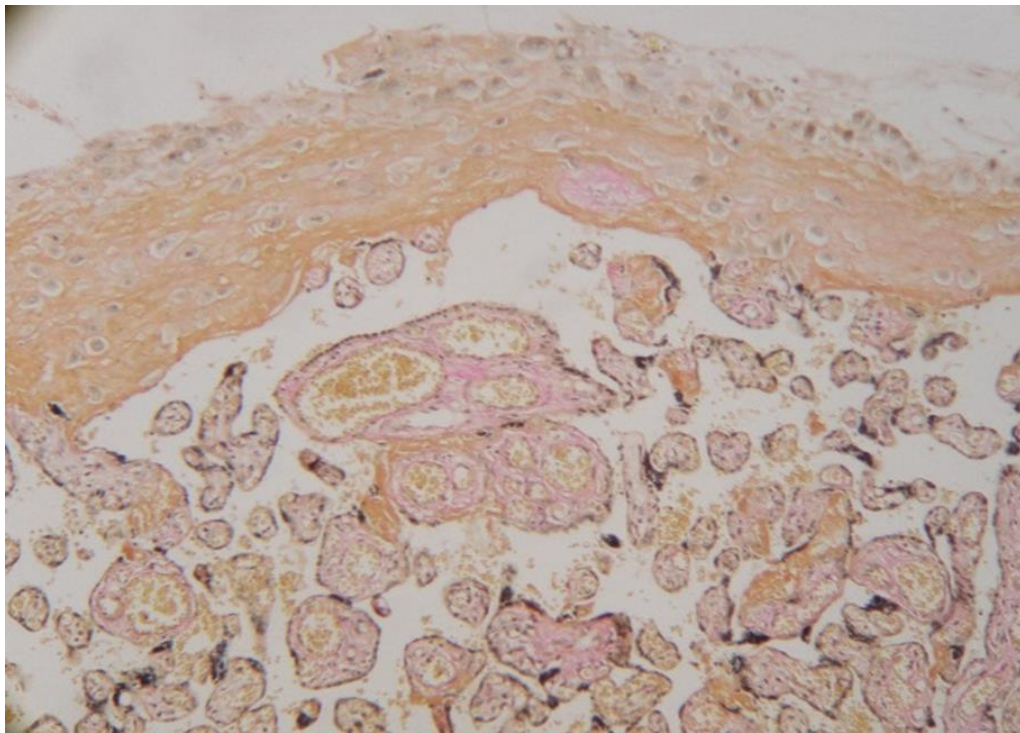


Рис. 3.3 – Плацента жінки в 38 тижнів вагітності (група порівняння). Ворсинчастий хоріон відповідає терміну гестації. Забарвлення пікрофуксином. x100. № 5922

В 10 % плацент наявні варіанти проміжних диференційованих ворсин з добре васкуляризованою строною стовбурових та термінальних ворсин (рис. 3.4).

Міжворсинчастий простір із скупченнями вогнищ еритроцитів та мікровогнищ фібриноїда з окремими клітинами цитотрофобласту.

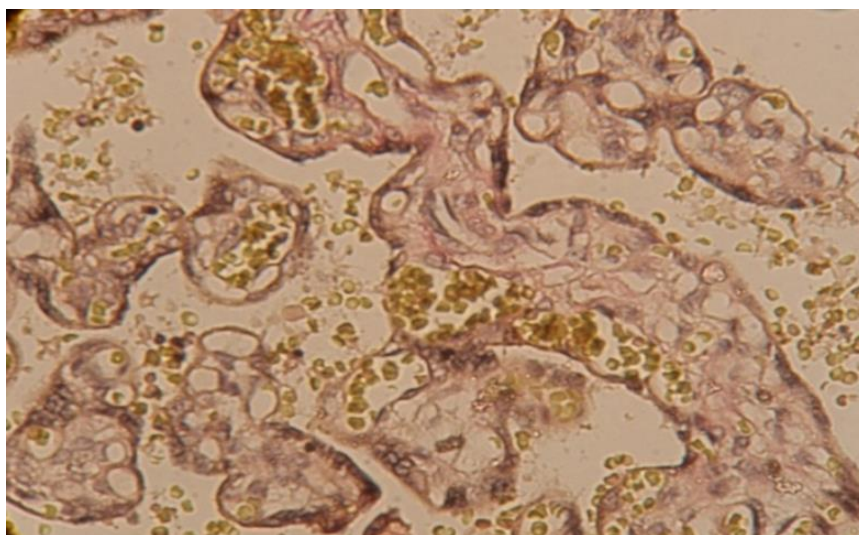


Рис. 3.4 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Будова ворсинок відповідає гестаційному терміну. Проміжні диференційовані та термінальні ворсинки з добре васкуляризованою строною. Міжворсинчастий простір нерівномірно розширений. Забарвлення пікрофуксином. x400. № 5810

У частині плацент групи порівняння досліджень встановлено фокальні порушення кровообігу з наявністю розширених повнокровних фетальних судин, а також ворсин із проліферацією синцитіотрофобласта - «вузлики» росту, які вказують на прискорення дозрівання ворсин (рис. 3.5).

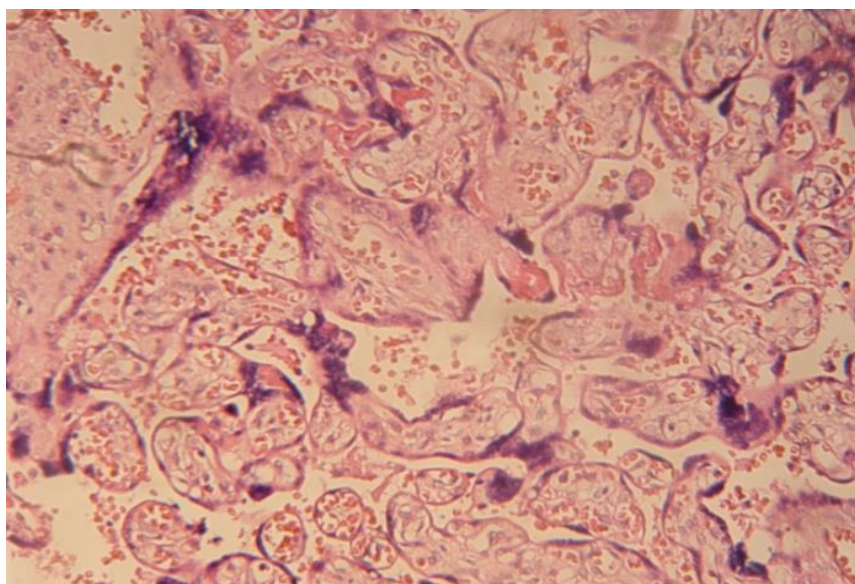


Рис. 3.5 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Розширення та повнокрів'я фетальних судин ворсин. Проліферація синцитіотрофобласта – «вузлики» росту. Забарвлення гематоксилін-еозином. x200.

№ 5810

У частині плацент відмічено поодинокі мікроегнища материнських інфарктів (за новою класифікацією, Амстердам, 2015-16 р.), які були виявлені тільки на світлооптичному рівні в глибоких шарах ворсинчастого хоріона, що вказує на парціальне зниження плацентарних васкулярних процесів та не має значення для клініки (симптоми відсутні, новонароджені народилися з масою тіла 2800-3000 кг, за шкалою Апгар 8 балів) (рис. 3.6).

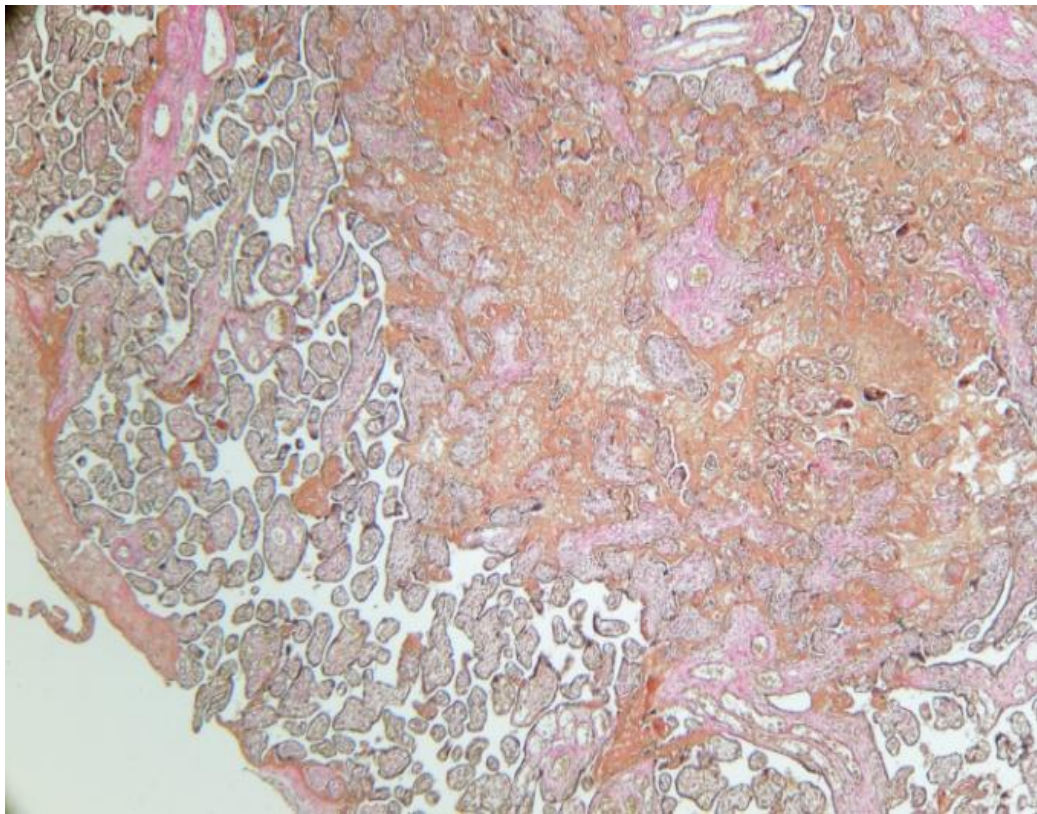


Рис. 3.6 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Мікроегнища материнського інфаркту. Забарвлення пікрофуксином. х50.
№ 5810

Таблиця 3.2

**Імуногістохімічні особливості плаценти жінок за хронічного стресу
різного генезу, у балах**

Групи	CD-31		CD-44	CD-45		CD-56		CD-105		CD-117
	базальна мембрана	ворсинки	в стромі ворсин, в децидуальній тканині, хоріальній пластині та плідних оболонках	ворсинки	децидуальна оболонка	строма	децидуальна оболонка	синцитій	епітелій судин ворсин	в стромі ворсин, в децидуальній тканині, хоріальній пластині та плідних оболонках
I гр. порівняння, n=20	3	3	3	0	1	0-1	3	3	2	2-3
Па гр. живонароджені, n=30	3	1-2	1-2	0	1-2 **	0-1	0	1-2	1	1
Пб гр. мертвонароджені, n=10	1-2	2	2	3	1 *	0	0	0	0	1
III гр. внутрішнє опромінення, n=20	3	3	1-2 **	2-3	2-3	1-2	2-3	0-1	0	3
IV гр. перенесений COVID-19, n=20	3	2-3	1-2 **	0-1	1 *	0-1	0	2	1 *	1-2 **
<i>Примітки: *-поодинокі; **-вогнища.</i>										

В I групі за результатами імуногістохімічного дослідження СЕА виявлено відсутність експресії антигена в структурах ворсин хоріона (таб. 3.3), (рис. 3.7).

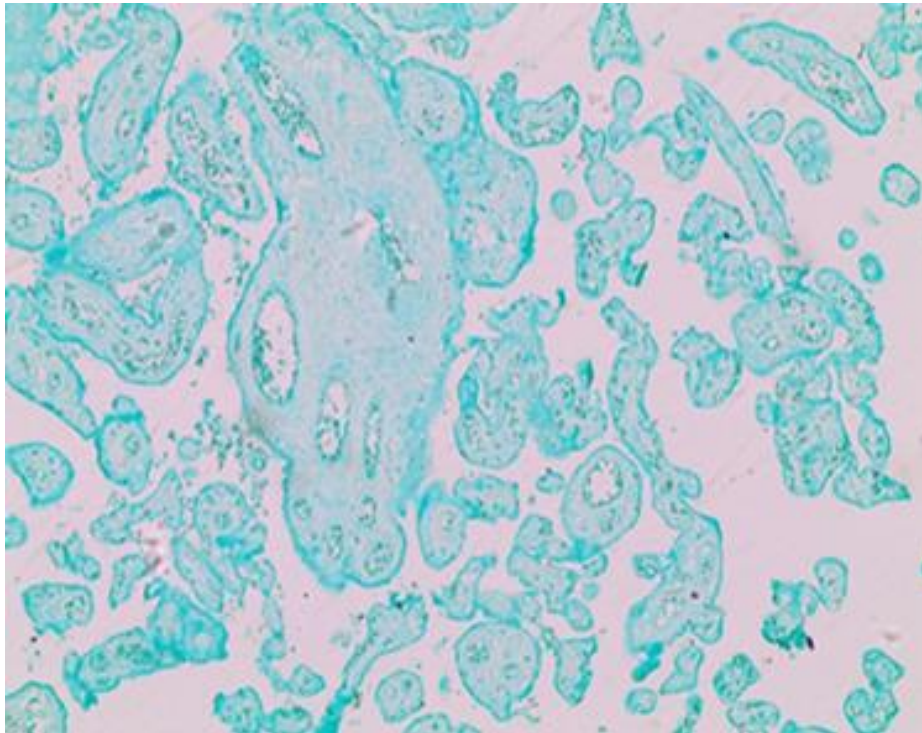


Рис. 3.7 – Плацента жінки в 38-40 тижнів гестації. Експресія СЕА не виявлена (група порівняння). х200. № 5810

В І групі під час імуногістохімічного дослідженні СЕА встановлено вогнища окремих лімфоцитів з позитивною експресією в поодиноких випадках (таб. 3.3), (рис. 3.8).

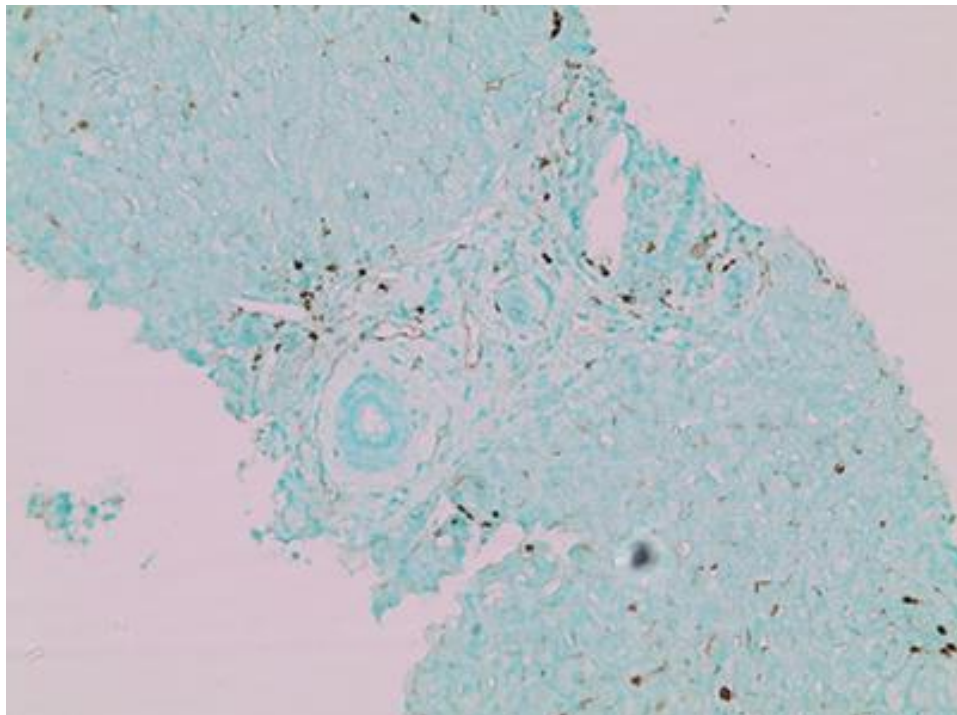


Рис. 3.8 – Плацента жінки в 38-40 тижнів гестації. Експресія СЕА виявлена в окремих лімфоцитах (група порівняння). х200. № 5810

В основному експресія СЕА була відсутня в структурах ворсинок і децидуальної оболонки плацент.

Таблиця 3.3

Імуногістохімічні особливості плаценти жінок на тлі хронічного стресу, у балах.

Групи	VEGF		Ki67	vimentin	BCL-2		CEA	TSP-1	синцитіо-трофобласт
	синцитій	ворсин	в ядрах синцитія проміжних та термінальних ворсин та в ядрах децидуальних клітин	в стромі стовбурових, проміжних та термінальних ворсин	синцитій	строма, судини	в децидуальній та хоріальній тканинах		
I гр. порівняння, n=20	1	1	1-2	2-3	0	0-1	поодинокі	0	1
IIa гр. живонароджені, n=30	2-3	3	2	2	0-1	0-1	0-1	1-2	2
IIб гр. мертвонароджені, n=10	0-1	0-1	1	3	0	0-1	0-1	2	2-3
III гр. внутрішнє опромінення, n=20	3	3	3	3	3	0	3	2	2-3
IV гр. перенесений COVID-19, n=20	3	0-1	1	3	2-3	0	0	3	3

Встановлено, що судинні маркери, такі як CD-31, CD-105, VEGF мали втрачену експресію.

В усіх досліджуваних плацентах групи порівняння виявлено виражену експресію CD-31 в мембранах та ендотелії фетальних судин плаценти.

CD-31 – 3 бали в ендотелії судин ворсин різного калібру (рис. 3.9);

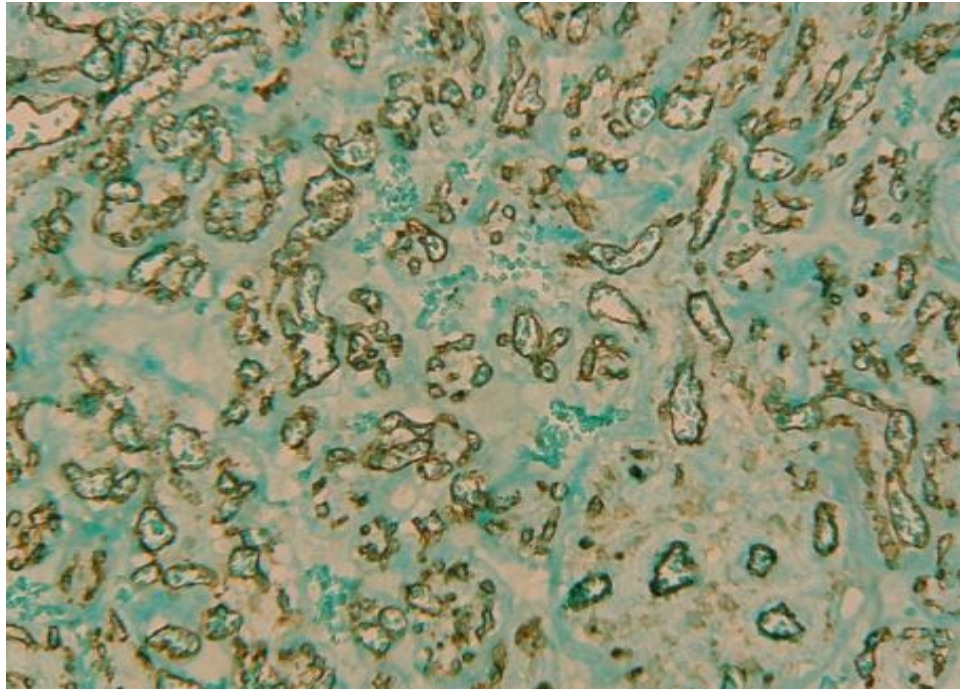


Рис. 3.9 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-31 в ендотеліальних клітинах судин проміжних ворсин – 3 бали. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-31. x200. № 5810

За результатами імуногістохімічного дослідження судинного маркера CD-31 відмічено виражену реакцію в ендотеліальних клітинах епітелія фетальних судин стовбурових, проміжних і термінальних ворсин – 3 бали (таб. 3.2), (рис. 3.10).

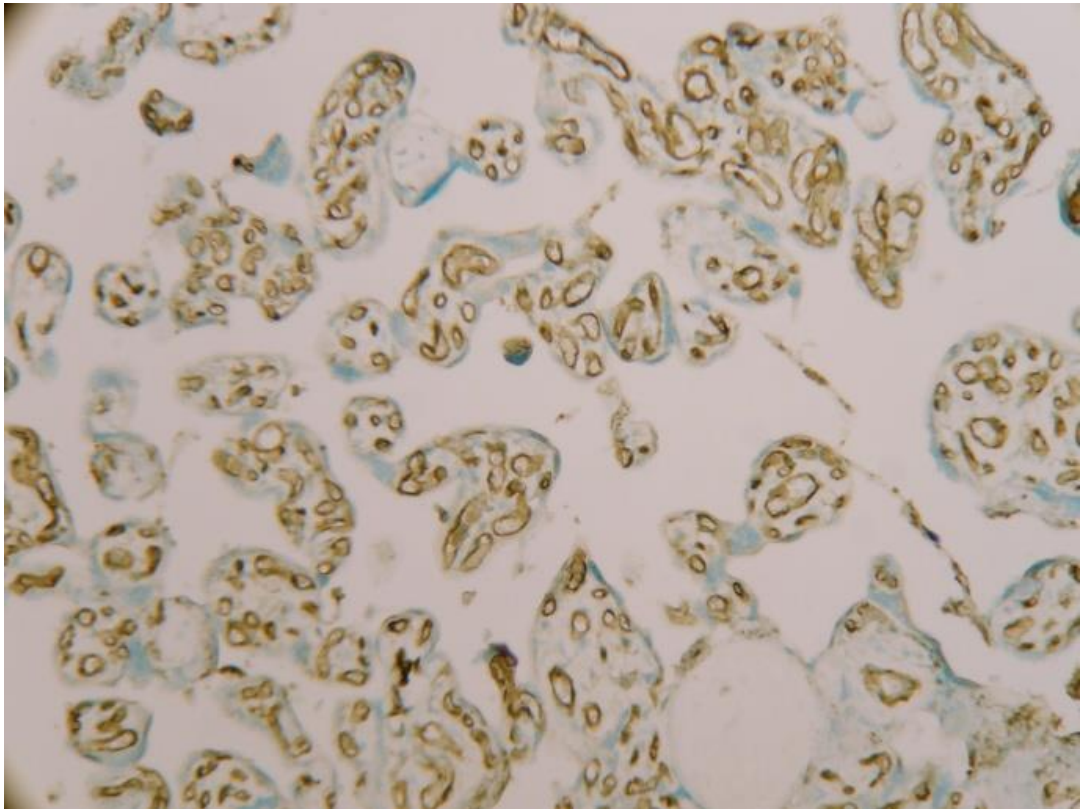


Рис. 3.10 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-31 в ендотеліальних клітинах епітелію fetalних судин особливо виражена в термінальних ворсинках – 3 бали. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-31. x200. № 5810

Під час дослідження судинового маркеру CD-105 експресію переважно виявлено в синцитіотрофобласті ворсинок (3 бали) і мембранах судин ворсинок різного калібру.

Експресія в синцитіотрофобласті ворсин (термінальних, середнього калібру та поодиноких судинах стовбурових ворсин становила 2 бали. В усіх fetalних судинах ворсинок експресія коливалась у межах від 1 до 2 балів, переважно – 2 бали. (рис. 3.11 А, Б);

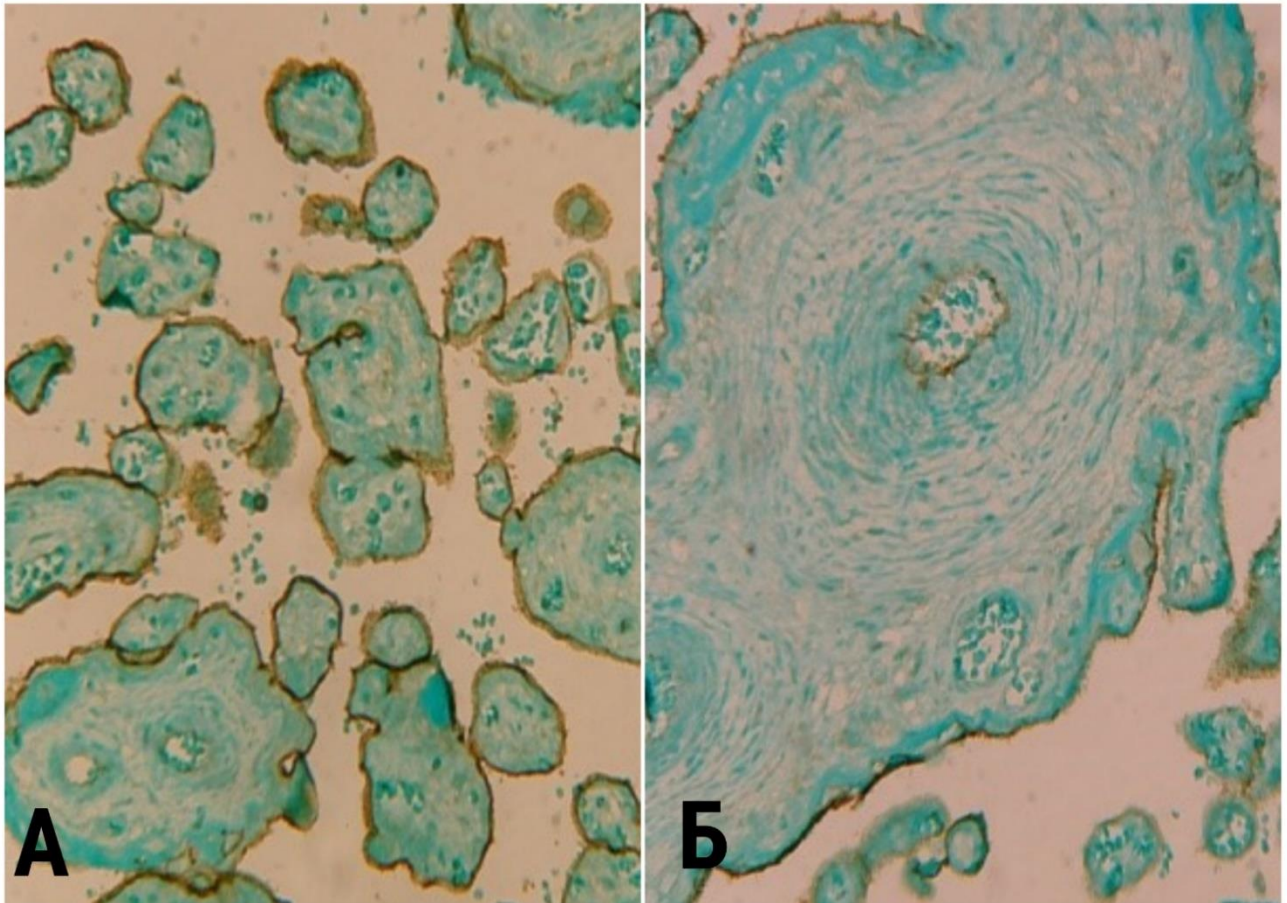


Рис. 3.11 А, Б – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-105 в синцитіотрофобласті ворсин (термінальних та поодиноких стовбурових) – 1-2 бали. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-105. x200.
№ 5810

За результатами імуногістохімічного дослідження судинного маркера CD-105 встановлено помірну реакцію (2 бала) в синцитіотрофобласті ворсин (термінальних, середнього калібра та поодиноких судинах стовбурових ворсин (таб. 3.2), (рис. 3.12).

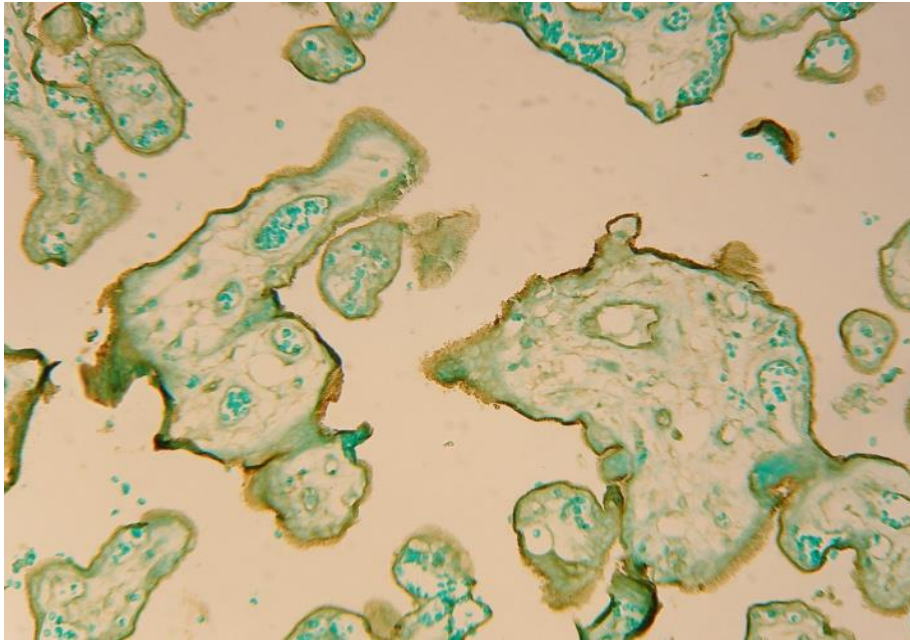


Рис. 3.12 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-105 у синцитіотрофобласті середніх ворсин – 2 бали. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-105. x200. № 5810

Під час імуногістохімічного дослідження васкулярно ендотеліально росткового фактору (VEGF) встановлено експресію в усіх досліджуваних випадках плаценти цієї групи в синцитії ворсин і ендотелії деяких судин (рис. 3.13).

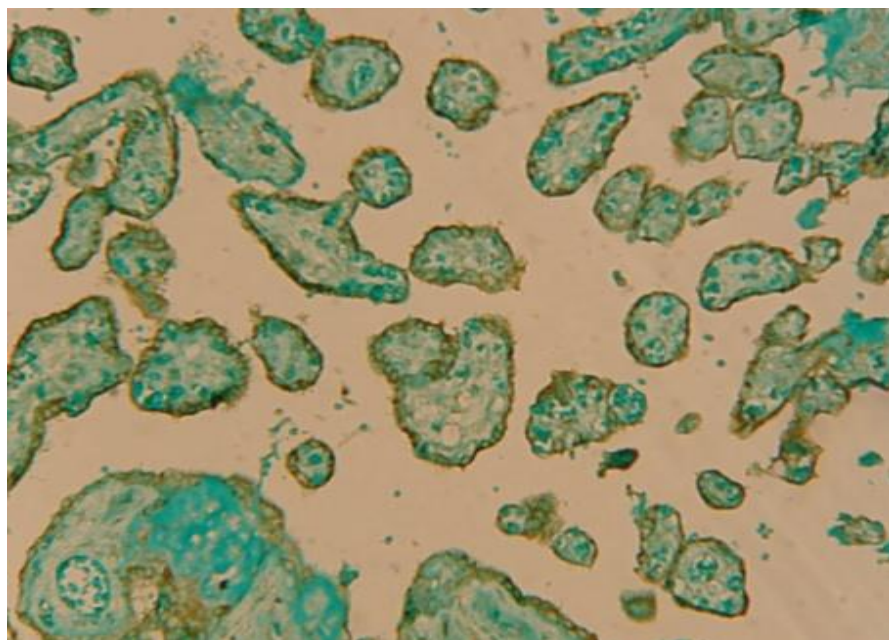


Рис. 3.13 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія VEGF в синцитії ворсин і ендотелії деяких судин ворсин – 1 бал. Імуногістохімічна експресія МКАТ VEGF. x200. № 5810

За результатами імуногістохімічного дослідження судинного маркера VEGF відмічено помірну реакцію (3 бали) в синцитії ворсин та ендотелії судин (2 бали) середніх ворсин (таб. 3.3), (рис. 3.14).

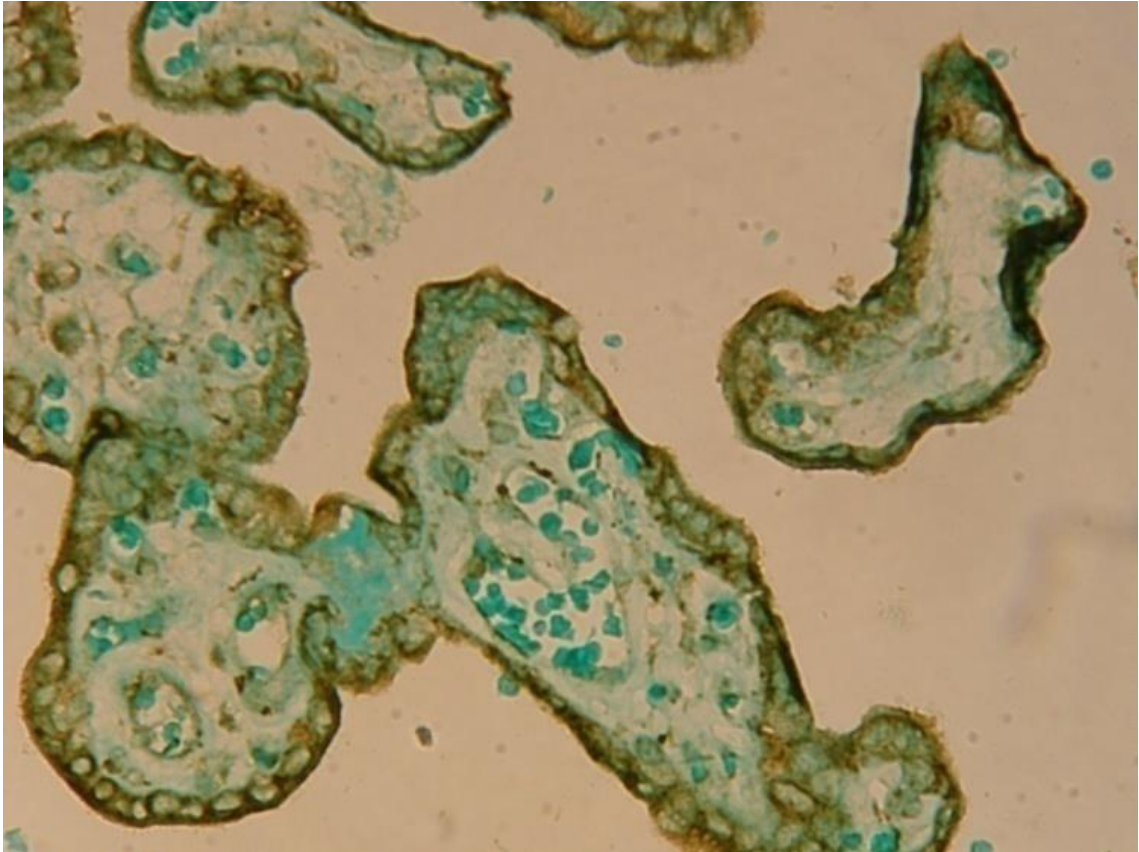


Рис. 3.14 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Виражена експресія VEGF у синцитії ворсин (3 бали) середнього калібра та ендотелії судин ворсин (2 бали). Імуногістохімічна експресія МКАТ VEGF. х630. № 5810

Маркер запальних процесів CD-45 - негативна експресія (рис. 3.15).

Під час імуногістохімічного дослідження маркера запальних процесів CD-45 відмічалась експресія в поодиноких клітинах в хоріальній та плідній оболонках, а також поодинокі клітини в просвіті судин ворсин.

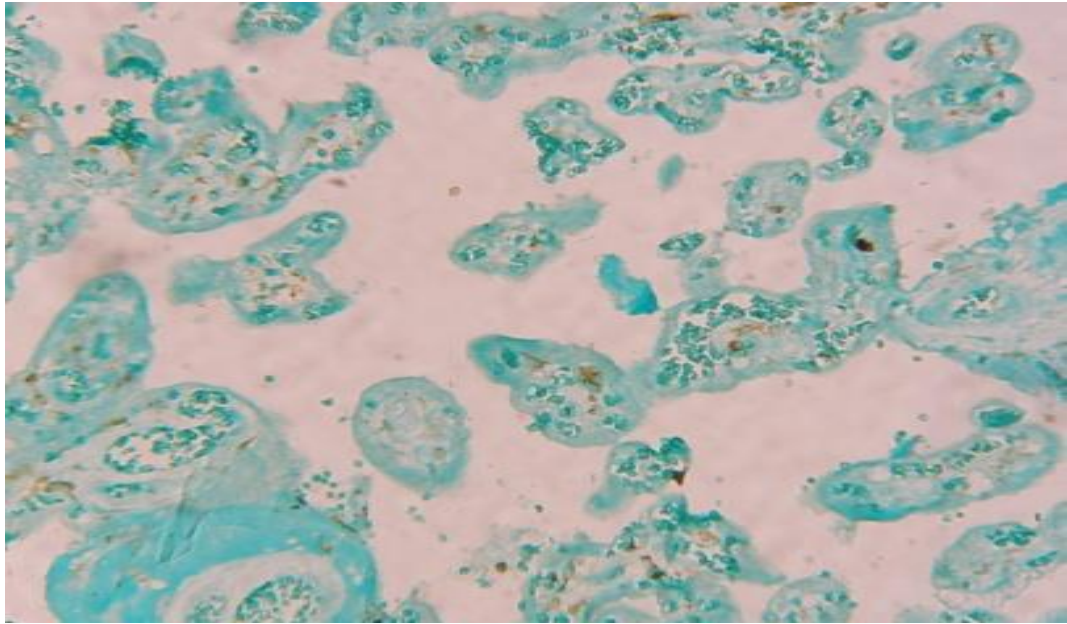


Рис. 3.15 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння).
Експресія CD-45 – 0 балів. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-45. x200.
№ 5810

Експресія натуральних кілерів – 0-1 бал (рис. 3.16).

За результатами імуногістохімічного дослідження маркера натуральних кілерів CD-56 виявлено позитивну експресію в поодиноких НК-клітинах у стромі ворсин, в децидуальній тканині – вогнищево 5-10 %.

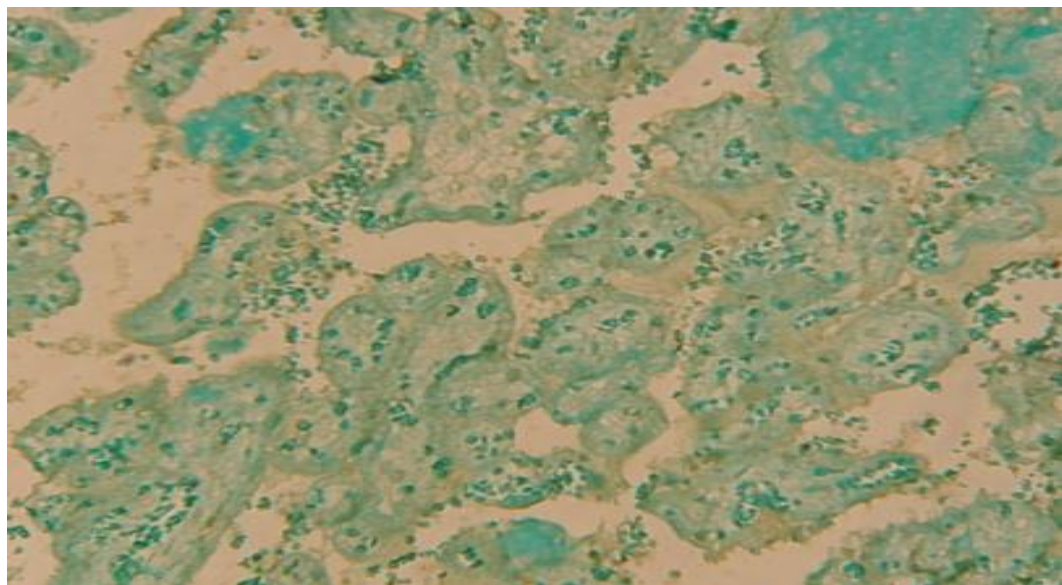


Рис. 3.16 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння).
Експресія CD-56 в поодиноких ворсинах – 0-1 бал. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-56. x200. № 5810

Експресія антиапоптозного антигена BCL-2 – 2 бали в синцитії ворсин (дифузно) (рис. 3.17).

Під час імуногістохімічного дослідження антиапоптозного антигена BCL-2 встановлено помірну реакцію (2 бала) в синцитії ворсин (дифузно) (таб. 3.3), (рис. 3.17).

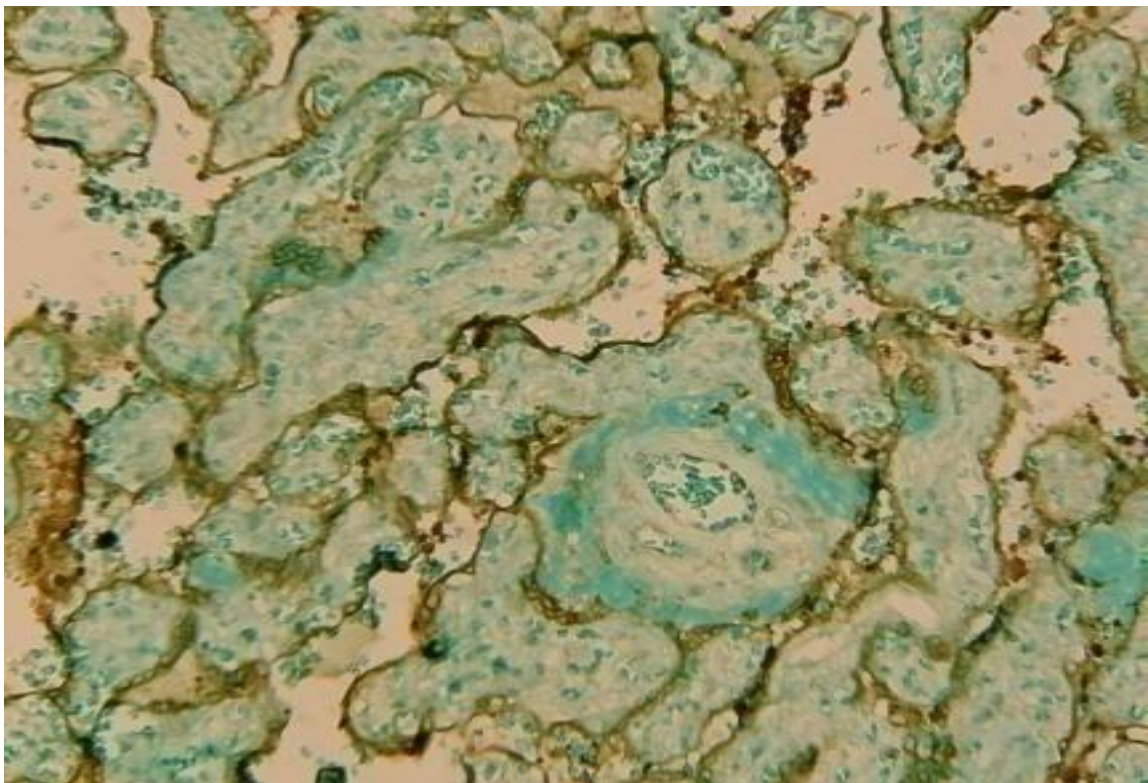


Рис. 3.17 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія BCL-2 у синцитії ворсин (дифузно) – 2 бали. Імуногістохімічна експресія МКАТ BCL-2. x200. № 5810

За результатами імуногістохімічного дослідження мезенхімального фактора віментин відмічено виражену експресію в стромі стовбурових, проміжних і термінальних ворсин – 2-3 бала (рис. 3.18).

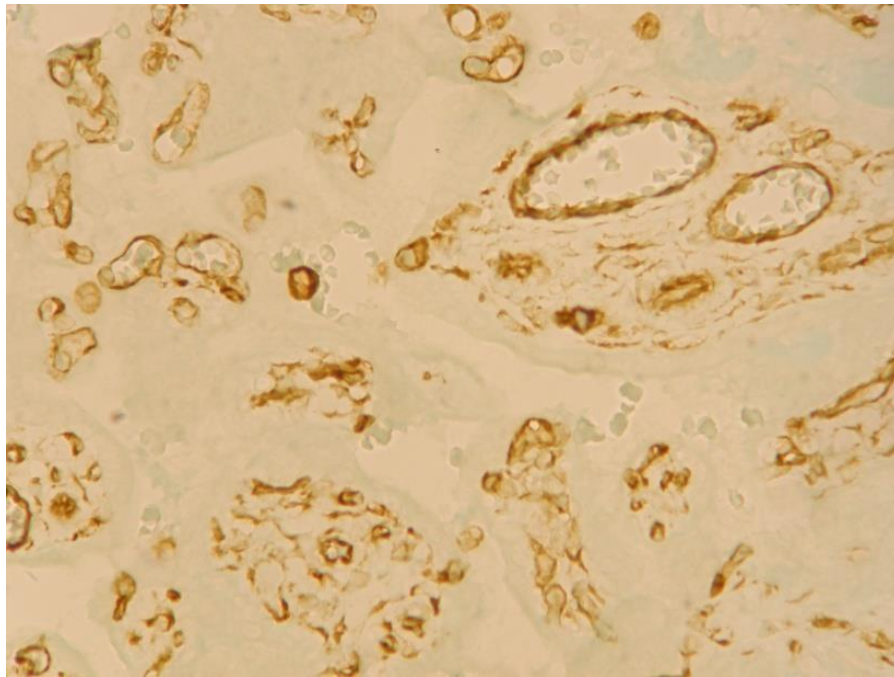


Рис 3.18 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія мезенхімального маркера віментину у стромі ворсин та мембранах судин – 2-3 бали. Імуногістохімічна реакція МКАТ vimentin. x400. № 5810

Під час імуногістохімічного дослідження проліферативного маркера Кі-67 виявлено реакцію в ядрах синцитію проміжних і термінальних ворсин та в ядрах децидуальних клітин 1-2 бали (таб. 3.3), (рис. 3.19).

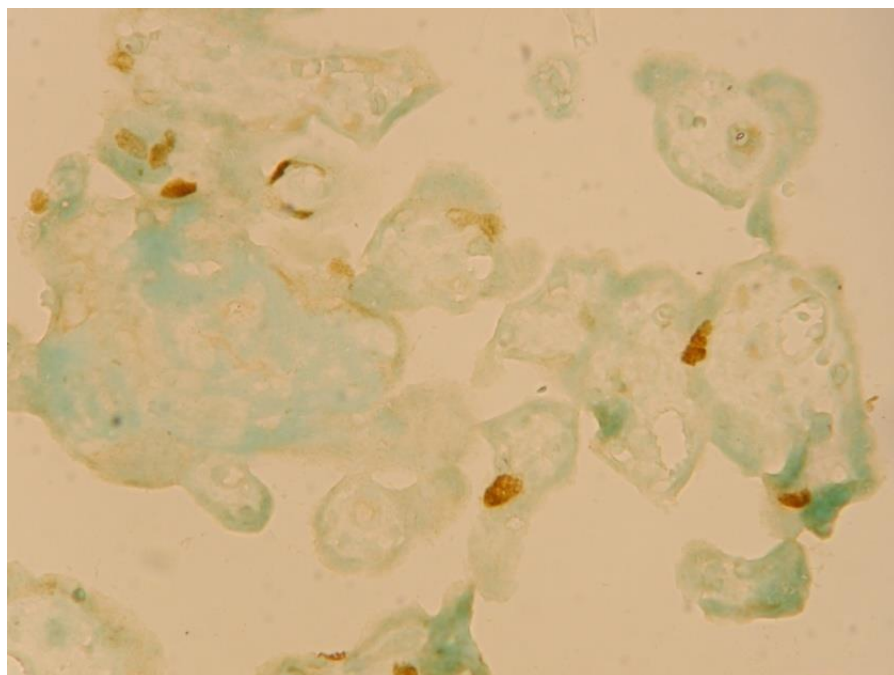


Рис. 3.19 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія проліферативного маркера Кі-67 в ядрах синцитію проміжних і термінальних ворсин – 1-2 бали. Імуногістохімічна реакція МКАТ Кі-67. x630. № 5810

У підрозділі 3.1 «Морфологічні, імуногістохімічні та морфометричні особливості плаценти жінок з фізіологічним перебігом вагітності» наведено гістологічні та імуногістохімічні дані дослідження плаценти жінок 39-40 тижнів терміну гестації з фізіологічним перебігом вагітності, які народили живих дітей з масою 2500-3600 грамів без ускладнень. Виявлено особливості імуногістохімічних маркерів судинних, проліферативних та тромбоспондіну-1 які представлені в таблицях.

3.2 Морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу на фоні передчасних пологів

У плацентах жінок з передчасними пологами виявлено зміни в структурах плацентарного бар'єру залежно від живонародженості (Па гр.) дитини чи загибелі (Пб гр.) в перинатальному періоді (табл. 3.1). Встановлено, що в плацентах жінок II групи (підгрупа живонароджених) здебільшого зміни відмічалися в материнських судинних структурах з переважанням часткового відшарування децидуальної оболонки (рис. 3.20).

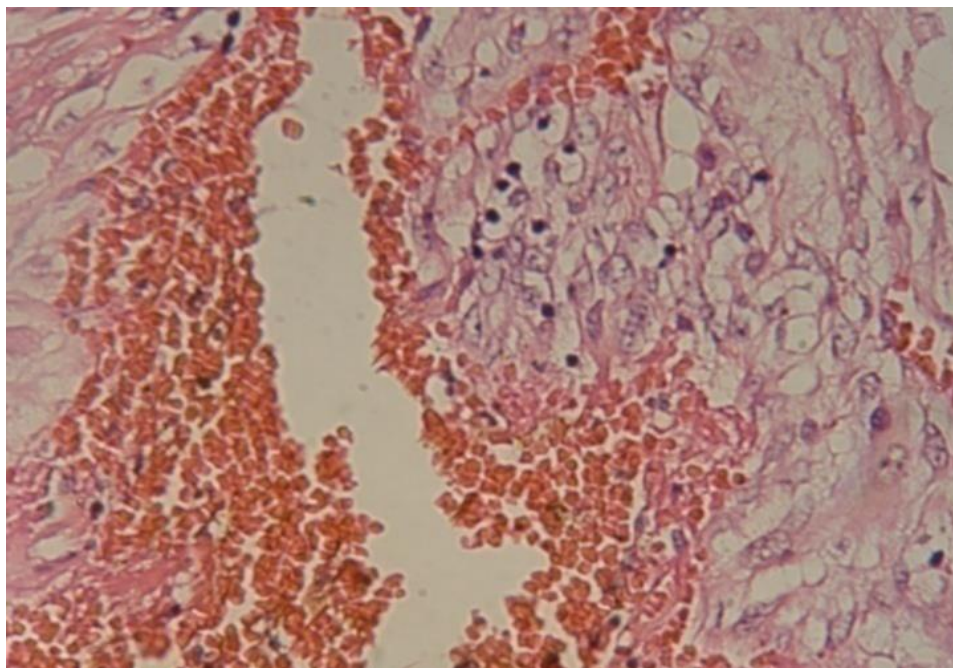


Рис. 3.20 – Плацента жінки з передчасними пологами в 33 тижні вагітності (підгрупа живонароджених). Часткове відшарування децидуальної оболонки. Забарвлення гематоксилін-еозіном. х200. № 7169

Також виявлено фокальне прискорення дозрівання хоріальних ворсинок з фіброзом їхньої строми та стінок судин у більшості випадків – 60 %, з проявами плацентарної дисфункції (рис. 3.21).

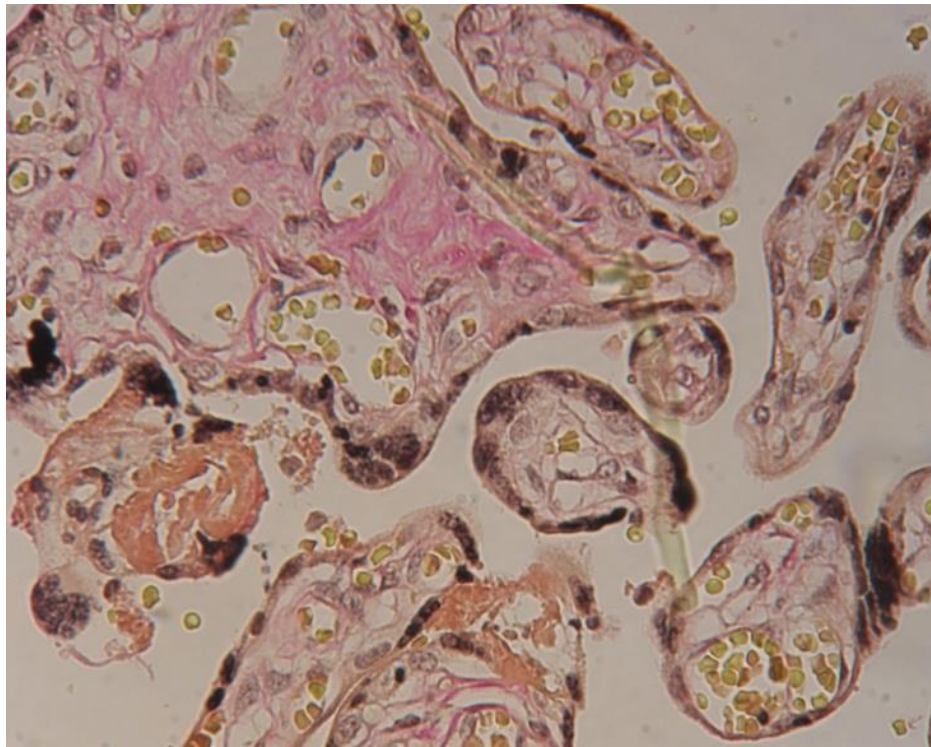


Рис. 3.21 – Плацента жінки з передчасними пологами в 33 тижні вагітності (підгрупа живонароджених). Фіброз строми термінальних ворсин і ворсин середнього калібру. Забарвлення пікрофуксином. х630. № 7169

В підгрупі живонароджених материнські внутрішні інфаркти в 5 % плацент були поодинокими (рис. 3.22) з наявністю аваскулярних термінальних та середніх ворсинок.

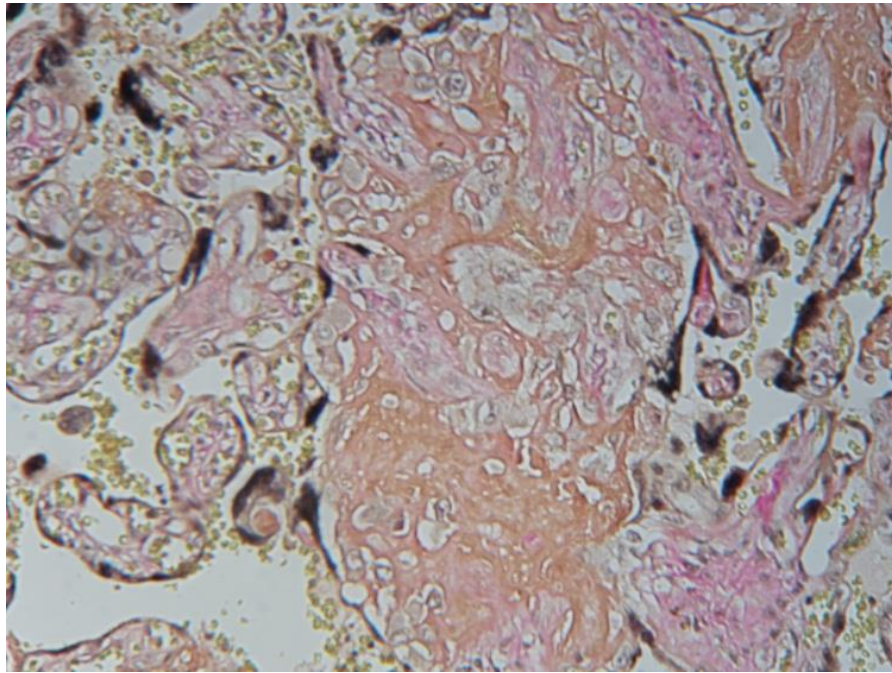


Рис. 3.22 – Плацента жінки з передчасними пологами в 33 тижні вагітності (підгрупа живонароджених). Материнський внутрішній інфаркт. Зabarвлення пікрофуксином. x200. № 7169

В частині випадків (2) у децидуальній оболонці та в міжворсинчатому просторі відмічено фокальні лімфоцитарні інфільтрати (рис. 3.23).

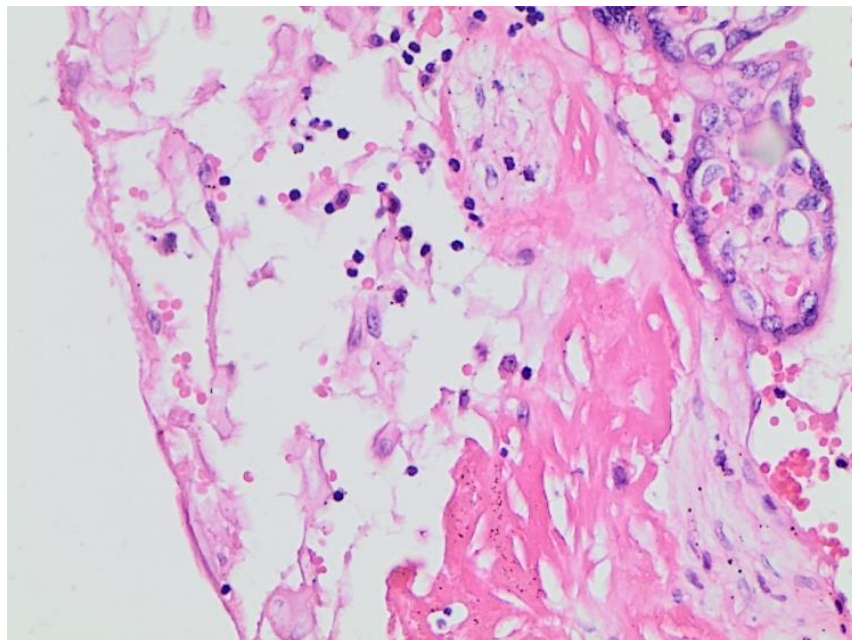


Рис 3.23 – Плацента жінки з передчасними пологами в 33 тижні вагітності (підгрупа живонароджених). Вогнищева лімфоплазмоцитарна інфільтрація децидуальної оболонки на тлі вираженого набряку. Зabarвлення гематоксилін-еозіном. x400. № 7169

У II групі в підгрупі живонароджених (табл. 3.1) виявлені поширені вогнища материнських внутрішніх інфарктів (рис. 3.24), переважно в ділянці децидуальної оболонки, а також центральних відділах плацентарних тканин.

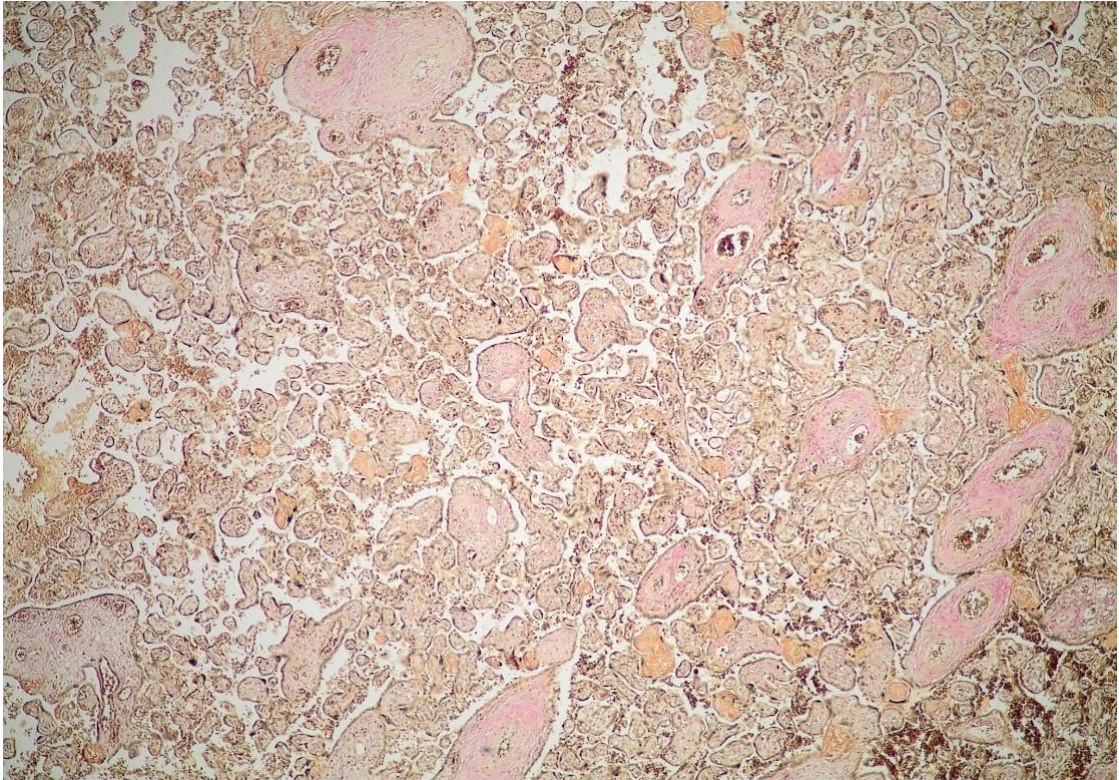


Рис. 3.24 – Плацента жінки з передчасними пологами в 32 тижні вагітності (підгрупа живонароджених). Поширені вогнища материнських внутрішніх інфарктів. Забарвлення пікрофуксином. х50. № 5692

Встановлено виражені ознаки передчасного дозрівання термінальних і середніх ворсин з фіброзом їхньої строми та наявністю судин в центрі ворсин, зменшення синцитіокапілярних мембран (табл. 3.1), (рис. 3.25).

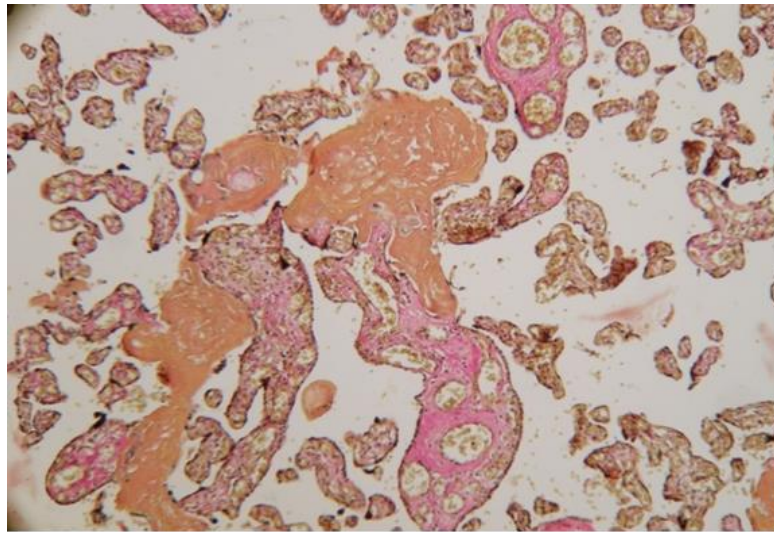


Рис 3.25 – Плацента жінки з передчасними пологами в 33 тижні вагітності (підгрупа живонароджених). Виражені ознаки передчасного дозрівання та фіброзу стромі ворсин. Забарвлення пікрофуксином. x100. № 7169

Також відмічено проліферацію синцитіотрофобласта у вигляді багатоядерних вузликів із збільшенням їх кількості, особливо середніх ворсин (табл. 3.1), (рис. 3.26).

Виявлено скупчення ворсин із зменшенням або відсутністю міжворсинчастого простору. У міжворсинчастому просторі більшості плацент встановлені вогнища фібриноїду (неворсинчастого) (рис. 3.29), та мікровогнища крововиливу.

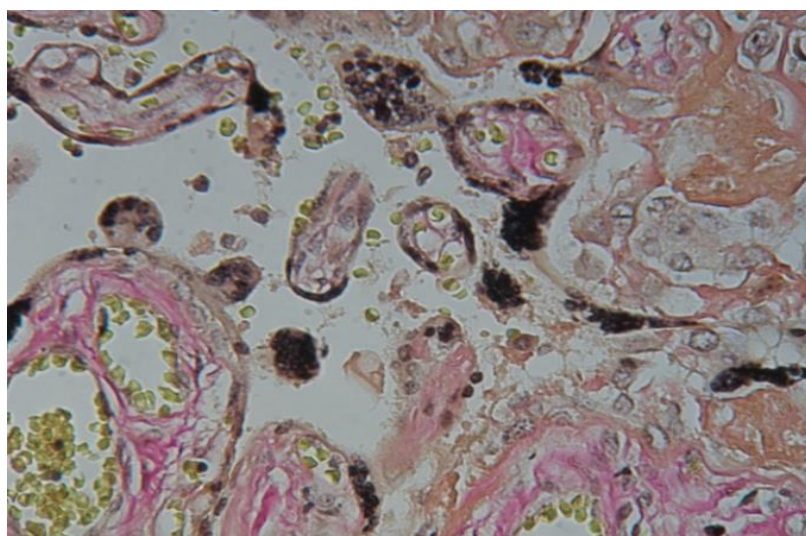


Рис. 3.26 – Плацента жінки з передчасними пологами в 33 тижні вагітності (підгрупа живонароджених). Проліферація синцитіотрофобласта та синцитіальні вузлики. Забарвлення пікрофуксином. x630. № 7169

В II групі в підгрупі мертвонароджених (табл. 3.1) в 9 випадків перинатальної загибелі виявлено поширені запально-імунні процеси з хоріонамніонітом (4 випадки), поєднані з відшаруванням децидуальної оболонки. Також виявлено гострий хоріоамніоніт з децидуїтом (в одному випадку) з вогнищами некрозу та вираженої дистрофії децидуальних клітин (рис. 3.27, 3.28, 3.29).

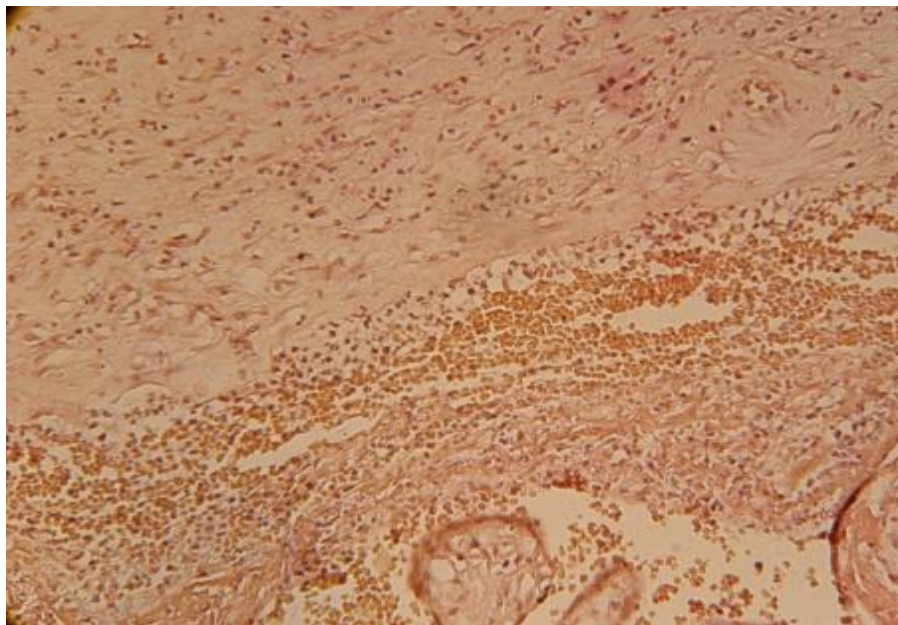


Рис. 3.27 – Плацента жінки з передчасними пологами в 23 тижні вагітності (підгрупа мертвонароджених). Відшарування децидуальної оболонки. Забарвлення гематоксилін-еозином. x200. № 5716

Виявлені нами відшарування децидуальної оболонки були вогнищеві чи розповсюджені з нерівномірною структурою та в більшості випадків займали значну частину поверхні децидуальної оболонки. В структурі децидуальної оболонки виявлені вогнища набряків, крововиливів та її нерівномірне потовщення чи потоншення.

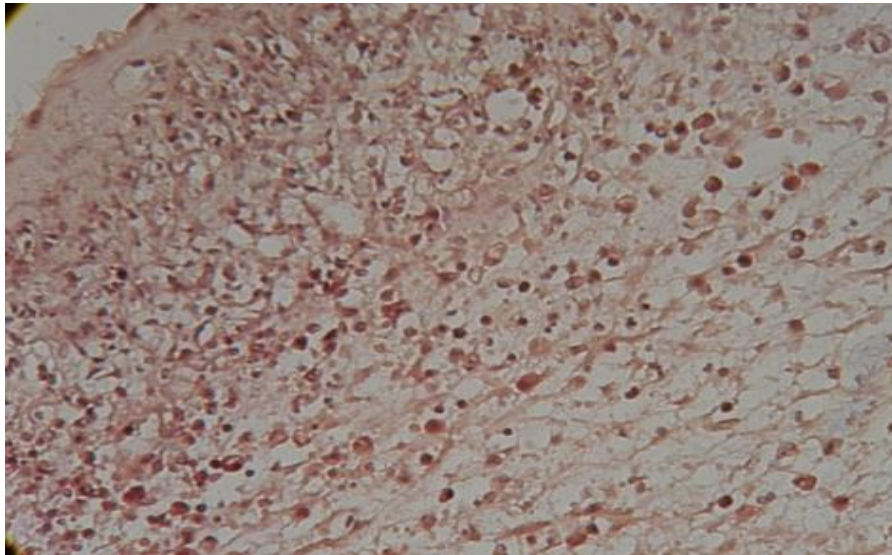


Рис. 3.28 – Плацента жінки з передчасними пологами в 23 тижні вагітності з гострим децидуїтом (підгрупа мертвонароджених) Забарвлення пікрофуксином. x400. № 5716

За наявності децидуїту встановлено поширені та виражені лімфоцитарні інфільтрати стромы з поодинокими плазмоцитами, нейтрофілами та макрофагами. Запальні інфільтрати децидуальної оболонки виявлено переважно в плацентах жінок 22-36 тижнів вагітності. В поодиноких випадках ці інфільтрати розповсюджувалися в міжворсинчастий простір.

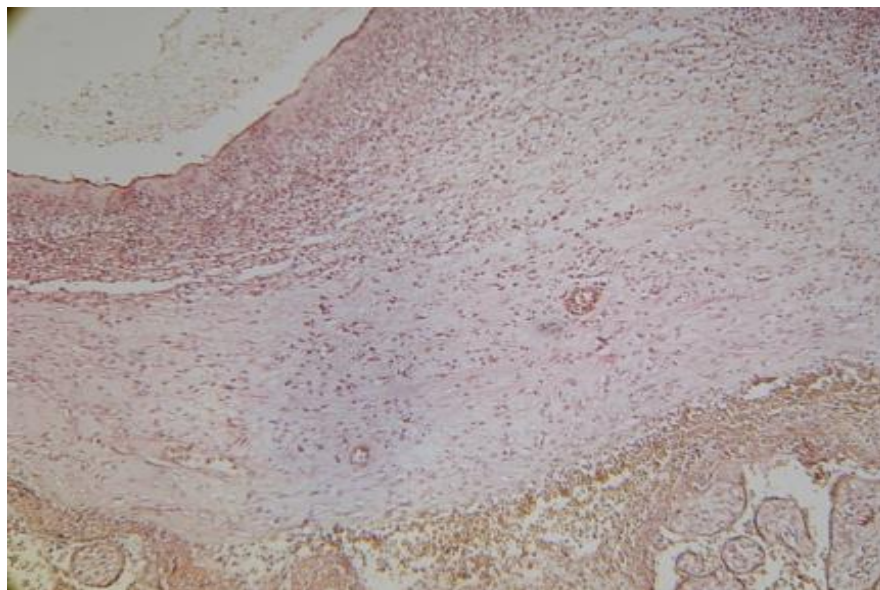


Рис. 3.29 – Плацента жінки з передчасними пологами в 23 тижні вагітності з вогнищами некрозу та вираженої дистрофії децидуальних клітин (підгрупа мертвонароджених). Забарвлення пікрофуксином. x100. № 5716

У підгрупі мертвонароджених знайдено порушення перфузії (повна) з відшаруванням децидуальної оболонки, дрібні вогнища аваскулярних ворсин та набряку строми ворсин (табл. 3.1). Внутрішні материнські інфаркти виявлено в понад 90 % випадків із затримкою ворсинчастого дозрівання.

Аналіз отриманих даних II групи плацент жінок з перериванням вагітності виявив особливості плацентарних тканин у термін 22-36 тижнів гестації.

В ранні терміни гестації входили 3 випадки абортного матеріалу при вагітності, що не розвивається в ранніх термінах гестації (5-7 тижнів). Під час гістологічного дослідження у 2 випадках спостерігалось часткове відшарування плаценти. При цьому децидуальна оболонка була густо інфільтрована лімфоцитами, плазматичними клітинами, нейтрофілами, з множинними вогнищами крововиливів, повнокров'ям судин, вогнищами фіброзу, некрозу. В базальному відділі оболонки виявлялися вогнища фібриноїдного некрозу, визначалася дифузна інвазія інтерстиціального трофобласта. У частині ендометріальних сегментів маточно-плацентарних артерій визначалися явища гестаційної перебудови. Ворсинчастий хоріон у двох випадках був представлений переважно мезенхімальними ворсинами, які були вкриті різним за товщиною трофобластом. В одному випадку він складався з мезенхімальних, ембріональних та проміжних незрілих ворсин. Між ворсинами виявлялися цитотрофобластичні проліферати та вільні багатоядерні симпласти. Строма більшості ворсин була аваскулярною, часто з явищами фіброзу. В одному випадку у ворсинчастому хоріоні спостерігався частковий міхуровий занос. При цьому поряд з ворсинами звичайних розмірів відмічалися вогнища великих ворсин, що були вкриті різко потоншеним синцитіотрофобластом. Строма цих ворсин була аваскулярною з явищами набряку (табл. 3.1).

В одному випадку (який вартий уваги у зв'язку з тим, що переривання вагітності у жінки було 4 рази) нами виявлені гістологічні зміни, які в сучасній класифікації уражень плаценти (2016) трактують як децидуальна артеріопатія (табл. 3.1), в котрій знайдено зміни з наявністю плацентарних судинних уражень (материнських) (рис. 3.30 А, Б, В; 3.33 А, Б, В).

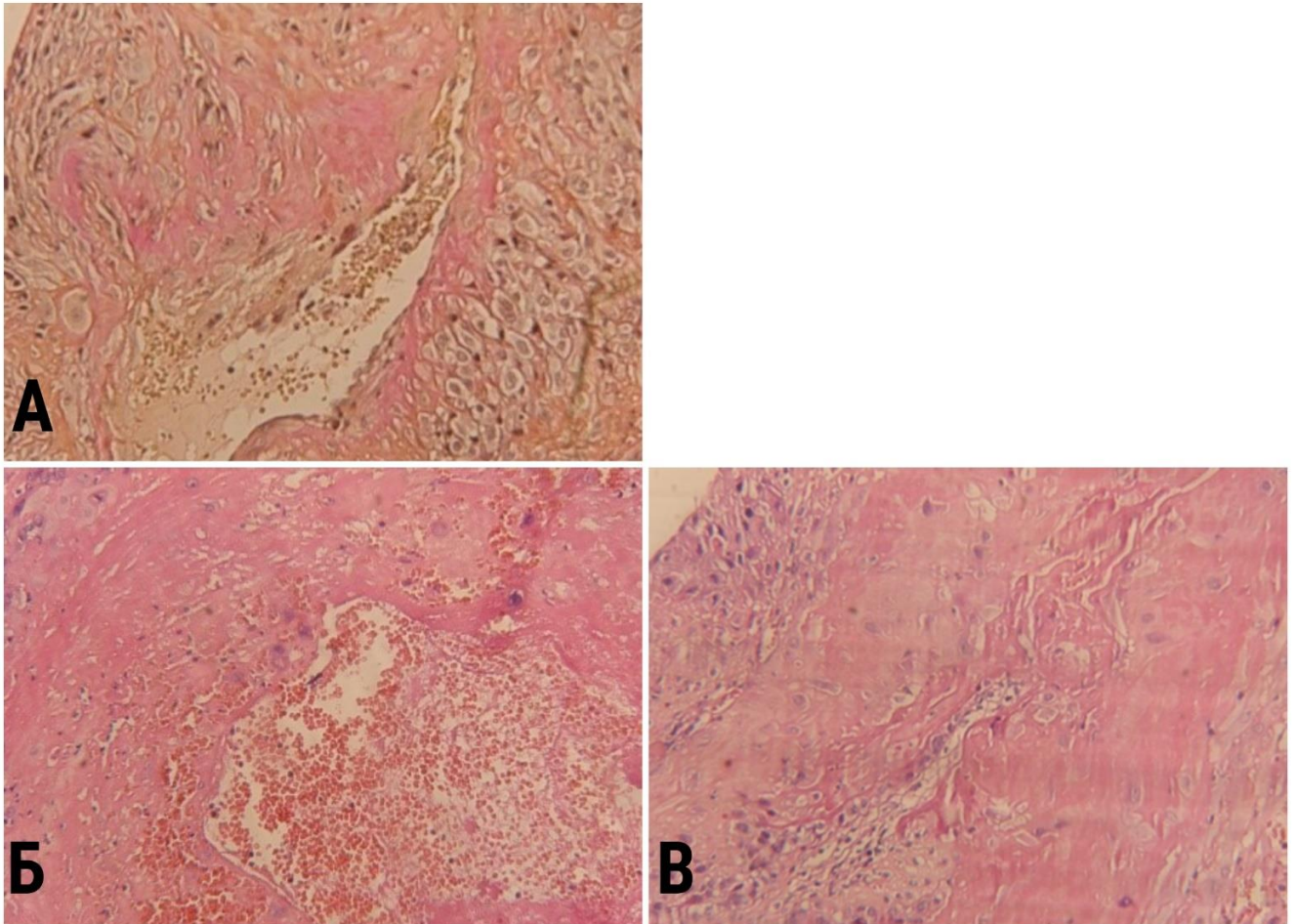


Рис. 3.30 А-В – Плацента жінки з перериванням вагітності в терміні 32 тижні (ІІб група) з децидуальною артеріопатією поверхневої імплантації судин. Забарвлення пікрофуксином. x100. № 7387

За результатами морфологічних досліджень виявлено найбільші зміни в плаценті при антенатальній смерті плода. При цьому загибель плода відмічалась у терміні гестації 22-23 тижні. В плацентарному бар'єрі виявлено: запалення та відшарування децидуальної оболонки; незрілість ворсин хоріона більше ніж у 70% послідів; відсутність та зниження компенсаторних реакцій в структурах середніх та термінальних ворсин хоріона, що пов'язане з повним зниженням фетально-васкулярної перфузії (згідно з новою класифікацією 2016).

Крім того, гістологічно в досліджуваних тканинах виявлені мікроінфаркти та материнські внутрішні інфаркти з масивним перивільозним відкладенням фібрину з подальшими змінами плодових структур з вираженою затримкою

дозрівання ворсин та поширеними вогнищами аваскулярних ворсин і фіброзом строми (рис. 3.31).

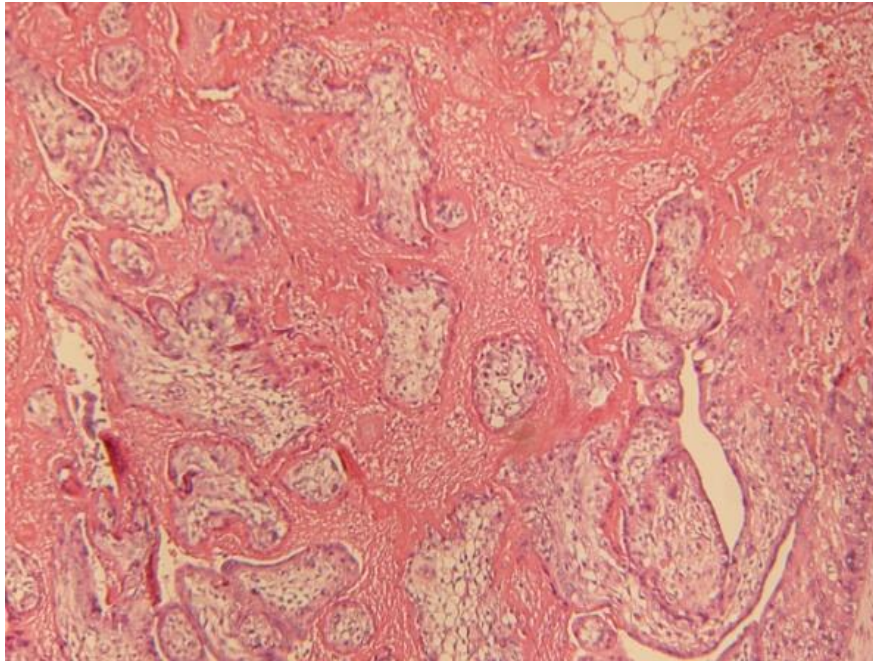


Рис. 3.31 – Плацента жінки з перериванням вагітності в терміні 32 тижні (Пб група). Материнський внутрішній інфаркт. Забарвлення гематоксилін-еозином. x100. № 7387

В II групі досліджень плацент в терміні гестації 22-36 тижнів виявлені запальні поширені процеси материнської частини плаценти з хронічним децидуїтом (табл. 3.1). Відмічено виражену лімфо-плазмоцитарну інфільтрацію децидуальної оболонки з прилеглими частинами хоріальних структур.

В усіх випадках (табл. 3.1) досліджуваної групи (II) відмічені зміни материнської частини плаценти децидуальної оболонки:

- нерівномірне потовщення з порушенням архітекtonіки децидуальної оболонки;
- мікровогнища множинних відшарувань децидуальної оболонки зі зменшенням функціональних можливостей плаценти;
- вогнища некрозу з різною конфігурацією ядер децидуальних клітин (рис. 3.32 А);
- апоптоз та виражена дистрофія ядер в децидуальних клітинах (рис. 3.32 Б);

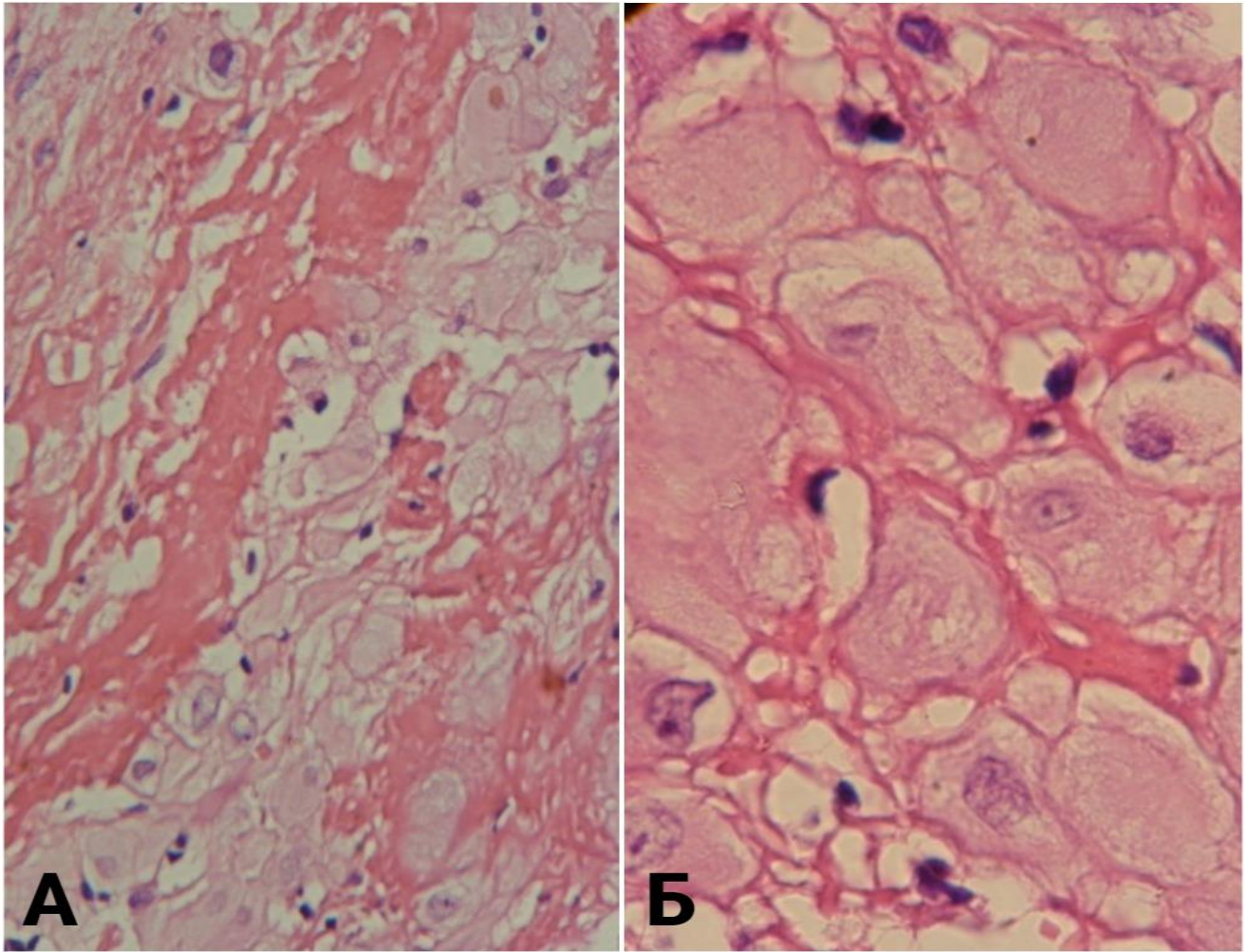


Рис. 3.32 А, Б – Плацента жінки ІІб групи у терміні 22 тижні гестації. Вогнища некрозу з різною конфігурацією ядер децидуальних клітин. Забарвлення гематоксилін-еозином. (А х400; Б х630) № 5956

Проведено імуногістохімічне дослідження васкулярних маркерів (CD-105, VEGF, CD-31). Експресія CD-105 і VEGF в стінці судини з децидуальною артеріопатією (рис. 3.33 А, Б) не відмічена. Експресія CD-31 (рис. 3.33 В) була нерівномірною.

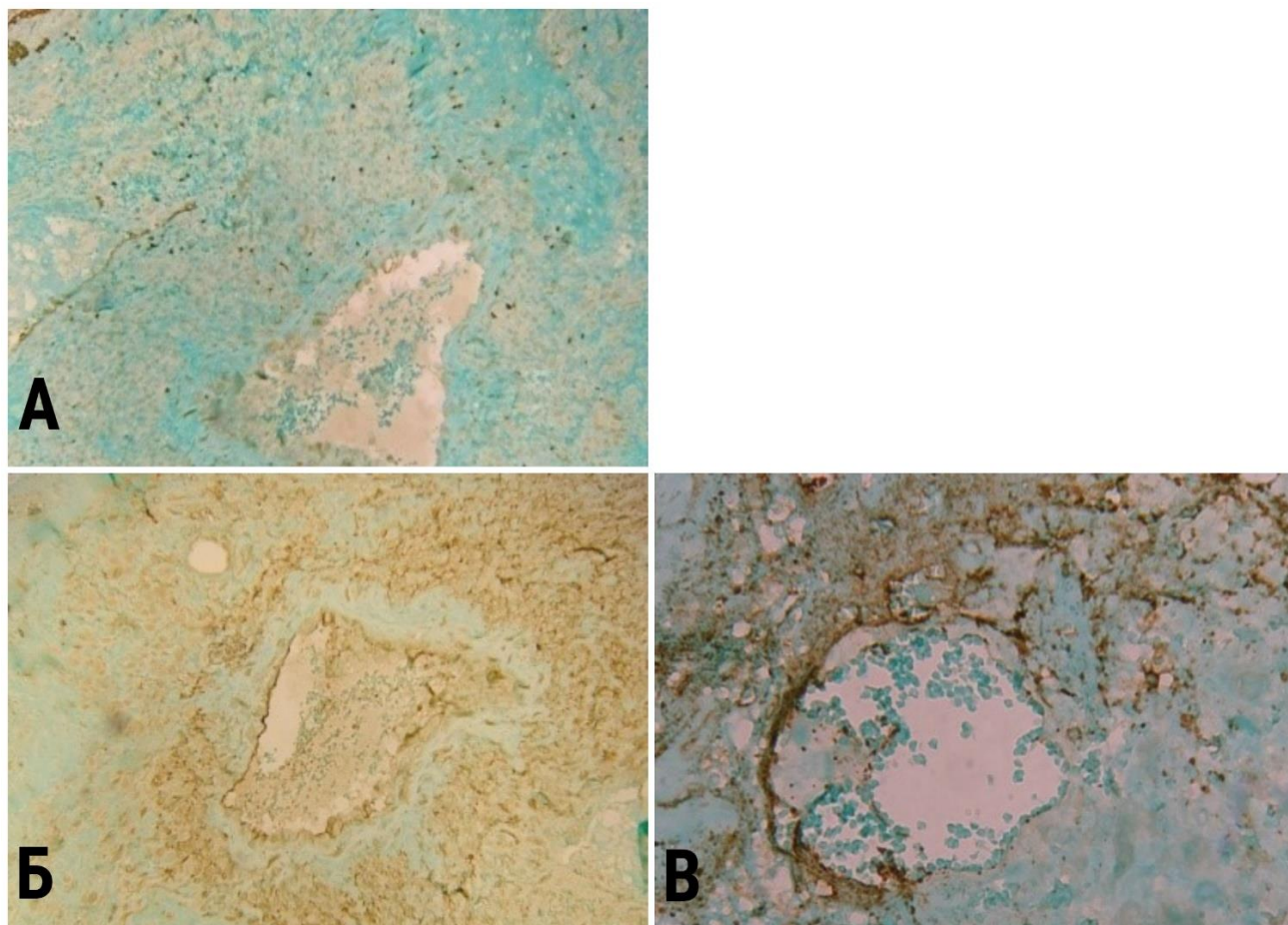


Рис. 3.33 А-В – Плацента жінки з перериванням вагітності в терміні 32 тижні (ІІб група). Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-105, VEGF, CD-31. x100. № 7387

Усі перелічені зміни відносяться до порушень судинних структур в материнській частині плаценти, а потім – у плодових структурах посліду.

Проведені імуногістохімічні дослідження ворсинчастого хоріона (табл. 3.2 і 3.3) виявили:

- CD-105 – слабо позитивна експресія (0-1 бал) у структурах синцитію ворсин (рис. 3.34 А);
- VEGF – негативна експресія у всіх ворсинах (рис. 3.34 Б);
- CD-31 – позитивна експресія в епітелії судин ворсин (рис. 3.34 В);
- CD-56 – позитивна експресія в НК-клітинах у стромі ворсин 5-6 %, у децидуальній тканині – вогнищево 15-20 % (рис. 3.34 Г);

- CD-45 – нерівномірна експресія 30-45 % (рис. 3.34 Д);
- VCL-2 – позитивна експресія в синцитії ворсин – 3 бали (рис. 3.34 Е).

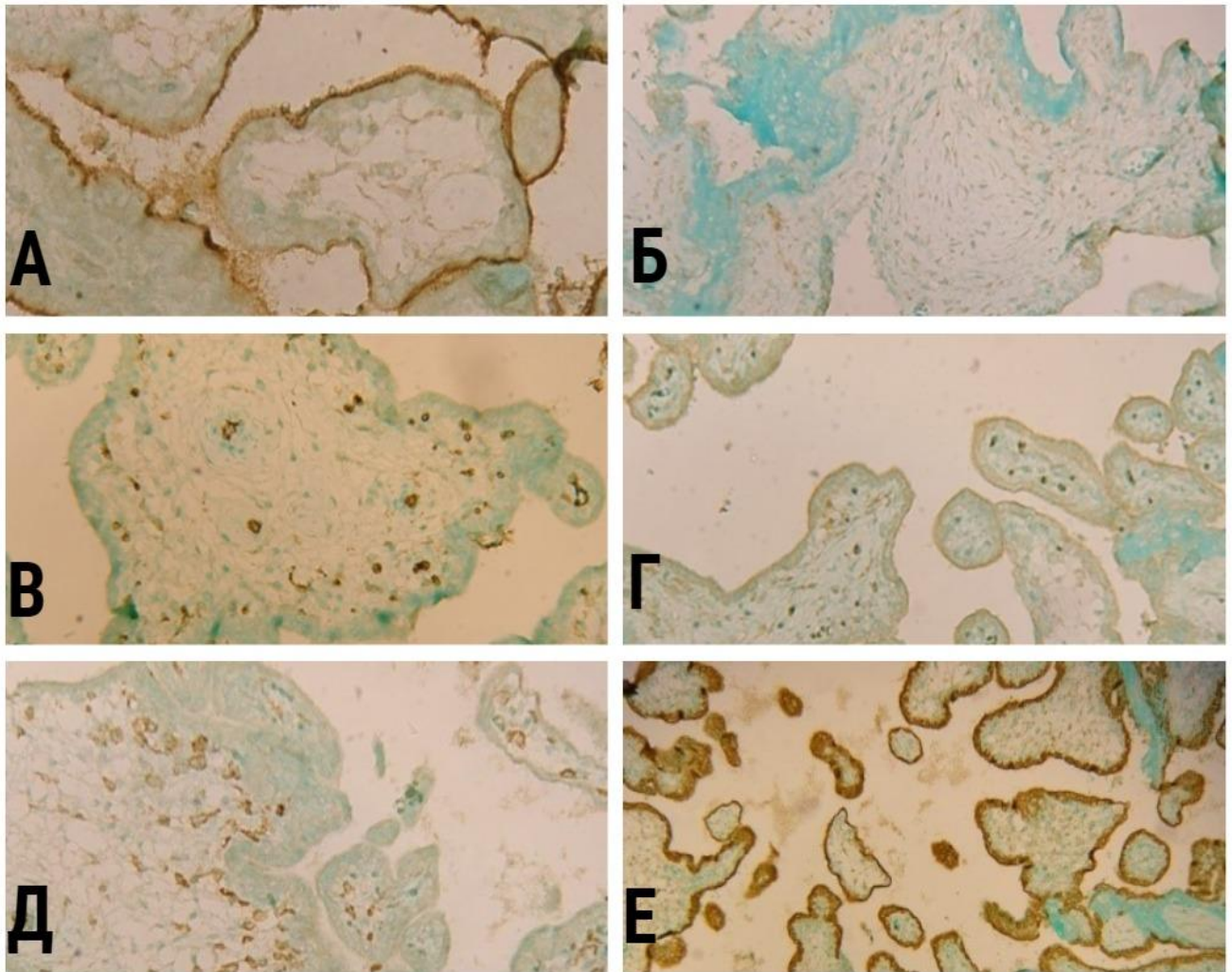


Рис. 3.34 А-Е – Плацента жінки з перериванням вагітності у терміні 32 тижнів (ІІб група). Імуногістохімічні експресія МКАТ CD-105 рис. А, VEGF рис. Б, CD-31 рис. В, CD-56 рис. Г, CD-45 рис. Д, VCL-2 рис. Е. x100. № 7387

Імуногістохімічно у ІІ групі дослідження в підгрупах живонароджених і мертвнонароджених порівняно з І групою встановлено (табл. 3.2), що маркери судинних структур плаценти були з відсутністю експресії у плацентах мертвнонароджених і нерівномірно – у живонароджених.

За результатами імуногістохімічного дослідження CD-31 виявлено виражену реакцію в ендотелії стовбурових, проміжних і термінальних ворсин – 3 бали (рис. 3.35).

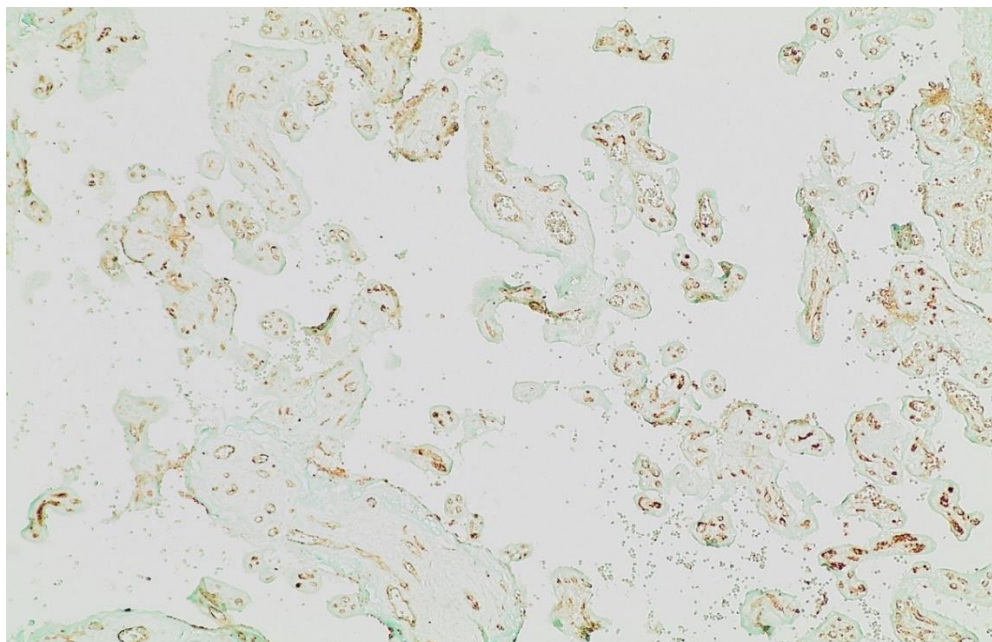


Рис. 3.35 – Плацента жінки II групи (мертвонароджені) у 32 тижні гестації. Помірна експресія ендотеліального фактора CD-31 у судинах ворсин. Імуногістохімічна експресія МКАТ. х50. № 7658

В підгрупі мертвонароджених виявлено імуногістохімічно зниження експресії VC1-2 в синцитії та стромі ворсин (табл. 3.3).

Встановлено порушення експресії CD-56 (NK-натуральні кілери) у III групі, та особливо в II (а та б) групі з підвищенням експресії NK в стромальних структурах плацентарного бар'єру.

Порушення експресії натуральних кілерів по даним літератури призводили до передчасних пологів і змін в регуляції вродженого та адапційного імунітету, що виявлено нами в II групі досліджень.

Імуногістохімічно в II групі дослідження (переважно, в 95 % випадків) (табл. 3.2, 3.3) не виявлено експресію маркерів судинних структур CD-105, VEGF, CD-31 (рис. 3.36 А, Б, В).

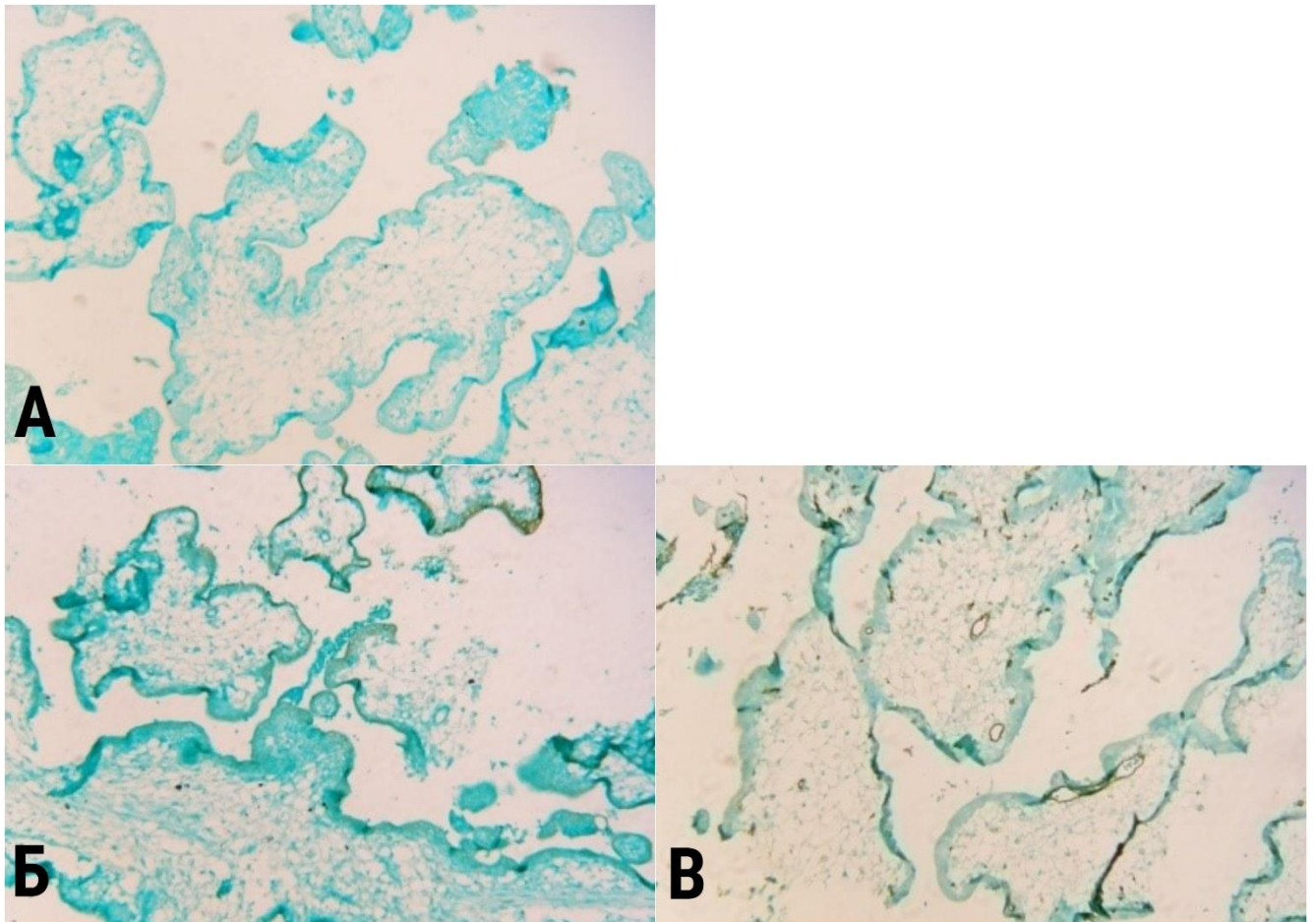


Рис. 3.36 А-В – Плацента жінки ІІб групи (22 тиждень гестації). Імуногістохімічні експресія МКАТ CD-105, VEGF, CD-31. x100. № 5956

В ІІ групі досліджень плацент жінок з мертвонародженими виявлено збільшення експресії натуральних кілерів (CD-56) від 5 до 10 %, вогнищево 20-30 % у децидуальній оболонці та поодинокі – у хоріальній, у плідних оболонках – 10-20 %, у ворсинах – 1-5 % (таб. 3.1).

Міжнародна наукова спільнота пов'язує їх з порушенням хемо- та цитокінів, що призводять до змін регуляторів вродженого та адапційного імунітету, та з передчасним відшаруванням плаценти (рис. 3.37).

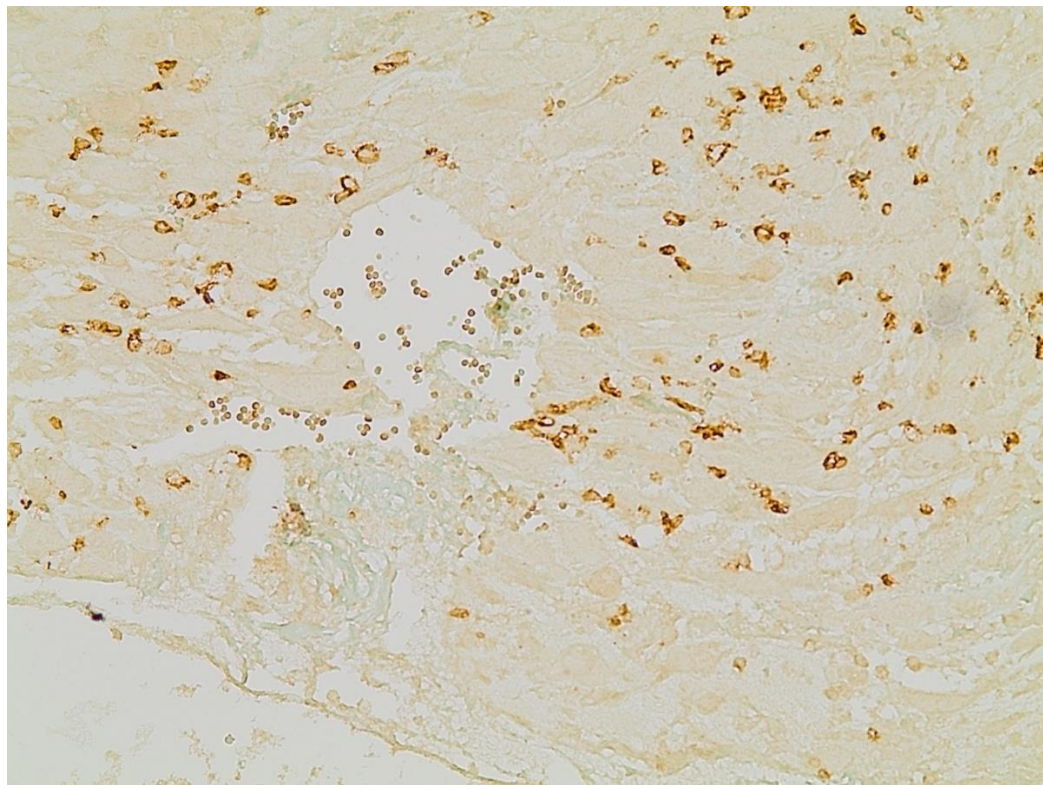


Рис. 3.37 – Плацента жінки II групи (мертвонароджені) у терміні гестації 24 тижні. Виражена експресія CD-56 в НК-клітинах децидуальної оболонки. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-56. x200. № 6322

Імуногістохімічно встановлено збільшення експресії мезенхімального маркера в тканинах строми ворсинчастого хоріона та фетальних судин. Радіометричний аналіз плацент при внутрішній загибелі плода становив 10,4 Бк/кг в 90 %. Дані зміни вказують на роль хронічного внутрішньоутробного опромінення на структури плацентарного бар'єру (рис. 3.38).

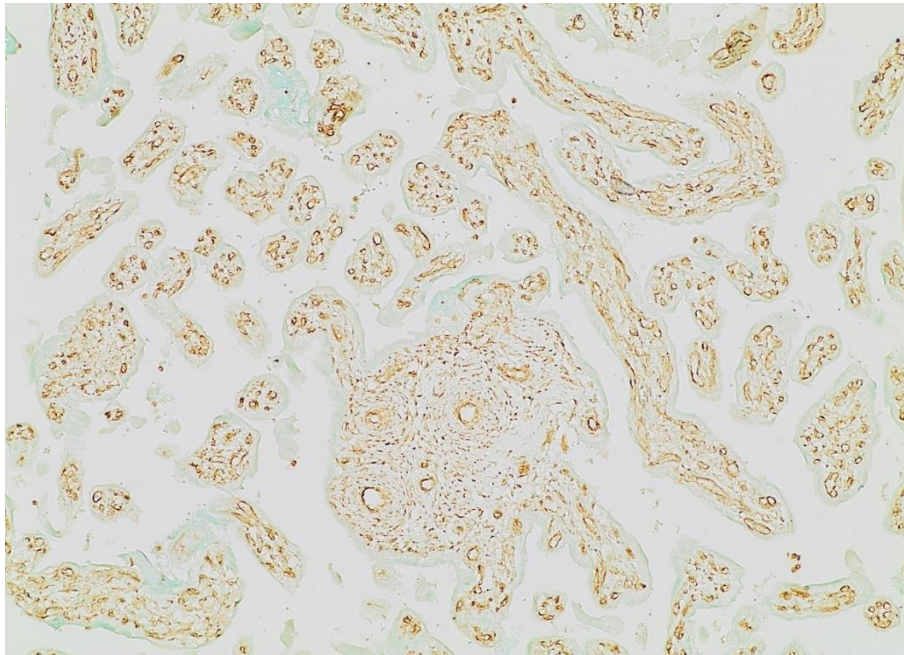


Рис. 3.38 – Плацента жінки II групи (мертвонароджені) у 24 тижні гестації. Виразна експресія мезенхімального фактору віментину в мембранах судин ворсинок. Імунногістохімічна експресія МКАТ vimentin. x50. № 6322

Також слід зазначити, що в групі мертвонароджених у частині досліджень виявлено нерівномірну експресію СЕА в цитоплазмі клітин децидуальної оболонки, плідних оболонках та в ендотелії судин ворсинчастого хоріона (рис. 3.39, 3.40)

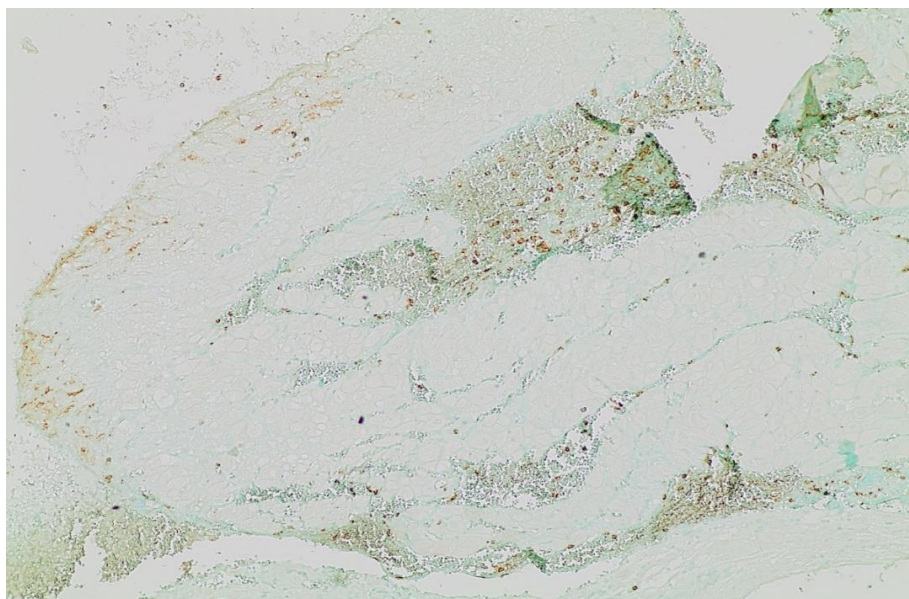


Рис. 3.39 – Плацента жінки II групи (мертвонароджені) у 24 тижні гестації. Нерівномірна експресія карциноембріонального антигену СЕА у плідних оболонках. Імунногістохімічна експресія МКАТ СЕА. x50. № 6322

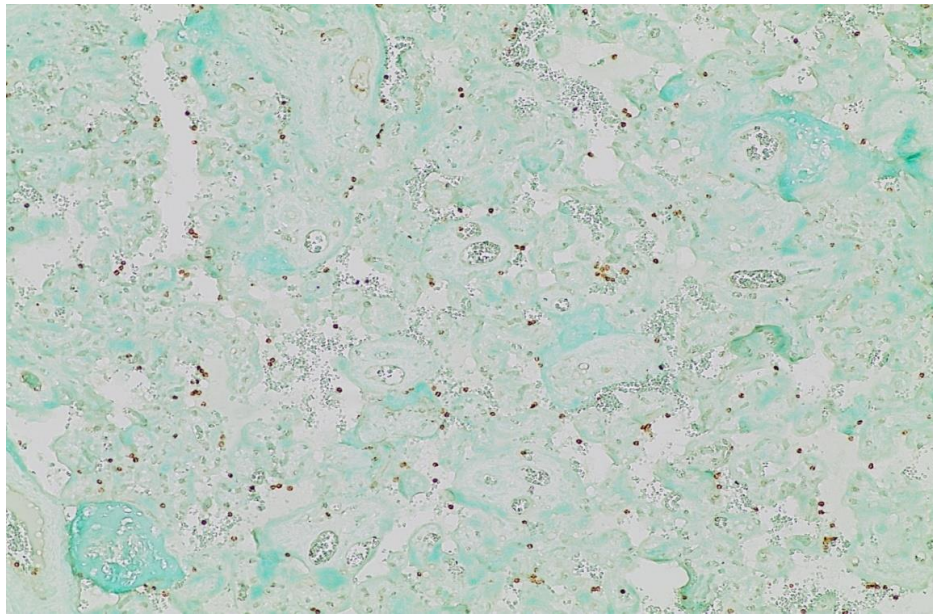


Рис. 3.40 – Плацента жінки II групи (мертвонароджені) у 24 тижні гестації. Нерівномірною експресією карциноембріонального антигену СЕА в ендотелії судин ворсинчастого хоріона. Імунногістохімічна експресія МКАТ СЕА. х50. № 6322

Електронно-мікроскопічно в структурах синцитіотрофобласта плаценти при передчасних пологах виявлено зміни вогнищ синцитію та деструкцію і нерівномірність піноцитозних везикул, а також зменшення крист у мітохондріях, нерівномірність ядерних структур із скупченням хроматину під оболонкою ядра.

Виражені зміни на ультраструктурному рівні встановлені в синцитії однієї з плацент групи антенатальної загибелі плода (термін гестації – 32 тижні), з наявністю децидуальної артеріопатії з поверхневою імплантацією. У синцитії цієї плаценти ворсин ультраструктурно відмічені деструктивні зміни органел синцитіотрофобласта. Виявлено мітохондрії, які зазнали деструкції з осміофільним матриксом. В поверхневому синцитії – виражена реакція ендоплазматичного ретикулума з десквамацією ворсинок. Ядра – з лізисом хроматину (рис. 3.41 А-В).

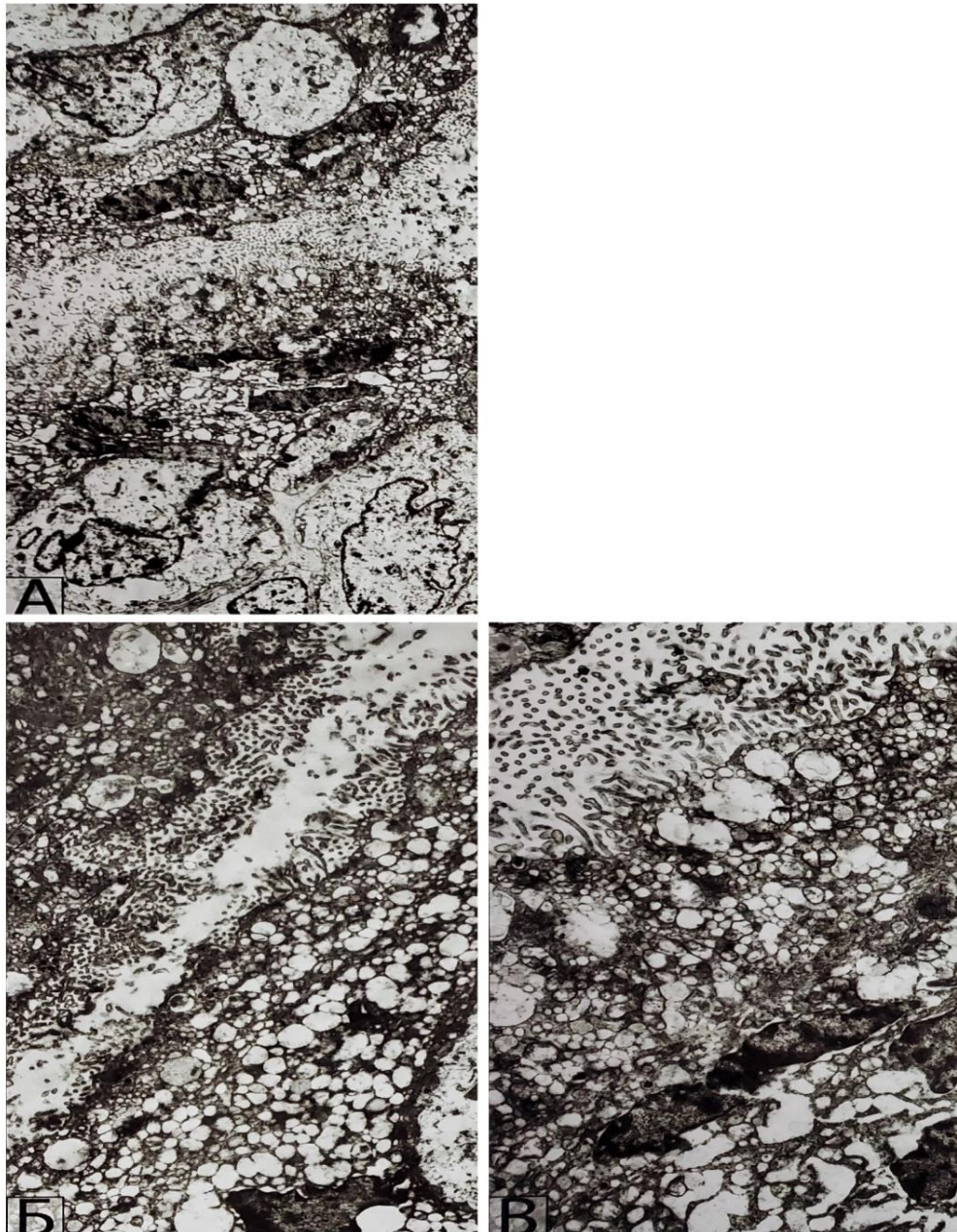


Рис. 3.41 А-В – Трансмійсна електронна мікрофотографія плаценти жінки Пб підгрупи в терміні гестації 32 тижні. Ультраструктурно відмічається ущільнення матриксу та мітохондрії зі зменшеними кристами, порушення структур ендоплазматичного ретикулуму. № 7387

Таким чином, в розділі 3.2 «Морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу на фоні передчасних пологів» встановлені зміни в плаценті жінок з передчасними пологами в більшості материнських структур, які проявлялися в 90 % відшаруванням децидуальної оболонки з порушенням

перфузії у фетальних судинах, децидуальними артеріопатіями (у підгрупі мертвонароджених) з поверхневою імплантацією за відсутності імуногістохімічної експресії судинних маркерів (CD-31, CD-105, VEGF) у стінках судин плацентарного бар'єру, що призводить до плацентарної дисфункції.

Паралельно з цим були виявлені плодові плацентарні судинні процеси: затримка дозрівання ворсин з наявністю незрілих аваскулярних середніх і стовбурових ворсин хоріона з порушенням перфузії та зниженням експресії імуногістохімічного маркеру CD-31 в ендотелії судин.

Особливості впливу внутрішнього опромінення на плацентарні структури II групи будуть розглянуті у підрозділі 3.3.

3.3 Морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу, який обумовлений внутрішнім опроміненням з накопиченням радіонуклідів

В III групі виявлено зміни в структурах плацентарного бар'єру залежно від накопичення радіонуклідів. Найбільші структурні зміни спостерігалися в III гр., особливо за $\geq 4,8$ Бк/кг і проявлялися мікровогнищами відшарування децидуальної оболонки (таб. 3.1).

Відмічено особливості змін морфологічних досліджень при наявності радіонуклідів в тканинах плаценти $\geq 4,8$ Бк/кг у III групі, з наявністю достовірної проліферації та збільшенням багатоядерних синцитіальних вузликів (таб. 3.4). Також виявлено прояви материнських внутрішніх інфарктів, дисхронозу розвитку ворсин (незрілість структур ворсинок та передчасного дозрівання) (таб. 3.1).

Значні структурні зміни відмічались в плацентах жінок III групи з питомою масовою активністю радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг.

Мікроскопічні зміни характеризувались ушкодженням материнської частини плаценти. Характерним було вогнищеве порушення кровообігу у вигляді крововиливів по поверхні децидуальної оболонки, а також повнокрів'ям судин

ворсин, яке, згідно з новою класифікацією, відноситься до материнсько-стромальних ушкоджень, що призводять до ризику передчасних пологів (рис. 3.42).

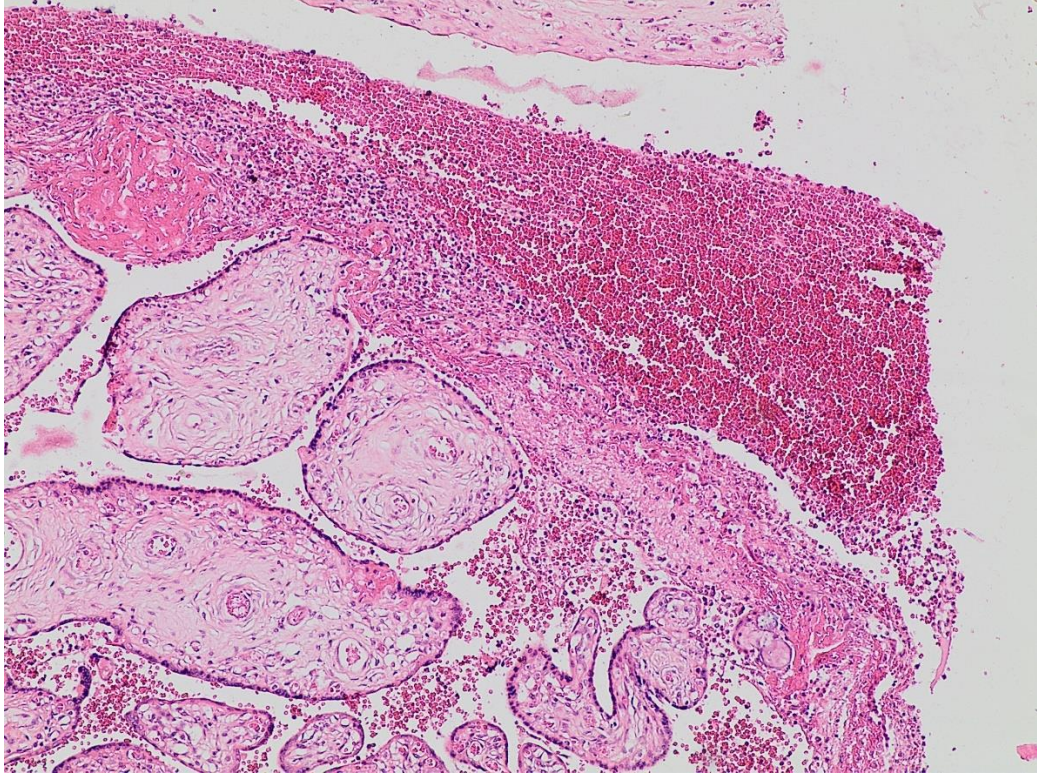


Рис. 3.42 – Плацента жінки III групи (питома масова активність радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг) в 22 тижні гестації. Вогнище відшарування та крововиливу по поверхні децидуальної оболонки. Забарвлення гематоксилін-еозином. $\times 50$. № 5803

Також у цій групі відмічено відкладення солей кальцію під децидуальною оболонкою.

У плацентах цієї групи виявлено фіброз строми ворсин проміжних і термінальних ворсин (рис. 3.43).

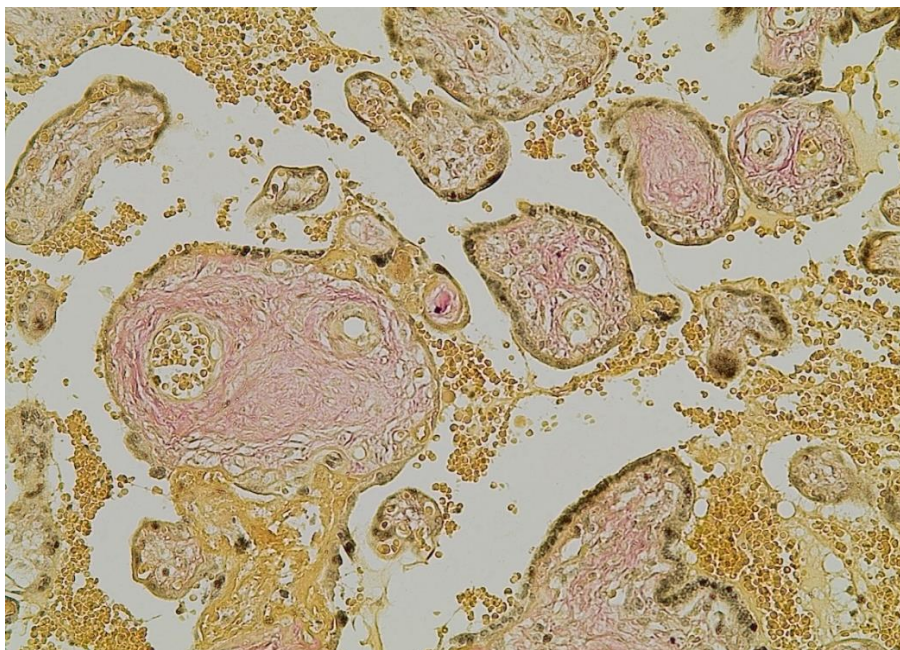


Рис. 3.43 – Плацента жінки III групи (питома масова активність радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг) в 30 тижнів гестації. Фіброз стромі ворсин середнього та термінального калібру. Зabarвлення пікрофуксином. $\times 100$. № 5957

У цій групі у 80 % плацент спостерігаються зміни у плідних оболонках, які представлені у вигляді потоншення, крововиливів та запалення (рис. 3.44).

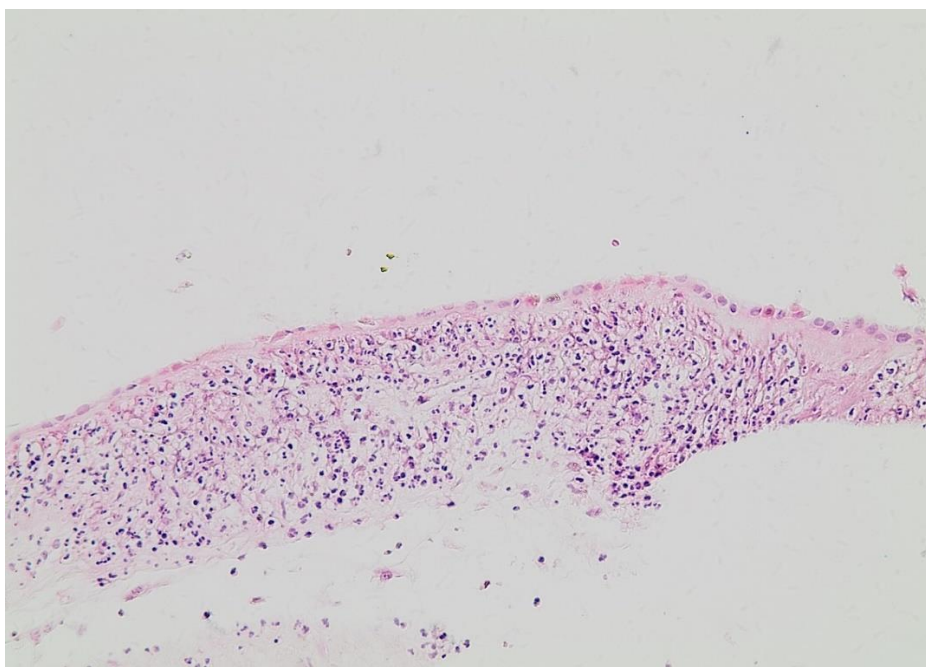


Рис. 3.44 – Плацента жінки III групи (питома масова активність радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг) в 30 тижнів гестації. Вогнищева інфільтрація плідних оболонок лімфоцитами та нейтрофілами. Зabarвлення гематоксилін-еозином. $\times 100$. № 5957

У цій групі проведено імуногістохімічне дослідження проліферативного маркера Кі67 і виявлено підвищення проліферації в структурах ворсин хоріона в залежності від дози накопичення Cs137 порівняно з I групою.

Імуногістохімічно встановлено збільшення маркера проліферації Кі-67 у ядрах синцитію, стромі ворсинок середніх і термінальних, який збільшувався у 2,8 рази (рис. 3.45).

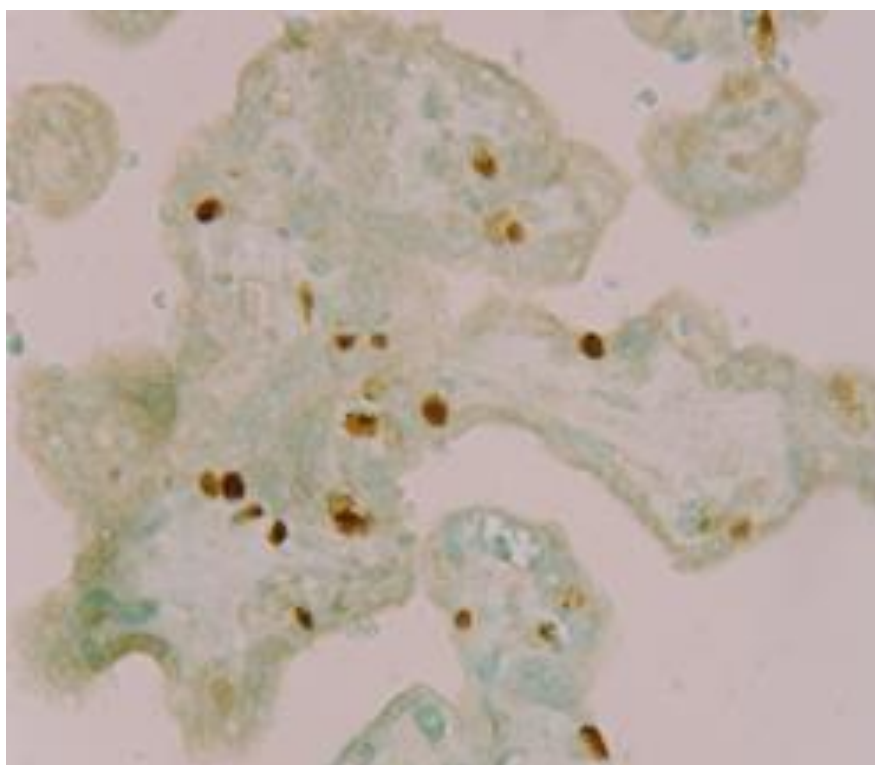


Рис. 3.45 – Плацента пацієнтки III групи (питома масова активність радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг) в 30 тижнів гестації. Імуногістохімічна експресія Кі67 в ядрах синцитію та цитотрофобласта ворсинок. $\times 630$. № 5957

Оскільки проліферація клітин лежить в основі метаплазії, отримані нами дані можуть слугувати для подальшого дослідження перинатального онкогенеза і, можливо, матимуть значення для виявлення механізмів трансплацентарного канцерогенезу. Встановлено та описано радіаційний апоптоз (імуногістохімічно методом TUNEL). Апоптозний індекс у структурах ядер синцитію, цитотрофобласта та ендотелію fetalних судин був у 3 рази вищим за показник

групи порівняння. Так званий радіаційний апоптоз відзначено в ядрах ендотелію fetalних судин і стромальних клітин, що важливо для ембріогенезу плода.

За результатами імунногістохімічного дослідження мезенхімального фактора віментину виявлено помірну реакцію в стромі стовбурових, проміжних і термінальних ворсин – 2 бали (рис. 3.46).

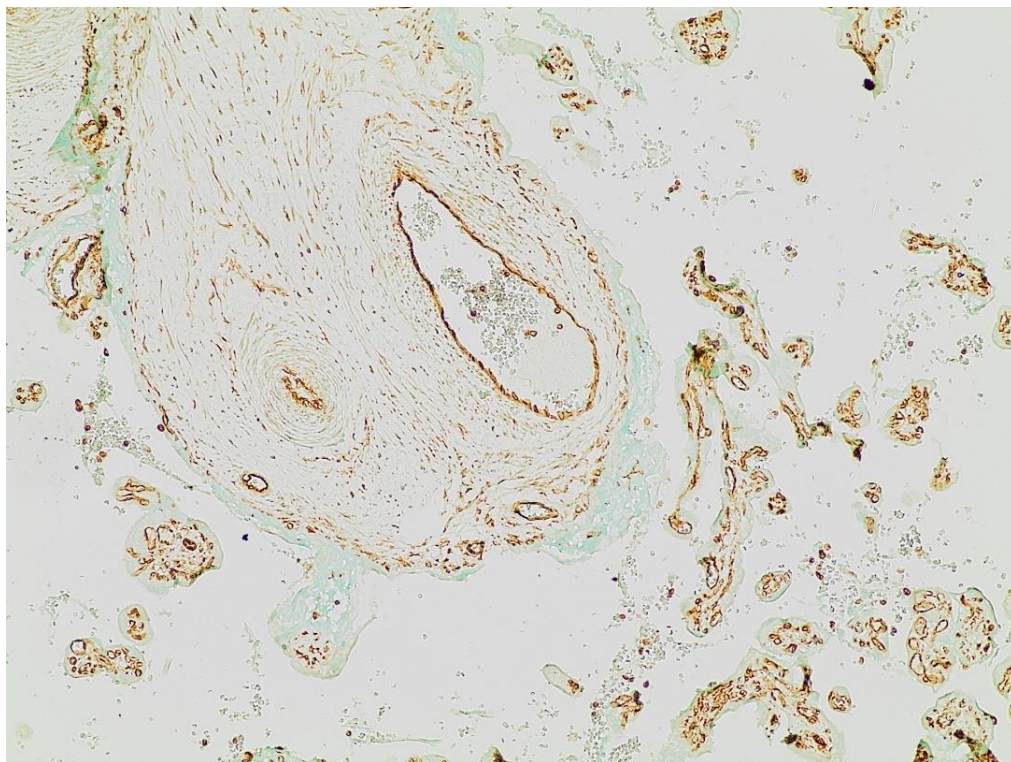


Рис 3.46 – Плацента жінки III групи (питома масова активність радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг) в 30 тижнів гестації. Експресія мезенхімального фактора віментину в стромі стовбурової та термінальних ворсин і в мембранах fetalних судин (2 бали). Імунногістохімічна експресія МКАТ vimentin. x200. № 5957

Позитивну експресію карциноембріонального антигена (СЕА) відмічено в цій групі досліджень у плацентах жінок з питомою масою радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг у децидуальній та хоріальній тканинах, а також у підлеглій тканині. У поодиноких ворсинах вогнищева реакція на СЕА була в синцитії, а також в ендотелії fetalних судин дрібного калібру (рис. 3.47).

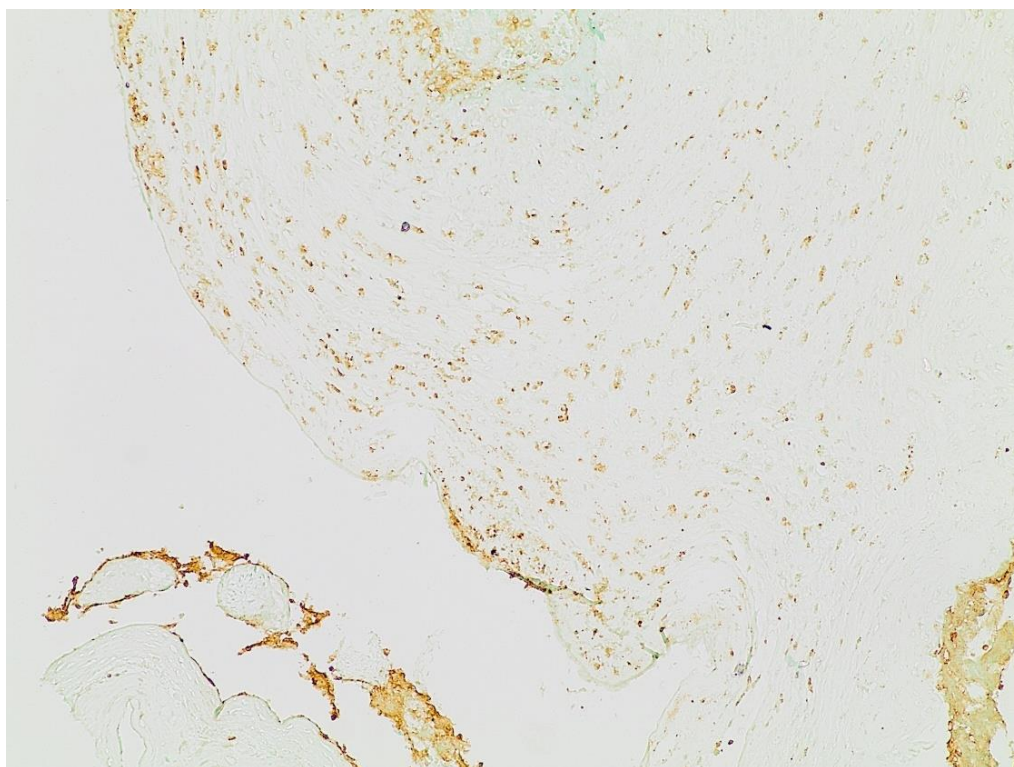


Рис. 3.47 – Плацента жінки III групи (питома масова активність радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг) в 22 тижні гестації. Виразна експресія СЕА в клітинах хоральної оболонки. Імуногістохімічна експресія МКАТ СЕА. $\times 100$. № 5698

В частині плацент II групи (22 тижні вагітності) за антенатальної загибелі плода відмічено накопичення радіонуклідів $\geq 10,4$ Бк/кг.

Аналіз отриманих даних нашого імуногістохімічного дослідження СЕА встановив, що у плацентах жінок групи порівняння були виявлені зміни, що представлені в дослідженнях лабораторії патоморфології протягом попередніх років.

В II і III групах за внутрішнього опромінення виявлено зміни в структурах плацентарного бар'єру залежно від накопичення радіонуклідів, особливо $\geq 4,8$ Бк/кг. Найбільші структурні зміни відмічено в III групі, особливо за результатами імуногістохімічного дослідження СЕА. Експресію виявлено в мембранах і цитоплазмі стромального компонента ворсинок (рис. 3.48).

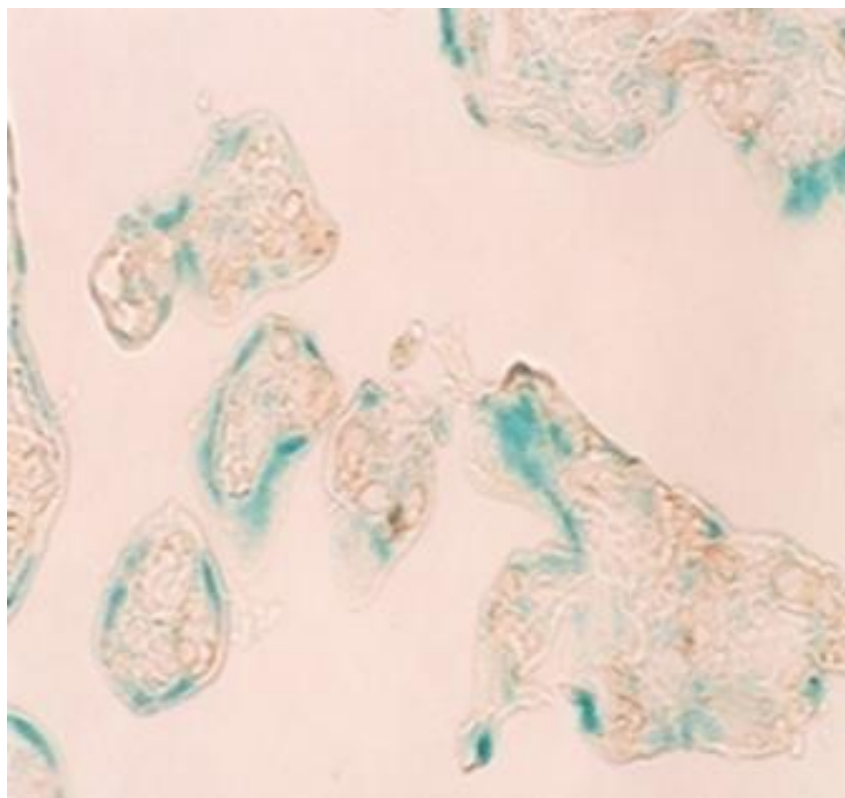


Рис. 3.48 – Плацента жінки III групи (питома масова активність радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг) в 39 тижнів гестації. Експресія СЕА в мембранах і цитоплазмі стромального компоненту ворсинок. Імуногістохімічна експресія МКАТ СЕА. $\times 400$. № 6333

В окремих випадках (25 %) експресія СЕА відмічалась в мембранах фетальних судин (рис. 3.49).

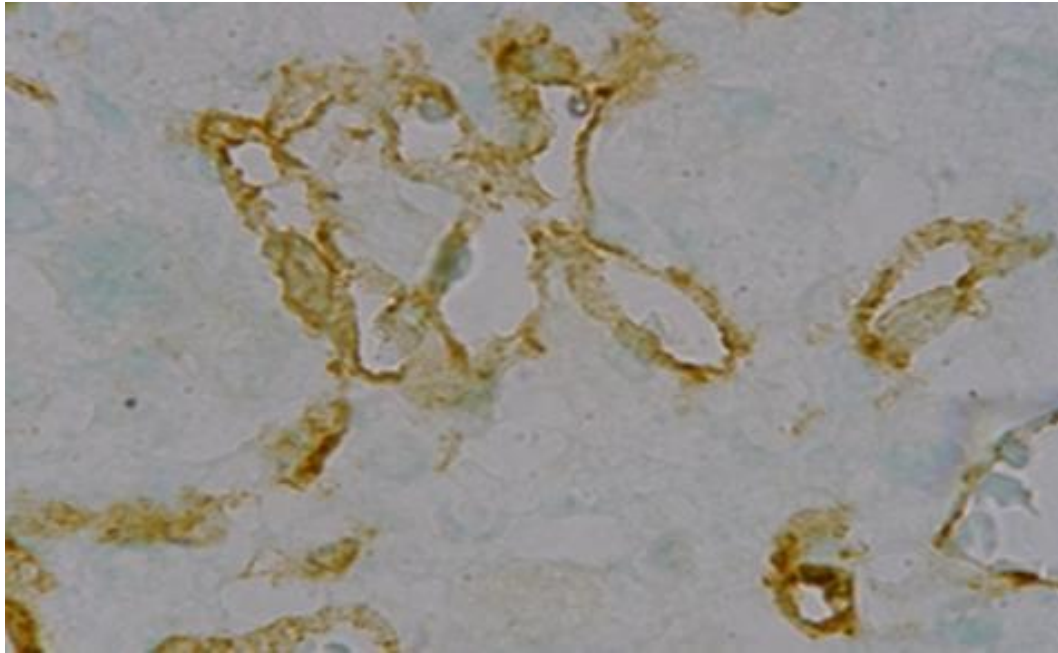


Рис. 3.49 – Плацента жінки III групи (питома масова активність радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг) в 39 тижні гестації. Експресія СЕА в мембранах судин. Імунногістохімічна експресія МКАТ СЕА. х630. № 6333

Виявлені нами дані щодо підвищення експресії СЕА в структурах плаценти під впливом внутрішнього опромінення у жінок потребують подальших досліджень у плані розширення різноманітних типів антигенів СЕА, а також потребують дослідження в динаміці гестації, які, можливо мають значення в перинатальному онкогенезі.

Слід звернути особливу увагу на зміни експресії СЕА, який не виявляється (за даними літератури та наших досліджень у плацентах при фізіологічній вагітності та при різній патології). Однак в наших дослідженнях виявлено експресію карциноембріонального антигена в структурах плацентарного бар'єру за внутрішньоутробного опромінення цезієм-137.

Ультраструктурно в ядрах синцитіальних вузликів в усіх досліджуваних групах відмічено рівномірний розподіл хроматину. Однак, в дослідженнях плацент за наявності стресу, обумовленого внутрішнім опроміненням, виявлені ядра синцитіотрофобласта з нерівномірною конденсацією хроматину під оболонкою (рис. 3.50).

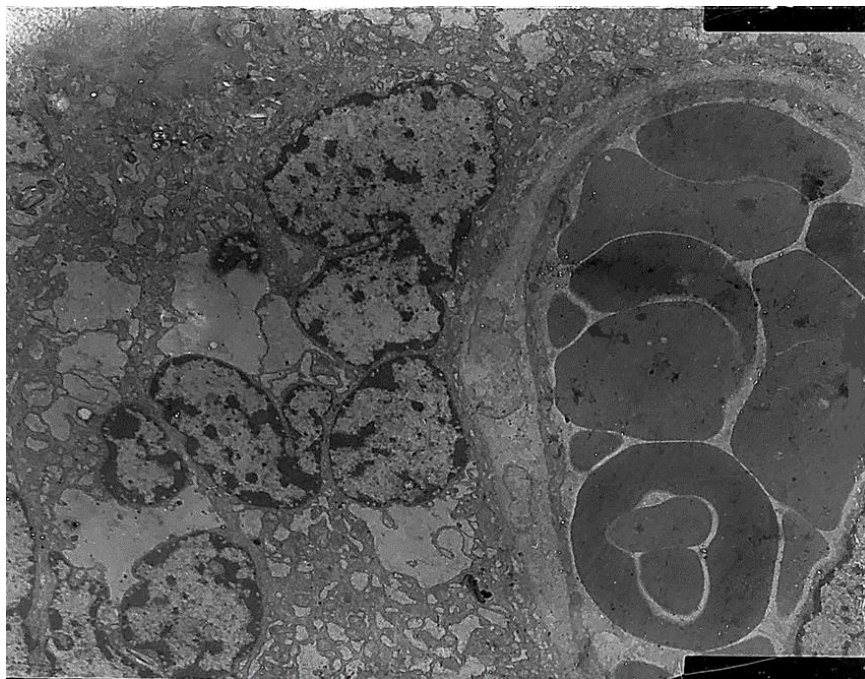


Рис. 3.50 – Трансмисійна електрона мікрофотографія плаценти жінки III групи (питома масова активність радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг) в 40 тижнів гестації. Ядра синцитіотрофобласта з нерівномірною конденсацією хроматину під оболонкою. № 7455

Таким чином, отримані дані по сертифікату плаценти (додаток А2) встановили зміни в структурах плацентарного бар'єру залежно від внутрішнього опромінення внаслідок накопичення радіонуклідів з урахуванням питомої маси радіонуклідів.

Виявлено, що в разі накопичення радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк відмічається часткове і повне зниження судинної перфузії в материнській та плодовій структурах плаценти (згідно з новітньою класифікацією патології плаценти, Амстердам, 2015-16 р.).

Одним з основних результатів наших досліджень є виявлення виразної експресії СЕА в цитоплазмі ендотелія судин фетального типу та вогнищ децидуальної оболонки під впливом внутрішнього опромінення з інкорпоруванням радіонуклідами $\geq 4,8$ Бк/кг. У плацентах II групи за антенатальної гибелі плода відмічено накопичення радіонуклідів $\geq 10,4$ Бк/кг.

Таким чином, у підрозділі 3.3 «Морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу, який обумовлений внутрішнім опроміненням з накопиченням радіонуклідів» виявлена експресія карциноембріонального антигену (СЕА) в синцитії та структурах фетальних судин ворсинок хоріона в основному термінальних та середніх в плаценті жінок з внутрішнім опроміненням при інкорпоруванні радіонуклідами $\geq 4,8$ Бк/кг. Експресія карциноембріонального антигена була відсутня в інших групах.

3.4 Морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу, який обумовлений перенесеним COVID-19

Макроскопічно, згідно з «протоколом дослідження плаценти», виявлено переважно масу плаценти від 425,0 гр. до 600,0 гр., крім одного випадку – 380,0 гр. Це вказує на поодинокі випадки гіпо- та гіперплазії плаценти порівняно з I групою (у середньому 500,0 гр.).

Оглядаючи плодову частину плаценти, відмічено тромбоз судин плаценти та пуповини, наявність білих інфарктів центрального та/або крайового розташування, а також псевдовузли пуповини. У жінок які перенесли коронавірусне інфікування в ранній період вагітності, зміни пуповини та поширеність інфарктів мали більш виражений характер (рис. 3.51).



Рис. 3.51 – Плацента жінки IV групи (з перенесеним COVID-19 в 22 тижні гестації) в 40 тижнів гестації. Плодова поверхня плаценти з псевдовузлами пуповини, материнськими інфарктами та тромбозом судин. № 8561

Оглядаючи материнську частину плаценти, відмічено наявність кальцифікатів дифузного поширення, білі інфаркти центрального та крайового розташування, а також згустки крові тромботичного характеру. У жінок, які перенесли коронавірусне інфікування в ранній період вагітності, поширеність кальцифікатів та інфарктів мала більш виражений характер (рис. 3.52).

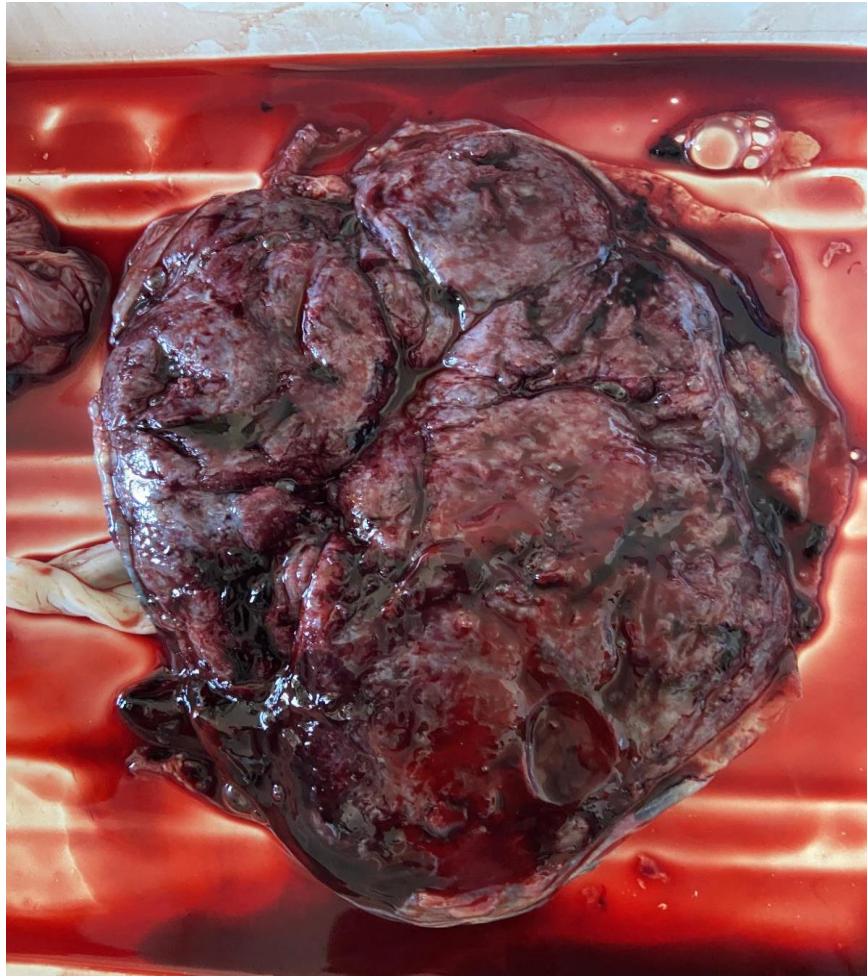


Рис. 3.52 – Плацента жінки IV групи (з перенесеним COVID-19 в 22 тижні гестації) в 40 тижнів гестації. Материнська поверхня плаценти з дифузно поширеними кальцифікатами та згустками крові. № 8561

Здебільшого гістологічно плаценти відповідали терміну гестації 38-40 тижнів вагітності та не були уражені запальним процесом. У плаценті однієї жінки з гіпоплазією виявлено мікровогнища лімфоцитарних інфільтратів у децидуальній оболонці та вогнища незрілих ворсинок (затримка дозрівання ворсинок), мікровогнища екстравільозного трофобласта.

У плацентах з гіперплазією (600,0 гр.) встановлено гістопатологічні зміни у вигляді внутрішніх материнських інфарктів, відкладень фібрину і тромбоз у судинах децидуальної оболонки, а також міжворсинчатих структур (табл. 3.1).

В пуповині у 20 % спостережень плацент з COVID-19 відмічено помірний набряк Вартонових драглів, а в децидуальній оболонці – частину судин з повнокров'ям, що спостерігалось при гіперплазії плаценти (табл. 3.1).

Переважно структура плацентарного бар'єру (понад 50 %) відповідала терміну гестації 38-40 тижнів вагітності (табл. 3.1).

За результатами дослідження СЕА в IV групі не виявлено експресії в клітинах строми та мембранах судин ворсин термінальних і середніх (рис. 3.53).

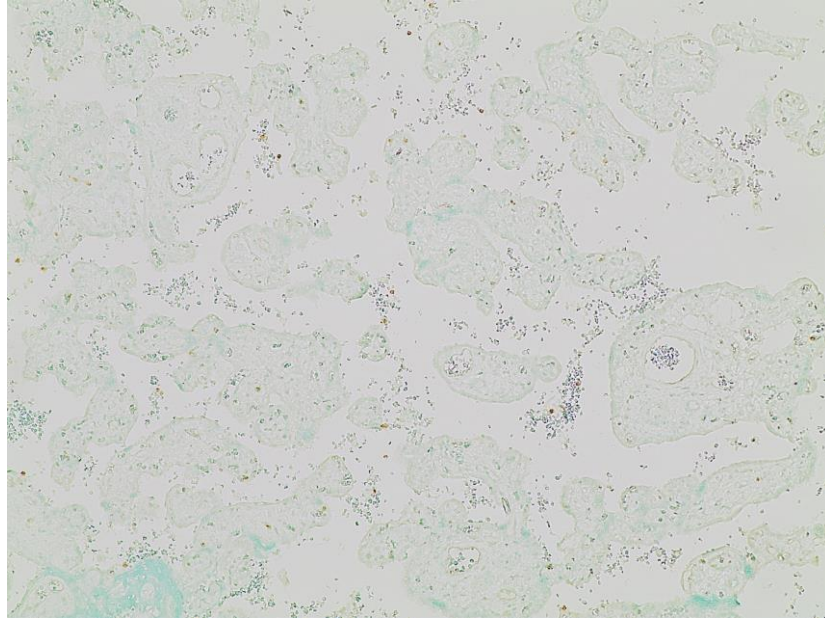


Рис. 3.53 – Плацента жінки IV групи (з перенесеним COVID-19 в 20 тижнів гестації) в 40 тижнів гестації. Експресія СЕА не виявлена в клітинах строми та мембранах судин ворсин. Імунногістохімічна експресія МКАТ СЕА. x100.

№ 8018

Аналіз отриманих даних (табл. 3.3) виявив у понад 60 % плацентах жінок, які перенесли COVID-19 (IV група), у прозорі фетальних мікросудин термінальних та проміжних ворсинок відмічається наявність тромбів, мікротромбів з вираженою експресією тромбоспондина-1 (рис. 3.54 А, Б, В) порівняно з I групою. Крім того, у частині судин відмічався частковий пристінковий тромбоз.

Таблиця 3.4

Імуногісохімічні особливості експресії тромбоспондина-1 у плацентах жінок, які перенесли COVID-19

Групи плацент	Експресія тромбоспондину-1 (%)			
	тромбоз судин	частковий тромбоз	у базальних мембранах	у міжворсинчастому просторі
IVа група COVID-19 (у I половині гестації)	21	12	10,2	1**
IVб група COVID-19 (у II половині гестації)	40,5	18	11	1*
Ігрупа порівняння	1*	1*	1*	1

*Примітки: *-поодинокі; **-вогнища.*

Встановлено більш виражені зміни експресії TSP-1 в плацентах жінок, які перехворіли на COVID-19 у другій половині гестації.

У групі порівняння виявлено позитивну експресію тільки в поверхневих мембранах ворсинок і в міжворсинчастому просторі (табл. 3.4).

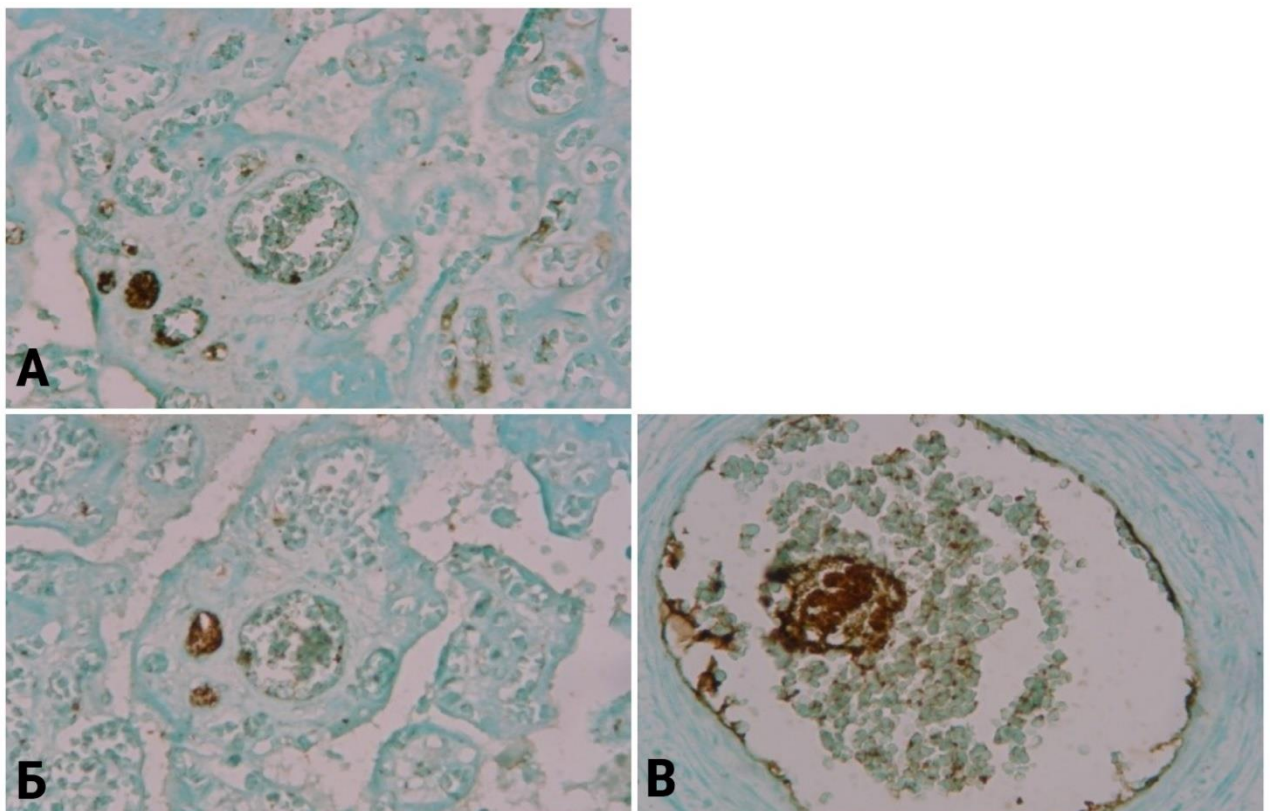


Рис. 3.54 А-В – Плацента жінки IV групи (з перенесеним COVID-19 в 26 тижнів гестації) в 37 тижнів гестації. Виражена позитивна експресія TSP-1 у тромбах фетальних мікросудин ворсин хоріона в плаценті жінки, яка перенесла

COVID-19. Імуногістохімічна експресія МКАТ TSP-1. Рис. А, Б – х200. Рис. В – х400. № 7723

Наявність тромбозу виявлено також під час дослідження плацент за допомогою рутинних методів дослідження із фарбуванням гематоксилін-еозином і пікрофуксином за Ван Гізоном, однак він не виявлявся в дрібних судинах (капілярах, венулах).

Таким чином, імуногістохімічне дослідження з TSP-1 дало можливість виявити тромби і мікротромби з вираженою експресією в усіх фетальних судинних структурах плацентарного бар'єру, а також структурні особливості, що вказують на патогенетичні механізми пошкодження судинних структур плаценти жінок, які перенесли коронавірусне інфікування та може бути імуногістохімічним маркером критерію тромбозу фетальних судин плаценти.

Паралельно в плацентах жінок, які перенесли коронавірусне інфікування, досліджено ультраструктуру плацентарного бар'єру. Виявлено наявність віріона COVID-19 у структурах синцитіотрофобласта (рис. 3.55 В). У мікросудинах відмічено стаз та початок тромбозу в фетальних капілярах (рис. 3.55 А) на тлі периваскулярного набряку (рис. 3.55 Б, Г). Встановлено нерівномірне розширення гладкого ендоплазматичного ретикулуму (рис. 3.55 В) та зменшення крист в мітохондріях.

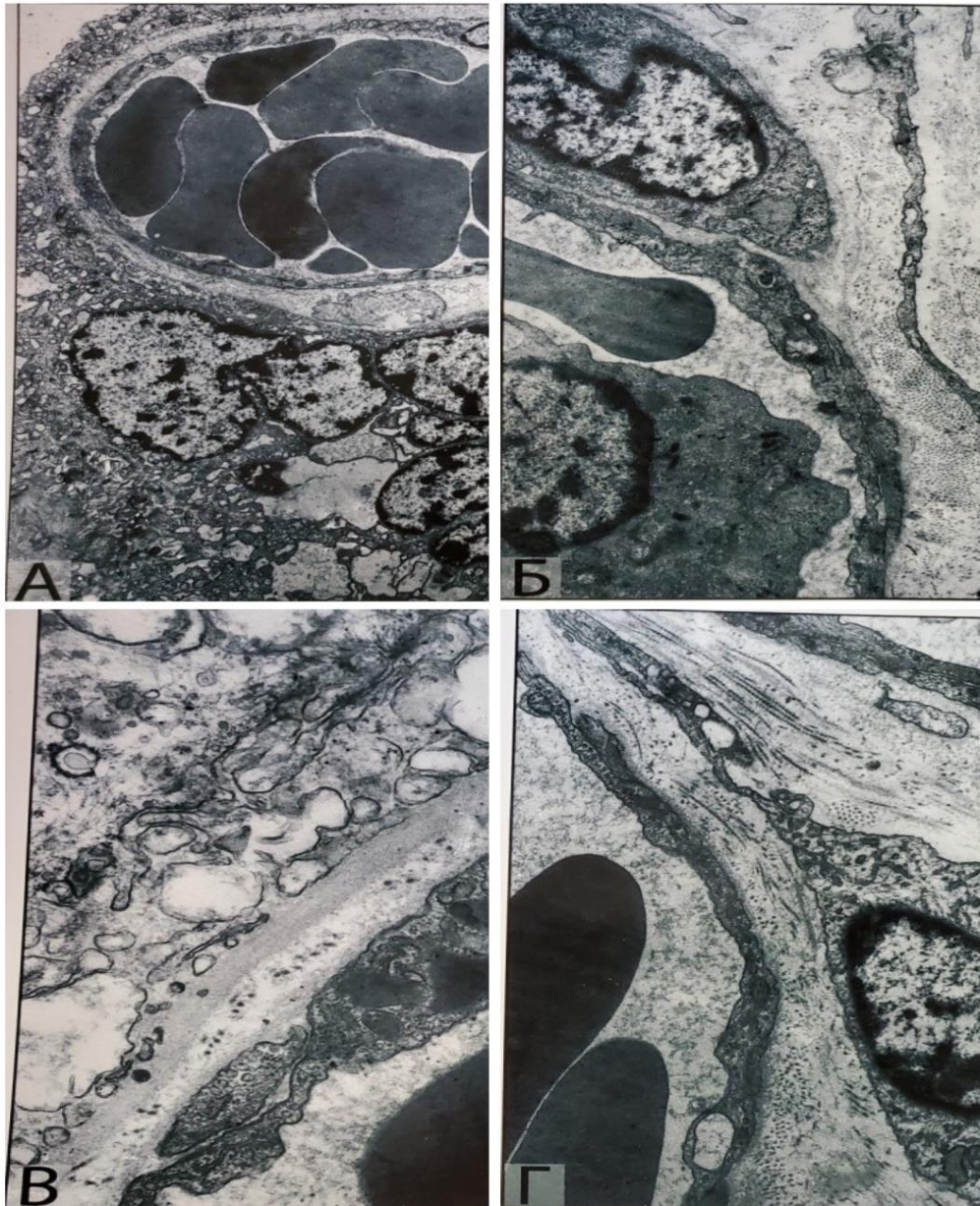


Рис. 3.55 А-Г – Трансмісійна електронна мікрофотографія плаценти жінки IV групи (з перенесеним COVID-19 в 34 тижнів гестації) в 40 тижнів гестації. Ультраструктура плацентарного бар'єру з наявністю: А – стаз у фетальному капілярі, вогнища вузликів ядер синцитіотрофобласта; В – наявність віріона COVID-19; Б, Г- периваскулярний набряк в стінці судин. № 7696

На ультраструктурному рівні виявлено зміни ультраструктур ядер синцитіальних вузликів (рис. 3.55 А), які мають просвітлення матрикса за наявності COVID-19 у плаценті на початку розвитку. В дослідженнях IVa та IVб

груп виявлено формування складжа та тромбозу у фетальних судинах плаценти та наявність віріона (рис. 3.56 В) в плацентарному бар'єрі.

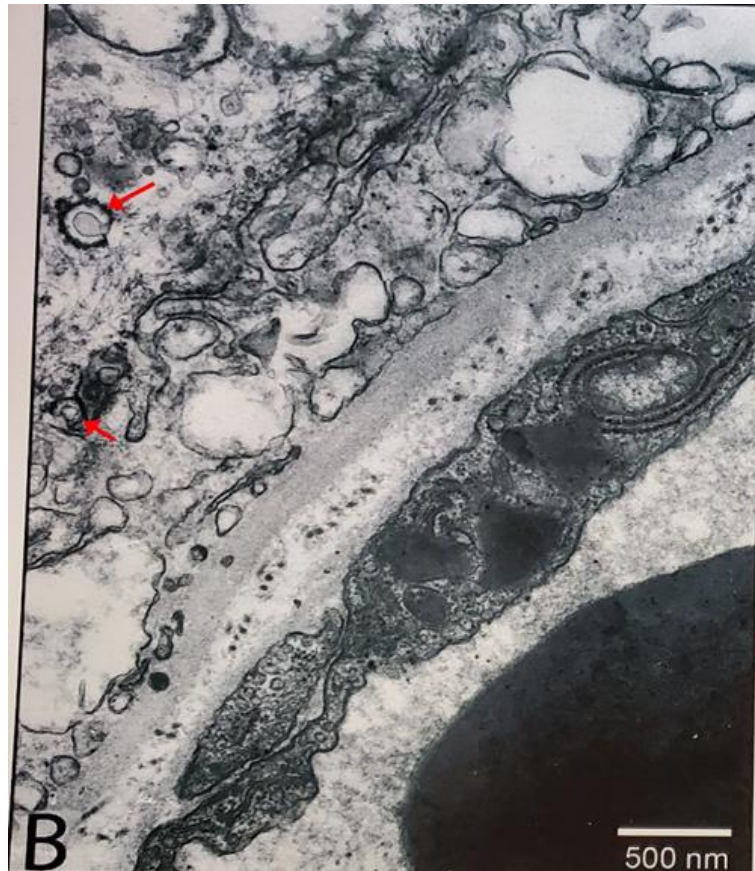


Рис. 3.56 В – Трансмійсна електронна мікрофотографія плаценти жінки IV групи (з перенесеним COVID-19 в 34 тижнів гестації) 40 тижнів гестації. Ультраструктура синцитіотрофобласта ворсинок при перенесеному COVID-19 у першій половині вагітності з наявністю віріона. № 7696

У підрозділі 3.4 «Морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу, який обумовлений перенесеним COVID-19», показано, особливо в плацентах жінок IVa підгрупи з перенесеним COVID-19 у першій половині вагітності, появу деструкції судин та тромбів з позитивною експресією тромбоспондин-1 в материнській частині плаценти з проявами плацентарної дисфункції. Ультраструктурно виявлено віріон в синцитіотрофобласті. Ці зміни ми співвідносимо зі статистично доведеним збільшенням багатоядерного синцитіотрофобласта, описаним в підрозділі 3.5.

3.5 Морфометричне дослідження багатоядерного синцитіотрофобласта

Проведено окреме дослідження багатоядерного синцитіотрофобласта 40 плацент жінок 39-40 тижнів вагітності, які поділено на чотири групи. Досліджено плаценти жінок, які перенесли COVID-19 у першій половині вагітності (до 20 тижнів), – IVа група (10 випадків), а також у другій половині вагітності (39-40 тижнів), – IVб група (10 випадків). Плацента жінок з хронічним стресом унаслідок внутрішнього опромінення з вмістом радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг – III група (10 випадків). У порівняльній групі I було 10 випадків плаценти жінок з фізіологічною вагітністю без COVID-19, переважно протягом 39-40 тижнів гестації (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Морфометричний аналіз вузликів синцитіотрофобласта плаценти

Групи	Кількість вузликів в 10 полях зору x20
Група I. Порівняння, n=10	9,27±1,5
Група III. Внутрішнє опромінення, n=10	46,79±15,1 (405 %)
Група IVа. COVID-19 ранній період, n=10	72,04±12,4 (677 %)
Група IVб. COVID-19 пізній період, n=10	61,21±21,6 (560 %)

Гістологічно в I групі порівняння відмічено наявність синцитіотрофобласта з багатоядерним епітелієм у поодиноких ворсинках (рис. 3.57), з рівномірним розташуванням їх в полях зору (таб. 3.5).

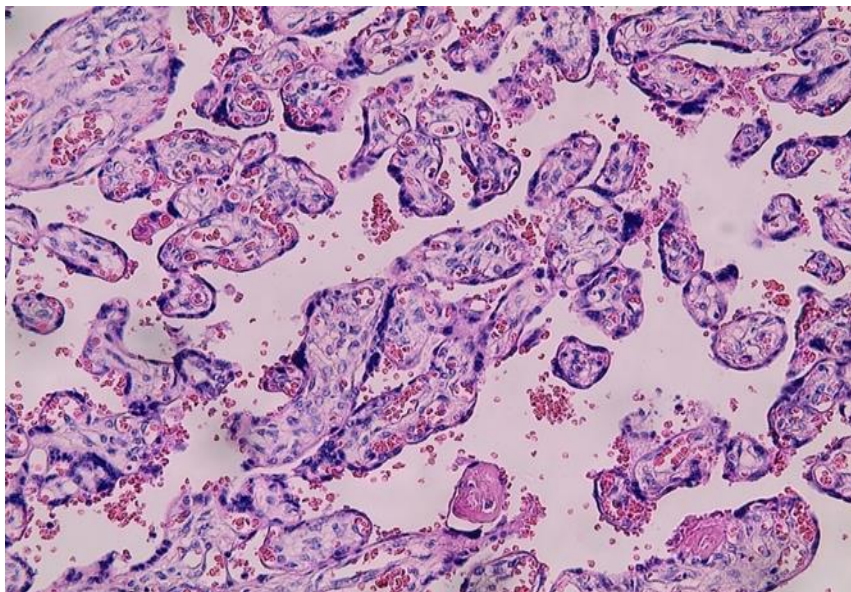


Рис. 3.57 – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Наявність поодиноких синцитіальних вузликів у ворсинах хоріона. Забарвлення гематоксилін-еозином. x200. № 5810

Гістологічно в плацентах жінок III групи з внутрішнім опроміненням виявлено нерівномірно розташовані вузлики синцитіотрофобласта з багатоядерним епітелієм (рис. 3.58) із вогнищами скупчень у середніх і мезенхімальних ворсинах.

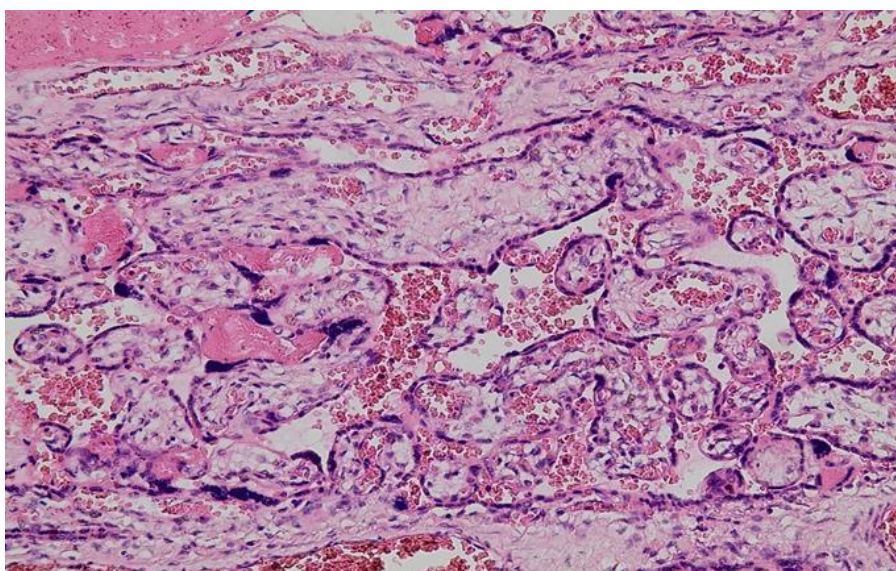


Рис. 3.58 – Плацента жінки III групи (з високими показниками внутрішнього опромінення $\geq 4,8$ Бк/кг) в 33 тижні гестації. Наявність збільшення

синцитіальних вузликів у ворсинах хоріона. Забарвлення гематоксилін-еозином х200. № 6145

Аналіз гістологічних даних у IVa та IVб групах (95 % CI: 63,18-80,89; $p < 0,001$; 95 % CI: 45,74-76,67; $p < 0,001$) порівняно з I групою (95 % CI: 8,19-10,34; $p < 0,001$) виявив у структурах плаценти більш виражені зміни в структурах синцитіальних вузликів термінальних і середніх ворсин, завдяки цьому достовірно виявлено збільшення ядерних скупчень у IVa групі (95 % CI: 63,18-80,89; $p < 0,001$) з перенесеним COVID-19 у першій половині вагітності (табл. 3.5), (рис. 3.59).

Слід відмітити наявність збільшення синцитіальних вузликів у ворсинах, які розташовані під децидуальною оболонкою, у IVa і IVб групах (95 % CI: 63,18-80,89; $p < 0,001$; 95 % CI: 45,74-76,67; $p < 0,001$) у вигляді скупчень порівняно з I групою (95 % CI: 8,19-10,34; $p < 0,001$) і III групою (95 % CI: 35,98-57,59; $p < 0,001$) внутрішнього опромінення (табл. 3.5), (рис. 3.59).

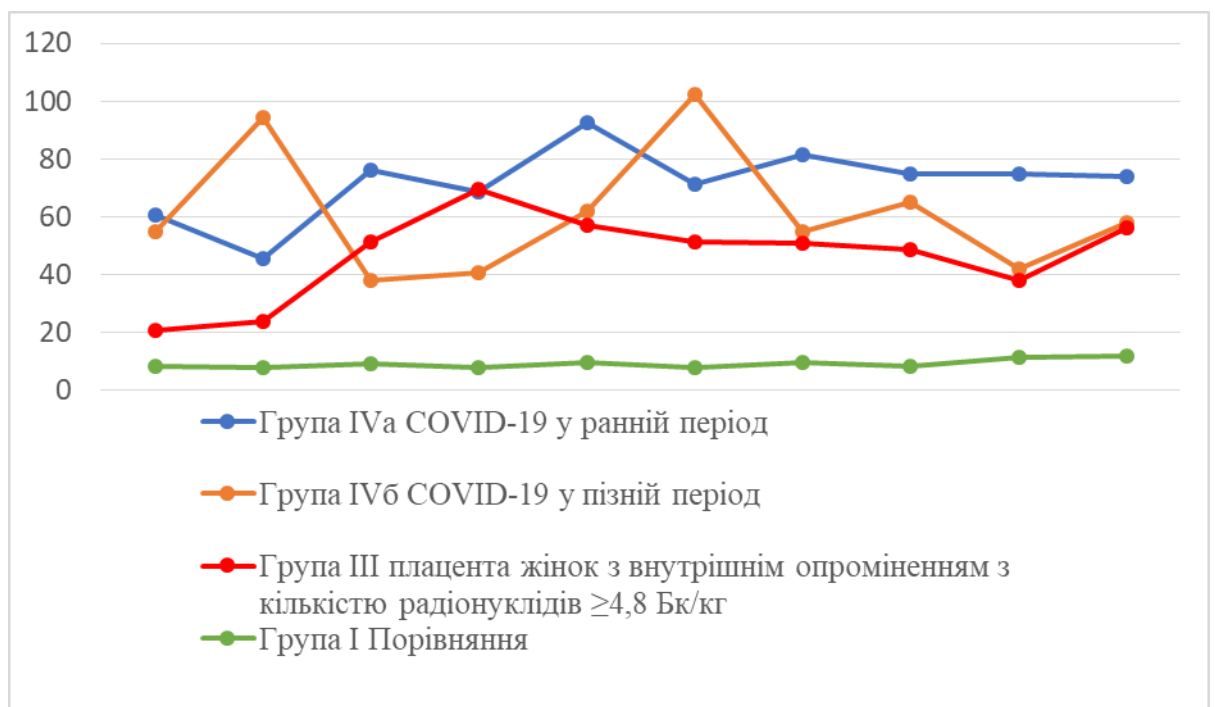


Рис. 3.59 – Вузлики синцитіотрофобласта, як маркери хронічного стресу

Морфометричний аналіз синцитіальних вузликів встановив їхнє достовірне збільшення в плаценті жінок з хронічним стресом порівняно з I групою. Значне збільшення відмічалось у жінок, які перенесли COVID-19, особливо в ранньому періоді гестації.

За результатами дослідження плацент жінок з коронавірусною хворобою встановлено нерівномірне скупчення вузликів синцитіотрофобласта з багатоядерним епітелієм (рис. 3.60). Слід відмітити (рис. 3.58) коливання кількості вузликів синцитіотрофобласта.

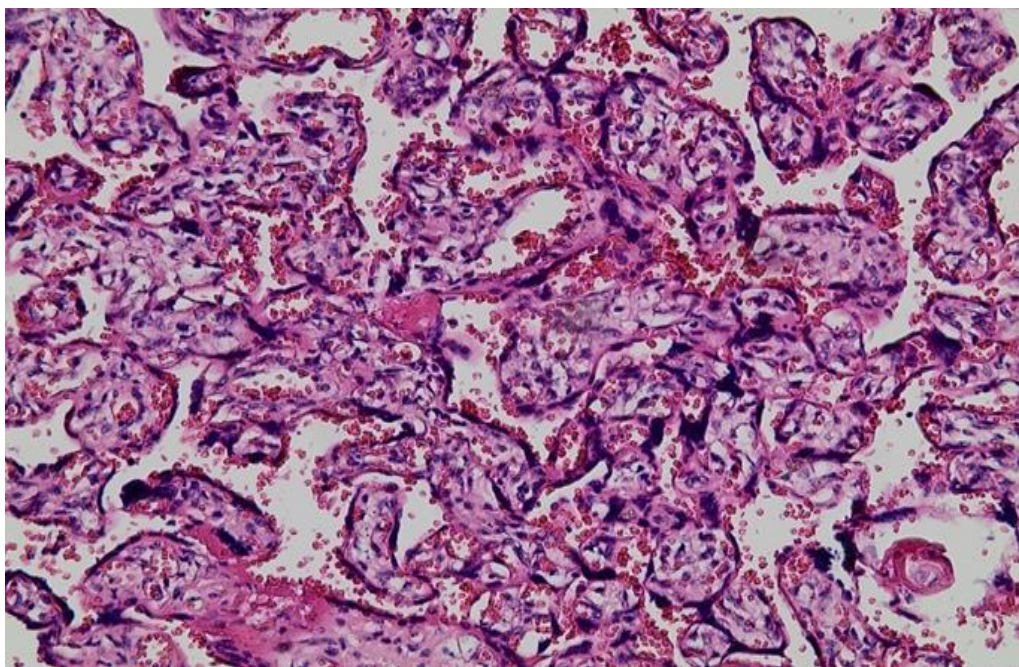


Рис. 3.60 – Плацента жінки IV групи (яка перенесла COVID у ранньому періоді – 20 тижнів гестації) в 40 тижнів гестації. Наявність різкого збільшення синцитіальних вузликів у ворсинах хоріона. Забарвлення гематоксилін-еозином збільшення x200. № 8808

Гістологічні маркери стресу – вузлики багатоядерного синцитіотрофобласта, середніх та термінальних ворсин хоріона. Встановлено, що в порівняно з I групою, у якої в середньому виявлено $9,27 \pm 1,5$ вузликів (табл. 3.5), (рис. 3.59), у групах, що перенесли хронічний стрес, обумовлений COVID-19 та внутрішнім опроміненням, достовірно збільшена кількість багатоядерних

синцитіальних вузликів. Особливо це виражено у групах IVa та IVб (з перенесеним COVID-19), у яких у середньому відмічено $72,04 \pm 12,4$ та $61,21 \pm 21,6$ вузликів відповідно (табл. 3.5), (рис. 3.59).

Також гістологічно виявлено нерівномірні зміни в плані вогнищ мікровідшарування децидуальної оболонки в усіх досліджуваних групах, порівняно з I групою. Тобто, відповідно до амстердамської класифікації (2015-16), виявлено судинні материнські процеси, які пов'язані з порушенням перфузії.

Таким чином, виявлені критерії змін синцитіотрофобласта багатоядерного епітелію ворсинок хоріона плацент жінок з хронічним стресом обумовленим внутрішнім опроміненням, та коронавірусною хворобою, особливо перенесеною у ранньому періоді гестації, порівняно з I групою, які проявлялися статистично доведеним збільшенням вузликів синцитіотрофобласта багатоядерного епітелію з нерівномірним розподілом їх у ворсинках хоріона.

3.6 Імуногістохімічне дослідження маркерів стовбурових клітин CD-117 та CD-44

Проведено імуногістохімічне дослідження 50 плацент жінок 39-40 тижнів вагітності, які поділені на п'ять груп. Досліджено плаценти жінок, які перенесли COVID-19 у першій половині вагітності (до 20 тижнів) – IVa група (10 випадків) та у другій половині вагітності (39-40 тижнів) – IVб група (10 випадків); плаценти жінок з хронічним стресом унаслідок внутрішнього опромінення з вмістом радіонуклідів $\geq 4,8$ Бк/кг – III група (10 випадків); плаценти жінок з передчасними пологами та живонародженими (22-36 тижнів гестації) – IIa група (10 випадків). У порівняльній групі I було 10 випадків плаценти жінок з фізіологічною вагітністю без COVID-19, переважно протягом 39-40 тижнів гестації (табл. 3.6-3.7). Дослідження виконано з порівнянням загальної кількості стовбурових клітин різних груп з апоптозними клітинами, для визначення змін регенераторних можливостей за хронічного стресу різного генезу.

Таблиця 3.6

Імуногістохімічний аналіз маркера стовбурових клітин CD-117

Групи		Кількість клітин у 10 полях зору x10
Група I. Порівняння, n=10	з.	5,23±0,1
	а.	2,26±0,17
Група IIa. Передчасні пологи з живонародженням, n=10	з.	11,05±0,33 (111,3%)
	а.	4,47±0,16 (97,8%)
Група III. Внутрішнє опромінення, n=10	з.	9,54±0,17 (82,4%)
	а.	4,59±0,23 (103%)
Група IVa. COVID-19 ранній період, n=10	з.	6,44±0,27 (23,1%)
	а.	4,29±0,21 (89,8%)
Група IVб. COVID-19 пізній період, n=10	з.	5,28±0,38 (1%)
	а.	2,8±0,33 (23,9%)

За результатами імуногістохімічного дослідження маркера стовбурових клітин CD-117 у групі порівняння виявлена позитивна експресія (2-3 бали) у стромі ворсин, в децидуальній тканині, хоральній пластині та плідних оболонках (табл. 3.2), (рис. 3.61). Загальна кількість стовбурових клітин в середньому склала 5,23±0,1 (95 % СІ: 5,15-5,3; $p<0,001$) (табл. 3.6), (рис. 3.63).

Виявлено стовбурові клітини з наявністю дистрофій та поодинокі з апоптозом. В середньому кількість клітин з апоптозом становила 2,26±0,17 (95 % СІ: 2,13-2,38; $p<0,001$). У середньому у групі порівняння 57 % стовбурових клітин є апоптозними (табл. 3.6), (рис. 3.63).

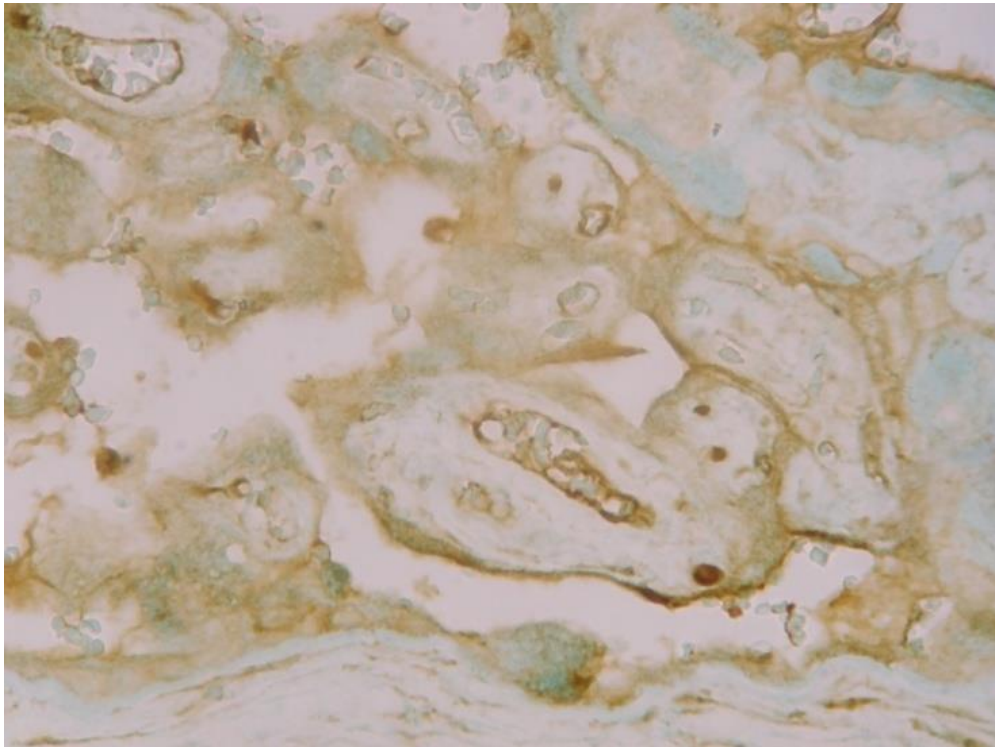


Рис. 3.61 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-117 у стромі ворсин і хоральній оболонці – 2-3 бали. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-117. х630. № 5810

В плацентах групи порівняння експресія маркера CD-117 нерівномірна у ворсинах (2 бали), та в хоріальній пластинці в більшості досліджуваних плацент. В поодиноких випадках в цьому ж терміні 39-40 тижнів виявлено зниження експресії до 1-0 балів вогнищево.

Аналіз імуногістохімічних маркерів стовбурових клітин CD-117, та CD-44 в порівнянні з I групою (табл. 3.2) встановив, що експресія CD-117 у плаценті досліджуваних груп IIa, III, IVa та IVб проявилася нерівномірністю розташування маркера стовбурових клітин CD-117 (рис. 3.62) найбільш статистично доведено ($p < 0,0001$) в хоріальних ворсинках та Вартонових структурах III групи дослідження. Відмічалася нерівномірність експресії CD-44 та його вогнищевий характер у III групі більшою мірою. В частині ворсин збільшувалась кількість стовбурових клітин.

Загальна кількість стовбурових клітин у групі з внутрішнім опроміненням та маркером CD-117 в середньому становила $9,54 \pm 0,17$ (95 % СІ: 9,41-9,66; $p < 0,001$), що на 82,4 % більше ніж у групі порівняння (табл. 3.6), (рис. 3.63).

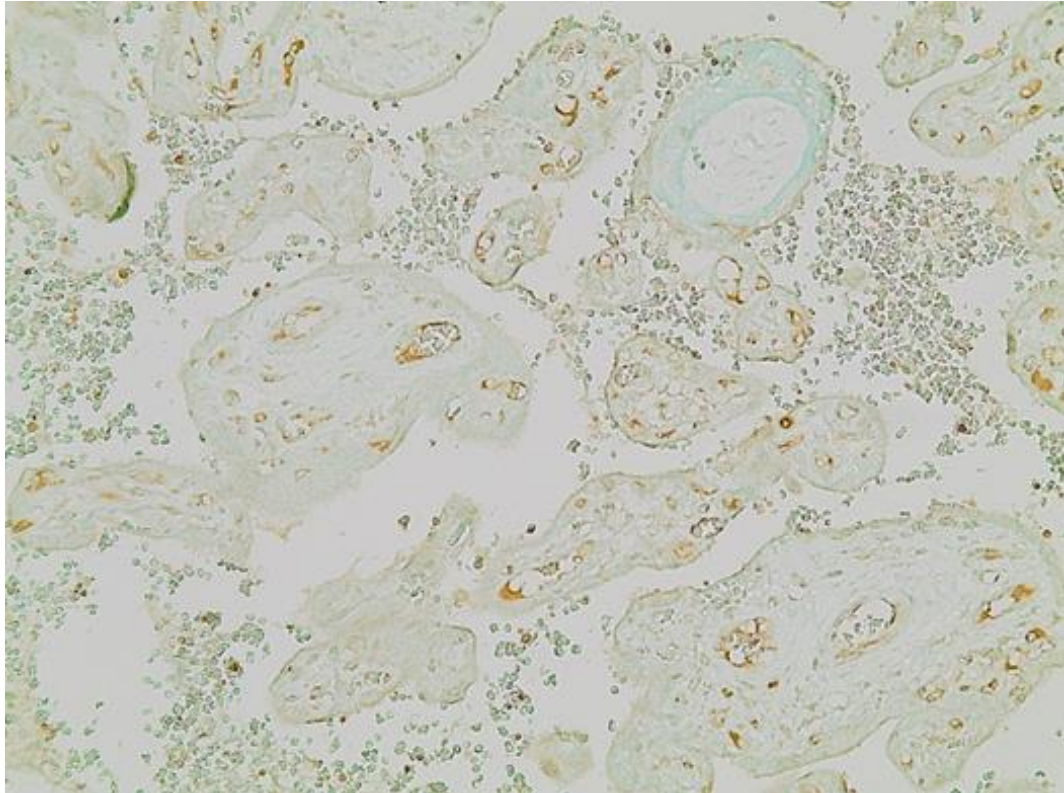


Рис. 3.62 – Плацента 30 тижнів гестації з внутрішнім опроміненням 6 Бк/кг. Експресія CD-117 в ворсинках хоріона групи з внутрішнім опроміненням $\geq 4,8$ Бк/кг. Дистрофія та некроз окремих клітин плацентарного бар'єру. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-117. x200. № 5957

Але відмічалось пошкодження у вигляді дистрофії, пікнозу та апоптозу CD-117 позитивних клітин, особливо у 80 % випадків, що вказує на зменшення функціональних особливостей стовбурових клітин. В частині плацентарних структур ворсинок, а також децидуальної оболонки такі скупчення були в III і IV групах. В середньому кількість стовбурових клітин з апоптозом у групі з внутрішнім опроміненням та маркером CD-117 становила $4,59 \pm 0,23$ (95 % СІ: 4,41-4,76; $p < 0,001$), що на 103 % більше ніж у групі порівняння (табл. 3.6), (рис. 3.63).

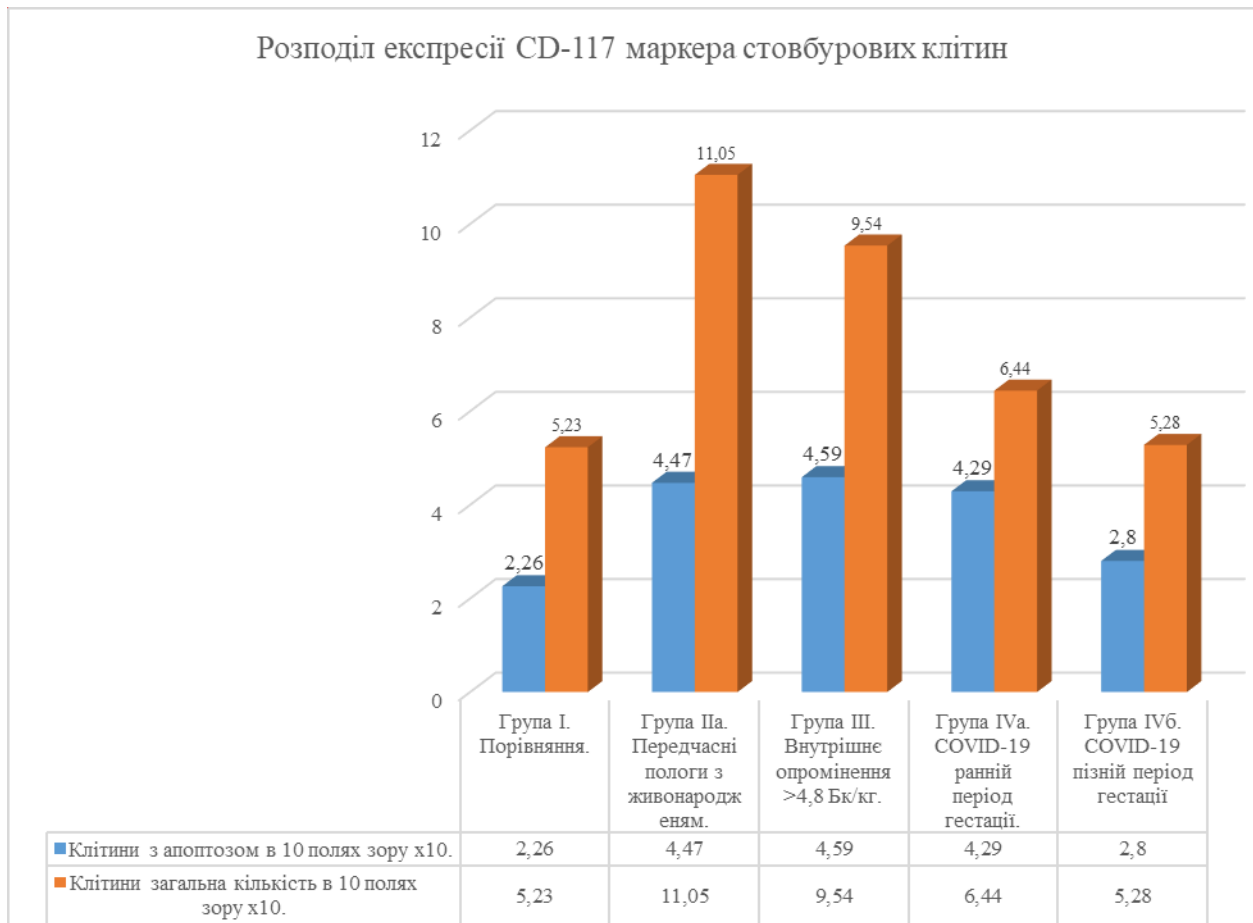


Рис. 3.63 – Розподіл експресії маркера стовбурових клітин CD-117, загальної кількості стовбурових клітин до клітин з апоптозом.

Слід відмітити нерівномірність експресії маркерів CD-117 та CD-44 у структурах пуповини в III і IV групах. У III групі експресія CD-44 була більш вираженою, ніж CD-117 (табл. 3.5, 3.6), у поодиноких випадках були виявлено скупчення гіперплазованих стовбурових клітин навколо судин з поодинокими клітинами у Вартонових драглях (табл. 3.2).

Загальна кількість стовбурових клітин у групі з перенесеним COVID-19 у ранній період гестації та маркером CD-117 в середньому становила $6,44 \pm 0,27$ (95 % CI: 6,23-6,64; $p < 0,001$), що на 23,1 % більше, ніж у групі порівняння (табл. 3.6), (рис. 3.63).

Також, відмічено пошкодження у вигляді дистрофії, пікнозу та апоптозу CD-117 позитивних клітин (табл. 3.2), (рис. 3.64).

У середньому кількість стовбурових клітин з апоптозом у групі з перенесеним COVID-19 в ранній період гестації та маркером CD-117 становила $4,29 \pm 0,21$ (95 % СІ: 4,13-4,44; $p < 0,001$), що на 89,8 % більше ніж у групі порівняння (табл. 3.6), (рис. 3.63).



Рис. 3.64 – Плацента жінки IV групи (яка перенесла COVID у ранньому періоді 20 тижнів гестації) в 40 тижнів гестації. Експресія CD-117 у децидуальній оболонці групи з перенесеним COVID-19. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-117. $\times 400$. № 8808

Загальна кількість стовбурових клітин у групі з перенесеним COVID-19 в пізній період гестації та маркером CD-117 в середньому становила $5,28 \pm 0,38$ (95 % СІ: 5-5,55; $p = 0,64$), що на 1 % більше ніж у групі порівняння. Достовірність змін у цій групі за t-критерієм низька (табл. 3.6), (рис. 3.63).

У середньому кількість стовбурових клітин з апоптозом у групі з перенесеним COVID-19 у пізній період гестації та маркером CD-117 становила $2,8 \pm 0,33$ (95 % СІ: 2,55-3,04; $p < 0,001$), що на 23,9 % більше, ніж у групі порівняння (табл. 3.6), (рис. 3.63).

Таблиця 3.7

Імуногістохімічний аналіз маркера стовбурових клітин CD-44

Групи		Кількість клітин в 10 полях зору x10
Група I. Порівняння, n=10	з.	8,35±0,13
	п.	2,45±0,16
Група IIa. Передчасні пологи з живонародженням, n=10	з.	11,14±0,15 (33,41%)
	п.	5,01±0,15 (104,48%)
Група III. Внутрішнє опромінення, n=10	з.	18,68±0,23 (123,71%)
	п.	8,5±0,23 (246,93%)
Група IVa. COVID-19 ранній період, n=10	з.	11,71±0,14 (40,23%)
	п.	5,69±0,16 (132,24%)
Група IVб. COVID-19 пізній період, n=10	з.	13,69±0,31 (63,95%)
	п.	5,25±0,35 (114,28%)

Під час імуногістохімічного дослідження маркера стовбурових клітин CD-44 виявлено позитивну експресію (2 бали) в стромі ворсин, у децидуальній тканині, хоріальній пластині та плідних оболонках (таб. 3.2), (рис. 3.65). Загальна кількість стовбурових клітин в середньому становила 8,35±0,13 (95 % СІ: 8,25-8,44; p<0,001) (табл. 3.7), (рис. 3.68).

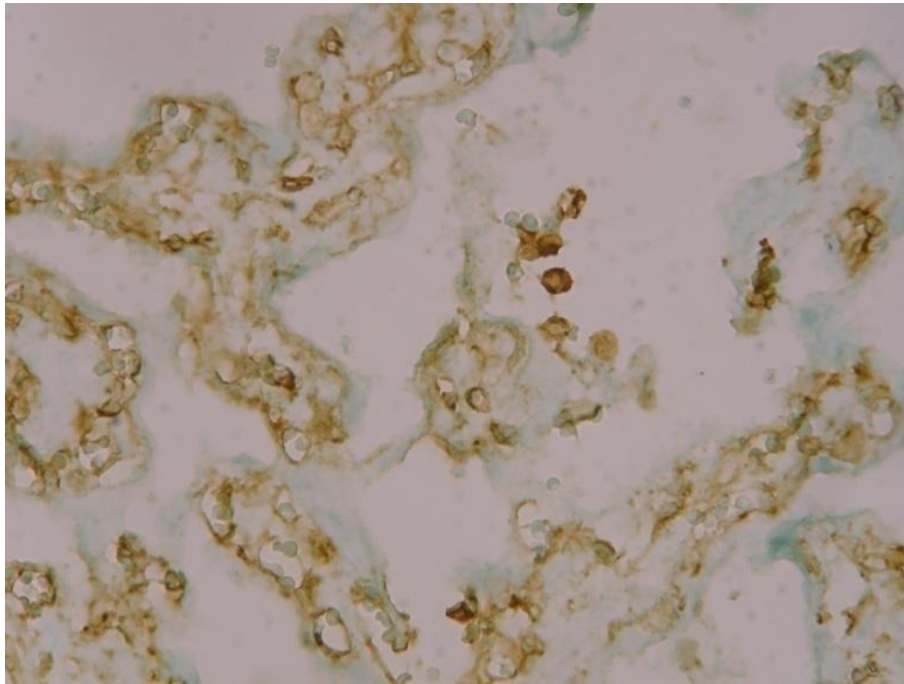


Рис. 3.65 – Плацента жінки в 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-44 у клітинах строми ворсин. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-44. $\times 400$. № 5810

Виявлено нерівномірні вогнища стовбурових клітини з проявами дистрофії та апоптозу (рис. 3.68). У середньому кількість клітин з апоптозом становила $2,45 \pm 0,16$ (95 % СІ: 2,33-2,56; $p < 0,001$). У середньому у групі порівняння 70,6 % стовбурових клітин були апоптозними (табл. 3.7), (рис. 3.68).

Імуногістохімічні дослідження маркерів стовбурових клітин підгрупи живонароджених виявили нерівномірну вогнищеву експресію CD-117 і CD-44 (рис. 3.66) у різні терміни гестації. Відмічалась експресія в децидуальній оболонці у вигляді скупчень та нерівномірно в ворсинках хоріона від 4-5 до 10 та більше. Нерівномірність скупчення стовбурових клітин обумовлена набряком строми, особливо децидуальної оболонки.

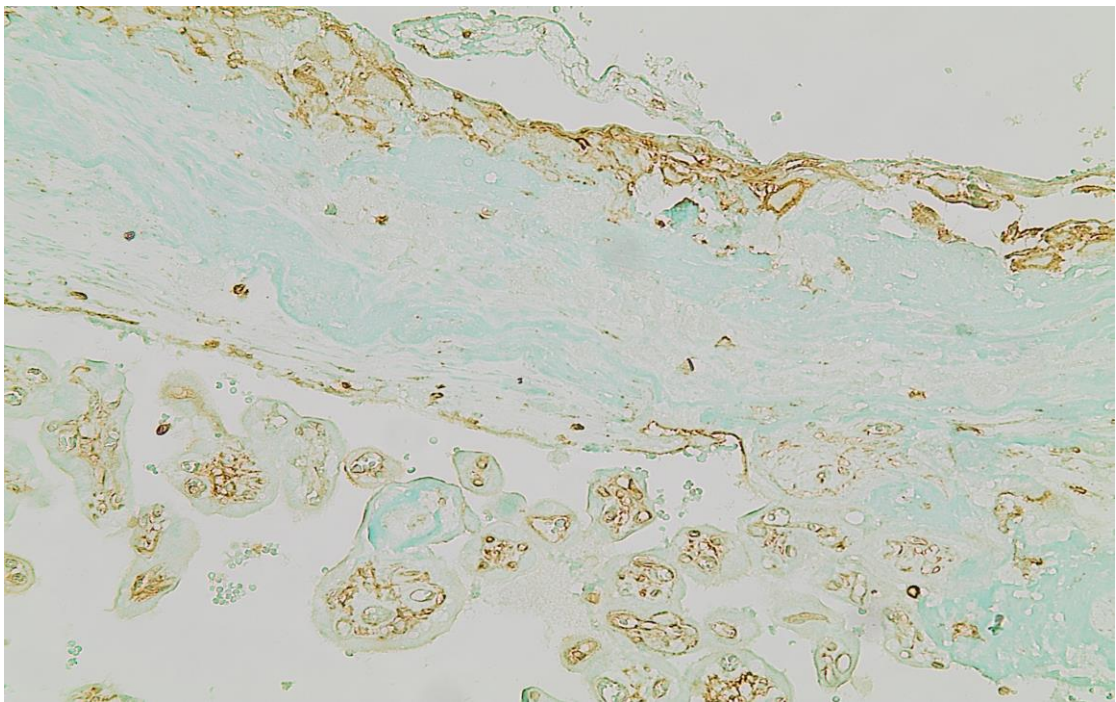


Рис. 3.66 – Плацента жінки з передчасними пологамі в терміні гестації в 30 тижнів, підгрупа живонароджені. Нерівномірність експресії CD-44 у хоріальних структурах та децидуальній оболонці. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-44. x200. № 6140

Загальна кількість стовбурових клітин у групі з передчасними пологамі підгрупи живонароджених і маркером CD-44 в середньому становила $11,14 \pm 0,15$ (95 % СІ: 11,03-11,24; $p < 0,001$), що на 33,41 % більше ніж у групі порівняння (табл. 3.7), (рис. 3.68).

У середньому кількість стовбурових клітин з апоптозом у групі з передчасними пологамі підгрупи живонароджених і маркером CD-44 становила

5,01±0,15 (95 % СІ: 4,9-5,11; $p<0,001$), що на 104,48 % більше, ніж у групі порівняння (табл. 3.7), (рис. 3.68).

Імуногістохімічне дослідження маркера стовбурових клітин CD-44 виявило значне збільшення CD-44 позитивних клітин у полях зору (x200), особливо в хоріальних ворсинах та пуповині в групі з внутрішнім опроміненням. Відмічено збільшення експресії в стромі хоріальних ворсин III групи (рис. 3.67).

Загальна кількість стовбурових клітин у групі з внутрішнім опроміненням і маркером CD-44 в середньому становила 18,68±0,23 (95 % СІ: 18,5-18,85; $p<0,001$), що на 123,71 % більше ніж у групі порівняння (табл. 3.7), (рис. 3.68).

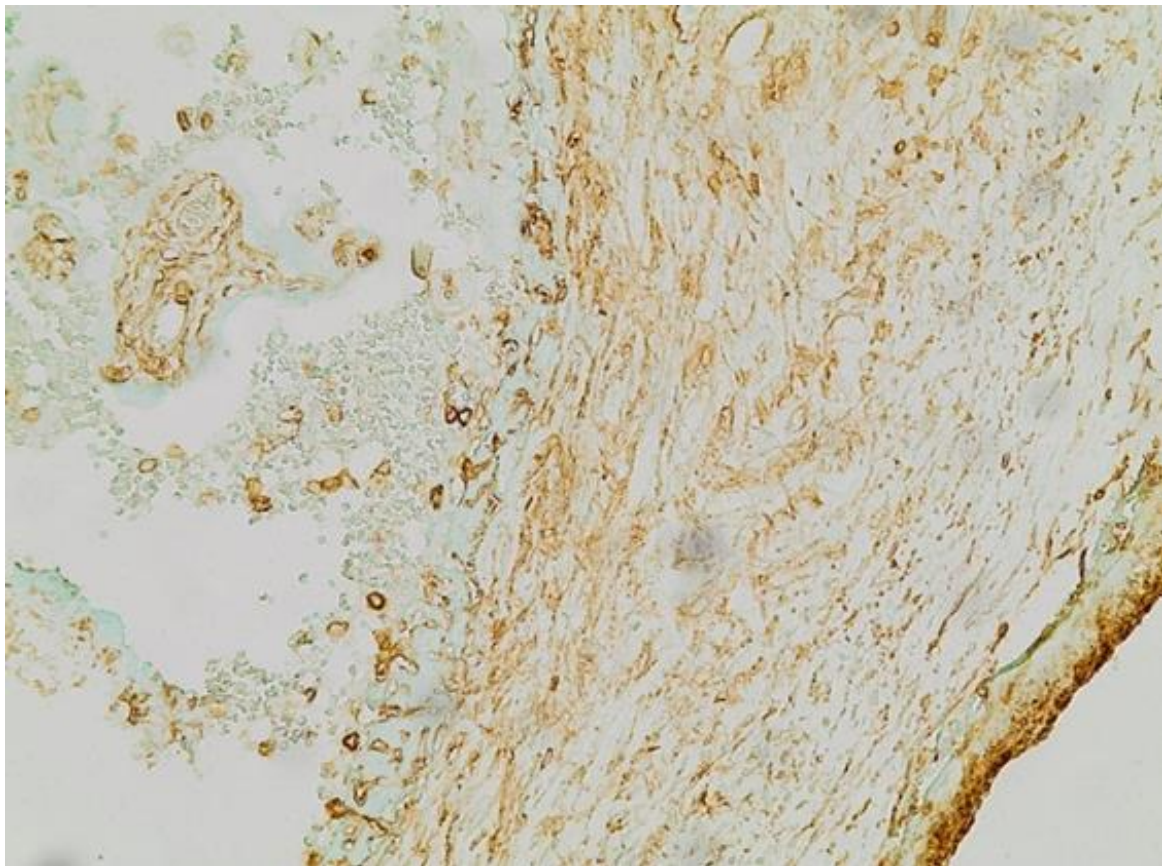


Рис. 3.67 – Плацента в 30 тижнів гестації з внутрішнім опроміненням 6 Бк/кг. Експресія CD-44 в ворсинках хоріона групи з внутрішнім опроміненням $\geq 4,8$ Бк/кг. Прояви дистрофії та апоптозу клітин плацентарного бар'єру. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-44. x200. № 5957

В середньому кількість стовбурових клітин з апоптозом у групі з внутрішнім опроміненням та маркером CD-44 становила $8,5 \pm 0,23$ (95 % СІ: 8,33-8,66; $p < 0,001$), що на 246,93 % більше, ніж у групі порівняння (табл. 3.7), (рис. 3.68).

Аналіз імуногістохімічної експресії CD-44 в групах плацент жінок з хронічним стресом показав, що збільшення (нерівномірне) кількості в частині досліджень пов'язане з деструкцією цих маркерів (особливо дистрофією) (рис. 3.68, 3.69).

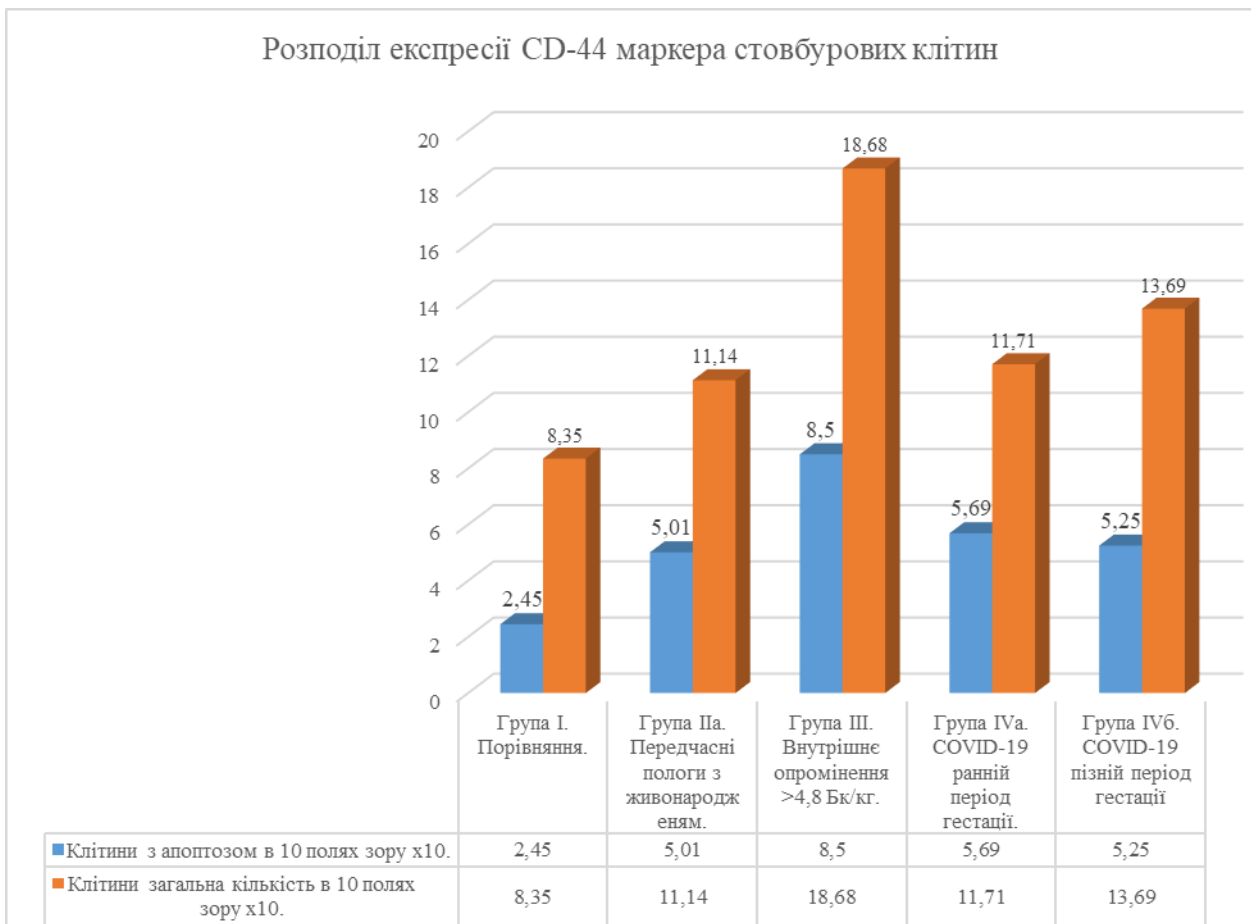


Рис. 3.68 – Розподіл експресії маркера стовбурових клітин CD-44, загальної кількості стовбурових клітин до клітин з апоптозом.

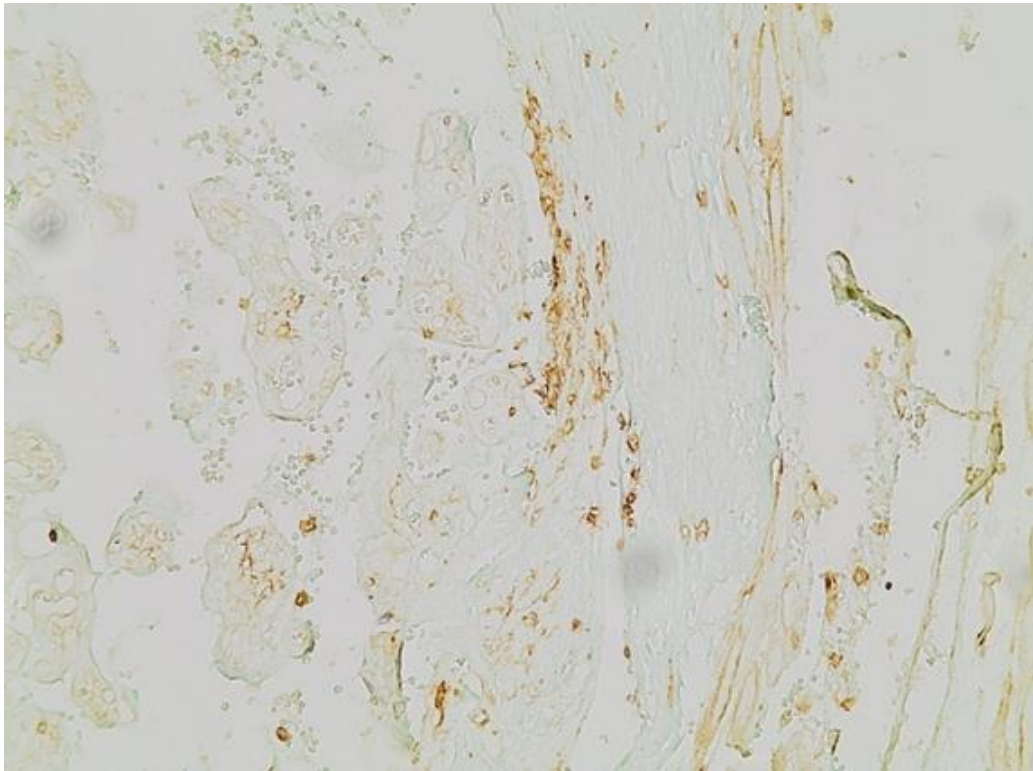


Рис. 3.69 – Плацента жінки з внутрішнім опроміненням 6,3 Бк/кг терміном гестації 39 тижнів вагітності. Нерівномірна експресія CD-44 виявляє вогнища дистрофії та вогнища некрозу стовбурових клітин у групі з внутрішнім опроміненням $\geq 4,8$ Бк/кг. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-44. x200. № 6212

Відмічено нерівномірність експресії CD-44 і вогнищевий характер у IVa підгрупі в меншому ступені (рис. 3.70). У частині ворсин збільшувалася кількість (табл. 3.2) стовбурових клітин.

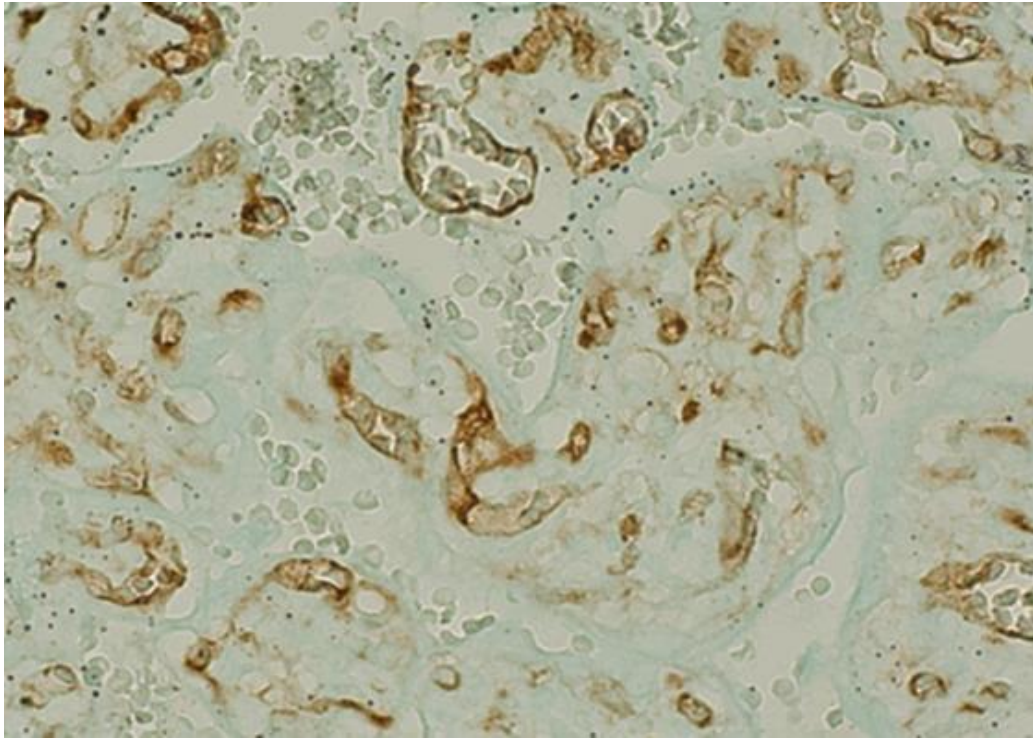


Рис. 3.70 – Плацента жінки IV групи (яка перенесла COVID-19 у ранньому періоді 20 тижнів гестації) в 40 тижнів гестації. Експресія CD-44 у ворсинках хоріона групи з перенесеним COVID-19. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-44. х630. № 8808

У IV групі (а і б) у більшості випадків виявлено дифузну виражену експресю CD-44 і CD-117 у Вартонових драглях та з помірним скупченням біля судин негіперплазованих стовбурових клітин (табл. 3.2).

Загальна кількість стовбурових клітин у групі з перенесеним COVID-19 у ранній період гестації та маркером CD-44 у середньому становила $11,71 \pm 0,14$ (95 % СІ: 11,6-11,81; $p < 0,001$), що на 40,23 % більше, ніж у групі порівняння (табл. 3.7), (рис. 3.68).

В середньому кількість стовбурових клітин з апоптозом у групі з перенесеним COVID-19 у ранній період гестації та маркером CD-44 становила $5,69 \pm 0,16$ (95 % СІ: 5,57-5,8; $p < 0,001$), що на 132,24% більше, ніж у групі порівняння (табл. 3.7), (рис. 3.68).

Загальна кількість стовбурових клітин у групі з перенесеним COVID-19 у пізній період гестації та маркером CD-44 в середньому становила $13,69 \pm 0,31$ (95 % CI: 13,46-13,91; $p=0,64$), що на 63,95 % більше, ніж у групі порівняння (табл. 3.7), (рис. 3.67).

В середньому кількість стовбурових клітин з апоптозом у групі з перенесеним COVID-19 в пізній період гестації та маркером CD-44 становила $5,25 \pm 0,35$ (95 % CI: 4,99-5,5; $p < 0,001$), що на 114,28 % більше, ніж у групі порівняння (табл. 3.7), (рис. 3.68).

Таким чином, у розділі 3.6 «імуногістохімічне дослідження маркерів стовбурових клітин CD-117 і CD-44» встановлено збільшення експресії імуногістохімічних маркерів стовбурових клітин CD-117 і CD-44 у досліджуваних групах порівняно з I групою.

Виявлено статистично доведене збільшення експресії імуногістохімічних маркерів CD-44 на тлі дистрофічно-деструктивних змін в плацентарних структурах за внутрішнього опромінення.

Імуногістохімічна експресія маркерів CD-117 і CD-44 зазнала виражених дистрофічних змін в клітинах плацентарного бар'єру нерівномірно вогнищево після перенесеного COVID-19.

Статистично доведено важливий факт дистрофії та апоптозу цих клітин у групах з передчасними пологами, внутрішнім опроміненням та перенесеним COVID-19.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Метою даної роботи було визначення морфологічних та імуногістохімічних особливостей стовбурових клітин плацентарного бар'єру жінок на тлі хронічного стресу, обумовленого хронічним внутрішнім опроміненням; постковідним періодом, передчасними пологами.

Ідея роботи полягала у виявленні впливу хронічного стресу [101], який можна характеризувати як «суперстрес», оскільки поява нових факторів сьогодення (радіаційна катастрофа, пандемія COVID-19) відіграють суттєву роль у здоров'ї плода та матері. Вплив хронічного стресу на структури плаценти, органа, який бере участь у формуванні та розвитку плода, має значення для діагностики та прогнозування в клінічних умовах. У стресових умовах відома дія факторів на регенеруючі структури, до яких можна віднести передусім стовбурові клітини. Встановлено, що вони наявні у великій кількості в плаценті [37].

У результаті досліджень плацент жінок, які зазнали впливу хронічного стресу, обумовленого передчасними пологами, внутрішнім опроміненням та перенесеним COVID-19, виявлено патологічні зміни в материнських та плодових структурах (згідно з класифікацією, Амстердам, 2015-2016 р.), які допомагають клініцистам встановити причини смерті плода.

При аналізі отриманих даних встановлено, що частіше за все відмічалось відшарування децидуальної оболонки, яке зустрічалось у жінок з передчасними пологами. Це ускладнення яке зачіпає 5-15 % вагітних, за даними літератури, пов'язане зі зменшенням інвазії трофобласта та хронічною гіпоксією внаслідок недостатності матково-плацентарного кровообігу [102].

Відшарування плаценти має багатофакторну етіологію, пов'язану переважно з матково-плацентарними структурами. Слід зазначити, що відшарування плаценти в групі жінок з передчасними пологами та антинатальною загибеллю плода було найбільш вираженим і поширеним.

Також до загальних змін у плаценті груп дослідження порівняно з контролем, можна віднести порушення судинної перфузії материнських факторів,

які проявлялись внутрішніми інфарктами, прискореним дозріванням ворсин з фіброзом їх строми, змінами фетальних судин та їхньою централізацією (згідно з класифікацією Амстердам, 2015-2016 р.).

У випадках мертвонародження при передчасних пологах ведуче місце за мортальністю плода посідає децидуальна артеріопатія з порушенням інвазії трофобласта та проявами плацентарної дисфункції [1].

В наших дослідженнях децидуальну артеріопатію була встановлено в плацентах жінок із звичним невиношуванням вагітності (в деяких випадках було 3-4 передчасних пологів). Імуногістохімічно вивчено експресію судинних маркерів (CD-31, CD-105, VEGF), яка не відмічалась в стінках судин децидуальної оболонки. Це вказує на порушення інвазії та важливість у цьому процесі функціональної здатності судин.

Виявлені нами ознаки імуногістохімічних змін потребують подальшого вивчення.

Патологічні зміни у плодовій частині плаценти проявлялися в затримці дозрівання термінальних ворсин з порушенням перфузії, особливо на тлі внутрішнього опромінення та перенесеного COVID-19.

Таким чином, визначено загальні зміни у плаценті, що несприятливо впливають на стан плода та які необхідно враховувати при проведенні лікувальних та профілактичних заходів.

Для виявлення структурних особливостей плацентарного бар'єру при наявності у жінок хронічного стресу нами було досліджено багатоядерний синцитіотрофобласт. При хронічному стресі встановлено достовірне збільшення багатоядерних вузликів синцитію у ворсинчастому хоріоні. Особливо великі показники – до 6-7 разів (677 %), порівняно з I групою, виявлено в плацентах жінок з перенесеним COVID-19 в ранньому періоді вагітності до 14 тижнів гестації, а також дещо нижчий показник – до 5-6 разів (560 %) у жінок з перенесеним COVID-19 після 22 тижні гестації.

З літературних джерел відомо, що багатоядерний синцитіотрофобласт плаценти людини відповідає за транспортні функції між кровопостачанням матері

та плода і є основним місцем синтезу білка та виробництва стероїдів. Утворюється шляхом злиття основних клітин цитотрофобласту. Ядра багатоядерного синцитіотрофобласта є немітотичними, але механізм зупинки клітинного циклу в синцитіотрофобласта невідомий [5].

Установлено, що злиття клітин викликає старіння клітин, відоме як реакція на стрес або пошкодження ДНК. Термін плацентарний синцитіотрофобласт демонструє маркери, пов'язані з клітинними старінням, відоме як реакція на стрес [5].

Оскільки, метою нашого дослідження було визначення імуногістохімічних особливостей стовбурових клітин плацентарного бар'єру жінок на тлі хронічного стресу, нами вивчені маркери стовбурових клітин C-kit CD-117 і CD-44.

В останні роки були отримані нові данні ролі регенераторних можливостей стовбурових клітин в плаценті, оскільки, вона багата на стовбурові клітини та їхні родоначальники, які класифікуються як тотипотентні, плюрипотентні та мультипотентні [34].

Особливу увагу ми звернули на C-kit, який експресується рецептором CD117. C-kit-cells – це плюрипотентні клітини які є безпосередньою похідною хоріальних структур плаценти та амніотичної рідини, не мають поверхневого антигена та мають нормальний каріотип [61]. Також встановлено, що вони, будучи нащадками тотипотентних стовбурових клітин, можуть давати початок майже всім тканинам і органам [62].

Важливим також є антиген CD44, який є унікальним серед ядерних клітин ссавців тим, що мало стимулює алогенну реактивність [43, 44, 62].

Нами виявлено достовірне збільшення експресії імуногістохімічних маркерів CD-117 і CD-44 на тлі дистрофічно-деструктивних змін у плацентарних структурах у разі внутрішнього опромінення та перенесеного COVID-19 в порівнянні з I групою. Найбільш виражені зміни клітин CD-117 і CD-44 виявлено в плацентах з внутрішнім опроміненням.

Встановлено імуногістохімічні особливості стовбурових клітин у структурах плаценти при різній патології, важливі з погляду регенераторних

можливостей у разі їх застосування з метою лікування. Збільшення кількості стовбурових клітин у плацентарному бар'єрі є закономірною реакцією на ушкодження. На основі цього можна судити про тяжкість перенесеного стресу і його наслідки для структур плаценти.

Оскільки плацента бере участь в органогенезі плода, дуже важливо враховувати її регенераторні можливості під впливом найпоширеніших шкідливих факторів – внутрішнього опромінення та перенесеного COVID-19.

Виявлено імуногістохімічні особливості експресії стовбурових клітин на тлі внутрішнього опромінення та перенесеного COVID-19 свідчать про різну спрямованість цих факторів. Так, при коронавірусній хворобі віріон пригнічує дозрівання ворсинок хоріона та збільшує фіброз строми й материнські інфаркти, порушує перфузію материнських і фетальних структур. Внутрішнє опромінення призводить до структурного пошкодження синцитіотрофобласта та клітин ендотелію судин. Найбільш вираженим є вплив внутрішнього опромінення (група III). Дуже важливим є факт, що внутрішнє опромінення уражає і самі стовбурові клітини: хоча їх кількість значно збільшена, однак переважна більшість має значно знижені функціональні можливості.

Встановлені нами особливості імуногістохімічних маркерів стовбурових клітин CD-117 і CD-44 потребують подальшого дослідження для розширення нових можливостей удосконалення та розвитку знань про регенераторні можливості стовбурових клітин.

За результатами дослідження впливу стресових факторів різного генезу на плаценти жінок нами виявлено, що імуногістохімічні маркери тромбозу у фетальних мікросудинах ворсинок хоріона плацент жінок, що хворіли COVID-19 під час вагітності, достовірно вищі порівняно з I групою, та іншими групами дослідження.

Імуногістохімічне дослідження з TSP-1 дало можливість виявити тромби і мікротромби з вираженою експресією в усіх фетальних судинних структурах плацентарного бар'єру, а також структурні особливості, що вказують на патогенетичні механізми пошкодження судинних структур плаценти жінок, які

перенесли коронавірусне інфікування та може бути імуногістохімічним маркером критерію тромбозу фетальних судин плаценти. Ці дані підтвержені на ультраструктурному рівні, виявлені зміни ультраструктур ядер синцитіальних вузликів, які мають просвітлення матриксу за наявності COVID-19 у плаценті на початку розвитку. У дослідженнях груп жінок, які перенесли COVID-19 на ранньому та пізньому етапах перебігу вагітності, виявлено формування складжа та тромбозу в фетальних судинах плаценти та наявність віріона в плацентарному бар'єрі.

Подальше дослідження імуногістохімічних маркерів перенесеного COVID-19 потребує додаткових досліджень плацент жінок з передчасними пологамі із загибеллю плода, для формування розуміння особливостей уражень та порушення перфузії плаценти при коронавірусній інфекції.

Виявлено експресію карциноембріонального антигена (СЕА) в синцитії та структурах фетальних судин переважно термінальних і середніх ворсинок хоріона в плаценті жінок з внутрішнім опроміненням при інкорпоруванні радіонуклідами $\geq 4,8$ Бк/кг. Експресія карциноембріонального антигена була відсутня в інших групах.

За даними літератури, у нормі в людини наявна секреція СЕА у сироватці крові – від 8,8 мг/мл до 28,9 мг/мл. Встановлено незначне коливання цих показників під час вагітності на 1-3 триместрі [103].

Вважається, що СЕА – це молекулами ембріонального періоду, але є поодинокі праці, присвячені вивченню їхньої експресії і функціонування в ембріонах [104].

Ці данні дали нам поштовх до подальшого дослідження зазначеної проблеми з урахуванням гістопатології плаценти та на тлі лікування.

Підвищення експресії СЕА в структурах плаценти за внутрішнього опромінення і пухлинах у жінок потребують подальших досліджень у плані розширення різноманітних типів антигенів СЕА, а також дослідження в динаміці гестації гістопатології, які, можливо мають значення в перинатальному онкогенезі.

Розроблені нами морфологічні, імуногістохімічні та ультраструктурні критерії уражень плаценти за хронічного стресу є важливими для клінічної діагностики та прогнозування здоров'я матері та плода в майбутньому. Особливо під впливом стресу, обумовленого бойовими діями (які проходять у нашій країні), що викликають особливий стан із перевищенням людських ресурсів (особливо вагітних) для подальшого прогнозування впливу стресогенних факторів у системі «мати-плацента-плід» (рис.4).



Рис. 4 – Подальші перспективні дослідження системи «мати-плацента-плід»

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуальної наукової задачі патологічної анатомії – визначення морфологічних та імуногістохімічних особливостей стовбурових клітин плацентарного бар'єру жінок на фоні хронічного стресу у вагітних, обумовленого хронічним внутрішнім опроміненням, пост-COVID періодом.

1. Встановлені загальні гістопатологічні зміни структур плацентарного бар'єру за хронічного стресу, обумовленого різними факторами (COVID-19, внутрішнім опроміненням, передчастними пологами): відшарування децидуальної оболонки, порушення перфузії материнських структур в плацентарному бар'єрі.

2. Гістологічно та ультраструктурно виявлено достовірне збільшення багатоядерних вузликів синцитіотрофобласта ворсинчастого хоріона у плацентах жінок з хронічним стресом, обумовленим перенесеним COVID-19 і внутрішнім опроміненням на тлі прояву деструкції судин, тромбозу материнської частини плаценти, що може бути предиктором для діагностики уражень плода, оскільки фетальні судини та синцитіокапілярні мембрани є важливим фактором для переносу від матері до плода кисню та білка для участі в процесах гестації.

3. Відмічено достовірне збільшення експресії імуногістохімічних маркерів CD-117 і CD-44 на тлі дистрофічно-деструктивних змін у плацентарних структурах під впливом внутрішнього опромінення та перенесеного COVID-19 порівняно з I групою. Найвиразніші зміни клітин CD-117 і CD-44 виявлені в плацентах з внутрішнім опроміненням.

4. Виявлено достовірне збільшення синцитіальних вузликів особливо у плацентах жінок IV групи з перенесеним COVID-19 в першій половині вагітності, що впливає на появу деструкції судин та утворення тромбів в материнській частині плаценти, що є предиктором для діагностики уражень плода. Оскільки фетальні судини та синцитіокапілярні мембрани є важливим фактором для перенесення від матері до плода кисню та білка для участі в процесах гестації,

тому виявлення тромбозу цих судин веде до ураження плодових плацентарних судинних процесів.

5. Встановлено, що імуногістохімічні маркери тромбозу з позитивною експресією тромбоспондін-1 у фетальних мікросудинах ворсинок хоріона плацент жінок, що хворіли на COVID-19 під час вагітності достовірно вищі порівняно з I групою.

6. Виявлено експресію карциноембріонального антигена (CEA) в синцитії та структурах фетальних судин переважно термінальних та середніх ворсинок хоріона в плаценті жінок з внутрішнім опроміненням за інкорпорування радіонуклідами $\geq 4,8$ Бк/кг, що може слугувати предиктором в перинатальному онкогенезі. Експресія карциноембріонального антигену була відсутня в інших групах.

7. Встановлено зміни в плаценті жінок з передчасними пологамі в більшості **материнських** структур, які проявлялися в 90 % відшаруванням децидуальної оболонки з порушенням перфузії у фетальних судинах, децидуальними артеріопатіями з поверхневою імплантацією на тлі відсутності імуногістохімічної експресії судинних маркерів (CD-31, CD-105, VEGF) у стінках судин плацентарного бар'єру. Паралельно з цим виявлено **плодові** плацентарні судинні процеси: затримка дозрівання ворсин з наявністю незрілих аваскулярних середніх і стовбурових ворсин хоріона з порушенням перфузії та зниженням експресії імуногістохімічного маркеру CD-31 в ендотелії судин.

8. Розроблені морфологічні, імуногістохімічні та ультраструктурні критерії ушкоджень плаценти на тлі хронічного стресу в досліджуваних групах, важливі для клініцистів (наведені в практичних рекомендаціях).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

У всіх групах досліджень виявлено загальні патоморфологічні зміни, які проявлялися відшаруванням децидуальної оболонки порушенням перфузії в структурах плацентарного бар'єру, внутрішніми інфарктами.

Встановлені критерії пошкодження плаценти за хронічного стресу, визначено предиктори для профілактичних і клінічних заходів.

Предиктори плацентарних порушень за хронічного стресу на гістологічному та імуногістохімічному рівнях.

1. Гістологічно встановлено достовірні підвищення кількості синцитіальних вузликів епітелію ворсинок.

2. Імуногістохімічно виявлено дистрофічні зміни стовбурових клітин, які експресують CD-117 і CD-44, що змінює регенераторні властивості цих клітин у їх застосуванні в практичній медицині.

3. Імуногістохімічне виявлення вираженої експресії тромбоспондину-1 в тромбах фетальних судин ворсинчастого хоріона в жінок, що хворіли на COVID-19 під час вагітності, вказує на пошкодження ендотеліальних клітин, що потребує лікувальних заходів.

4. Наявність експресії карциноембріонального антигена (СЕА) в цитоплазмі синцитіотрофобласта та ендотеліальних клітин – є онкомаркером та предиктором ризику розвитку онкологічної патології.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Rebecca N. Baergen Manual of Pathology of the Human Placenta, 2011.
2. Bale TL. Sex differences in prenatal epigenetic programming of stress pathways. *Stress*. 2011 Jul;14(4):348-56. doi: 10.3109/10253890.2011.586447. PMID: 21663536.
3. Jansson T, Powell TL. Role of the placenta in fetal programming: underlying mechanisms and potential interventional approaches. *Clin Sci (Lond)*. 2007 Jul;113(1):1-13. doi: 10.1042/CS20060339. PMID: 17536998.
4. Myatt L. Placental adaptive responses and fetal programming. *J Physiol*. 2006 Apr 1;572(Pt 1):25-30. doi: 10.1113/jphysiol.2006.104968. Epub 2006 Feb 9. PMID: 16469781; PMCID: PMC1779654.
5. Goldman-Wohl D, Yagel S. United we stand not dividing: the syncytiotrophoblast and cell senescence. *Placenta*. 2014 Jun;35(6):341-4. doi: 10.1016/j.placenta.2014.03.012. Epub 2014 Mar 22. PMID: 24709558.
6. T. Yee Khong • Eoghan E. Mooney Peter G. J. Nikkels • Terry K. Morgan Sanne J. Gordijn 2018
7. Horii, Mariko. “Identification of Subtype-Specific Markers for Preeclampsia Using Placental Pathology and RNAseq.” *REPRODUCTIVE SCIENCES*. Vol. 28. Thousand Oaks, Calif. :: Sage,, 2021. 168A–168A. Print.
8. Stanek J, Al-Ahmadie HA. Ламінарний некроз плацентарних оболонок: гістологічна ознака матково-плацентарної гіпоксії. *Педіатр Дев Патол*. 2005; 8: 34–42. [Перехресні посилання](#)
9. Vaiman, D., Mondon, F., Garcès-Duran, A. et al. Hypoxia-activated genes from early placenta are elevated in Preeclampsia, but not in Intra-Uterine Growth Retardation. *BMC Genomics* 6, 111 (2005). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-6-111>
10. Пернаков С. М. Макроструктура плаценти при нормальному перебігу вагітності і родів / С. М. Пернаков, В. М. Астахов, В. П. Карпушин // *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. – 1982. – № 6. – С. 52-53.

11. Іванова А. Й. Міжнародна гістологічна та ембріологічна номенклатура / А. Й. Іванова, Ю. Б. Чайковський, О. Д. Луцик. – Львів : Львів. мед. ін-т, 1993. – 176 с.
12. Pathak S, Hook E, Hackett G, Murdoch E, Sebire NJ, Jessop F, et al. Cord coiling, umbilical cord insertion and placental shape in an unselected cohort delivering at term: relationship with common obstetric outcomes. *Placenta*. 2010;31:963–8.
13. Biron-Shental T, Fejgin MD, Sifakis S, Liberman M, Antsaklis A, Amiel A. Endoreduplication in cervical trophoblast cells from normal pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012;25:2625–8.
14. Aplin JD, Whittaker H, Jana Lim YT, Swietlik S, Charnock J, Jones CJP. Hemangioblastic foci in human first trimester placenta: distribution and gestational profile. *Placenta*. 2015;36:1069–77.
15. Bendon RW, Coventry SC, Reed RC. Reassessing the clinical significance of chorionic membrane microcysts and linear necrosis. *Pediatr Dev Pathol*. 2012;15:213–6.
16. J.A. Jarzembowski, Normal Structure and Function of the Placenta, Editor(s): Linda M. McManus, Richard N. Mitchell, Pathobiology of Human Disease, Academic Press, 2014, Pages 2308-2321, ISBN 9780123864574, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.05001-2>.
17. Ronald J Trent, 7 - REPRODUCTION AND DEVELOPMENT, Editor(s): Ronald J Trent, Molecular Medicine (Third Edition), Academic Press, 2005, Pages 175-191, ISBN 9780126990577, <https://doi.org/10.1016/B978-012699057-7/50007-2>.
18. Benirschke K, Kaufmann P, and Baergen RN (2006) Pathology of the Human Placenta. 5th edn. New York: Springer; p. 1050.
19. Castellucci M, Kosanke G, Verdenelli F, Huppertz B, Kaufmann P. Villous sprouting: fundamental mechanisms of human placental development. *Hum Reprod Update*. 2000;6:485–94.

20. Frank HG, Kaufmann P. Nonvillous parts and trophoblast invasion. In: Benirschke K, Kaufmann P, editors. *Pathology of the human placenta*. 4th ed. Berlin: Springer; 2000. p. 226–7.
21. Lampiasi N. Interactions between Macrophages and Mast Cells in the Female Reproductive System. *Int J Mol Sci*. 2022 May 12;23(10):5414. doi: 10.3390/ijms23105414. PMID: 35628223; PMCID: PMC9142086.
22. Zulu MZ, Martinez FO, Gordon S, Gray CM. The Elusive Role of Placental Macrophages: The Hofbauer Cell. *J Innate Immun*. 2019;11(6):447-456. doi: 10.1159/000497416. Epub 2019 Apr 10. PMID: 30970346; PMCID: PMC6758944.
23. Nadeau, V. & Charron, J. Essential role of the ERK/MAPK pathway in blood-placental barrier formation. *Development* 141, 2825–2837 (2014).
24. Nadeau, V. et al. Map2k1 and Map2k2 genes contribute to the normal development of syncytiotrophoblasts during placentation. *Development* 136, 1363–1374 (2009).
25. Suenaga, K. et al. Role of the vasohibin family in the regulation of fetoplacental vascularization and syncytiotrophoblast formation. *PLoS ONE* 9, e104728 (2014).
26. Kaufmann P, Huppertz B, Frank HG. The fibrinoids of the human placenta: origin, composition and functional relevance. *Ann Anat*. 1996 Dec;178(6):485-501. doi: 10.1016/S0940-9602(96)80102-6. PMID: 9010564.
27. Frank HG, Malekzadeh F, Kertschanska S, Crescimanno C, Castellucci M, Lang I, Desoye G, Kaufmann P. Immunohistochemistry of two different types of placental fibrinoid. *Acta Anat (Basel)*. 1994;150(1):55-68. doi: 10.1159/000147602. PMID: 7526588.
28. Mayhew TM. Villous trophoblast of human placenta: a coherent view of its turnover, repair and contributions to villous development and maturation. *Histol Histopathol*. 2001 Oct;16(4):1213-24. doi: 10.14670/HH-16.1213. PMID: 11642741.

29. Khong TY, Mooney EE, Ariel I, Balmus NC, Boyd TK, Brundler MA, Derricott H, Evans MJ, Faye-Petersen OM, Gillan JE, Heazell AE, Heller DS, Jacques SM, Keating S, Kelehan P, Maes A, McKay EM, Morgan TK, Nikkels PG, Parks WT, Redline RW, Scheimberg I, Schoots MH, Sebire NJ, Timmer A, Turowski G, van der Voorn JP, van Lijnschoten I, Gordijn SJ. Sampling and Definitions of Placental Lesions: Amsterdam Placental Workshop Group Consensus Statement. *Arch Pathol Lab Med*. 2016 Jul;140(7):698-713. doi: 10.5858/arpa.2015-0225-CC. Epub 2016 May 25. PMID: 27223167.
30. Клінічно важливі ураження плаценти (морфологічна та імуногістохімічна особливість), Задорожна Т.Д., член-кор. НАМН України, д.м.н., професор, Бондаренко Ю.М. Академічні лекції з акушерства і гінекології Київ 2021 – 424 с.
31. Roman A, Rochelson B, Fox NS, Hoffman M, Berghella V, Patel V, Calluzzo I, Saccone G, Fleischer A. Efficacy of ultrasound-indicated cerclage in twin pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Jun;212(6):788.e1-6. doi: 10.1016/j.ajog.2015.01.031. Epub 2015 Jan 28. PMID: 25637840.
32. Redline RW. Classification of placental lesions. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Oct;213(4 Suppl):S21-8. doi: 10.1016/j.ajog.2015.05.056. PMID: 26428500.
33. Mitalipov S, Wolf D. Totipotency, pluripotency and nuclear reprogramming. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2009;114:185-99. doi: 10.1007/10_2008_45. PMID: 19343304; PMCID: PMC2752493.
34. Witkowska-Zimny M, Wrobel E. Perinatal sources of mesenchymal stem cells: Wharton's jelly, amnion and chorion. *Cell Mol Biol Lett*. 2011 Sep;16(3):493-514. doi: 10.2478/s11658-011-0019-7. Epub 2011 Jul 18. PMID: 21786036; PMCID: PMC6275796.
35. Friedenstein AJ. Precursor cells of mechanocytes. *Int Rev Cytol*. 1976;47:327-59. doi: 10.1016/s0074-7696(08)60092-3. PMID: 11195.
36. Brooke G, Cook M, Blair C, Han R, Heazlewood C, Jones B, Kambouris M, Kollar K, McTaggart S, Pelekanos R, Rice A, Rossetti T, Atkinson K. Therapeutic applications of mesenchymal stromal cells. *Semin Cell Dev Biol*.

- 2007 Dec;18(6):846-58. doi: 10.1016/j.semcdb.2007.09.012. Epub 2007 Sep 18. PMID: 18024097.
37. Sivanandane Sittadjody, Tracy Criswell, John D. Jackson, Anthony Atala, James J. Yoo Підходи регенеративної медицини в жіночій біоінженерії репродукції тканини Society for Reproductive Investigation 2021
 38. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999 Apr 2;284(5411):143-7. doi: 10.1126/science.284.5411.143. PMID: 10102814.
 39. Ortiz LA, Gambelli F, McBride C, Gaupp D, Baddoo M, et al. (2003) Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 8407–8411.
 40. Lodie TA, Blickarz CE, Devarakonda TJ, He C, Dash AB, Clarke J, Gleneck K, Shihabuddin L, Tubo R. 2002. Systematic analysis of reportedly distinct populations of multipotent bone marrow-derived stem cells reveals a lack of distinction. *Tissue Eng* 8:739–751.
 41. Javazon EH, Beggs KJ, Flake AW. Mesenchymal stem cells: paradoxes of passaging. *Exp Hematol*. 2004 May;32(5):414-25. doi: 10.1016/j.exphem.2004.02.004. PMID: 15145209.
 42. Peister A, Mellad JA, Larson BL, Hall BM, Gibson LF, Prockop DJ. Adult stem cells from bone marrow (MSCs) isolated from different strains of inbred mice vary in surface epitopes, rates of proliferation, and differentiation potential. *Blood*. 2004 Mar 1;103(5):1662-8. doi: 10.1182/blood-2003-09-3070. Epub 2003 Oct 30. PMID: 14592819.
 43. Weiss, M. L., Anderson, C., Medicetty, S., Seshareddy, K. B., Weiss, R. J., Vanderwerff, I., Troyer, D. & McIntosh, K. R. (2008) Immune properties of human umbilical cord Wharton's jelly-derived cells. *Stem Cells*, 26, 2865-74.

44. Wang, M., Yang, Y., Yang, D., Luo, F., Liang, W., Guo, S. & Xu, J. (2009) The immunomodulatory activity of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in vitro. *Immunology*, 126, 220-32.
45. Jiang, X. X., Zhang, Y., Liu, B., Zhang, S. X., Wu, Y., Yu, X. D. & Mao, N. (2005) Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood*, 105, 4120-6.
46. Caplan, A. I. (1994) The mesengenic process. *Clin Plast Surg*, 21, 429-35.
47. Stenderup, K., Justesen, J., Clausen, C. & Kassem, M. (2003) Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone*, 33, 919-26.
48. Bergman, R. J., Gazit, D., Kahn, A. J., Gruber, H., Mcdougall, S. & Hahn, T. J. (1996) Age-related changes in osteogenic stem cells in mice. *J Bone Miner Res*, 11, 568-77
49. D'ippolito, G., Schiller, P. C., Ricordi, C., Roos, B. A. & Howard, G. A. (1999) Age-related osteogenic potential of mesenchymal stromal stem cells from human vertebral bone marrow. *J Bone Miner Res*, 14, 1115-22.
50. Ringe, J., Kaps, C., Burmester, G. R. & Sittinger, M. (2002) Stem cells for regenerative medicine: advances in the engineering of tissues and organs. *Naturwissenschaften*, 89, 338-51.
51. Barlow, S., Brooke, G., Chatterjee, K., Price, G., Pelekanos, R., Rossetti, T., Doody, M., Venter, D., Pain, S., Gilshenan, K. & Atkinson, K. (2008a) Comparison of human placenta- and bone marrow-derived multipotent mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*, 17, 1095-107.
52. Chang, C. J., Yen, M. L., Chen, Y. C., Chien, C. C., Huang, H. I., Bai, C. H. & Yen, B. L. (2006a) Placenta-derived multipotent cells exhibit immunosuppressive properties that are enhanced in the presence of interferon-gamma. *Stem Cells*, 24, 2466-77.
53. Jones, B. J., Brooke, G., Atkinson, K. & Mctaggart, S. J. (2007) Immunosuppression by placental indoleamine 2,3-dioxygenase: a role for mesenchymal stem cells. *Placenta*, 28, 1174-81.

54. Brooke, G., Rossetti, T., Pelekanos, R., Ilic, N., Murray, P., Hancock, S., Antonenas, V., Huang, G., Gottlieb, D., Bradstock, K. & Atkinson, K. (2009) Manufacturing of human placenta-derived mesenchymal stem cells for clinical trials. *Br J Haematol*, 144, 571-9.
55. In 'T Anker, P. S., Scherjon, S. A., Kleijburg-Van Der Keur, C., De Groot-Swings, G. M., Claas, F. H., Fibbe, W. E. & Kanhai, H. H. (2004) Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. *Stem Cells*, 22, 1338-45.
56. Yen, B. L., Huang, H. I., Chien, C. C., Jui, H. Y., Ko, B. S., Yao, M., Shun, C. T., Yen, M. L., Lee, M. C. & Chen, Y. C. (2005) Isolation of multipotent cells from human term placenta. *Stem Cells*, 23, 3-9.
57. Bailo, M., Soncini, M., Vertua, E., Signoroni, P. B., Sanzone, S., Lombardi, G., Arienti, D., Calamani, F., Zatti, D., Paul, P., Albertini, A., Zorzi, F., Cavagnini, A., Candotti, F., Wengler, G. S. & Parolini, O. (2004) Engraftment potential of human amnion and chorion cells derived from term placenta. *Transplantation*, 78, 1439-48.
58. Wulf, G. G., Viereck, V., Hemmerlein, B., Haase, D., Vehmeyer, K., Pukrop, T., Glass, B., Emons, G. & Trumper, L. (2004) Mesengenic progenitor cells derived from human placenta. *Tissue Eng*, 10, 1136-47.
59. De Coppi, P., Bartsch, G., Jr., Siddiqui, M. M., Xu, T., Santos, C. C., Perin, L., Mostoslavsky, G., Serre, A. C., Snyder, E. Y., Yoo, J. J., Furth, M. E., Soker, S. & Atala, A. (2007) Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol*, 25, 100-6.
60. Modeling preeclampsia using human induced pluripotent stem cells-
 Моделювання преєклампсії за допомогою індукованих людиною
 плюрипотентних стовбурових клітин *Sci Rep*. 2021 Mar 15 Mariko Horii 1 2,
 Robert Morey 2 3, Tony Bui 1 2, Ojeni Touma 1 2, Katharine K Nelson 1 2, Hee-
 Young Cho 1 2 4, Hannah Rishik 1 2, Louise C Laurent 2 3, Mana M Parast 5 6.
 PMID: 33723311 PMCID: PMC7961010 DOI: 10.1038/s41598-021-85230-5

61. Atala, A. (2011). Amniotic Fluid and Placenta Stem Cells. In: Bhattacharya, N., Stubblefield, P. (eds) *Regenerative Medicine Using Pregnancy-Specific Biological Substances*. Springer, London.
62. Celena Heazlewood et al. *Exploring the Human Term Placenta as a Novel Source for Stem Cells and Their Application in the Clinic*, 2019
63. Parolini, O., Alviano, F., Bagnara, G. P., Bilic, G., Buhring, H. J., Evangelista, M., Hennerbichler, S., Liu, B., Magatti, M., Mao, N., Miki, T., Marongiu, F., Nakajima, H., Nikaido, T., Portmann-Lanz, C. B., Sankar, V., Soncini, M., Stadler, G., Surbek, D., Takahashi, T. A., Redl, H., Sakuragawa, N., Wolbank, S., Zeisberger, S., Zisch, A. & Strom, S. C. (2008) Concise review: isolation and characterization of cells from human term placenta: outcome of the first international Workshop on Placenta Derived Stem Cells. *Stem Cells*, 26, 300-11.
64. Weel IC, Baergen RN, Romão-Veiga M, Borges VT, Ribeiro VR, Witkin SS, Bannwart-Castro C, Peraçoli JC, De Oliveira L, Peraçoli MT. Association between Placental Lesions, Cytokines and Angiogenic Factors in Pregnant Women with Preeclampsia. *PLoS One*. 2016 Jun 17;11(6):e0157584. doi: 10.1371/journal.pone.0157584. PMID: 27315098; PMCID: PMC4912084.
65. Chan JS, Heller DS, Baergen RN. Decidual Vasculopathy: Placental Location and Association With Ischemic Lesions. *Pediatr Dev Pathol*. 2017 Jan-Feb;20(1):44-48. doi: 10.1177/1093526616689316. PMID: 28276297.
66. Sung DK, Baergen RN. Focal Chorangiomas: Does It Have Clinical and Pathologic Significance? *Pediatr Dev Pathol*. 2019 Oct;22(5):406-409. doi: 10.1177/1093526619830866. Epub 2019 Feb 13. PMID: 30760115.
67. Acharya G, Albrecht C, Benton SJ, Cotechini T, Dechend R, Dilworth MR, Duttaroy AK, Grotmol T, Heazell AE, Jansson T, Johnstone ED, Jones HN, Jones RL, Lager S, Laine K, Nagirnaja L, Nystad M, Powell T, Redman C, Sadovsky Y, Sibley C, Troisi R, Wadsack C, Westwood M, Lash GE. IFPA Meeting 2011 workshop report I: Placenta: Predicting future health; roles of lipids in the growth and development of feto-placental unit; placental nutrient sensing; placental research to solve clinical problems--a translational approach. *Placenta*. 2012

- Feb;33 Suppl:S4-8. doi: 10.1016/j.placenta.2011.11.015. Epub 2011 Dec 10. PMID: 22154691.
68. Andersgaard AB, Acharya G, Mathiesen EB, Johnsen SH, Straume B, Øian P. Recurrence and long-term maternal health risks of hypertensive disorders of pregnancy: a population-based study. *Am J Obstet Gynecol*. 2012 Feb;206(2):143.e1-8. doi: 10.1016/j.ajog.2011.09.032. Epub 2011 Oct 6. PMID: 22036665.
69. Патология плаценты (современные аспекты). Под ред.:Ю.Г.Антипкина, Т.Д.Задорожной, О.И.Парницкой. Киев. 2016. Placental pathology (modern aspects). Edited by: YG Antipkina, TD Zadorozhnaya, OIParnitskaya. Kiev.2016.
70. Quenby S, Gallos ID, Dhillon-Smith RK, Podsek M, Stephenson MD, Fisher J, Brosens JJ, Brewin J, Ramhorst R, Lucas ES, McCoy RC, Anderson R, Daher S, Regan L, Al-Memar M, Bourne T, MacIntyre DA, Rai R, Christiansen OB, Sugiura-Ogasawara M, Odendaal J, Devall AJ, Bennett PR, Petrou S, Coomarasamy A. Miscarriage matters: the epidemiological, physical, psychological, and economic costs of early pregnancy loss. *Lancet*. 2021 May 1;397(10285):1658-1667. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00682-6. Epub 2021 Apr 27. PMID: 33915094.
71. T.Y. Khong et al. Pathology of the Placenta 2019, ISBN : 978-3-319-97213-8.
72. Gladen BC, Zadorozhnaja TD, Chislovska N, Hryhorczuk DO, Kennicutt MC, Little RE. Polycyclic aromatic hydrocarbons in placenta. *Human & Experimental Toxicology*. 2000;19(11):597-603. doi:[10.1191/096032700671433928](https://doi.org/10.1191/096032700671433928)
73. Tamara D. Zadorozhnaja, Ruth E. Little, Richard K. Miller, Nikola A. Mendel, Robert J. Taylor, Bobby J. Presley, Beth C. Gladen (2000) CONCENTRATIONS OF ARSENIC, CADMIUM, COPPER, LEAD, MERCURY, AND ZINC IN HUMAN PLACENTAS FROM TWO CITIES IN UKRAINE, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 61:4, 255-263, DOI: [10.1080/00984100050136571](https://doi.org/10.1080/00984100050136571)

74. Гродзинський ДМ, Дембновецький ОФ, Левчук ОМ, Пацюк ФН. Радіобіологічні та радіоекологічні дослідження Чорнобильської катастрофи вченими НАН України. Вісн. НАН України. 2012;6:30-40.
75. Paulson JA; COUNCIL ON ENVIRONMENTAL HEALTH. Pediatric Considerations Before, During, and After Radiological or Nuclear Emergencies. *Pediatrics*. 2018 Dec;142(6):e20183000. doi: 10.1542/peds.2018-3000. PMID: 30478240.
76. Чорнобильська катастрофа. Состояние здоровья женщин и детей Коллектив авторов. М.: Знание, 2003, 278 стр, 69 ил.
77. Inoue K, Kawano N, Takeichi N, Noso Y, Hoshi M. A combined scientific and public health approach is needed to evaluate the health impacts of internal exposure to radiation. *The Lancet Regional health. Western Pacific*. 2021 Oct;15:100296. DOI: 10.1016/j.lanwpc.2021.100296. PMID: 34708215; PMCID: PMC8524187.
78. Di Mascio D., Khalil A., Saccone G., Rizzo G., Buca D., Liberati M., Vecchiet J., Nappi L., Scambia G., Berghella V., et al. Outcome of coronavirus spectrum infections (SARS, MERS, COVID-19) during pregnancy: A systematic review and meta-analysis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020;2:100107. doi: 10.1016/j.ajogmf.2020.100107.
79. Algarroba G.N., Rekawek P., Vahanian S.A., Khullar P., Palaia T., Peltier M.R., Chavez M.R., Vintzileos A.M. Visualization of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 invading the human placenta using electron microscopy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020;223:275–278. doi: 10.1016/j.ajog.2020.05.023.
80. Hosier H., Farhadian S.F., Morotti R.A., Deshmukh U., Lu-Culligan A., Campbell K.H., Yasumoto Y., Vogels C.B., Casanovas-Massana A., Vijayakumar P., et al. SARS-CoV-2 infection of the placenta. *J. Clin. Investig.* 2020;130:4947–4953. doi: 10.1172/JCI139569.
81. Gujski M., Humeniuk E., Bojar I. Current State of Knowledge About SARS-CoV-2 and COVID-19 Disease in Pregnant Women. *Med. Sci. Monit.* 2020;26:e924725. doi: 10.12659/MSM.924725.

82. Sisman J., Jaleel M.A., Moreno W., Rajaram V., Collins R.R.J., Savani R.C., Rakheja D., Evans A.S. Intrauterine Transmission of SARS-COV-2 Infection in a Preterm Infant. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2020;**39**:e265–e267. doi: 10.1097/INF.0000000000002815.
83. Schwartz D.A. An analysis of 38 pregnant women with COVID-19, their newborn infants, and maternal-fetal transmission of SARS-CoV-2: Maternal coronavirus infections and pregnancy outcomes. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2020;144:799–805. doi: 10.5858/arpa.2020-0901-SA.
84. Resta L, Vimercati A, Cazzato G, Mazzia G, Cicinelli E, Colagrande A, Fanelli M, Scarcella SV, Ceci O, Rossi R. SARS-CoV-2 and Placenta: New Insights and Perspectives. *Viruses.* 2021 Apr 21;13(5):723. doi: 10.3390/v13050723. PMID: 33919284; PMCID: PMC8143362.
85. Т.В. Савчук, С.Г. Гичка, І.В. Лещенко Патоморфологические изменения плаценты при коронавирусной болезни (COVID 19) - Патология, 2021
86. Rebecca N Baergen , Debra S Heller Placental Pathology in Covid-19 Positive Mothers: Preliminary Findings May-Jun 2020;23(3):177-180. doi: 10.1177/1093526620925569.
87. Romeo R Galang , Karen Chang, Penelope Strid, Margaret Christine Snead, Kate R Woodworth, Lawrence D House, Mirna Perez, Wanda D Barfield, Dana Meaney-Delman, Denise J Jamieson, Carrie K Shapiro-Mendoza, Sascha R Ellington Severe Coronavirus Infections in Pregnancy: A Systematic Review 2020 Aug;136(2):262-272. doi: 10.1097/AOG.0000000000004011.
88. <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/D11853~.pdf>
89. <http://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/D12600~.pdf>
90. <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/D11689~.pdf>
91. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/certificate/Certificates-of-Analysis/MA514564_SG2422351C.PDF
92. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/certificate/Certificates-of-Analysis/MA511757_TI2635399.PDF
93. <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/D11794~.pdf>

94. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/certificate/Certificates-of-Analysis/MA511563_SH2432302.PDF
95. Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol.* 2001 Nov;22(11):633-40. doi: 10.1016/s1471-4906(01)02060-9. PMID: 11698225.
96. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/certificate/Certificates-of-Analysis/SE2382501A_MA513890.pdf
97. <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/D12274~.pdf>
98. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/certificate/Certificates-of-Analysis/SB2346161E_MA514520.pdf
99. <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/D11853~.pdf>
100. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/APD/Specification-Sheets/D11809.pdf>
101. Стрес-асоційовані розлади здоров'я в умовах збройного конфлікту / В. С. Гічун, А. Г. Кириченко, В. М. Корнацький [та ін.]. - Дніпро : Акцент ПП, 2019. - 323 с.
102. Greer IA, Aharon A, Brenner B, Gris JC. Coagulation and placenta-mediated complications. *Rambam Maimonides Med J.* 2014 Oct 29;5(4):e0034. doi: 10.5041/RMMJ.10168. PMID: 25386350; PMCID: PMC4222423
103. Mach P, Gellhaus A, Prager S, Moore T, Wennemuth G, Kimmig R, Königer A, Singer BB. Soluble CEACAM1 and CEACAM6 are differently expressed in blood serum of pregnant women during normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 2017 Oct;78(4). doi: 10.1111/aji.12700. Epub 2017 Jun 8. PMID: 28593707.
104. Молекули клітинної адгезії раково-ембріонального антигену (CEACAMs): монографія / М.С.Линдін, А.М.Романюк, В.В.Сікора, Б.Б.Зінгер ; за заг. ред. д-ра мед. наук, проф.А.М.Романюка. –Суми : Сумський державний університет, 2020. –219с. ISBN 978-966-657-821-4

ДОДАТКИ

Додаток А1

Медична документація
Форма № 013-2/0
Затверджена наказом МОЗ України №417
<p>ПРОТОКОЛ</p> <p>ДОСЛІДЖЕННЯ ПЛАЦЕНТИ № _____</p> <p>Адреса закладу, де заповнений протокол _____</p> <p>область _____ район _____ (місто) _____</p> <p>Лікувально-профілактичний заклад _____ відділення _____</p> <p>Карта стаціонарного хворого № _____</p> <p>1. Прізвище, ім'я, по батькові _____</p> <p>2. Вік _____ років</p> <p>3. Місце проживання _____</p> <p>4. Діагноз _____</p> <p>5. Дитина народилась в _____ предлежанні, жива, мертва, мацерована; маса _____; оцінка за шкалою Апгар _____.*</p> <p>6. Дата направлення:</p> <p>7. Дата прийому:</p> <p>* У разі пізнього викидня та перинатальної смерті доставляється обмінна карта та ф. 96-о.</p>

ОРГАНОМЕТРІЯ

Маса посліду _____

Розміри посліду _____

ППК (плацентарно-плодовий коефіцієнт) _____

МАКРОСКОПІЯ (потрібне підкреслити)

Послід: моно-біхоріальний.

Огляд плодової поверхні.

Колір – сірувато-білі, голубувата, жовтувата, зеленувата.

Гематома – відсутня: є: розміри ____ см; локалізація: центр, пара центр, крайова.

Валік – відсутній, є, ширина ____ см;

Обідок – відсутній, є, ширина ____ см.

Варикозне розширення судин – є, немає.

Кісти – є, немає.

Вогнищеві ущільнення – відсутні, є: розміри ____ см., локалізація: центр, пара центр, крайова.

Пухлина – відсутня, є

Набряк – є, або немає.

Огляд плідних оболонок.

Товщина – тонкі, ущільнені, вогнищеві ущільнення.

Колір – сірувато-білуватий, жовтуватий, зеленуватий, рожевий.

Включення – відсутній, є: слабо виразний, помірно, різко.

Пуповина

Довжина ___ см; поперечний розріз _____ см.

Прикріплення – центральне, пара центральне, крайове.

Набряк – відсутній, є: слабо виражений, помірно, різко.

Тромбоз судин: є, немає.

Справжні вузли – є, немає.

Несправжні вузли – є, немає.

Гематома – є, немає.

Ушкодження – є, немає.

Варикозне розширення судин – є, немає.

Огляд материнської поверхні.

Плацента – ціла, має дефекти тканини.

Форма – овальна, кругла, неправильна.

Додаткові долі – відсутні, є: кількість _____

Борозни – переважно глибокі, неглибокі, різні за глибиною, відсутні.

Інфаркти – відсутні, є: кількість ____, колір, локалізація: а) центральна, парацентральна, крайова; б) субхоріально, в товщі, базально.

Згортки крові – старі, свіжі; кількість: мало, помірно, багато.

Кровонаповнення – анемія, помірне, нерівномірне, повнокров'я.

Вигляд на розрізі – кровонаповнення – анемія, помірне, нерівномірне, повнокров'я.

Розподіл кольору тканини на шари – відсутній, є: слабкий, помірний, різкий.

Інфаркти – відсутні, є: кількість ____, колір ____, локалізація: а) центр, пара центр, край; б) субхоріально, в товщі, базально; в) консистенція: еластична, крихка; капсула – є, немає.

Кісти – відсутні, є: кількість ____, розміри ____, локалізація: а) центр, пара центр, крайова; б) субхоріально, в товщі, базально; вміст: желеподібне, слиз, кров.

Мікроскопічне дослідження (потрібно підкреслити)

Плацентарний амніон. Епітелій не змінений, дегенерує, некротично змінений., відсутній, з явищами мат аплазії, запальної інфільтрації.

Хоральна пластинка. Набрякла, розволокнення, виразне повнокров'я судин.

Шар Ланганса. Звичайної товщини, потоншений, потовщений.

Ворсинчастий хоріон	Ворсинки		
	стовбурові	середнього калібру	термінальні
Форма: звичайна витягнута листяковидна			
з звичайною васкуляризацією			
ангіоматозна			
без судин			
Епітелій збережений			
частково злуплений			
повністю злуплений			
проліферує			
одно-двошаровий			
клітини Ланганса			
Строма не змінена			
повнокровна			
набрякла			
фіброзна змінена			
склерозована			
наявність клітин Кащенко-Гофбауера			
лейкоцитарна інфільтрація			
солі кальцію			

лімфогістіоцитарна інфільтрація			
Кровоносні судини не змінені			
склерозовані			
склероз з облітерацією			
проліферація ендотелію			
солі кальцію			

Міжворсинчастий простір: Проліферація термінальних ворсин. Вміст: кров, тромби, фібриноїд, десквамативний епітелій, кальцифікати.

Базальний шар децидуальної оболонки: лімфогістіоцитарна інфільтрація, запальна інфільтрація, тромбоз судин, ділянки дегенерації, некрозу, кальцифікати.

СЕРТИФІКАТ ПЛАЦЕНТИ*

ПШБ, вік, професія, місце проживання, термін вагітності.

Прізвище дитини, вага, зріст, стать, живонароджений, мертвнонароджений, оцінка за шкалою Апгар, діагноз.

Розміри і маса плаценти.

Плацентарно-плодовий коефіцієнт.

Макроскопія плаценти.

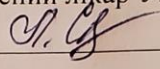
Аномалія розвитку плаценти, пуповини і оболонок. Пухлини плаценти.

Проліферація цитотрофобласта, синцитіотрофобласта, фібробластів строми ворсин.

Структурні особливості плацентарної дисфункції: первинна, вторинна; гостра, хронічна (абсолютна, відносна).

Радіометрія тканини плаценти.*

«Сертифікат плаценти» був легалізований і включений МОЗ України в 1991 році до переліку законів, пов'язаних з аварією на Чорнобильській АЕС, авторські майнові права з 2018 року належать ДУ «ІПАГ імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України».

Головний лікар
Державної установи «Інститут
педіатрії, акушерства та гінекології ім.
акад. О.М. Лук'янової НАМН України»
Заслужений лікар України
 Л.Ф. Слепова

Список пацієнтів та даних з медичної документації
(історії хвороби, стать, вік, діагноз), які були проаналізовані у якості
первинної документації ПІБ при виконанні дисертаційного дослідження на
тему: «МОРФОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ
СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ПЛАЦЕНТАРНОГО БАР'ЄРУ ЖІНОК НА ФОНІ
ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ У ВАГІТНИХ ПРИ НЕВИНОШУВАННІ» на
здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук зі спеціальності 222
«Медицина» (22 Охорони здоров'я)

Всі пацієнти з наведеного переліку перебували на лікуванні та були
оперовані у відділенні патології вагітних та пологів Державної установи
«Інституту педіатрії, акушерства та гінекології ім. акад. О.М. Лук'янової
НАМН України» в період з 2019 по 2022 рр. Формування клінічних груп
виконано з 2019 по 2022 рр.

Кодування діагнозу у вагітних виконано згідно Міжнародної
класифікації хвороб (International Statistical Classification of Diseases and
Related Health Problems) 10-го перегляду ВООЗ, надалі МКХ-10.

Таблиця

Клінічні спостереження

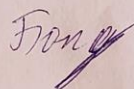
№	ФІО	Стать: Ж-2	Рік народження	Діагноз хворих за МКХ -10
1	Щ-а Л.В.	2	1990	Фізіологічні пологи
2	Б-р Л.В.	2	1984	Фізіологічні пологи
3	Н-о М.В.	2	1986	Фізіологічні пологи
4	С-а Т.І.	2	1984	Фізіологічні пологи
5	Д-к А.М.	2	1984	Фізіологічні пологи
6	М-к-К-а Д.О.	2	1986	Фізіологічні пологи
7	М-к С.С.	2	1994	Фізіологічні пологи
8	П-а А.В.	2	1997	Фізіологічні пологи
9	Г-а Ю.С.	2	1991	Фізіологічні пологи
10	К-а І.С.	2	1990	Фізіологічні пологи
11	З-о Т.О.	2	1988	Фізіологічні пологи
12	П-ч А.П.	2	1988	Фізіологічні пологи
13	З-а І.Г.	2	1983	Фізіологічні пологи
14	У-о Н.О.	2	1990	Фізіологічні пологи
15	З-о В.С.	2	1993	Фізіологічні пологи
16	М-о К.А.	2	1990	Фізіологічні пологи
17	Ч-й Г.Ю.	2	1990	Фізіологічні пологи
19	Ю-о І.В.	2	1974	Фізіологічні пологи
20	С-а І.В.	2	1990	Фізіологічні пологи
21	С-а Т.О.	2	1994	О60
22	С-а Ю.В.	2	1985	О60
23	К-а А.Д.	2	1980	О60
24	Л-о І.В.	2	1978	О60
25	С-а А.В.	2	1991	О60
26	Б-а К.О.	2	1988	О60
27	К-а Г.А.	2	1981	О60
28	П-к Н.В.	2	1989	О60

№	ФІО	Стать: Ж-2	Рік народження	Діагноз хворих за МКХ -10
29	С-о О.	2	1990	О60
30	Б-к Л.С.	2	1988	О60
31	Ф-о В.Н.	2	1989	О60
32	К-к С.П.	2	1989	О60
33	К-к Я.М.	2	1998	О60
34	Б-ш М.С.	2	1984	О60
35	М-о О.П.	2	1982	О60
36	Н-а В.А.	2	1984	О60
37	С-а І.В.	2	1979	О60
38	С-а Х.Р.	2	1985	О60
40	А-а Т.В.	2	1977	О60
41	Д-а Д.М.	2	1995	О60
42	С-т А.Ю.	2	1997	О60
43	О-о І.С.	2	1991	О60
44	А-а М.А.	2	1994	О60
45	Б-х А.В.	2	1987	О60
46	С-а А.М.	2	1983	О60
47	П-о Н.В.	2	1987	О60
48	Ш-ь А.Б.	2	1982	О60
49	С-а М.В.	2	1984	О60
50	К-а Г.А	2	1981	О60
51	І-о Н.О.	2	1989	О60
52	П-а Г.В.	2	1990	О60
53	Р-а Т.Д.	2	1994	О60
54	К-а Н.В.	2	1996	О60
55	С-о О.В.	2	1992	О60
56	Х-к Н.М.	2	1982	О60
57	Г-к В.А.	2	1991	О60
58	К-к Т.М.	2	1978	О60

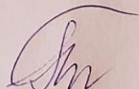
№	ФІО	Стать: Ж-2	Рік народження	Діагноз хворих за МКХ -10
59	Т-о М.Ю.	2	1987	О60
60	Ж-й Н.М.	2	1978	О60
61	В-й Л.А.	2	1979	О60
62	П-а-Б-а А.Б	2	1981	О60
63	О-о О.С.	2	1990	О60
64	Л-а Д.О.	2	1988	О60
65	Г-а О.К.	2	1990	О60
66	П-о І.А.	2	1989	О60
67	П-о Н.Д.	2	1978	О60
68	К-о Г.Ю.	2	1992	О60
69	М-к Л.О.	2	1987	О60
70	Б-х В.М.	2	1982	О60
71	С-к В.В.	2	1991	О60
72	К-о І.В.	2	1985	О60
73	З-к Г.І.	2	1982	О60
74	П-к І.І.	2	1990	О60
75	В-о В.М.	2	1985	О60
76	Х-н Т.Г.	2	1984	О60
77	Р-к К.О.	2	1976	О60
78	Л-о Н.Н.	2	1987	О60
79	І-о Н.О.	2	1989	О60
80	К-о І.А.	2	1990	О60
81	С-а В.В.	2	1980	О60, U07.1
82	Ш-а Ю.С.	2	1996	U07.1
83	Н-к Д.О.	2	1995	О60, U07.1
84	С-о А.С.	2	1993	О60, U07.1
85	М-о Л.В.	2	1990	О60, U07.1
86	Д-о О.М.	2	1986	О60, U07.1
87	К-р-Р-а В.А.	2	1997	О60, U07.1

№	ФІО	Стать: Ж-2	Рік народження	Діагноз хворих за МКХ -10
89	Т-а Н.В.	2	1988	O60, U07.1
90	В-а Ю.В.	2	1987	O60, U07.1
91	Н-а О.П.	2	1987	O60, U07.1
92	К-к Д.	2	1986	O60, U07.1
93	Л-ь Г.О.	2	1994	O60, U07.1
94	С-а Ю.С.	2	1986	O60, U07.1
95	Л-а А.Ю.	2	1990	O60, U07.1
96	Б-к Т.	2	1982	O60, U07.1
97	Б-р В.В.	2	1991	O60, U07.1
98	П-о В.Д.	2	1992	O60, U07.1
99	І-о Я.Ю.	2	1985	O60, U07.1
100	Г-о Ю.В.	2	1984	O60, U07.1

Лікар-патанатом відділення патоморфології,
старший науковий співробітник

 Бондаренко Ю.М.

Завідуючий архіву
Державної установи «Інституту педіатрії,
акушерства та гінекології ім. акад. О.М. Лук'янової»
НАМН України

 Іванова Т.В.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації.

1. Живецька-Денисова АА, Воробйова ІІ, Скрипченко НЯ, Толкач СМ, Раздайбєдін СМ, Бондаренко ЮМ. Плацентарні маркери невиношування вагітності. Патологія. 2021;18 3(53). 328-339. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2021.3.232302>

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних).

2. Бондаренко ЮМ. Особливості імуногістохімічних маркерів стовбурових клітин CD-117, CD-44 в плацентах жінок на тлі хронічного стресу. Репродуктивна ендокринологія. 2022;(65):71-79. <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2022.65.71-79>

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

3. Бондаренко ЮМ, Задорожна ТД. Морфологічні особливості маркерів стресу в плаценті. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2022;Том12,№3(45):60–64. <https://doi.org/10.24061/2413-4260.XII.3.45.2022.9>

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

4. «Morphological predictors of the placental complex, as prognostic criteria of health according to the «Certificate of the placenta» for 35 years after the Chernobyl accident (30 years)», Thirtyfive years of the Chernobyl disaster: radiological and medical consequences, strategies of protection and revival: National Report of Ukraine. Kyiv, 2022. 164-171 p.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, підготовка статті до друку).

5. Задорожна ТД, Бондаренко ЮМ, Килихевич СМ, Подольский ВВ, Скрипченко НЯ, Подольский ВВ. Науковий твір №112810 тромбоспондин 1-імуногістохімічний маркер критерію тромбозу фетальних (мікро) судин ворсинок хоріону плаценти у жінок, що хворіли COVID-19 під час вагітності. Свідоцтво №112810/ 2022 року про реєстрацію авторського права на твір.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних).

6. Задорожна Т.Д., Бондаренко Ю.М. Науковий твір №112811 морфологічні критерії синцитіотрофобласта багатоядерного епітелію ворсинок плаценти у жінок з хронічним стресом. Свідоцтво №112811/ 2022 року про реєстрацію авторського права на твір.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних).

7. Zadorozhna , T., Bondarenko , Y., Skripchenko , N., & Kilikhevich , S. MORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF A WOMAN'S PLACENTA DURING MISCARRIAGE ON THE BACKGROUND OF INTERNAL IRRADIATION. I International Scientific and Practical Conference. «EDUCATION AND SCIENCE OF TODAY: INTERSECTORAL ISSUES AND DEVELOPMENT OF SCIENCES», MARCH 19, 2021; CAMBRIDGE, GBR., VOLUME 3. Збірник наукових праць ЛОГОΣ. <https://doi.org/10.36074/logos-19.03.2021.v3.56>

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

8. Задорожна ТД, Бондаренко ЮМ. Клінічно важливі ураження плаценти (морфологічна та імуногістохімічна особливість). Академічні лекції з акушерства і гінекології. Київ; 2021. 424 с. (412-416).

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників).

9. Бондаренко ЮМ, Задорожна ТД, Килихевич СМ. Карциноембріональний антиген в діагностиці та прогнозуванні уражень плаценти в жінки при внутрішньому опраміненні. VI Міжнародна науково-практична конференція. НАУКОВА СПІЛКА: МІЖДИСЦИПЛІНАРНІ ДОСЛІДЖЕННЯ, 2022 січ. 26-28; Гамбург, Німеччина.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних).

10. Бондаренко ЮМ, Задорожна ТД, Скрипченко НЯ, Килихевич СМ. Попереднє дослідження морфологічних особливостей плаценти жінок, що хворіли COVID-19. IX Міжнародна науково-практична конференція. МІЖНАРОДНИЙ ФОРУМ: ПРОБЛЕМИ ТА НАУКОВІ РІШЕННЯ, 2022 лют. 6-8; Мельбурн, Австралія.

(Дисертантом проведено аналіз літератури, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).

*Додаток В***Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.**

1. VI Міжнародна науково-практична конференція НАУКОВА СПІЛКА: МІЖДИСЦИПЛІНАРНІ ДОСЛІДЖЕННЯ, (26-28 січня 2022 р., Гамбург, Німеччина), доповідь «Карциноембріональний антиген в діагностиці і прогнозуванні уражень плаценти жінки при внутрішньому опроміненні»;
2. Конференція молодих вчених на базі ДУ «Інститут Педіатрії, Акушерства і Гінекології НАМН України ім. академіка О.М. Лук'янової», Київ 2021, доповідь «Морфологічні особливості плаценти з урахуванням імуногістохімічних маркерів»;
3. Конференція Українського дивізіону Інтернаціональної Академії Патології на базі Запорізького Державного Медичного Університета, 17-18 вересня 2021, доповідь «Морфологічні та імуногістохімічні особливості карцино-ембріонального антигену при пошкодженні плаценти жінок»;
4. IX Міжнародна науково-практична конференція "МІЖНАРОДНИЙ ФОРУМ: ПРОБЛЕМИ ТА НАУКОВІ РІШЕННЯ" (6-8 лютого 2022 року в м. Мельбурн, Австралія), доповідь «Попереднє дослідження морфологічних особливостей плаценти жінок, що хворіли на COVID-19».