

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, керівник 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 «ШАГ імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України», Київ 2023.

### **Зміст анотації.**

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

Діагностика уражень гістопатологічних змін плаценти, котрі впливають на здоров'я плоду 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 дії 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 при дії 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 паспорту 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 «ІПАГ 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), та сертифікату плаценти (авторське право 2016) на основі протоколу плаценти (наказ № 417 затвердженого МОЗ України 2004 ). 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 4,8 Бк/кг і більше та плаценти від жінок, котрі перенесли COVID-19 до і 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 який обумовлений передчасними пологами, хронічним внутрішнім опроміненням; пост-COVID періодом.

Для досягнення мети та вирішення завдань нашої дисертаційної роботи було проведено морфологічний аналіз 100 плацент. Матеріал розподілено на 4 групи:

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

II група. Плаценти жінок з передчасними пологамі в терміні 22-36 тижні гестації (живонароджені – 30 спостережень, мертвнонароджених – 10 спостережень).

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

IV група. Плаценти від жінок, котрі перенесли COVID-19 до і 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 хоріону – 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 хоріону (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 плоду. Оскільки, фетальні судини та синцитіокапілярні мембрани є важливим фактором для переносу від матері до плоду кисню та білку для участі в процесах гестації, тому виявлення тромбозу цих судин веде до ураження плодових плацентарних судинних процесів.

Визначено статистично доведене збільшення експресії імуногістохімічних маркерів стовбурових клітин CD-117, CD-44 у досліджуваних групах в порівнянні з I групою. Встановлено важливий факт дистрофії та апоптозу цих клітин в групах з передчасними пологами, 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) фетальних мікросудин ворсинок хоріону плацент жінок, що хворіли COVID-19 під час вагітності (статистично доведено) вищий в порівнянні 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 при інкорпоруванні радіонуклідами (>4,8 Бк/кг) була відсутня у інших досліджуваних групах.

Встановлені зміни в **материнських** структурах плаценті жінок з передчасними пологами, проявлялось відшаруванням децидуальної оболонки (90%) з порушенням перфузії у ворсинчатих фетальних судинах. Також, виявлена децидуальна артеріопатія з поверхневою імплантацією на фоні відсутності імуногістохімічної експресії судинних маркерів (CD-31, CD-105, VEGF) в стінках судин термінальних та середніх ворсин плацентарного бар'єру. В 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 при дії хронічного стресу в досліджуваних групах, важливих для клініцистів.

### **Наукова новизна отриманих результатів.**

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

Встановлено, що при пошкоджені 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 хоріону в плацентах жінок з внутрішнім опроміненням може слугувати предиктором в перинатальному онкогенезі.

Розроблені 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. 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 при внутрішньому опроміненні плацентарних структур;

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

3)Ультраструктурні:

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

-пікноз ядер, деструкція крист мітохондрій синцитіотрофобласта ворсин при внутрішньому опроміненні;

-наявність віріону COVID-19 в плацентарному бар'єрі на фоні 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 Yu. 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 University "IPAG 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.

Placental lesions diagnosis that affect the fetus and mother health, as well as predicting the course of pregnancy, are of 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 University "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 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 ), and a placenta certificate (copyright 2016 ) based on the placenta protocol (order No. 417 approved by the Ministry of Health of Ukraine 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 radiation with a content of radionuclides of 4,8 bq/kg and more, placentas from women who suffered from COVID-19 before and during of 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:

1. Placentas from women with a physiological course of pregnancy and a term of 39-40 weeks ( 20 observations).
2. Placentas of women with premature birth at 22-36 weeks of gestation (live births – 30 observations, stillbirths – 10 observations).
3. Placentas from women with chronic stress caused by internal irradiation with a radionuclide content of 4,8 Bq/kg or more ( 20 observations).
4. 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 90% more than in the comparison group, were found in placentas with internal irradiation. Confirmed due to more pronounced expression of CD-44 by 132% more than in the comparison group.

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

The expression of carcinoembryonic antigen (CEA) 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, decidual arteriopathy with surface implantation against the background of the absence of immunohistochemical expression of vascular markers (CD-31, CD-105, VEGF) in the vessel walls of the terminal and middle placental barrier villi. In parallel with the detected **fetal** placental vascular processes: delayed villus maturation with the presence of immature avascular middle and trunk villi of the chorion with impaired perfusion and decreased expression of the immunohistochemical marker CD-31 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, internal exposure of the placenta, transmitted by COVID-19 before and during pregnancy. A statistically proven expression increase of immunohistochemical markers CD-117, CD-44 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 is a marker of thrombosis of the placental villi fetal vessels of women who had COVID-19 during pregnancy (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 morphological criteria that are important for predictors of health in the future. These criteria include:

1) Histological:

- decidual membrane detachment (miscarriage, transferred by 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, 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, отримано 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. (2021). MORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF A WOMAN'S PLACENTA DURING MISCARRIAGE ON THE BACKGROUND OF INTERNAL IRRADIATION. Збірник наукових праць ЛОГОС. <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 діагнозі і прогнозування плаценти в жінки при внутрішньому опраміненні. VI Міжнародна науково-практична конференція.

НАУКОВА СПІЛКА: МІЖДИСЦИПЛІНАРНІ ДОСЛІДЖЕННЯ; 2022 січ. 26-28; Гамбург, Німеччина Гамбург; 2022.

*(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 МІЖНАРОДНИЙ ФОРУМ: ПРОБЛЕМИ ТА НАУКОВІ РІШЕННЯ" в рамках ІХ Міжнародної науково-практичної конференції 2022 лют. 6-8; Мельбурн, Австралія. Мельбурн; 2022.

*(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 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 зазнавших дії хронічного стресу.....	45
2.2 Морфологічні, гістологічні та імуногістохімічні методи дослідження плацент зазнавших дії хронічного стресу .....	46
2.3 Радіометричний аналіз плацент зазнавших впливу хронічного стресу.....	50
2.4 Електронно-мікроскопічне дослідження плацент при хронічному стресі.....	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 синцитіотрофобласту.....	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-	–	Важкий 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 плоду і народження життєздатної дитини. Плацента також приймає участь в системо- і ембріогенезі органів плоду, може служити предиктором здоров'я. Тому різні патологічні зміни материнської і плодової частини плаценти впливають на життєздатність плоду, 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 служить захистом від інфекцій впродовж розвитку плоду [1].

Стресові збурення материнського середовища передаються в ембріон через плаценту - посередник матері та плоду, відповідальний за підтримку внутрішньоутробного гомеостазу. Порушення життєво важливих функцій плаценти може мати значний вплив на розвиток плоду. Програматичні наслідки пренатального стресу, ймовірно, включають складну взаємодію між генетичним фоном плоду, 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, включаючи обмін поживними речовинами, киснем та відходами, імунозахист напівалогенного плоду, буферизацію від шкідливих материнських факторів та секрецію гормонів та факторів росту як у материнські, так і в плодові відділи [3]. Порушення органогенезу та функції плаценти може в цілому вплинути на розвиток плоду, надаючи тривалі наслідки для мозку [4].

Стресові фактори та зв'язок із структурними особливостями плаценти представлені у 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 при різних регенераторних процесах (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 було досліджено індуковані стовбурові клітини вагітних жінок з преєклампсією [7], для цього використали структурні ДНК котрі 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 задачі 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 фоні хронічного стресу у вагітних який обумовлений внутрішнім опроміненням; пост-COVID періодом та 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 при дії хронічного стресу на фоні передчасних пологів.

3. Визначити морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу, який обумовлений внутрішнім опроміненням з накопиченням радіонуклідів.

4. Дослідити морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу, який обумовлений перенесеним COVID-19.

5. Виявити морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні критерії дії хронічного стресу (різної етіології) на стовбурові клітини (CD44, CD-117 c-Kit) плацентарного бар'єру, для виявлення предикторів для здоров'я в майбутньому.

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

**Предмет дослідження:** морфологічні та імуногістохімічні особливості клітин плаценти на фоні хронічного стресу у вагітних при невиношуванні.

**Методи дослідження** виконані в залежності від поставлених завдань:

1. Морфологічний
2. Імуногістохімічний.
3. Ультраструктурне дослідження хоріальних структур плаценти.
4. Морфометричний.
5. Статистичний аналіз (Статистична обробка отриманих результатів здійснювали за допомогою програми STATISTIKA 10.0 (StatSoftInc., серія № STA999K347156-W) і використане програмне забезпечення Microsoft Excel 2013.

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

Встановлено, що при пошкодженні 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 (CEA) в синцитії і ендотелії фетальних судин ворсинок хоріону в плацентах жінок з внутрішнім опроміненням може слугувати предиктором в перинатальному онкогенезі.

Розроблені 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.** Були досліджені та проаналізовані останні данні літератури, сформульовані мета та завдання дослідження, проведено аналіз гістологічних досліджень, проведено аналіз імуногістохімічних досліджень із застосуванням методик виявлення стовбурових клітин, тромбоспондину-1, багатоядерного синцитіотрофобласту, проліферативного маркера, карциноембріонального антигену, ультраструктурних особливостей.

#### **Апробація матеріалів дисертації.**

Основні положення і результати дослідження дисертаційної роботи висвітлені на: науково-практичній конференції «Карциноембріональний антиген в

діагнозі і прогнозування плаценти в жінки при внутрішньому опроміненні", VI Міжнародна науково-практична конференція НАУКОВА СПІЛКА: МІЖДИСЦИПЛІНАРНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ( 26-28 січня 2022 р., Гамбург, Німеччина);

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»;

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»;

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

### **Публікації.**

За даними дисертації опубліковано 10 наукових праць, з них 5 оригінальні статті, 3 тези у матеріалах наукових конгресів, в тому числі з міжнародною участю, 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 індексується в Scopus та 2 статті – у журналах, які індексуються у Web of Science, 3 статей – у фахових наукових виданнях, рекомендованих Департаментом атестації кадрів МОН України. Зміст проведеного дослідження повністю відображений у публікаціях.

### **Структура та обсяг дисертації.**

Дисертаційна робота була написана українською мовою на 160 сторінках. Робота складається зі змісту, анотації, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, трьох розділів 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 73 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 плоду і народження життєздатної дитини. Плацента також приймає участь в системо- і ембріогенезі органів плоду. 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 плоду від інфекцій впродовж розвитку плоду. Тому різні патологічні зміни материнської і плодової частини плаценти впливають на життєздатність плоду, 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 між 9 та 12 тижнями вагітності, набуваючи повної морфологічної зрілості до 32 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 області 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 фібриноїда: смуга Рора – тонка, розташована на межі з міжворсинчастим простором і більш широка 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 у складі його переважають нитки фібрина, 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 фібриноїда переважно матричного типу, виділено імунологоензиматичні, а також механічні фактори, оскільки по фібриноїду Нітабух здійснюється відділення плаценти, що народжується. Слід відмітити наявність в ній ділянок відкладання солей кальцію – кальцифікатів, які в невеликій кількості виявляються в більшості доношених плацент.

Основну масу плаценти складає 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 по артеріям 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 розташовані 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 фібриноїда (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 виразне 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 в стромі ворсинок. Згідно вказаним критеріям всі 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 від 500 до 1000 мкм. В 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). В їх стромі зазвичай знаходиться 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 від 30 до 80 мкм. Специфічність їх 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. В зрілій доношеній плаценті вони переважно вкриті синцитіотрофобластом, але десь біля 20 % їх 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, які розташовані 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; всі капіляри перетворюються в широкі синусоїди, які концентруються під потоншеними, без'ядерними ділянками синцитіотрофобласта та утворюють синцитіокапілярні мембрани чи плацентарний бар'єр. Окрім того, в 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 складають десь біля 20 % усіх ворсин. Їхня діагностика та кількісна оцінка важлива тому, що, по-перше, вони є маркером зрілості ворсинчастого дерева, так як максимум їх

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].

Таким чином, розподіл перерахованих вище типів ворсин не випадковий, тому що абсолютно відповідає їх функціональній спеціалізації. Усі великі гілки і якірні ворсинки відіграють головним чином опорну роль, складаючи каркас котиледона біля центральної порожнини. Проміжні та численні термінальні гілки формують умовну стінку котиледона і є основним місцем, де здійснюються 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'єра представлена такими шарами: 1) безперервний шар синцитіотрофобласта, який покриває ззовні поверхню ворсинок і безпосередньо межує з міжворсинчастим простором; 2) початково цілісний (у першому триместрі вагітності), а пізніше (другий і третій триместри) 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'єра, до яких відносять: потоншення синцитіотрофобласта від 20 мк до 3,5 мк; розрідження цитотрофобласта, який наприкінці вагітності складає лише 20 % площі поверхні ворсинок; зменшення середнього діаметра ворсинок; диференціювання судин та зміна їх місцезонашування в стромі ворсинок відносно до хоріонічного епітелію з послідуочим формуванням синцитіокапілярних мембран. Таким чином, в результаті росту та диференціювання ворсинчастого дерева відбувається

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

Важливо також підкреслити, 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 цитотрофобласту. Ділянки септ, які розташовані біля базальної мембрани, вміщують поодинокі децидуальні клітини материнського походження.

В субхоріальній зоні та всередині плаценти зустрічаються позаворсинчасті 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 пзаворсинковою структурою плаценти є фібриноід. Багаторічна дискусія про будову та джерело утворення фібриноїда була підсумована гістологічними, імунофлюоресцентними та електронно-мікроскопічними дослідженнями. Відкладання фібриноїду, які розташовані між материнською кров'ю і плацентарними тканинами, виникають з фібрину материнської крові, частіше на поверхні ушкодженого синцитіотрофобласта; відкладання фібриноїда всередині плацентарних структур, без контакта 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.G. Frank et.all. [26, 27] при застосуванні трансмісійної електронної мікроскопії та імуногістохімічного дослідження було виділено два типи фібриноїда: матриксний тип та фібринний тип з різними компонентами.

Окрім смуг фібриноїду Лангганса, Рора і Нітабух існують слідуючі типові локалізації фібриноїда в плаценті: міжворсинчастий 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. При вивченні напівтонких зрізів вдалося простежити етапи утворення міжворсинчастого фібриноїда: 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 фібронектин в матриксний тип фібриноїда. Основне завдання міжворсинчастого фібриноїда – закрити дефект епітеліального покрива 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 мітозів. Поряд з участю в утворенні фібриноїду, Х-клітини здійснюють і ендокринну функцію.

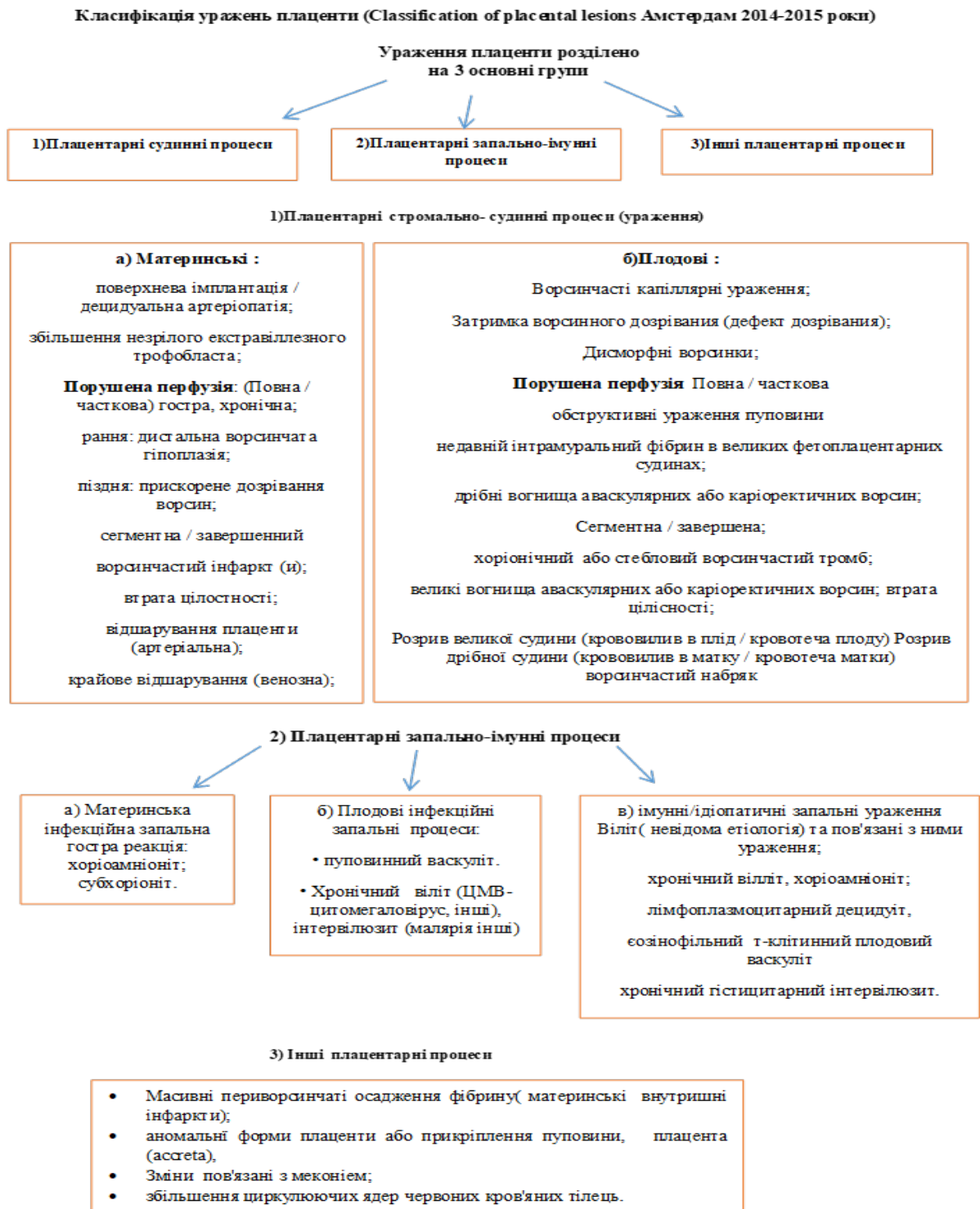
Таким чином, плацентарний фібриноїд типових локалізацій є неодмінною структурною особливістю нормальної плаценти і формується на протязі всього її розвитку. Смуги Лангганса та Рора, вистилаючи міжворсинчастий простір, відіграють переважно роль буфера. Смуга Нітабух розділяє материнські та плацентарні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

Серія основоположних досліджень, опублікованих між 1970 і 1995 роками, заклала основу для нашого теперішнього розуміння патології плаценти.

Пійненборг та інші встановили концепцію порушень імплантації плаценти та їх наслідків. Блан вперше окреслив послідовність змін плаценти, які характеризують інфекцію амніотичної рідини. Гарріс відрізняв крайове венозне відшарування від значно менш поширеного синдрому розриву артерії та відшарування плаценти. Беніршке 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.

Штальмах та інші продемонстрували зв'язок між затримкою дозрівання ворсинок (дефект дозрівання) та внутрішньоутробною смертю. Альтшулер і Рассел звернули увагу на ідіопатичний хронічний віліт, а Альтшулер був першим, хто описав ворсинчастий хорангіоз. Нарешті, Сандер описав закономірності, які пізніше будуть відомі як фетальна тромботична васкулопатія (нині сегментарна фетальна васкулярна дисперфузія).

Більш систематичний підхід до плацентарної діагностики був здійснений 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 матері та плоду. Спираючись на цю роботу, на зустрічі Міжнародної федерації плацентарних асоціацій у 2006 році було представлено схематичну структуру 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), яка має значення для визначення уражень плаценти, клінічних кореляцій та спрямована на майбутнє дослідження пологів і потологій плоду. Вперше запропонувала інтегровану систему 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", який був 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

Представлена 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) осадження фібрину; 4) аномальні форми плаценти.



### **Загальні основні плацентарні причини несприятливих результатів:**

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

- при прискореному дозріванні ворсинок та порушенні кровообігу у матері;
- патології пуповини;
- відшарування плаценти;

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

До **фетальних** стромально-васкулярних пошкоджень зі зниженням перфузії відносяться наступні плацентарні фактори:

- 1) Дефект дозрівання судин з центральним розташуванням капілярів, який призводить до зниження фетоплацентарної маси і ЗВУР;
- 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 плоду;

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

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

Також несприятливими наслідками є **масивне перивілозне осадження фібрину**, часто відомий як **материнський внутришній 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 плоду, передчасними пологами, травмами ЦНС. Її патогенез залишається недостатньо вивченим. Але дані свідчать, що це можуть бути різні стресорні фактори, включаючи 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), ступінь участі та різні комбінації ураження плаценти для запобігання несприятливим наслідкам у подальшому вагітності.

Таким чином, представлена класифікація визначає правильність постановки 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 представляє інтерес для біологів та клініцистів для впровадження стовбурових клітин у регенераторній медицині. Оскільки, плацента багата стовбуровими клітинами та їх попередниками. Стовбутова клітина визначається як клітина, яка має здатність до самооновлення і здатна диференціюватися на потомство (дочірні клітини) одного або кількох зародкових листків. Ці клітини класифікуються як тотипотентні, плюрипотентні або мультипотентні. Найпримітивніша стовбутова клітина, з найбільшою здатністю до диференціювання є тотипотентна клітина зиготи або першого бластомера [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 в трансплантатах з меншим, ніж оптимальний HLA-відповідність донор-реципієнт, що забезпечує більш широкий доступ.

Інша мультипотентна стовбурова клітина була виявлена в кістковому мозку Френденштейном більше сорока років тому [35]. Ці клітини зараз широко відомі як мезенхімальні стовбурові/стромальні клітини (MSC) і є клітинами, які породжують тканини мезодермальний рід, включаючи кістки, хрящі, м'язи, сухожилля та жирову тканину. Їхній багато переваг включають їх відносну простоту ізоляції, потенціал розширення, стабільність 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, розширення *ex vivo* необхідне для отримання достатньої кількості для клінічних застосувань. В загалом, MSC виділяють за допомогою градієнта щільності або лізису клітин, після чого мононуклеарні клітини культивують у базальному середовищі, такому як модифіковане середовище Дульбекко Ігла та 10 % - 20 % фетальної телячої сироватки (FCS) [38, 39, 40]. Клітини згодом витримують у культурі протягом кількох днів, протягом яких забруднення, неприлипання гемопоетичні клітини, такі як макрофаги, виснажені. MSC людини мають а 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 клітин ссавців з ядрами в тому, що вони мало стимулюють алогенна реактивність при введенні до неперевершених дорослих імунокомпетентних реципієнтів, можливо, через відсутність у них, принаймні у людини, вираження коstimулятора молекули клітинної поверхні, такі 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 зменшити сильне запалення, яке згодом може призвести до патології ремоделювання та надмірний фіброз.

Було запропоновано, що сучасні методи культури тканин, що використовуються для розширення MSC, зменшують мультипотентність і призводить до зниження міграційної/приживляючої здатності розширеної MSC. Це також було показано, що у людей і тварин спостерігається знижена швидкість виробництва кісток мезенхімальні стовбурові та клітини-попередники кісткового мозку зі збільшенням віку [46]. Кілька досліджень показали сильну кореляцію між віком і проліферацією потенціал, виявлений MSC *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]. А з готовністю доступне і молодше джерело, яке можна отримати за допомогою неінвазивної процедури, і яке дає велику кількість MSC для розширення *ex vivo* було б ідеальною альтернативою дорослим кістковий мозок.

MSC, отримані з тканин, які зазвичай утилізуються, таких як термін плацента та інші гестаційні тканини, які походять від плоду [55, 56, 57, 58, 59] були досліджені, щоб побачити, чи відповідають вони цим критеріям. У цій главі будуть описані різні джерела гестаційної тканини для людських MSC як

альтернативи кістковому мозку, виділення MSC з цих джерел та їх застосування в клініці.

Плацента людини є привабливим джерелом MSC завдяки своїй доступності, легкому доступу 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 при патології матері, та дії різних зовнішніх факторів [60].

Також, нами відмічено відсутність даних по дії 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). Перераховані маркери мають особливість, як похідні хоріальних структур плаценти та амніотичної рідини, і тому важливі для дослідження дії стресових факторів на плаценту людини.

Відмічається, 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 обумовленої дією хронічного стресу, який викликає пошкодження плацентарних структур. Тому, відомо, що внутрішньоутробний розвиток плоду багато в чому визначається функцією ворсинчастого хоріону, та плацента має комплекс специфічних взаємовідносин з окремими органами плоду (легенями, нирками, системою травлення та ін.) і виконує їх функцію, тому, що плацента також приймає участь в системо- і ембріогенезі органів плоду [ 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 плоду, 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 % ДІ 12,5-18,7 %) від усіх визнаних вагітностей. Популяційна поширеність жінок, у яких був один викидень, становить 10,8 % (10,3-11,4 %), два викидні — 1,9% (1,8-2,1 %), три або більше викиднів — 0,7 % (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 плоду.

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 плоду внутрішнє опромінення, в результаті інкорпоровання радіонуклідами. При тривалому впливі радіації низької інтенсивності відбуваються більш виражені зміни у клітинних мембранах, їх розриви, тощо, ніж при одномоментному опроміненні значної інтенсивності. Внутрішнє опромінення представляє більшу небезпеку ніж зовнішнє. Це обумовлено тим, що при інкорпорації радіонуклідів клітини опромінюються не тільки гама-іонізуючою радіацією, а й корпускулярним випроміненням, а також значною нерівномірністю його. Зовнішнє та внутрішнє іонізуюче випромінення, діє на структури тканини в котрому є високо-радіочутливі структури капілярів артеріального та венозного типу до котрих відноситься і плацента [72, 73, 74]. Також дослідженнями вчених по вивченню внутрішнього опромінення було виявлено їх роль в збільшенні внутрішньоутробної загибелі плодів на ранніх етапах гестації; безплідді та онкологічній патології у 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 ШПАГ були встановлені зміни в структурах плацентарного бар'єра в залежності від внутрішнього опромінення в результаті накопичення радіонуклідів з урахуванням питомої маси радіонуклідів [69]. Було виявлено, що при накопиченні радіонуклідів більше 4,8 Бк/кг відмічається часткове та повне зниження судинної перфузії в материнській та плодовій структурах плаценти (згідно новітній класифікації патологія плаценти, Амстердам 2015 ). Виявлена виразна експресія СЕА в цитоплазмі ендотелію судин фетального типу, та вогнищ децидуальної оболонки, при внутрішньому опроміненні інкорпоровуванням радіонуклідами 4,8 Бк/кг та більше.

Дослідження проводились по даним «Сертифікату плаценти» (додаток А2), котрий був створений в лабораторії патоморфології для здійснення моніторингу змін плаценти та був 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», котрий був внесений в наказ МОЗ України №417 в 2004 році.

Останні дані літератури, які були представлені вченими Японії вказують на роль внутрішнього опромінення в хронічному стресі 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**

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

Що стосується змін плаценти у вірус-позитивних вагітних жінок, то в перші місяці пандемії були зареєстровані 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, що спостерігаються при несприятливих перинатальних результатах, а також немає очевидного більшого ризику спонтанного аборту, прееклампсії, передчасних пологів або мертвонародження [78, 82, 83].



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

Більшість досліджень показують, що у випадках SARS-CoV-2-позитивних вагітних жінок без передачі захворювань плоду 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 жінок, позитивних на вірус, та були запропоновані різні механізми патогенезу. В результаті досліджень плацент жінок з позитивним результатом на коронавірусну хворобу (COVID-19) цих авторів[96] встановлено гістологічно, імуногістохімічно та електронно-мікроскопічно 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 спостерігалось [84, 86, 87].

Таким чином, данні літератури приведенні нами в огляді вказують, що в останні роки змінились підходи до вивчення плаценти людини. Показано, що має значення структури відповідальні за материнські та плодові ураження. Цей консенсус був внесений в класифікацію уражень плаценти на з'їзді плацентологів Амстердам 2016, який наголосив інтегровану систему, яка включає в себе всі зміни материнських та плодового компоненту. Особливо важливих структурних компонентів стромально-судинних процесів; запально-іmunних та важливих інших материнський інфаркт, тобто масивні осадження фібрину з порушенням цих процесів в структурах плацентарного бар'єру, які відповідають за патологію материнських та плодових функцій. Дані цих досліджень важливі для розуміння причин смерті плоду, спонтанних та передчасних пологів в клінічній практиці.

Але, виходячи з даних літератури нами виявлені тільки поодинокі дослідження впливу дії стресогенного фактору як функціонального компоненту

при різних патологічних станах у жінок. Також, мало досліджено регенераторні механізми стовбурових клітин при дії хронічного стресу (передчасні пологи, екологічні та інфекційні фактори COVID-19 ).

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

Тому, ми вважаємо доцільним виконання невирішеного завдання впливу стресогенних факторів передчасних пологів, внутрішнього опромінення та перенесеного COVID-19.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Робота виконана в лабораторії патоморфології ДУ «ШАГ ім. акад. О.М. Лук'янової НАМН України».

Для досягнення мети та вирішення завдань нашої дисертаційної роботи було проведено 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 21-32 тижні гестації (живонароджені – 30 спостережень, мертвнонароджених – 10 спостережень).
3. Плаценти від жінок з хронічним стресом, обумовленим внутрішнім опроміненням з вмістом радіонуклідів 4,8 Бк/кг і більше ( 20 спостережень).
4. Плаценти від жінок, котрі перенесли COVID-19 до і під час вагітності ( 20 спостережень).

#### **2.1 Макроскопічний аналіз матеріалу плацент зазнавших дії хронічного стресу**

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

При огляді плодової поверхні відмічався колір, наявність гематом, валику, обідку, варикозного розширення судин, кіст, вогнищевих ущільнень, пухлин, набряку та травматичних ушкоджень. При огляді плідних оболонок увагу звертали на їх товщину, колір, а також наявність включень.

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

При огляді материнської поверхні визначали цілісність децидуальної тканини, форму, розміри плаценти, наявність допоміжних часточок, їх кількість та розміри, виразність та глибину борозн, виразність та глибина зон з нетиповим забарвленням і щільністю та кількість свіжих та старих згортків крові. При огляді плодової поверхні плаценти звертали увагу на форму та контури, кількість основних судин хоріона, забарвлення амніону, місце прикріплення пуповини, ділянки пошкодження, відшарування, присутність ободка на плаценті. Відмічалась також наявність утворень, які деформують поверхню, а саме кіст та пухлин; плодових оболонок, відмічали їх товщину, забарвлення, включення (кров, меконій) та набряк.

## **2.2 Морфологічні, гістологічні та імуногістохімічні методи дослідження плацент зазнавших дії хронічного стресу**

Морфологічне дослідження плаценти проводили відповідно з урахуванням новітньої класифікації уражень плаценти Amsterdam (2015), та сертифікату плаценти (авторське право 2016) на основі протоколу плаценти (наказ № 417 затвердженого МОЗ України 2004). Після макроскопічного дослідження зразки плацентарної тканини вирізали з парацентральної зони плацентарного диска та фіксували в 10% нейтральному формаліні.

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

Гістологічне дослідження проводили на парафінових зрізах, забарвлених гематоксиліном та еозином. Кількість синцитіальних вузлів і міжворсинкових містків оцінювали в термінальних і незрілих проміжних ворсинках у 10 полях зору мікроскопа при збільшенні x200. Для аналізу даних використали достовірний статистичний метод.

а) забарвлення гематоксилін-еозином - дана методика дає загальну уяву про структуру органу, 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 заключають у бальзам.

Препарат нормально пофарбований, коли ядра мають червоно-фіолетове забарвлення з чітко виразним 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 – 15-30хв. Забарвлюють пікрофуксином – 3-5хв. 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 - в 70° і 96° спирти, підсушують фільтрувальним папером і вміщують в ксилол до просвітлення зрізів. Заключають в бальзам.

Колагенові волокна сполучної тканини при забарвленні 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 – в результаті якої колагенові та ретикулинові волокна забарвлюються в темно-синій колір, еритроцити в червоно – помаранчовий, хроматин – червоного з жовтим відтінком, секреторні гранули – червоного кольору.

г) Імуногістохімічні методи дослідження. Це методи полімерної детекції виявлення антигенів за допомогою системи UltraVision Quanto Пероксидаза

полімер і DAB плюс хромоген. Використовувалися реагенти фірми Thermo scientific. Всі етапи процедури проводилися при кімнатній температурі. Були проведені дослідження судинних маркерів: CD-31 (Clone JS/70A) [88], CD-105 (Endoglin/TGF beta 1/3 Receptor) [89], VEGF Ab-1 [90]; мезенхімального фактору віментину (Clone SP20 ) [91], антиапоптозного фактору BCL-2 (100/D5) [92], загальнолейкоцитарного фактору 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] та CD-117 (c-Kit/SCF-Receptor) [97], проліферивного маркеру Ki-67 (Clone SP6 ) [98]; маркеру критерію тромбозу Тромбоспондин 1 (TSP-1 ) [99]; карциноембріонального антигену 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, інкубують скло в Hydrogen Peroxide Block на протязі 10 хв.
6. Промити буфером
7. Нанести реагент UltraVision Protein block для блокування неспецифічних реакцій фонового забарвлення і інкубувати на протязі 5 хв.
8. Промити буфером.
9. Нанести первинні антитіла фірми Thermo scientific та інкубувати 30 хв.
10. Промити буфером.
11. Нанести Primary Antibody Amplifier Quanto і інкубувати на протязі 10хв.
12. Промити буфером.
13. Нанести HRP Polymer Quanto і інкубувати на протязі 10 хв.

14. Промити буфером.

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

16. Промити дистильованою водою 4 рази.

17. Провести контрастне забарвлення та заключити в бальзам.

Розповсюдженість та інтенсивність реакції оцінювали напівкількісним методом в балах, від 0 до 3 балів:

а) розповсюдженість:

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;

б) інтенсивності реакції:

1) 0 – немає видимого забарвлення;

2) 1 – слабе забарвлення;

3) 2 – помірне забарвлення;

4) 3 – виразне забарвлення.

д) Морфометричний аналіз багатоядерного синцитіотрофобласту ворсин проводився окремим дослідженням багатоядерного синцитіотрофобласту 40 плацент жінок 39-40 тижнів вагітності, які були розділені на чотири групи. Досліджено плаценти жінок, які перенесли COVID-19 у першій половині вагітності – IVа група по 10 випадків (до 20 тижнів) та у другій половині вагітності – IVб група по 10 випадків (39-40 тижнів). Плацента від жінок з хронічним стресом внаслідок внутрішнього опромінення з вмістом радіонуклідів 4,8 Бк/кг і більше – III група 10 випадків. У порівняльній групі I було 10 випадків плаценти у жінок з фізіологічною вагітністю без COVID-19, переважно протягом 39-40 тижнів гестації.

Проводилася комп'ютерна морфометрія з мікроописом, оснащена програмою цифрового аналізу (OLYMPUS cellSens Entry)

Проводився морфометричний аналіз кількості синцитіальних вузликів, які оцінювали в термінальних і незрілих проміжних ворсинках у 10 полях зору мікроскопа Olympus BX43 при збільшенні 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 при збільшенні x200.

Результати імуногістохімічної експресії маркерів стовбурових клітин CD-117 та CD-44 у кожному випадку оцінювали в 10 стандартизованих полях зору на мікроскопі OLYMPUS BX43 при збільшенні 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 в балах.

### **2.3 Радіометричний аналіз плацент зазнавших впливу хронічного стресу**

Радіометричні вимірювання внутрішнього опромінення по інкорпоруванню Cs137 проводились за допомогою:

- У-спектрометрами фірми «Селена»\*;
- «Camberra» з сцинтиляційним детектором\*;
- «Camberra» детектор колодязного типу\*;
- Аналізатор ізотопних зразків RC-101.

*Примітка: \* - виконано на базі «Національного наукового центру радіаційної медицини НАМНУ» зав. лаб. Циганков Миколай Яковлевич.*



## **2.4 Електронно-мікроскопічне дослідження плацент при хронічному стресі**

Для електронної мікроскопії у плацентах вирізали дрібні шматочки з центру плацентарної тканини (завжди з одного місця), які фіксували в 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 здійснили за допомогою програми Statistica 10.0 (StatSoft Inc.), використали 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 їх довірчі інтервали (95% CI – confidence interval). Відмінності вважали достовірними при значенні  $p < 0,05$ .

Дослідження здійснили відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол №8 від 24.05.21 року 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**

При морфологічному дослідженні плацент першої групи (порівняння) виявлені зміни, які були 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 виразним набряком та дрібними, вогнищевими ущільненнями. В 10 % плацент пуповина потовщена за рахунок помірного набряку.

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

При гістологічному дослідженні в 20 % спостережень в децидуальному шарі вогнища набряку, судини децидуальної оболонки розширені, повнокровні, місцями з тромбами та переваскулярними крововиливами в підлеглі тканини.

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

Сполучнотканинні 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).

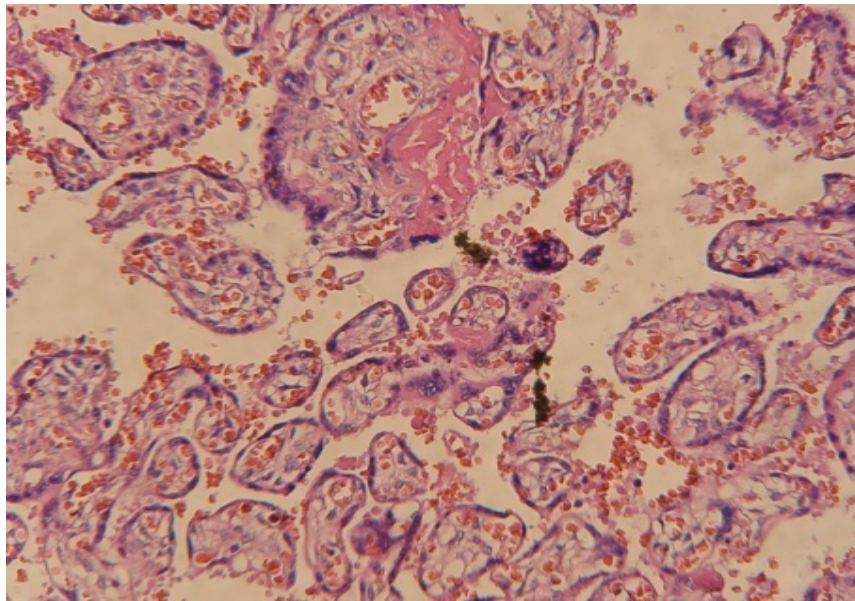
Таблиця 3.1

**Морфологічні особливості плацентарної тканини у жінок з хронічним стресом по класифікації уражень плаценти (Амстердам 2015-16)**

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

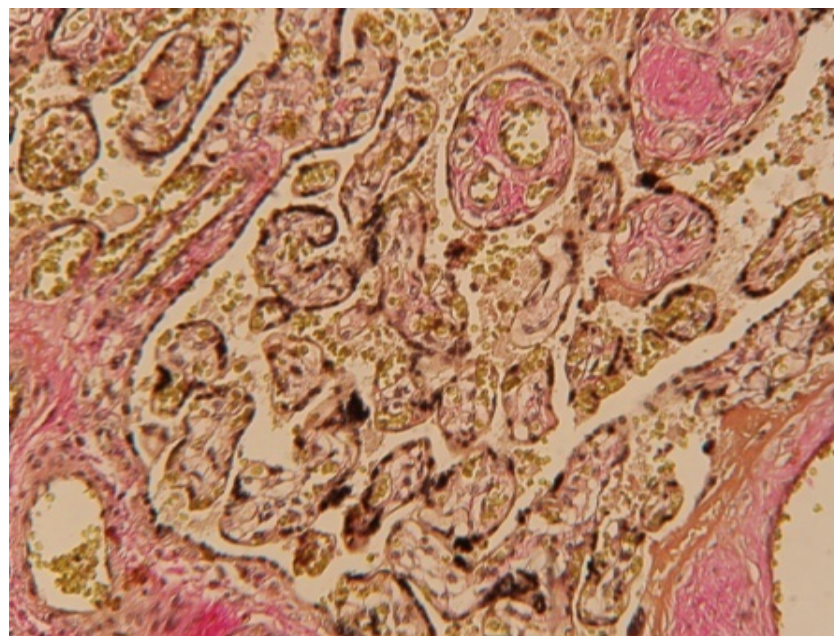
*Примітки: \*-поодинокі; \*\*-часткові; \*\*\*-повне; \*\*\*\*-посднане; \*\*\*\*\*-нерівномірне; \*\*\*\*\*-виражене; \*\*\*\*\*-мікроегнища.*

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



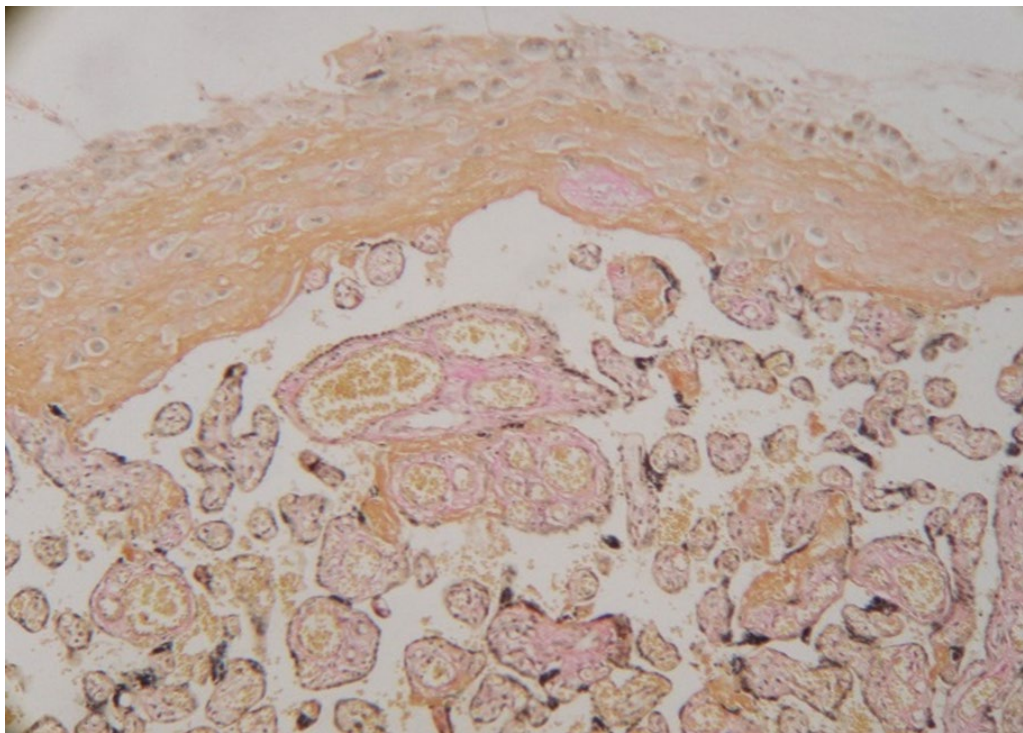
**Рис. 3.1** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Будова ворсинок відповідає гестаційному терміну вагітності. Забарвлення гематоксилін-еозином. x100. №5810

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



**Рис. 3.2** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Будова ворсинок відповідає гестаційному терміну вагітності. Забарвлення пікрофуксином. x100. №5810

Гістоархітектоніка ворсинчастого дерева характеризується пропорційним розгалуженням, характерною щільністю ворсинок в міжворсинчастому просторі. Децидуальна оболонка рівномірної товщини з фібриною 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).



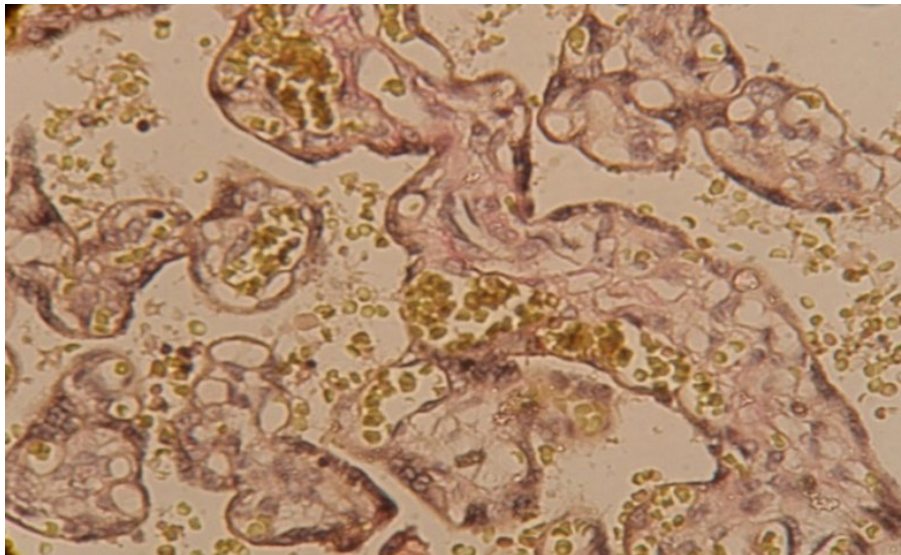
**Рис. 3.3** – Плацента жінки 38 тижнів вагітності (група порівняння).

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).

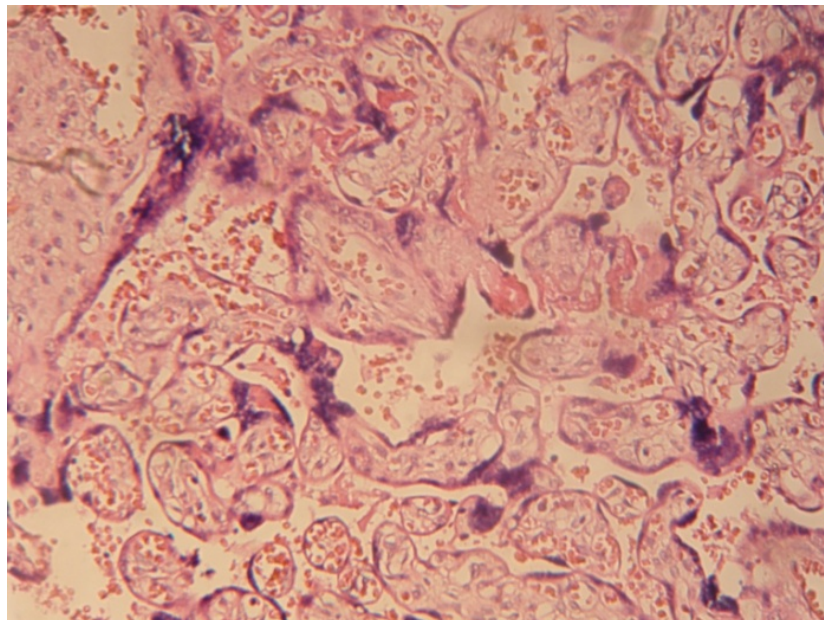
Міжворсинчастий простір із скупченнями вогнищ еритроцитів та мікровогнищ фібриноїда з окремими клітинами цитотрофобласту.





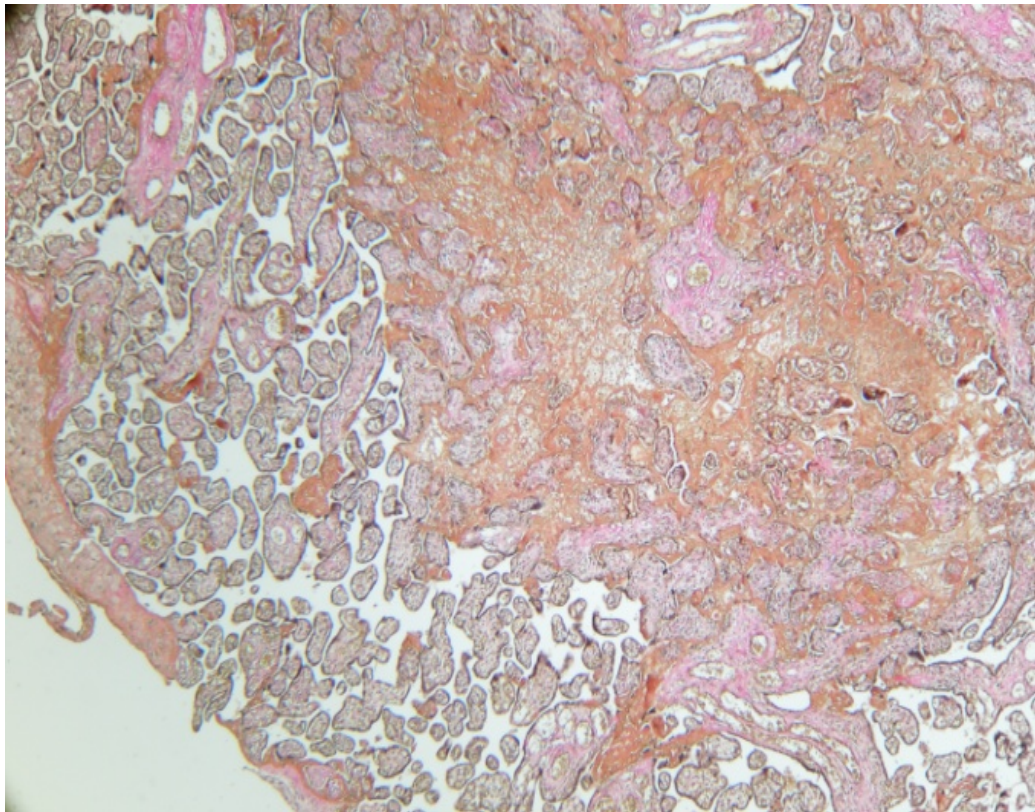
**Рис. 3.4** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Будова ворсинок відповідає гестаційному терміну. Проміжні диференційовані та термінальні ворсинки з добре васкуляризованою строюю. Міжворсинчастий простір нерівномірно розширений. Забарвлення пікрофуксином. x200. №5810

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



**Рис. 3.5** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Розширення та повнокрів'я фетальних судин ворсин. Проліферація синцитіотрофобласта - «вузлики» росту. Забарвлення гематоксилін-еозином. x100. №5810

В частині плацент відмічено поодинокі мікроегнища материнських інфарктів (по новій класифікації Амстердам, 2015), які були виявлені тільки на світлооптичному рівні в глибоких шарах ворсинчастого хоріону, що вказує на парціальне зниження плацентарних васкулярних процесів та не має значення для клініки (симптоми відсутні, новонароджені народилися з масою 2800-3000 кг, по шкалі абгар 8 балів) (рис. 3.6).



**Рис. 3.6** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння).

Мікроегнище материнського інфаркту. Забарвлення пікрофуксином.  
x100. №5810



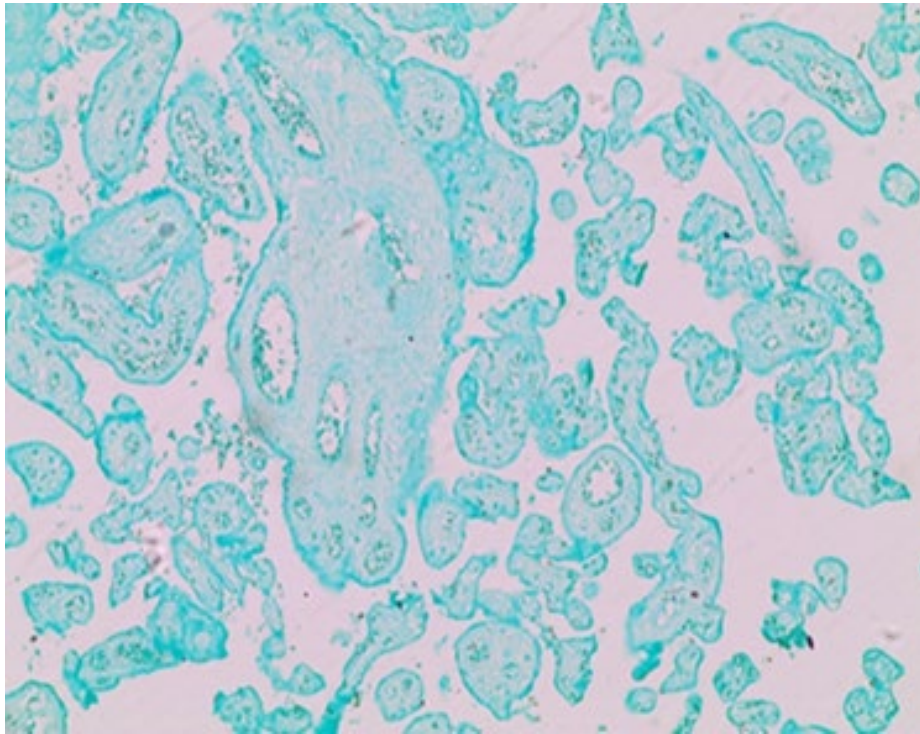
Таблиця 3.2

**Імуногістохімічні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу різного генезу у балах**

Групи	CD-31		CD-44	CD-45		CD-56		CD-105		CD-117
	Б.мембрана	ворсинки	в стромі ворсин, в децидуальній тканині, хоріальній пластині та пілліних ворсинки	Дец.об.	строма	Дец.об.	сіңцитій	Еп.суд.ворс.	в стромі ворсин, в децидуальній тканині, хоріальній пластині та пілліних	
I гр. порівняння, n=20	3	3	3	0	1	0-1	3	3	2	2-3
IIa гр. живонароджені, n=30	3	1-2	1-2	0	1-2 **	0-1	0	1-2	1	1
IIб 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 **

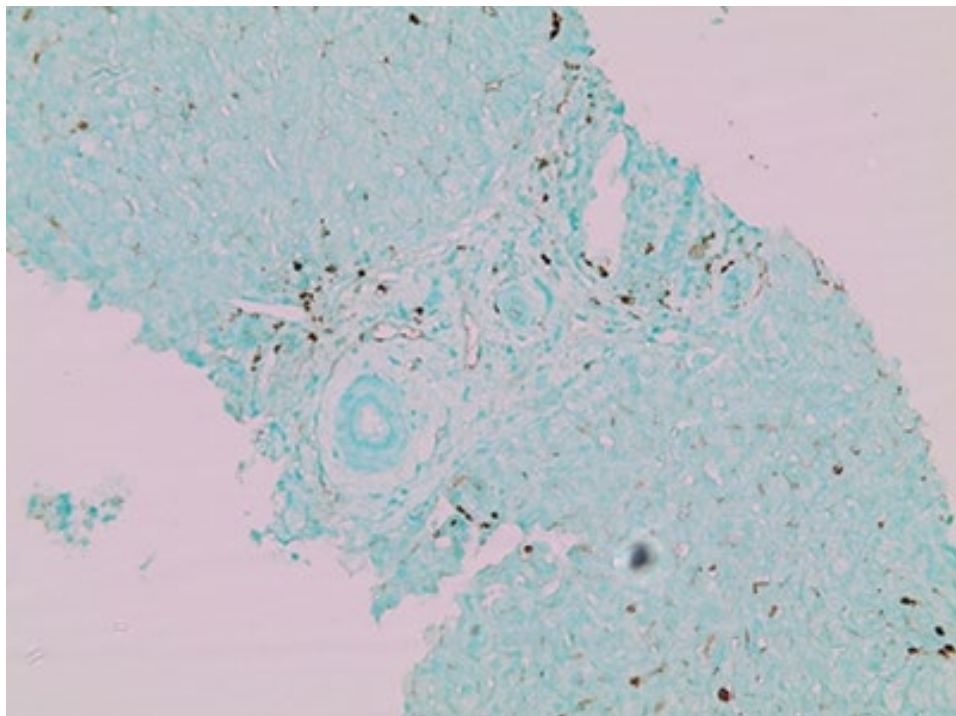
*Примітки: \*-поодинокі; \*\*-вогнища.*

В I групі імуногістохімічне дослідження СЕА виявило відсутність експресії антигену в структурах ворсин хоріона (таб. 3.3), (рис. 3.7).



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

В I групі при імуногістохімічному дослідженні СЕА було виявлено вогнища окремих лімфоцитів з позитивною експресією в поодиноких дослідженнях (таб. 3.3), (рис. 3.8).



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

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

Таблиця 3.3

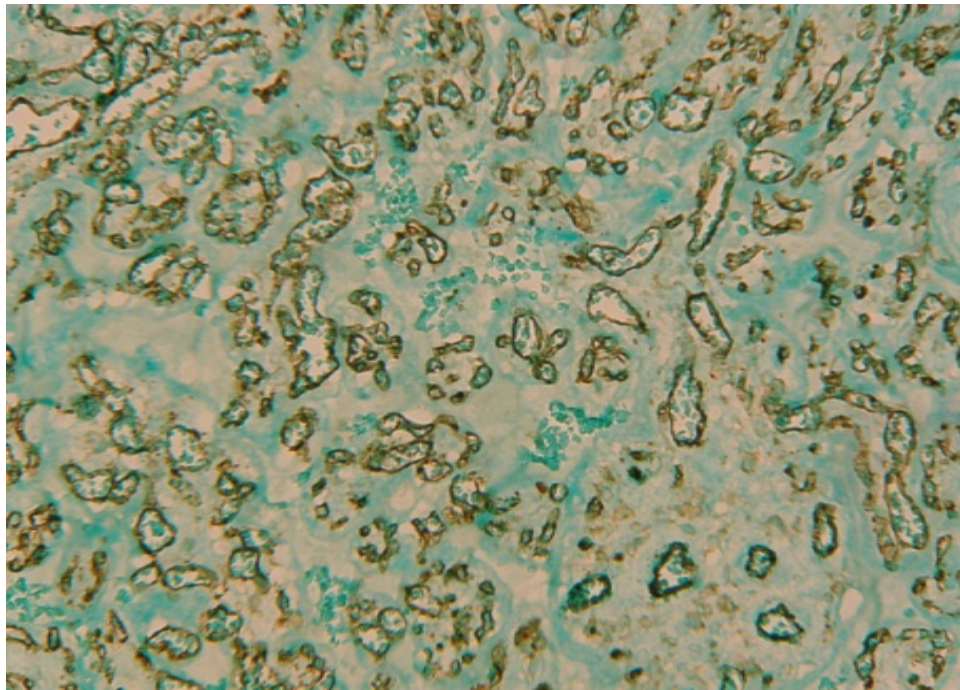
**Імуногістохімічні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу різного генезу у балах.**

Групи	VEGF		Ki67	vimentin	BCL-2		СЕА	Тромбоспондин-1	Синцитіотрофобласт
	Синцитій	ворсин	в ядрах синцитія проміжних та термінальних ворсин та в ядрах децидуальних ворсин	в стромі стовбурових, проміжних та термінальних ворсин	сінцитій	Строма суд.	в децидуальній та хоріальній тканинах		
I гр. порівняння, n=20	1	1	1-2	2-3	0	0-1	Поодинокі	0	1
Па гр. живонароджені, n=30	2-3	3	2	2	0-1	0-1	0-1	1-2	2
Пб гр. мертводнароджені, 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 втразану експресію.

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

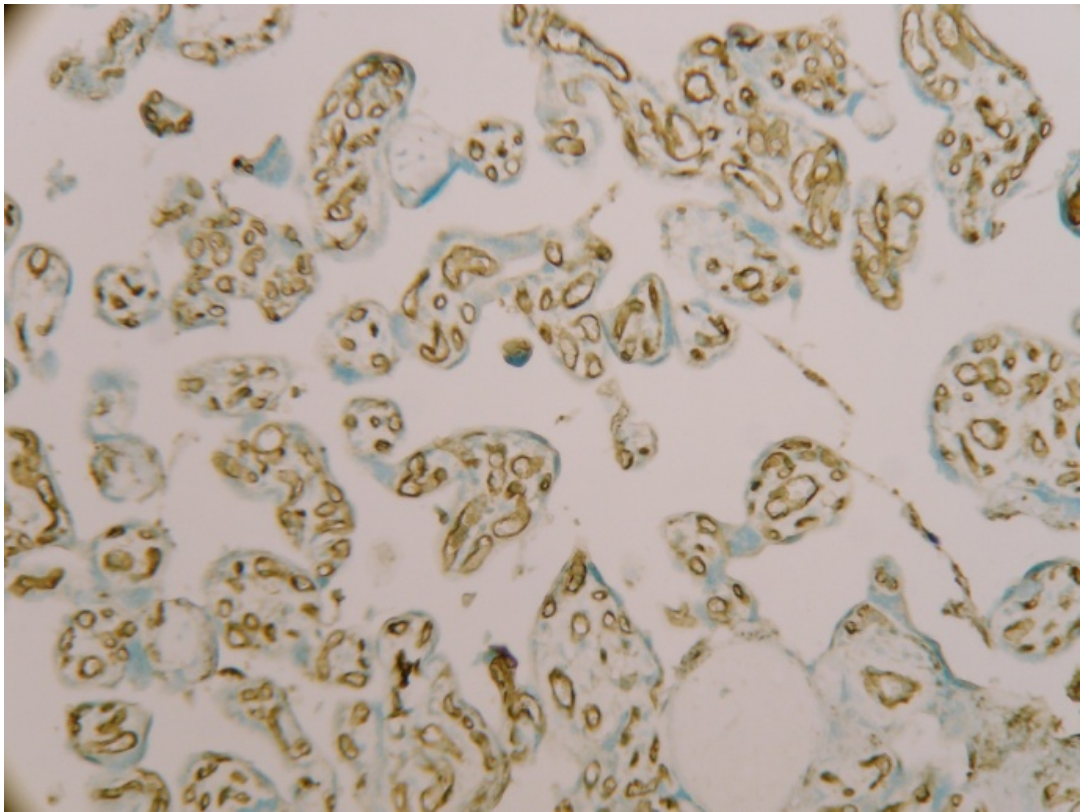
CD-31 - 3 бали в ендотелії судин ворсин різного калібру (рис. 3.9);



**Рис. 3.9** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-31 в ендотеліальних клітинах судин проміжних 3 бала. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-31. x100. №5810

При імуногістохімічному дослідженні судинного маркера CD-31 відмічається виразна реакція в ендотеліальних клітинах епітелія фетальних судин стовбурових, проміжних та термінальних ворсин (3 бала) (таб. 3.2) (рис. 3.10).

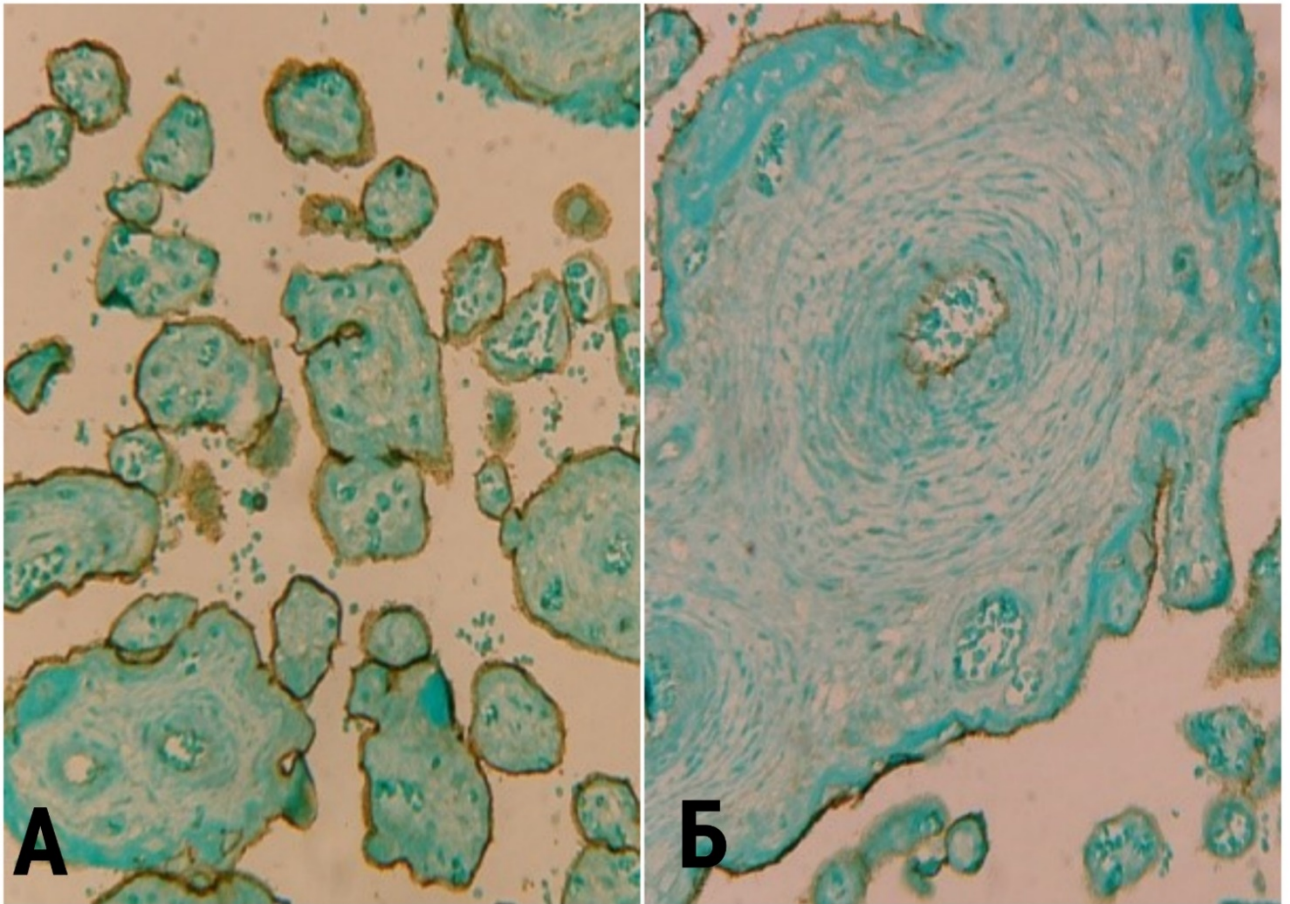




**Рис. 3.10** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-31 в ендотеліальних клітинах епітелія фетальних судин особливо виражена в термінальних ворсинках 3 бали. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-31. x100. №5810

При дослідженні судинного маркера CD-105 експресія в основному відмічалась в синцитіотрофобласті ворсинок 3 бали та мембранах судин ворсинок різного калібру.

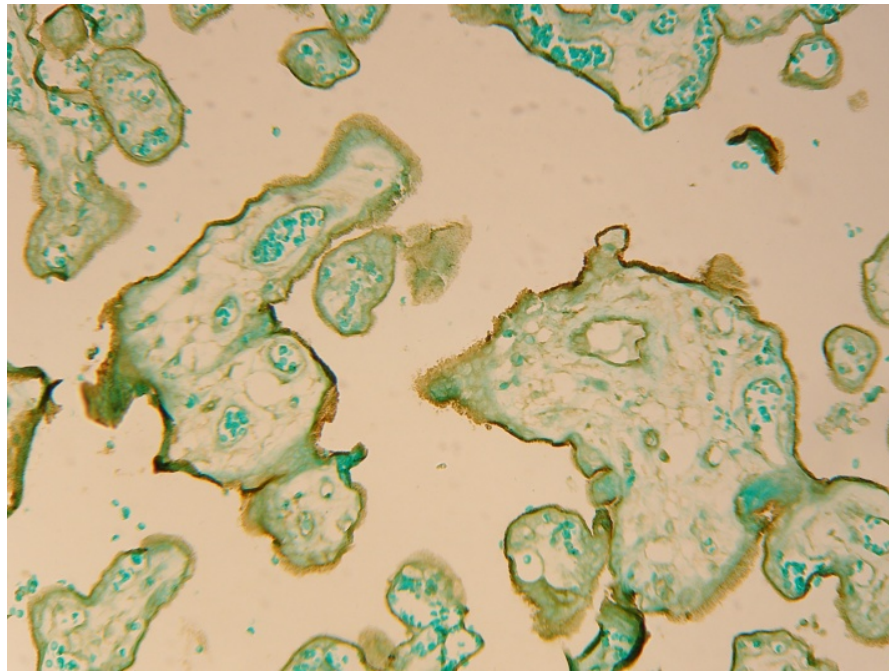
Експресія в синцитіотрофобласті ворсин (термінальних, середнього калібру та поодиноких судинах стовбурових ворсин була 2 бали. В усіх фетальних судинах ворсинок експресія коливалась від 1 до 2 балів. В основному була 2 бали. (рис. 3.11 А, Б);



**Рис. 3.11 А, Б** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-105 в синцитіотрофобласті ворсин (термінальних та поодиноких стовбурових) (1-2 бала). Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-105. x100. №5810

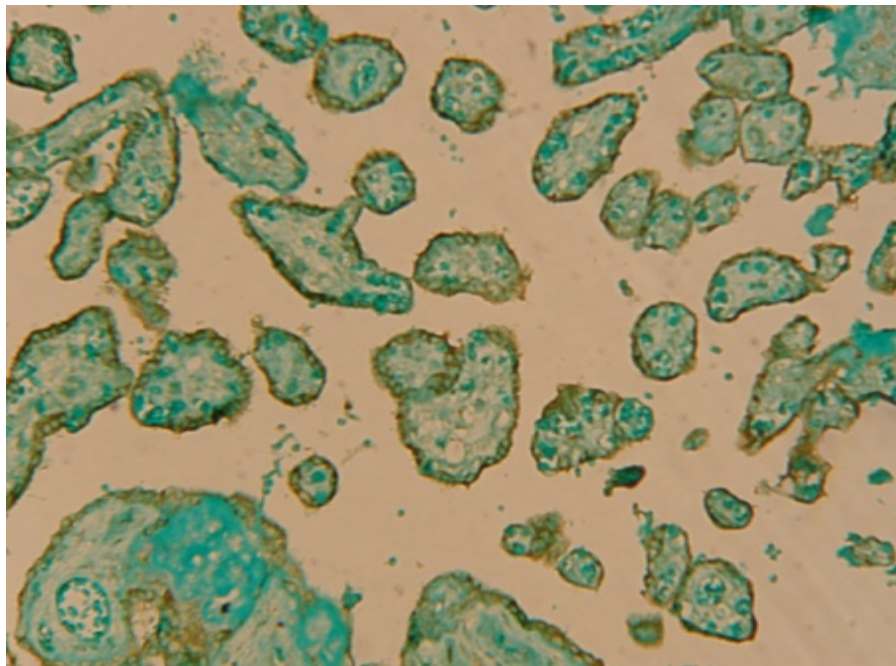
При імуногістохімічному дослідженні судинного маркера CD-105 відмічається помірна реакція (2 бала) в синцитіотрофобласті ворсин (термінальних, середнього калібра та поодиноких судинах стовбурових ворсин (таб. 3.2) (рис. 3.12).





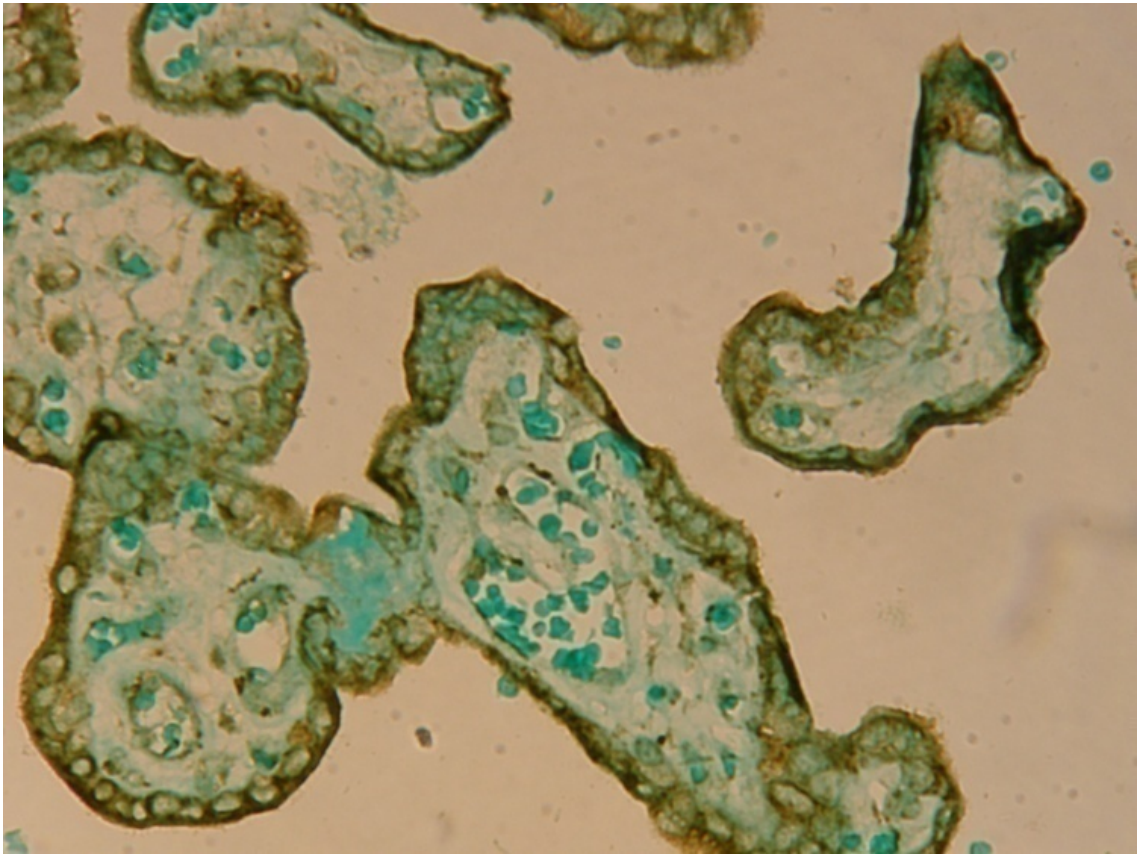
**Рис. 3.12** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-105 в синцитіотрофобласті середніх ворсин (2 бала). Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-105. x200. №5810

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



**Рис. 3.13** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія VEGF в синцитії ворсин і ендотелії деяких судин ворсин (1 бал). Імуногістохімічна експресія МКАТ VEGF. x100. №5810

При імуногістохімічному дослідженні судинного маркера VEGF відмічається помірна реакція (3 бали) в синцитії ворсин і ендотелії судин (2 бали) середніх ворсин (таб. 3.3) (рис. 3.14).

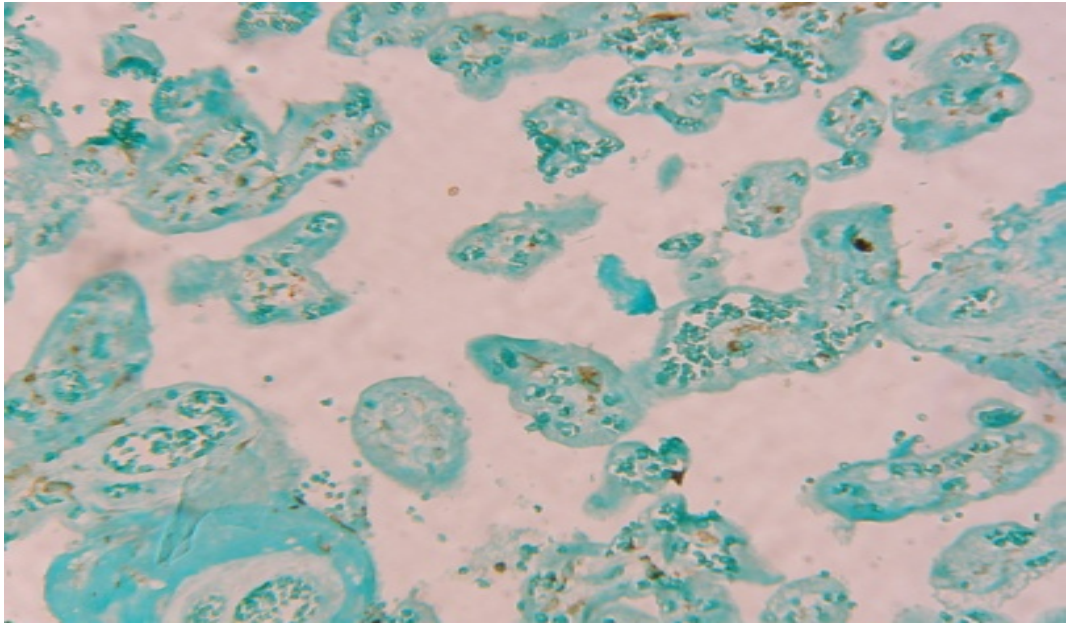


**Рис. 3.14** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Виражена експресія VEGF в синцитії ворсин (3 бали) середнього калібра та ендотелії судин ворсин (2 бала). Імуногістохімічна експресія МКАТ VEGF. x200. №5810

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

При імуногістохімічному дослідженні маркера запальних процесів CD-45 відмічалась в поодиноких клітинах в хоріальній та плідній оболонках, а також поодинокі в просвіті судин ворсин.

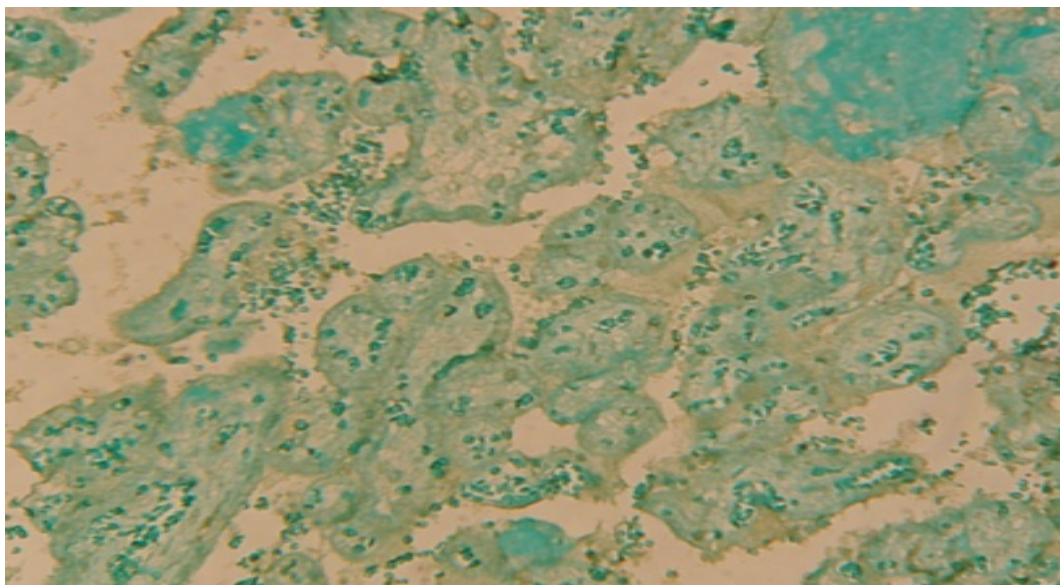




**Рис. 3.15** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-45 – 0 балів. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-45. x100. №5810

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

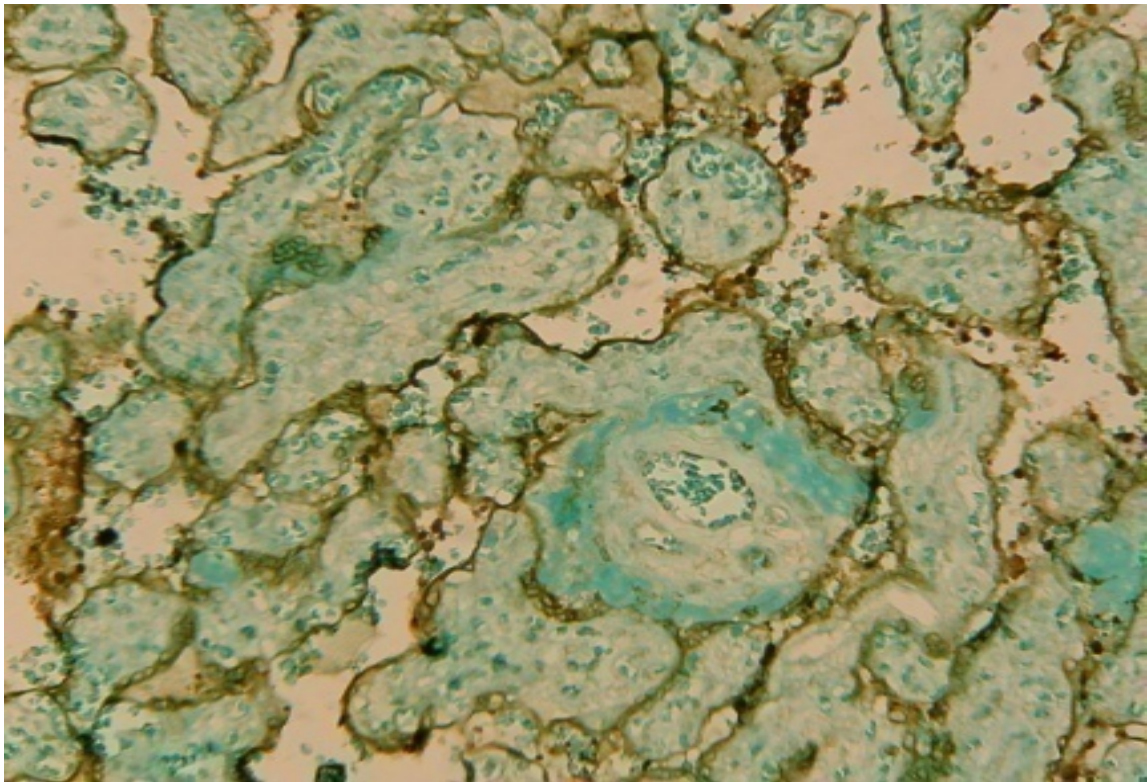
При імуногістохімічному дослідженні маркера натуральних кілерів CD-56 – позитивна експресія в поодиноких НК-клітинах в стромі ворсин, в децидуальній тканині – вогнищево 5-10%.



**Рис. 3.16** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-56 в поодиноких ворсинах (0-1 бал ). Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-56. x100. №5810

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

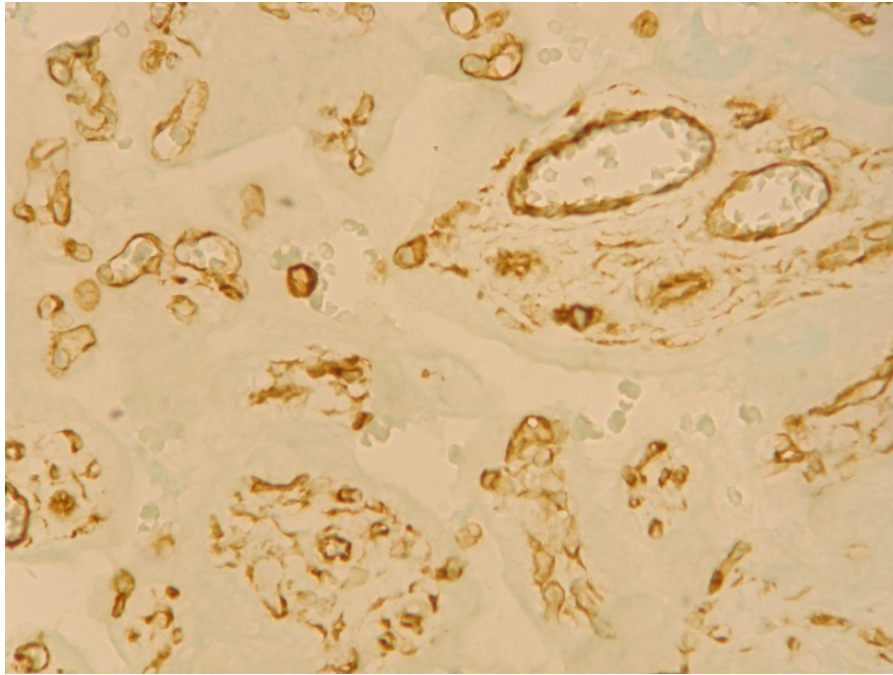
При імуногістохімічному дослідженні антиапоптозного антигену BCL -2 відмічається помірна реакція (2 бала) в синцитії ворсин (дифузно) (таб. 3.3) (рис. 3.17).



**Рис. 3.17** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія BCL-2 в синцитії ворсин (дифузно) (2 бала ). Імуногістохімічна експресія МКАТ BCL - 2. x100. №5810

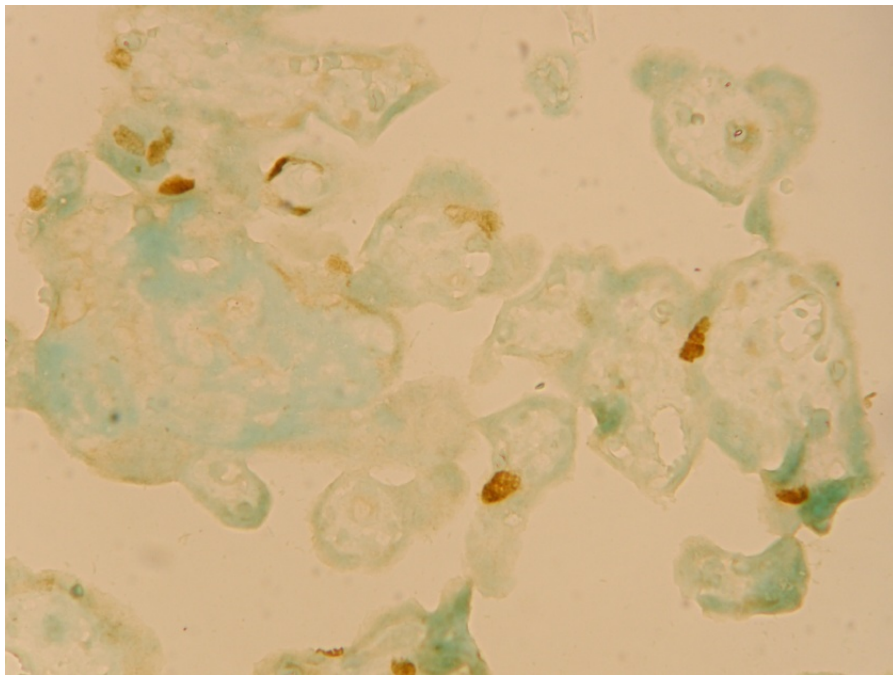
При імуногістохімічному дослідженні мезенхімального фактора віментин відмічається виражена експресія в стромі стовбурових, проміжних та термінальних ворсин 2-3 бала (рис. 3.18).





**Рис 3.18** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія мезенхімального маркера віментин в стромі ворсин та мембранах судин (2-3 бала). Імуногістохімічна реакція МКАТ vimentin. x200. №5810

При імуногістохімічному дослідженні проліферативного маркера Кі-67 відмічається реакція в ядрах синцитія проміжних та термінальних ворсин та в ядрах децидуальних клітин 1-2 бали (таб. 3.3) (рис. 3.19).

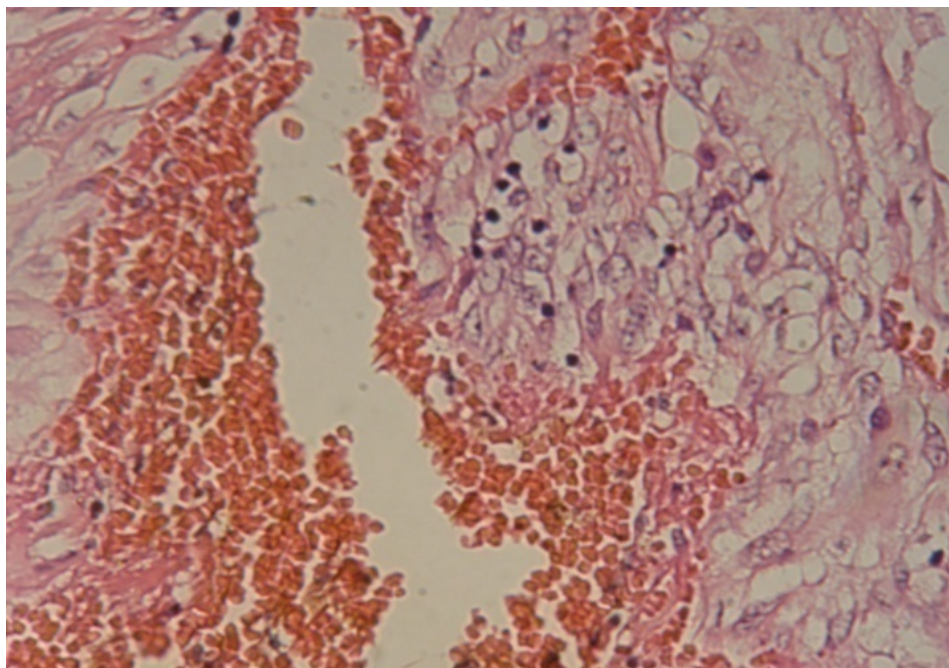


**Рис. 3.19** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія проліферативного маркера Кі-67 в ядрах синцитія проміжних та термінальних ворсин (1-2 бали). Імуногістохімічна реакція МКАТ Кі-67. x200. №5810

В заключенні підрозділу 3.1 «Морфологічні, імуногістохімічні та морфометричні особливості плаценти жінок з фізіологічним перебігом вагітності» представлені гістологічні та імуногістохімічні дані по дослідженню плаценти жінок 39-40 тижнів терміну гестації з фізіологічним перебігом вагітності, які народили живих дітей з масою 2,500-3,600 грамів без ускладнень. Виявлені особливості імуногістохімічних маркерів судинних, проліферативних та тромбоспондіну-1 які представлені в таблицях.

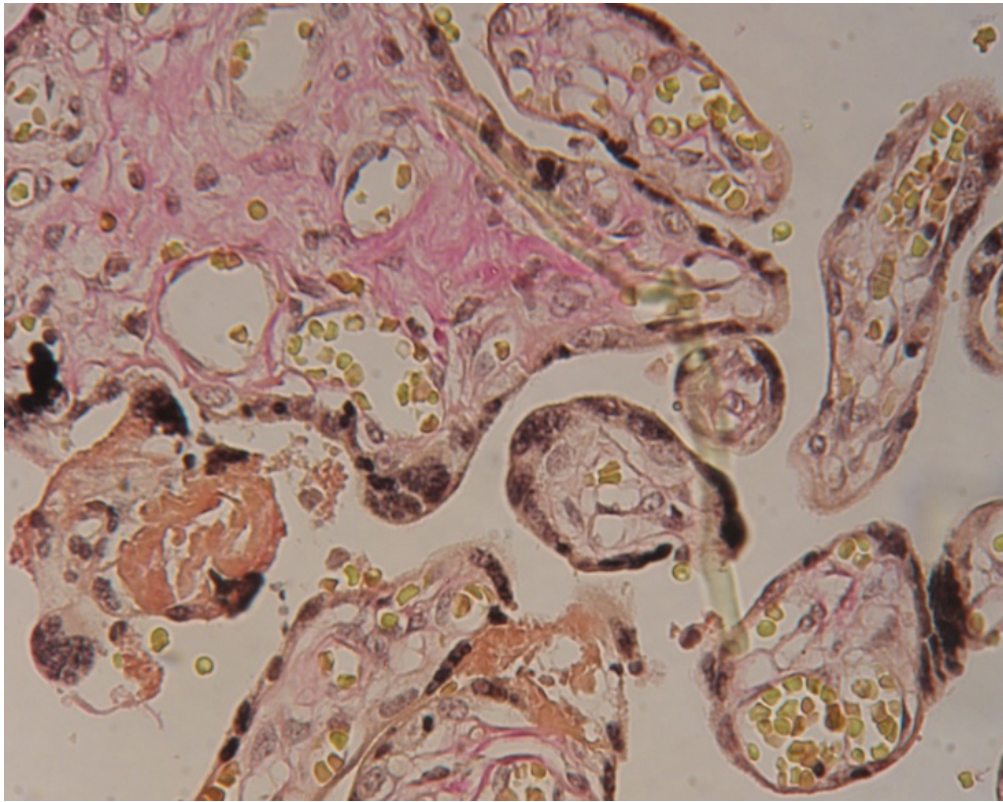
### **3.2 Морфологічні, імуногістохімічні, морфометричні та ультраструктурні особливості плаценти жінок при дії хронічного стресу на фоні передчасних пологів**

У плацентах від жінок з передчасними пологами виявлено зміни в структурах плацентарного бар'єра в залежності від живонародженості (Па) дитини чи загибелі (Пб) в перинатальному періоді (табл. 3.1). Було встановлено, що в плацентах жінок II групи (підгрупі живонароджені), в основному, зміни відмічались в материнських судинних структурах з переважанням часткового відшарування децидуальної оболонки (рис. 3.20).



**Рис. 3.20** – Плацента жінки з передчасними пологами 33 тижнів вагітності (підгрупа живонароджених). Часткове відшарування децидуальної оболонки. Забарвлення гематоксилін-еозіном. х 200. №7169

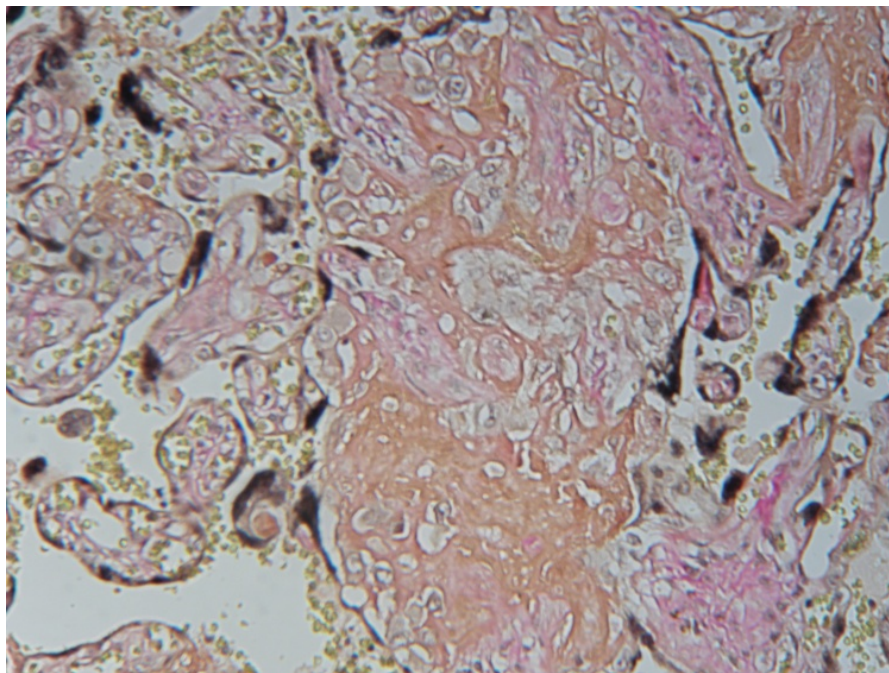
Також було виявлене фокальне прискорення дозрівання хоріальних ворсинок з фіброзом їх строми та стінок судин в більшості випадків - 60 %, з проявами плацентарної дисфункції. (рис. 3.21).



**Рис. 3.21** – Плацента жінки з передчасними пологамі 33 тижнів вагітності (підгрупа живонароджених). Фіброз строми термінальних ворсин та ворсин середнього калібру. Забарвлення - пікрофуксином. x200 №7169

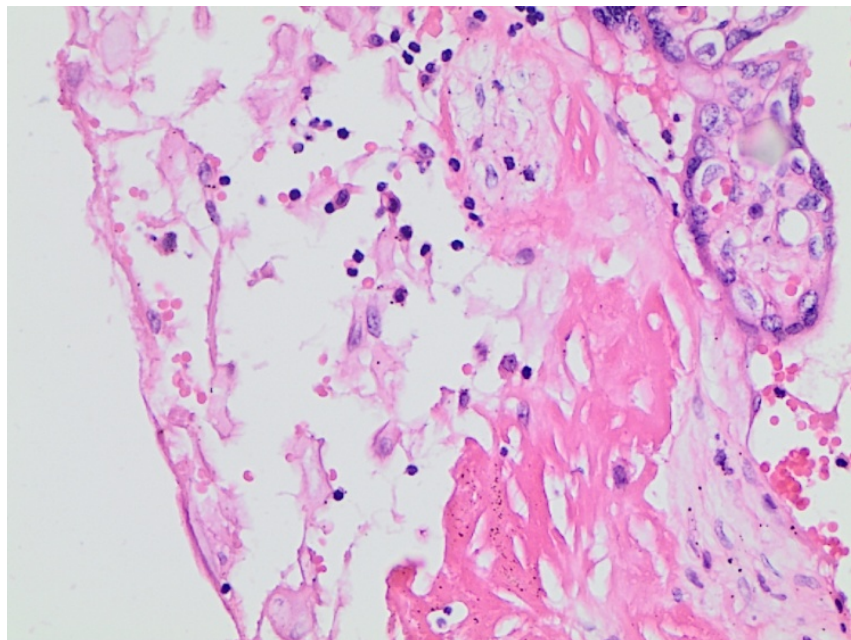
В підгрупі живонароджених материнські внутрішні інфаркти в 5% плацент були поодинокі (рис. 3.22) з наявністю аваскулярних термінальних та середніх ворсинок.





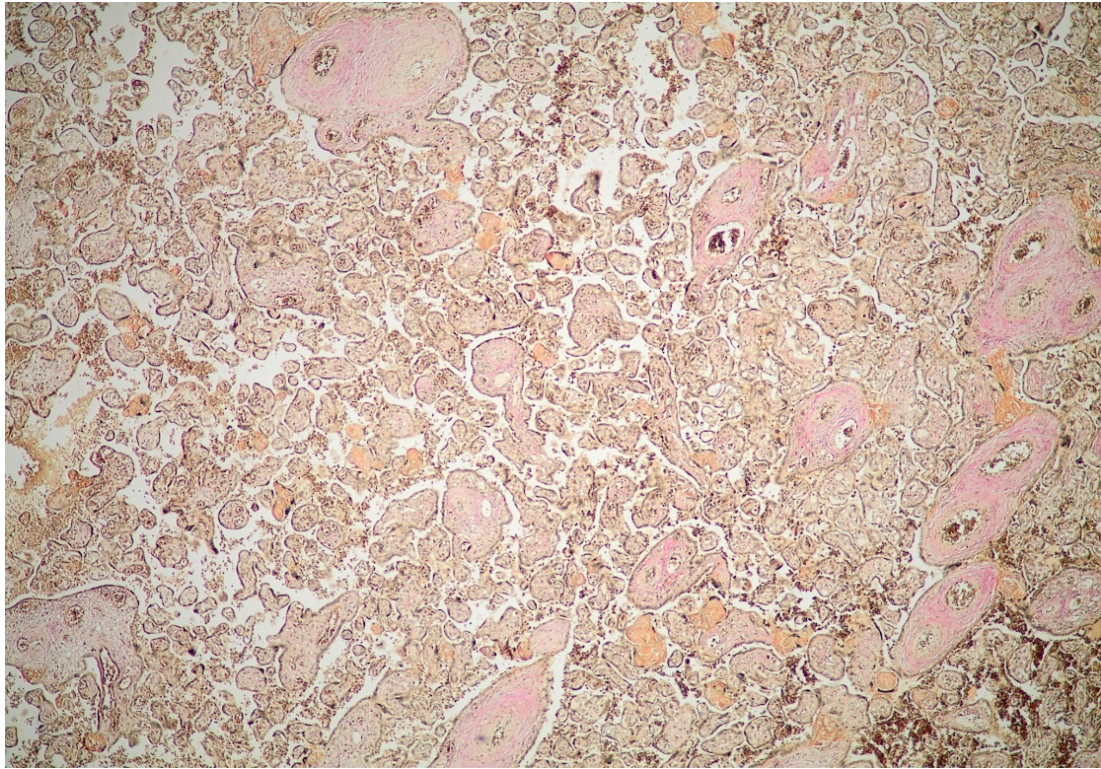
**Рис. 3.22** – Плацента жінки з передчасними пологами 33 тижнів вагітності (підгрупа живонароджених). Материнський внутрішній інфаркт. Забарвлення пікрофуксином. x 100 №7169

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



**Рис 3.23** – Плацента жінки з передчасними пологами 33 тижнів вагітності (підгрупа живонароджених). Вогнищева лімфоплазмоцитарна інфільтрація децидуальної оболонки на фоні вираженого набряку. Забарвлення гематоксилін-еозіном. x200 №7169

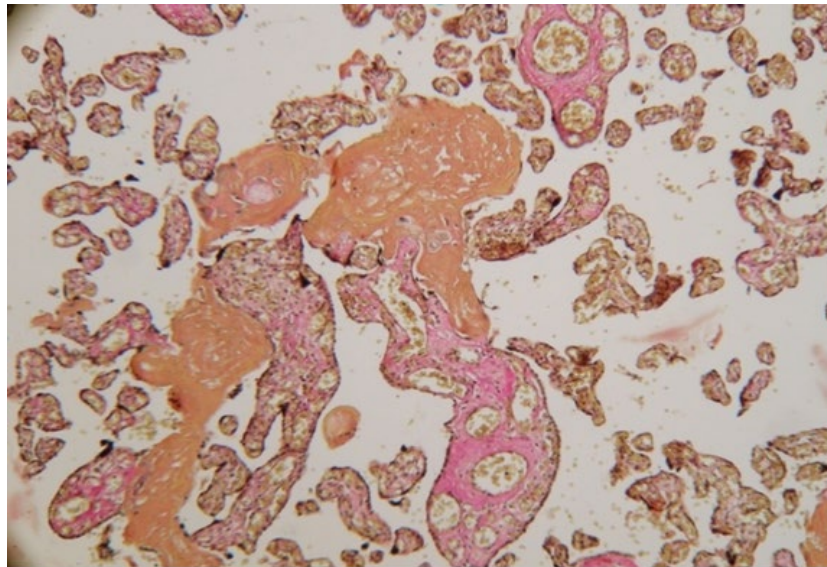
В II групі в підгрупі живонароджених (табл. 3.1) виявлені розповсюджені вогнища материнських внутрішніх інфарктів (рис. 3.24), котрі в основному виявлені в області децидуальної оболонки, а також центральних відділах плацентарних тканин.



**Рис. 3.24** – Плацента жінки з передчасними пологами 32 тижнів вагітності (підгрупа живонароджених). Розповсюджені вогнища материнських внутрішніх інфарктів. Забарвлення пікрофуксином. x100 №5692

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

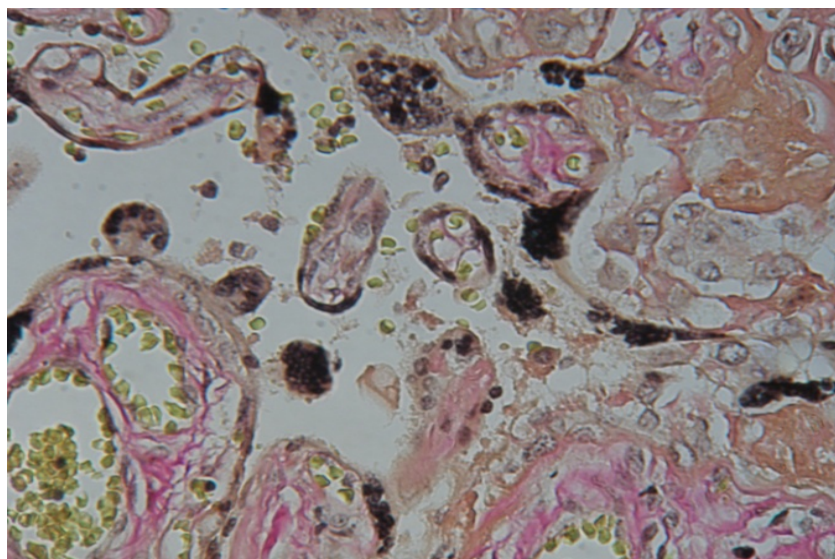




**Рис 3.25** – Плацента жінки з передчасними пологами 33 тижнів вагітності (підгрупа живонароджених). Виражені ознаки передчасного дозрівання та фіброзу строми ворсин. Забарвлення пікрофуксином. x100 №7169

Наряду з проліферацією синцитіотрофобласта у вигляді багатоядерних вузликів із збільшенням їх кількості, особливо середніх ворсин (табл. 3.1, рис. 3.26).

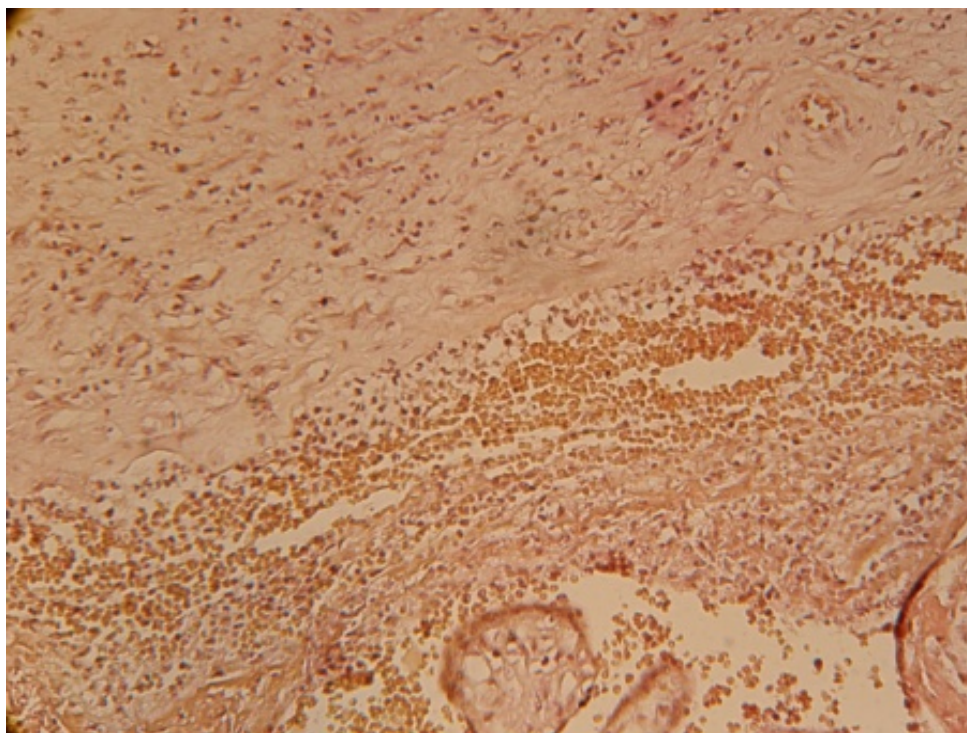
Також, відмічалось зкупчення ворсин із зменшенням чи відсутністю міжворсинчастого простору. У міжворсинчастому просторі в більшості плацент встановлені вогнища фібриноїду (неворсинчастого) (рис. 3.29), та мікровогнища крововиливу.



**Рис. 3.26** – Плацента жінки з передчасними пологами 33 тижнів вагітності (підгрупа живонароджених). Проліферація синцитіотрофобласта та синцитіальні вузлики. Забарвлення пікрофуксином. x200 №7169

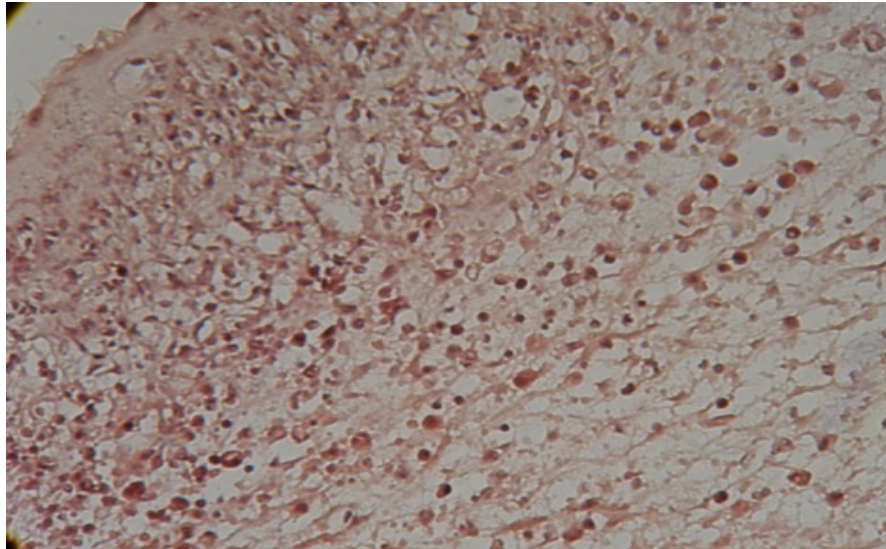


В II групі в підгрупі мертвонароджених (табл. 3.1) в 9 випадків перинатальної загибелі виявлено наявність розповсюджених запально-імунних процесів з хоріоамніонітом (4 випадки), поєднані з відшаруванням децидуальної оболонки. Також виявлено гострий хоріоамніоніт з децидуїтом (в одному випадку) з вогнищами некроза та вираженої дистрофії децидуальних клітин (рис. 3.27, 3.28, 3.29).



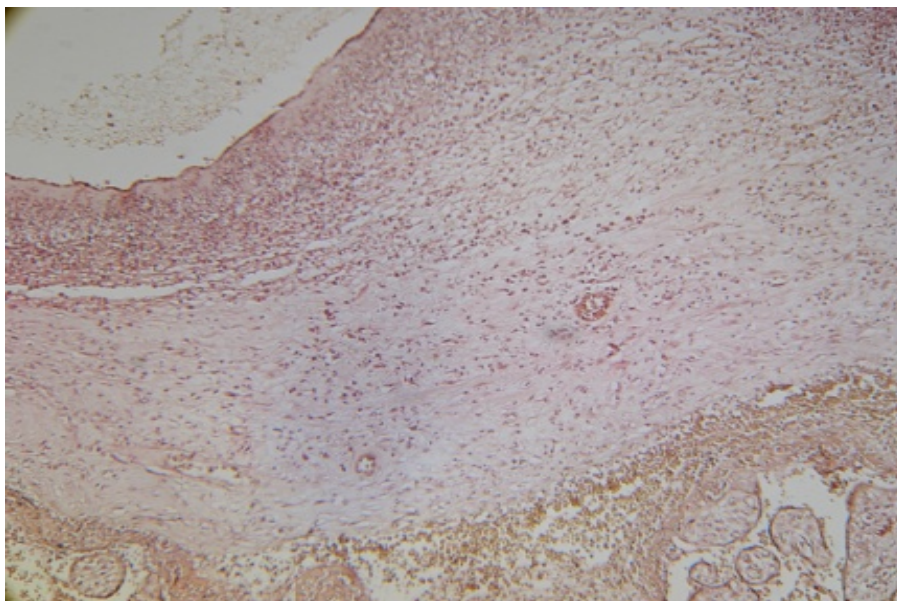
**Рис. 3.27** – Плацента жінки з передчасними пологамі 23 тижнів вагітності (підгрупа мертвонароджених). Відшарування децидуальної оболонки. Забарвлення гематоксилін-еозином. x100 №5716

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



**Рис. 3.28** – Плацента жінки з передчасними пологами 23 тижнів вагітності з гострим децидуїтом. (підгрупа мертвонароджених) Забарвлення пікрофуксином. x100 №5716

У випадках з наявністю децидуїту встановлені розповсюджені та виразні лімфоцитарні інфільтрати строми з поодинокими плазмоцитами, нейтрофілами та макрофагами. Запальні інфільтрати децидуальної оболонки виявлені в основному в плацентах жінок 22-36 тижнів вагітності. В поодиноких випадках ці інфільтрати розповсюджувались у міжворсинчастий простір.



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

В підгрупі мертвонароджених були знайдені порушення перфузії (повна) з відшаруванням децидуальної оболонки; дрібні вогнища аваскулярних ворин та набряку строми ворсин (табл. 3.1). Внутрішні материнські інфаркти були виявлені більш ніж в 90 % випадків з затримкою ворсинчастого дозрівання.

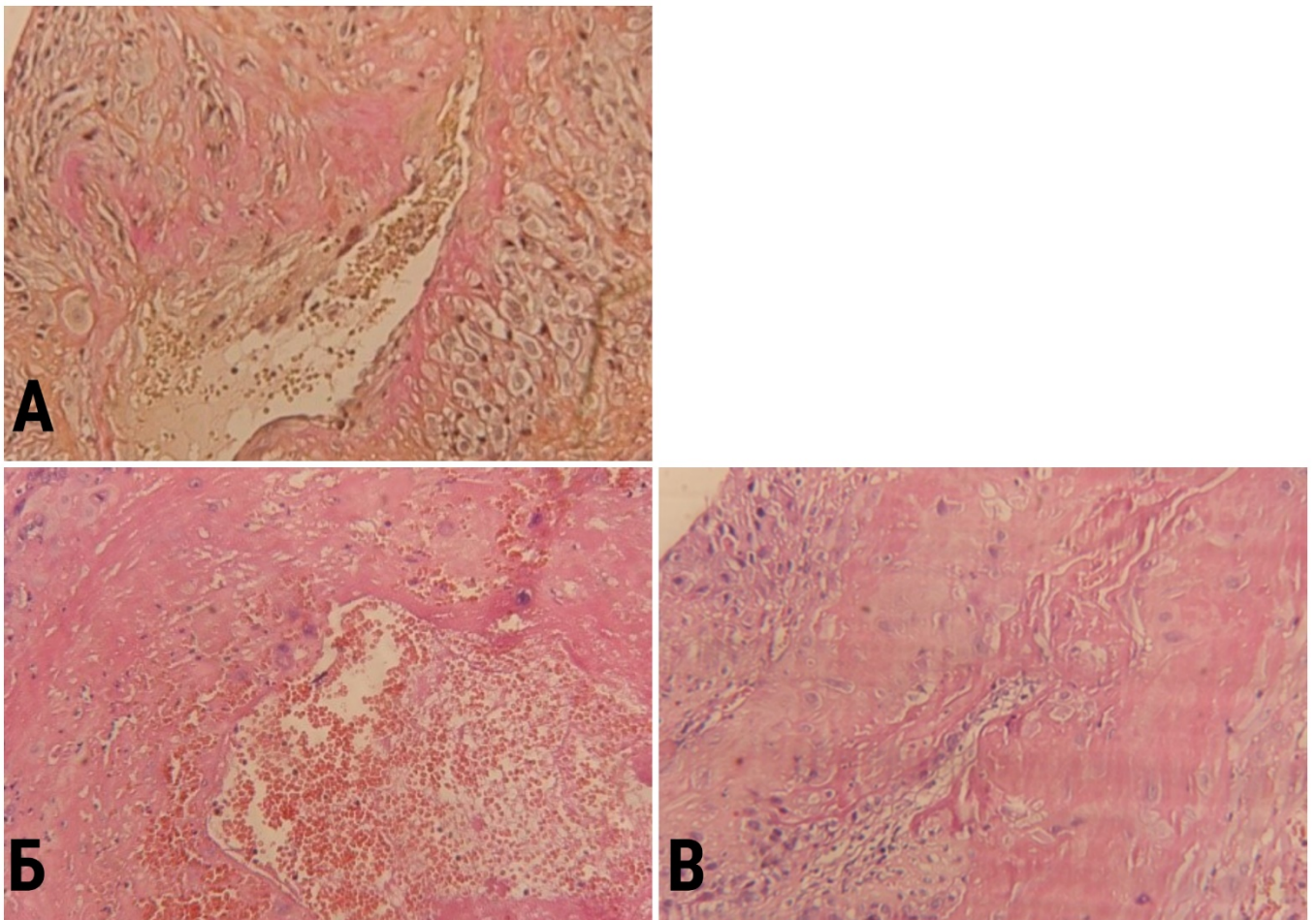
Аналіз отриманих даних II групи плацент жінок з перериванням вагітності виявив особливості плацентарних тканин на 22-36 тижнів гестації.

В ранні терміни гестації входили 3 випадки абортного матеріалу при вагітності, що не розвивається в ранніх термінах гестації (5-7 тижнів). При гістологічному дослідженні в двох випадках спостерігалось часткове відшарування плаценти. При цьому децидуальна оболонка була густо інфільтрована лімфоцитами, плазматичними клітинами, нейтрофілами, з множинними вогнищами крововиливів, повнокрів'ям судин, наявністю вогнищ фіброзу, некрозу. В базальному відділі оболонки виявлялися вогнища фібриноїдного некрозу, визначалася диффузна інвазія інтерстиціального трофобласту. В частині ендометріальних сегментів маточно – плацентарних артерій визначалися явища гестаційної перебудови. Ворсинчастий хоріон у двох випадках був представлений переважно мезенхімальними ворсинами, які були вкриті різним по товщині 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 спостерігалася наявність часткового міхурового заносу. При цьому поряд з ворсинами звичайних розмірів, спостерігалися вогнища великих ворсин, що були вкриті різко потоншеним синцитіотрофобластом. Строма цих ворсин була аваскулярною, з явищами набряку (табл. 3.1).

В одному випадку (який заслуговує уваги, в зв'язку з тим, що переривання вагітності у жінки було 4 рази) нами були виявлені гістологічні зміни, які в сучасній класифікації плацентарних ушкоджень (2016) трактують як децидуальна



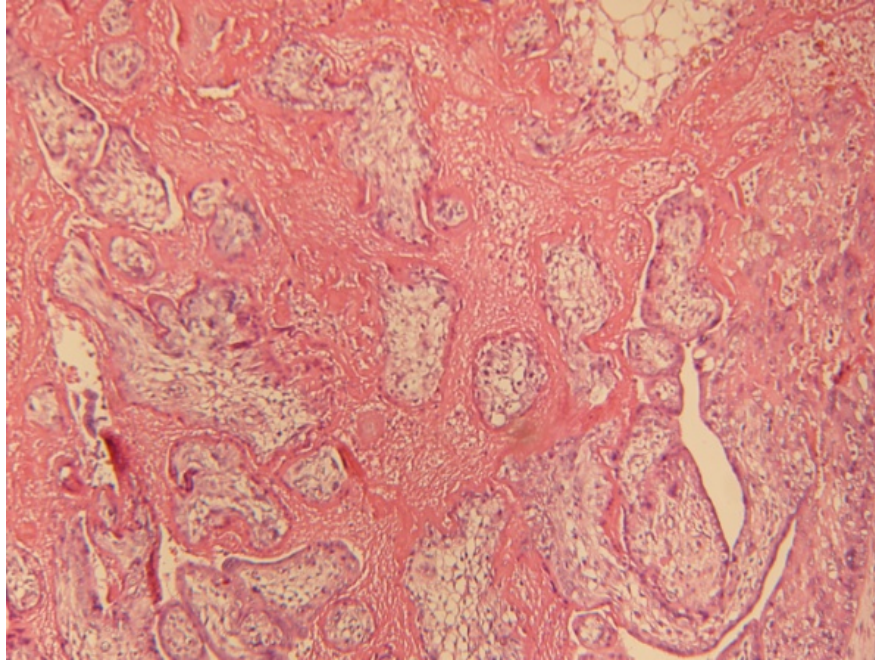
артеріопатія (табл. 3.1), в котрій знайдені зміни з наявністю плацентарних судинних змін (материнських) (рис. 3.30 А, Б, В; 3.33 А, Б, В).



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

При морфологічних дослідженнях були виявлені найбільші зміни в плаценті при антенатальній смерті плоду. При цьому загибель плоду відмічалась у терміні гестації 21-22 тижні. В плацентарному бар'єрі виявлено: запалення та відшарування децидуальної оболонки; незрілість ворсин хоріона більше ніж 70% послідів; відсутність та зниження компенсаторних реакцій в структурах середніх та термінальних ворсин хоріона, що пов'язане з повним зниженням фетально-васкулярної перфузії (згідно новій класифікації 2015) .

Крім того, гістологічно в досліджуваних тканинах виявлені мікроінфаркти та материнські внутрішні інфаркти з масивним перивільозним відкладенням фібрина з послідуочими змінами плодових структур з вираженою затримкою дозрівання ворсин та розповсюдженими вогнищами аваскулярних ворсин та фіброзом строми (рис. 3.31).



**Рис. 3.31** – Плацента жінки з перериванням вагітності у терміні 32 тижнів (ІІб група). Материнський внутрішній інфаркт. Забарвлення гематоксилін-еозином. x100 №7387

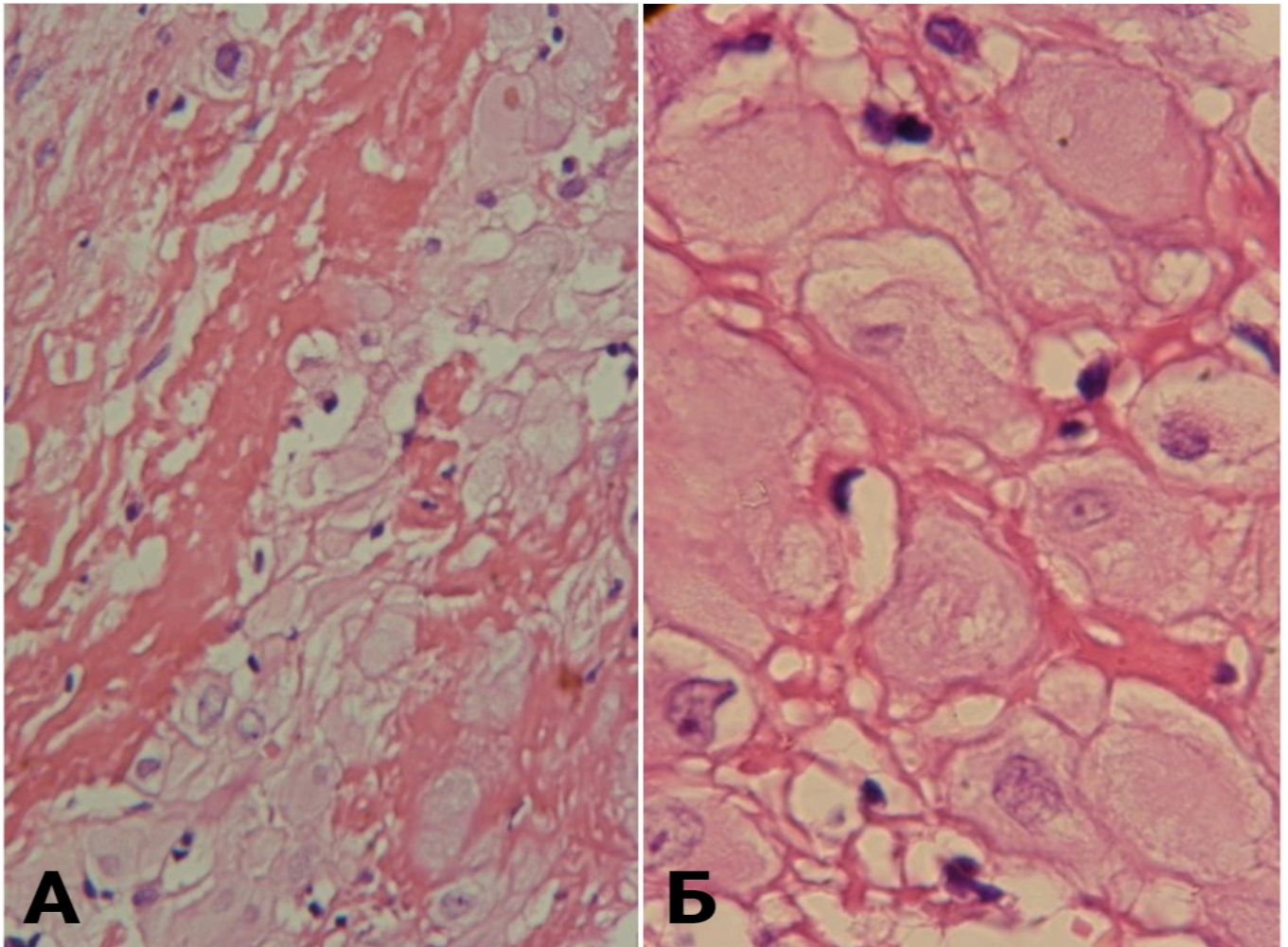
В ІІ групі досліджень плацент в терміні гестації 22-36 тижнів виявлені запально-імунні розповсюджені процеси материнської частини плаценти з хронічним децидуїтом (табл. 3.1). Відмічається виражена лімфо-плазмоцитарна інфільтрація децидуальної оболонки з прилеглими частинами хоріальних структур.

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

- нерівномірне потовщення з порушенням архітекτονіки децидуальної оболонки;

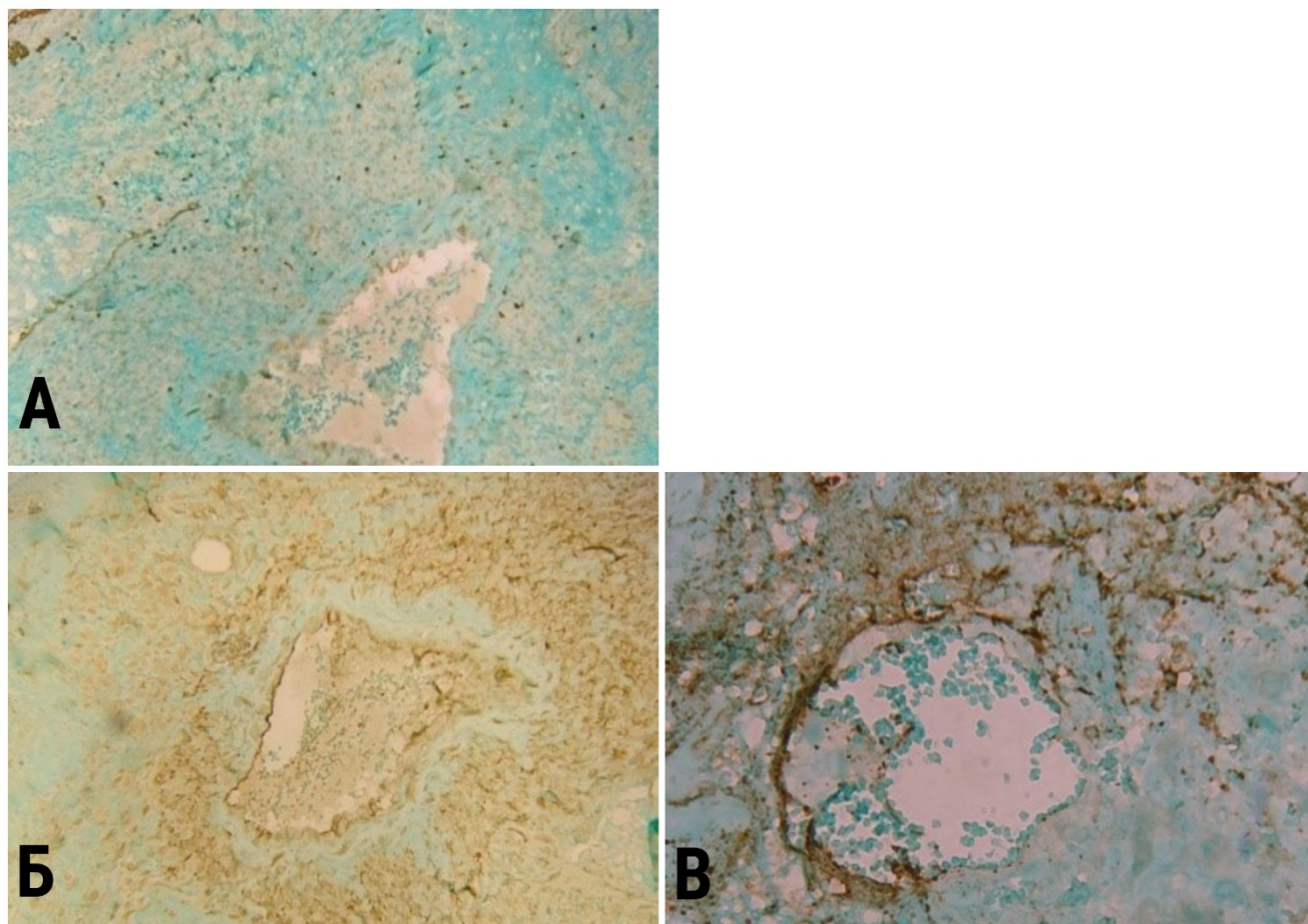


- мікровогнища множинних відшарувань децидуальної оболонки зі зменшенням функціональних можливостей плаценти;
- вогнища некрозу з різною конфігурацією ядер децидуальних клітин (рис. 3.32 А);
- апоптоз та виражена дистрофія ядер в децидуальних клітинах (рис. 3.32 Б);



**Рис. 3.32 А, Б** – Плацента жінки ІІб групи (22 тиждень гестації). Вогнища некрозу з різною конфігурацією ядер децидуальних клітин. Забарвлення гематоксилін-еозином. (А 3б.х100 ; Б 3б.х200) №5956

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



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

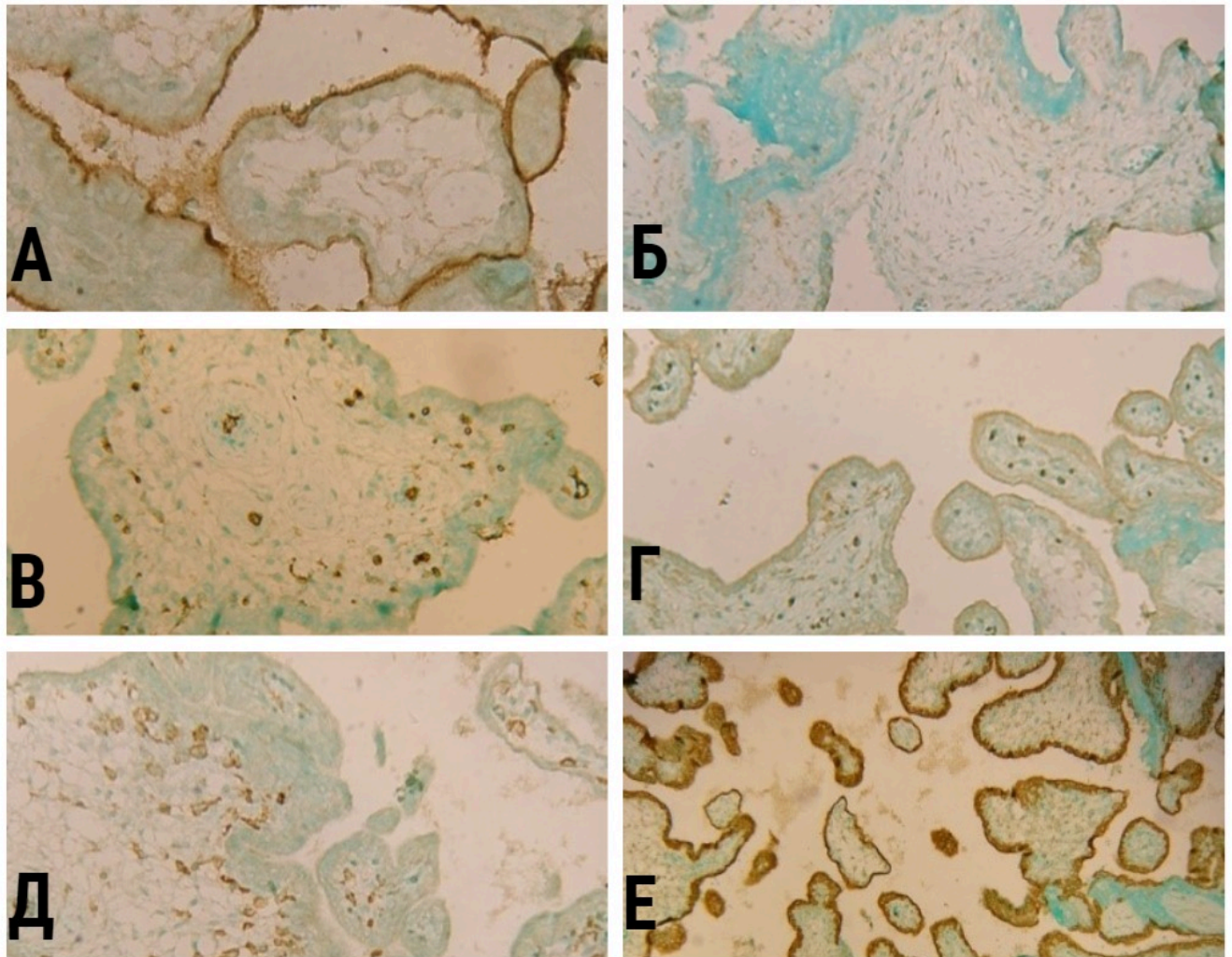
Всі перелічені зміни відносяться до порушень судинних структур в материнській частині плаценти, а потім в плодових структурах посліду.

Проведені імуногістохімічні дослідження ворсинчастого хоріону (табл. 3.2, 3.3) виявили:

- CD-105 - відмічається слабо позитивна експресія (0-1 бал) в структурах синцитія 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 в стромі ворсин 5-6 %, в 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 в ІІ групі підгрупах живонароджених та мертвонароджених в порівнянні з І групою встановлено (табл. 3.2), що маркери судинних структур плаценти були з відсутністю експресії у плацентах мертвонароджених та нерівномірно у живонароджених.

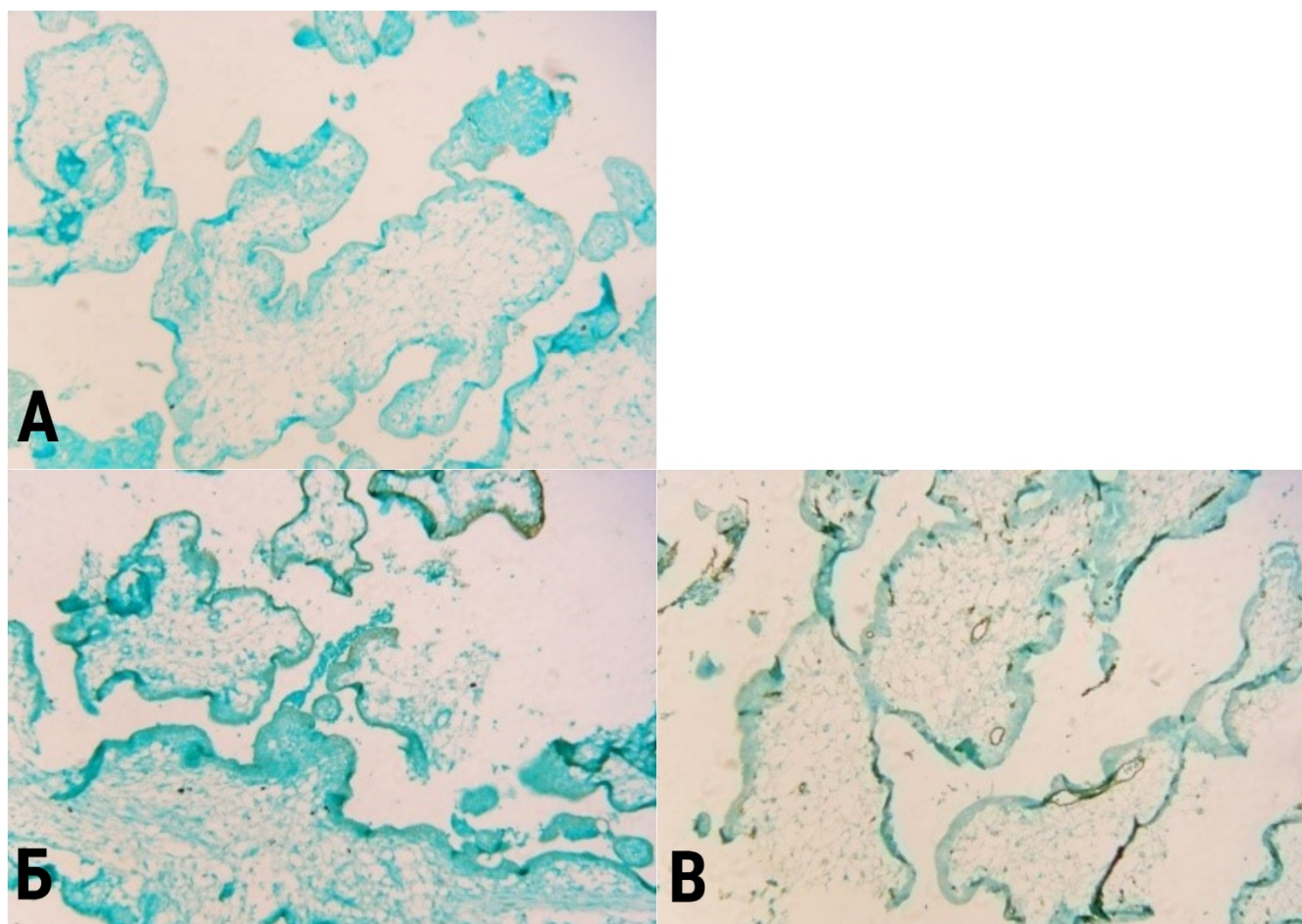
В підгрупі мертвонароджених виявлено імуногістохімічно зниження експресії VCL-2 в синцитії та стромі ворсин (табл. 3.3).



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

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

Імуногістохімічно в II групі дослідження були виявлені, в основному, в 95 % випадків (табл. 3.2, 3.3) не виявлено експресію маркерів судинних структур CD-105, VEGF, CD-31 (рис. 3.35 А, Б, В).

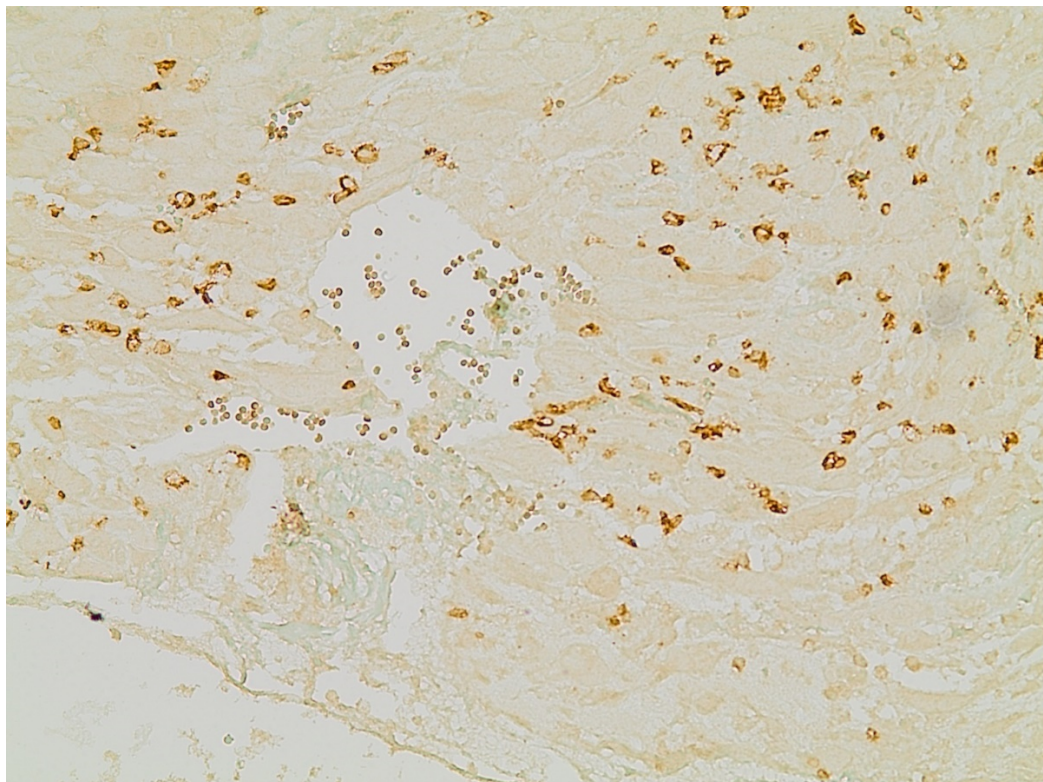


**Рис. 3.35 А-В** – Плацента жінки IIб групи (22 тиждень гестації). Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-105, VEGF, CD-31. x100 №5956

В II групі досліджень плацент жінок з мертвонародженими натуральні кілери (CD-56) виявлено збільшення експресії від 5 до 10 %, вогнищево 20-30 % в

децидуальній оболонці та поодинокі в хоріальній, в плідних оболонках вогнищево 10-20%, у ворсинах 1-5% (таб. 3.1).

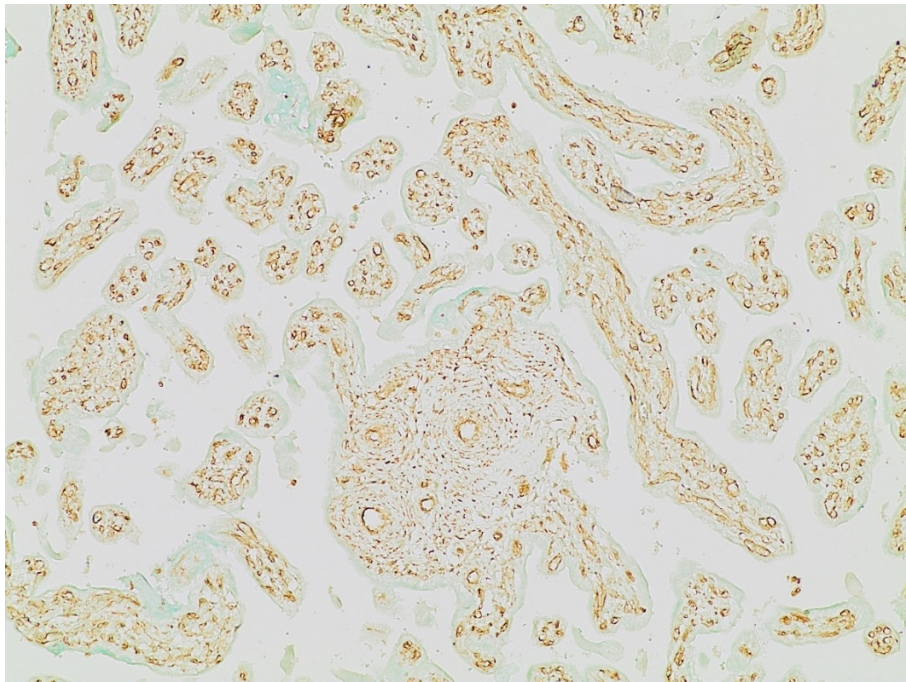
Міжнародна наукова спільнота пов'язує їх з порушенням хемо- та цитокінів, що призводять до змін регуляторів вродженого та адапційного імунітету та передчасним відшаруванням плаценти (рис. 3.36).



**Рис. 3.36** – Плацента жінки II групи (мертвонароджені) 24 тижнів гестації. Виражена експресія CD-56 в НК-клітинах децидуальної оболонки. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-56. x200 №6322

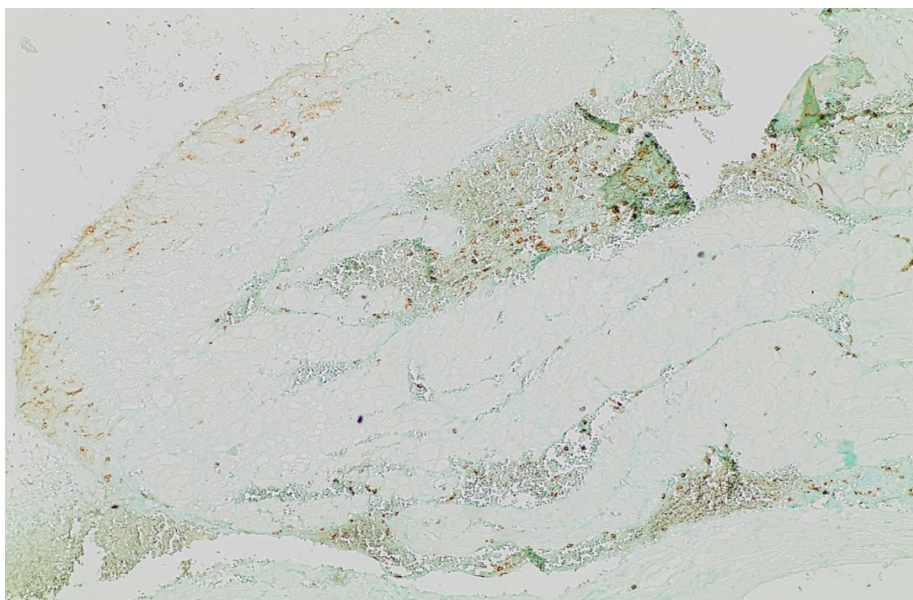
Імуногістохімічно встановлено збільшення експресії мезенхімального маркеру в тканинах строми ворсинчастого хоріону та фетальних судин. Радіометричний аналіз плацент при внутрішній загибелі плоду становив 10,4 Бк/кг в 90%. Дані зміни вказують на роль хронічного внутрішньоутробного опромінення на структури плацентарного бар'єру (рис. 3.37).



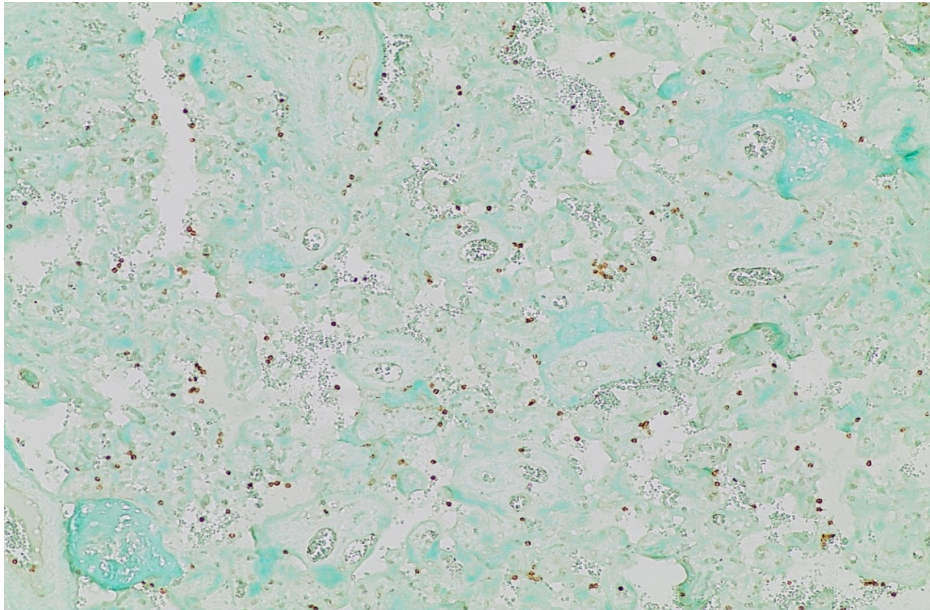


**Рис. 3.37** – Плацента жінки II групи (мертвонароджені) 24 тижнів гестації. Виразна експресія мезенхімального фактору віментину в мембранах судин ворсинок. Імунногістохімічна експресія МКАТ vimentin. x50 №6322

Також слід відмітити в групі мертвонароджених в частині досліджень виявлена нерівномірна експресія СЕА в цитоплазмі клітин децидуальної оболонки, плідних оболонках та в ендотелії судин ворсинчастого хоріона (рис. 3.38, 3.39)

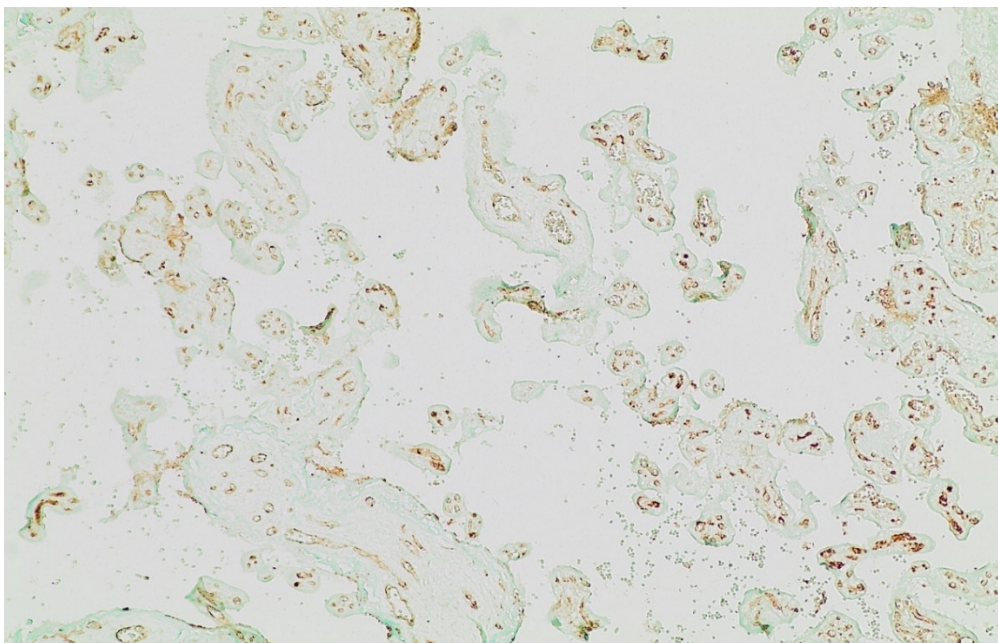


**Рис. 3.38** – Плацента жінки II групи (мертвонароджені) 24 тижнів гестації. Нерівномірна експресія карциноембріонального антигену СЕА у плідних оболонках. Імунногістохімічна експресія МКАТ СЕА. x50 №6322



**Рис. 3.39** – Плацента жінки II групи (мертвонароджені) 24 тижнів гестації. Нерівномірна експресія карциноембріонального антигену СЕА у ендотелії судин ворсинчастого хоріона. Імунногістохімічна експресія МКАТ СЕА. х50 №6322

При імунногістохімічному дослідженні CD-31 відмічається виразна реакція в ендотелії стовбурових, проміжних та термінальних ворсин 3 бала (рис. 3.40).

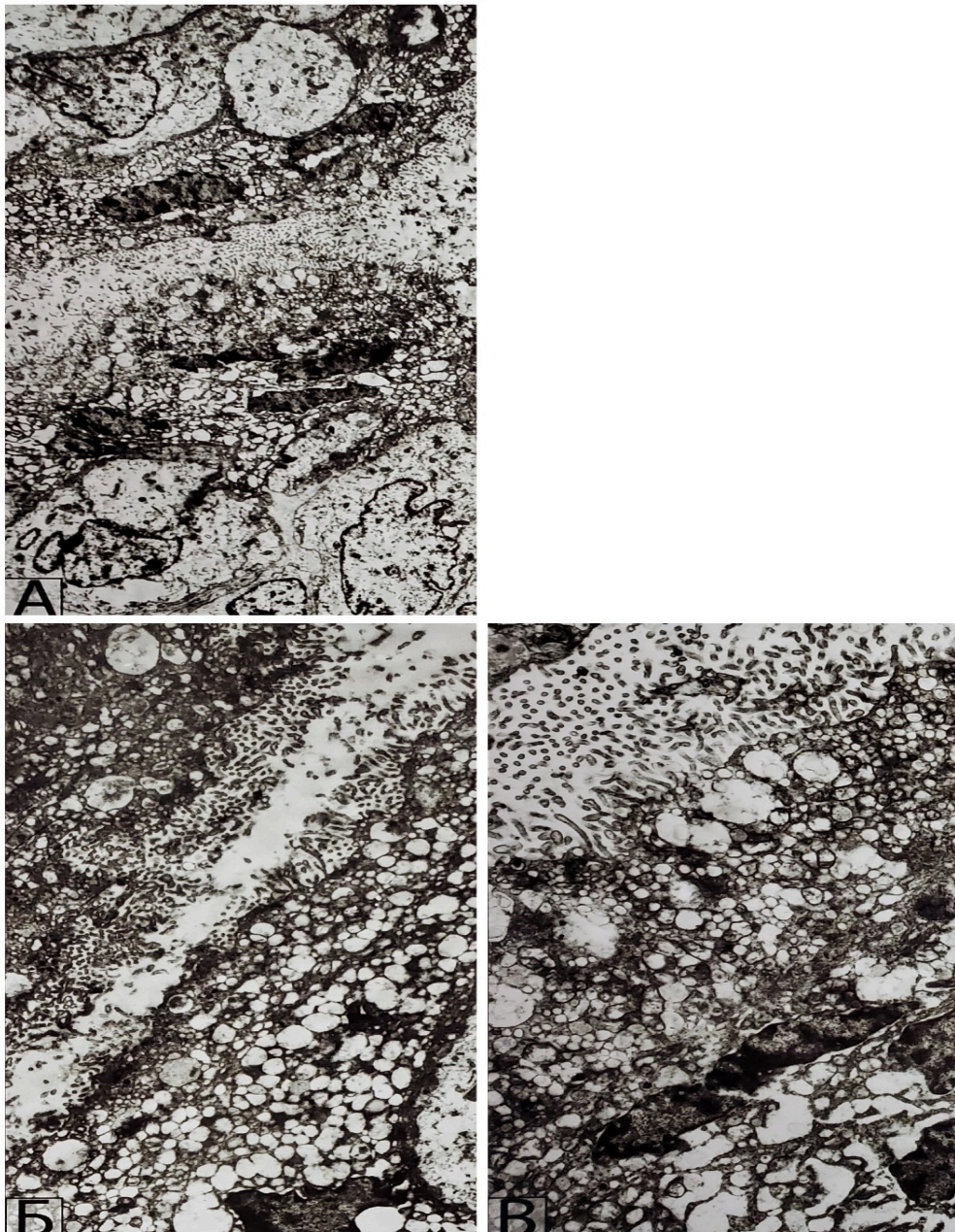


**Рис. 3.40** – Плацента жінки II групи (мертвонароджені) 32 тижнів гестації. Помірна експресія ендотеліального фактору CD-31 в судинах ворсин. Імунногістохімічна експресія МКАТ. х50 №7658



Електронно-мікроскопічно в структурах синцитіо-трофобласту плаценти при передчасних пологах виявлені зміни вогнищ синцитію та деструкцію і нерівномірність піноцитозних везикул. Зменшення крист в мітохондріях, нерівномірність ядерних структур із скупченням хроматину під оболонкою ядра.

Виразні зміни на ультраструктурному рівні встановлені в синцитії однієї з плацент групи антенатальної загибелі плоду (строк гестації 32 тиж.), з наявністю децидуальної артеріопатії з поверхневою імплантацією. В синцитії цієї плаценти ворсин ультраструктурно наявні деструктивні зміни органел синцитіотрофобласту. Виявлені мітохондрії котрі зазнали деструкції з осміофільним матриксом. В поверхневому синцитії виразна реакція ендоплазматичного ретикулума з десквамацією ворсинок. Ядра з лізисом хроматину (рис. 3.41 А-В).



**Рис. 3.41 А-В** – Трансмисійна електрона мікрофотографія плаценти жінки Пб підгрупи 32 тижні гестації. Ультраструктурно відмічається ущільнення матриксу та мітохондрії із 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 на фоні 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 та стовбурових ворсин хоріона з порушенням перфузії та зниженням експресії імуногістохімічного маркеру CD-31 в ендотелії судин.

Особливості впливу внутрішнього опромінення на плацентарні структури ІІІ 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 ІІІ групі були виявлені зміни в структурах плацентарного бар'єру в залежності від накопичення радіонуклідів. Найбільші структурні зміни спостерігалися в ІІІ гр., особливо більше 4,8 Бк/кг. Які проявлялись мікровогнищами відшарування децидуальної оболонки (таб. 3.1 ).

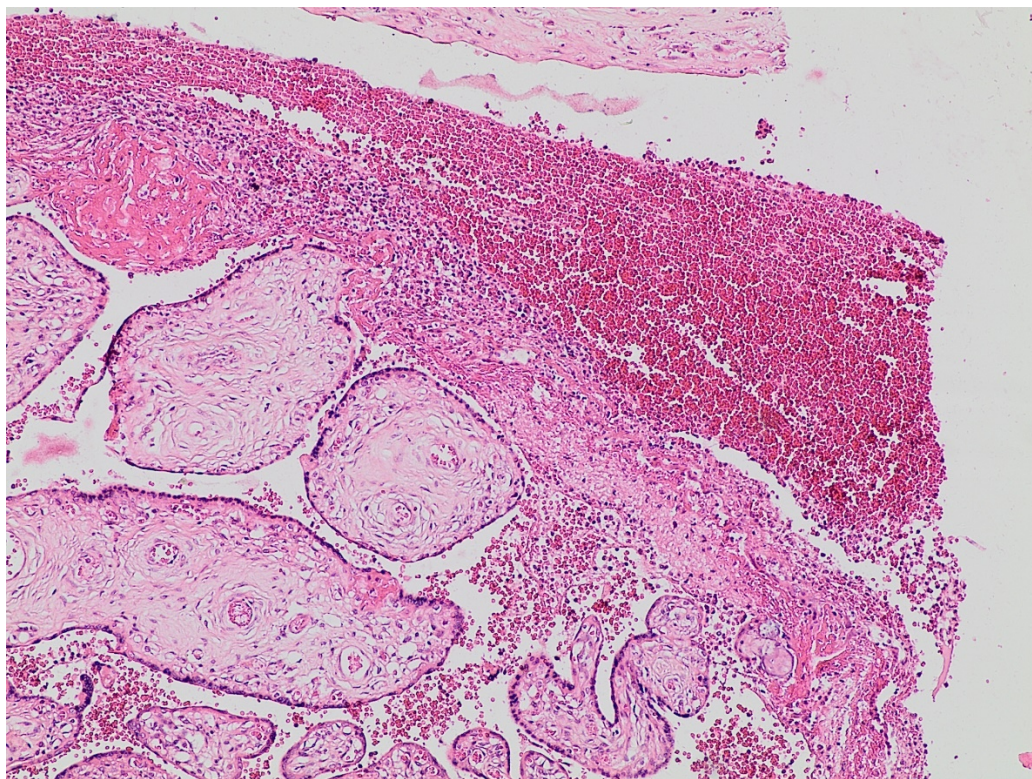
Виявлено особливості змін морфологічних досліджень при наявності радіонуклідів в тканинах плаценти більше 4,8 Бк/кг в ІІІ групі, з наявністю достовірної проліферації та збільшенням багатоядерних синцитіальних вузликів (таб. 3.4 ). Також, були прояви материнських внутрішніх інфарктів, дисхронозу розвитку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

Значні структурні зміни відмічались в плацентах ІІІ групи досліджень з питомою масовою активністю радіонуклідів більше 4,8 Бк/кг.

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



ворсин, який згідно новій класифікації відноситься до материнсько-стромальних ушкоджень, які призводять до ризику передчасних пологів (рис. 3.42 ).

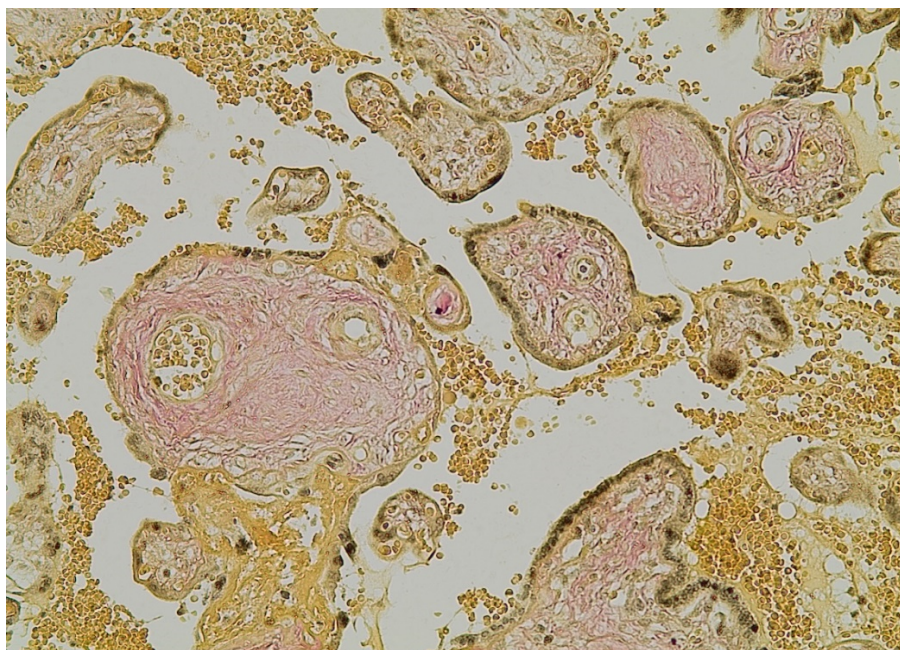


**Рис. 3.42** – Плацента жінки III групи (питома масова активність радіонуклідів  $>4,8$  Бк/кг) 22 тижні гестації. Вогнище відшарування та крововиливу по поверхні децидуальної оболонки. Забарвлення гематоксилін – еозином.  $\times 50$  №5803

Також в цій групі спостерігались відклади солей кальцію під децидуальною оболонкою.

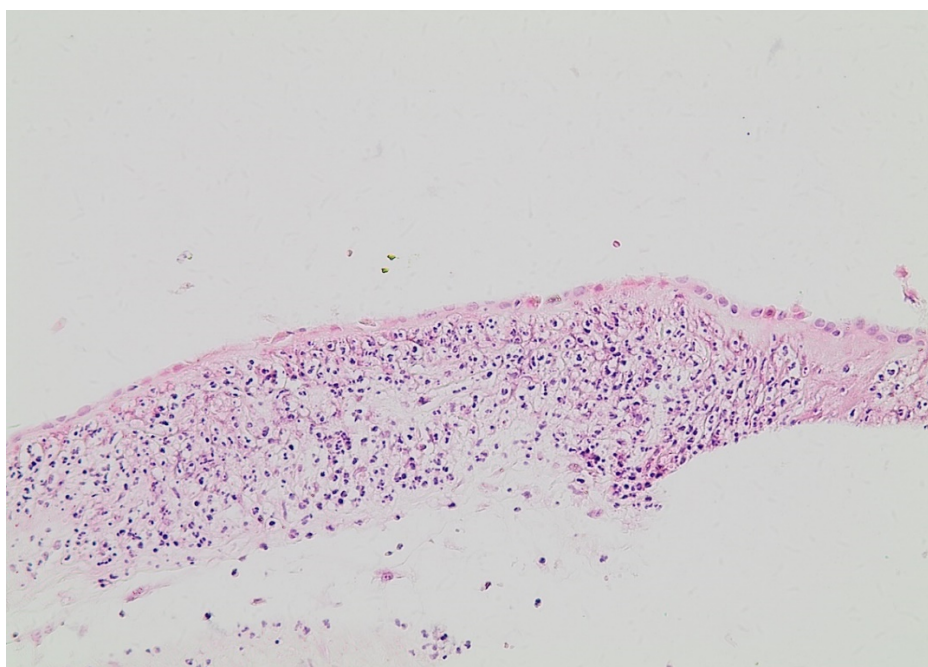
В плацентах цієї групи виявлено фіброз строми ворсин проміжних та термінальних ворсин (рис. 3.43 ).





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

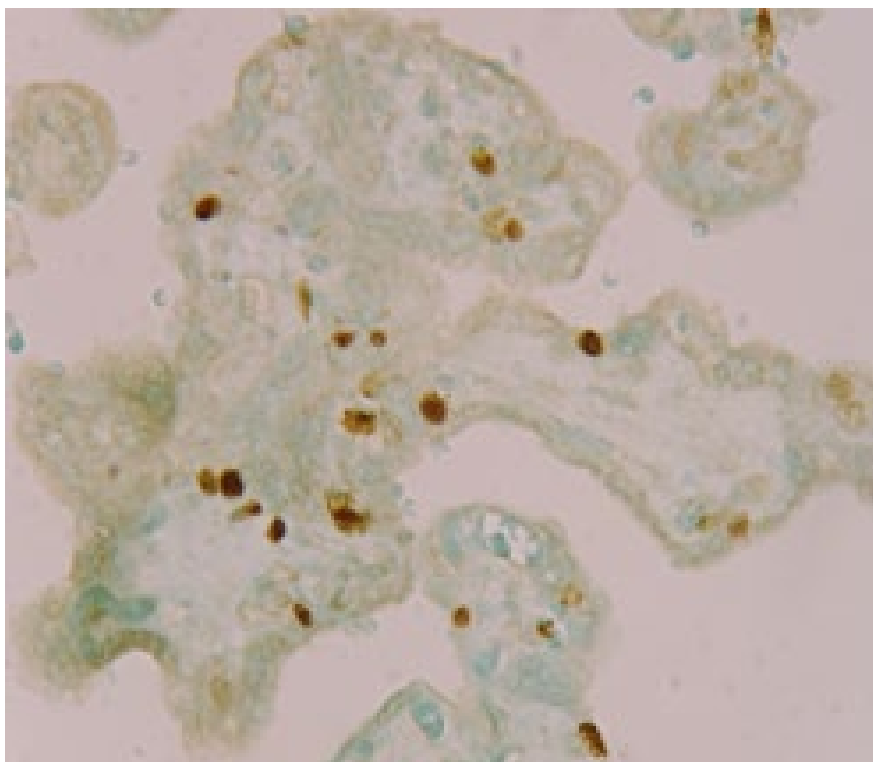
В даній групі у 80 % плацент спостерігаються зміни у плідних оболонках, які представлені у вигляді потоншення, крововиливів та запалення (рис. 3.44 ).



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

Проведено нами в цій групі імуногістохімічне дослідження проліферативного маркеру Кі67. Виявило підвищення проліферації в структурах ворсин хоріона в залежності від дози накопичення Cs137, в порівнянні з I групою.

Імуногістохімічно було встановлено збільшення маркеру проліферації Кі-67 в ядрах синцитію, стромі ворсинок середніх та термінальних, який збільшувався в 2,8 рази (рис. 3.45 ).

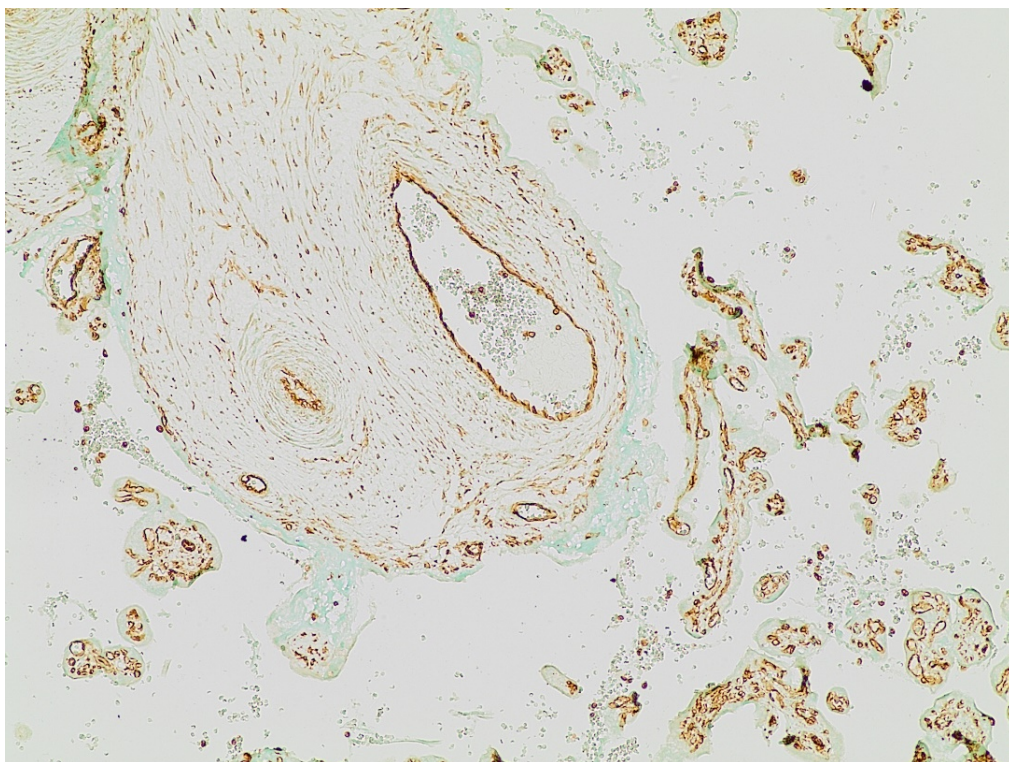


**Рис. 3.45** – Плацента пацієнтки III групи (питома масова активність радіонуклідів >4,8 Бк/кг) 30 тижнів гестації. Імуногістохімічна експресія Кі67 в ядрах синцитіях та цитотрофобласта ворсинок. x400 №5957

Оскільки проліферація клітин лежить в основі метаплазії, отримані нами дані можуть служити для подальшого дослідження перинатального онкогенеза і, можливо, будуть мати значення для виявлення механізмів трансплацентарного канцерогенезу. Встановлено та описано радіаційний апоптоз (імуногістохімічно методом TUNEL). Апоптозний індекс перевищував в структурах ядер синцитія, цитотрофобласта та ендотелію фетальних судин в три рази, ніж показник групи

порівняння. Так званий радіаційний апоптоз був відзначений в ядрах ендотелію fetalних судин і стромальних клітин, що важливо для ембріогенезу плоду.

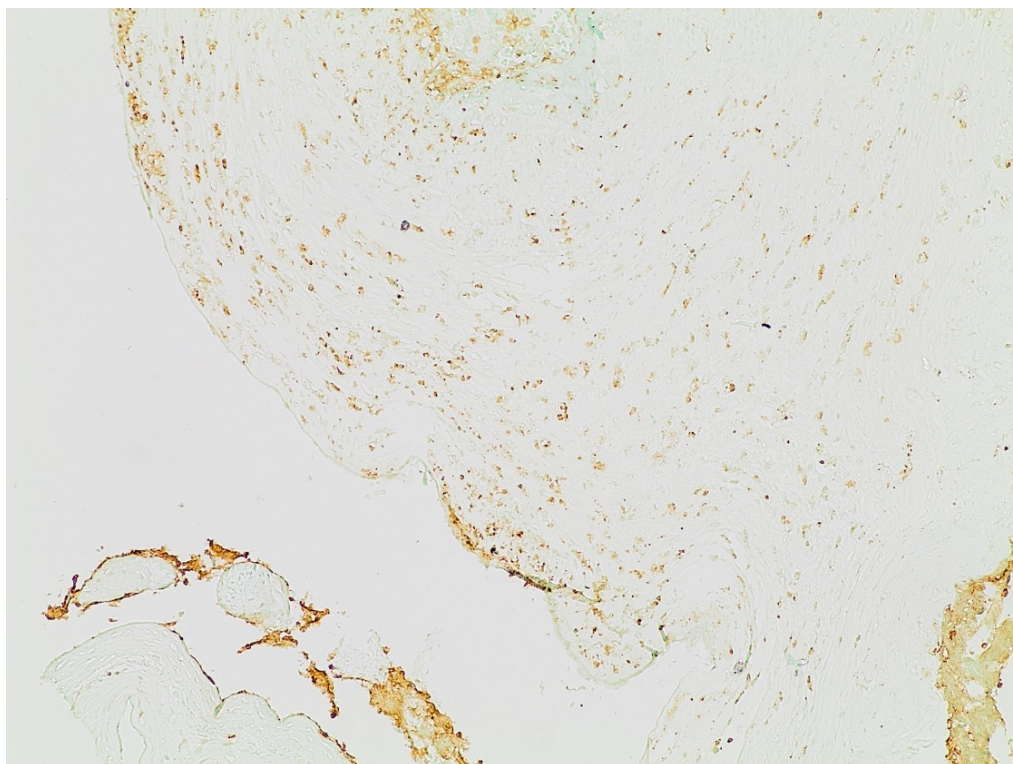
При імунногістохімічному дослідженні мезенхімального фактора віментин відмічається помірна реакція в стромі стовбурових, проміжних та термінальних ворсин ( 2 бала) (рис. 3.46 ).



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

Позитивна експресія карциноембріонального антигена (СЕА) відмічалась в цій групі досліджень в плацентах жінок з питомою масою радіонуклідів >4,8 Бк/кг в децидуальній та хоріальній тканинах, а також в підлеглій тканині. В поодиноких ворсинах вогнищева реакція на СЕА була в синцитії, а також в ендотелії fetalних судин дрібного калібру (рис. 3.47 ).



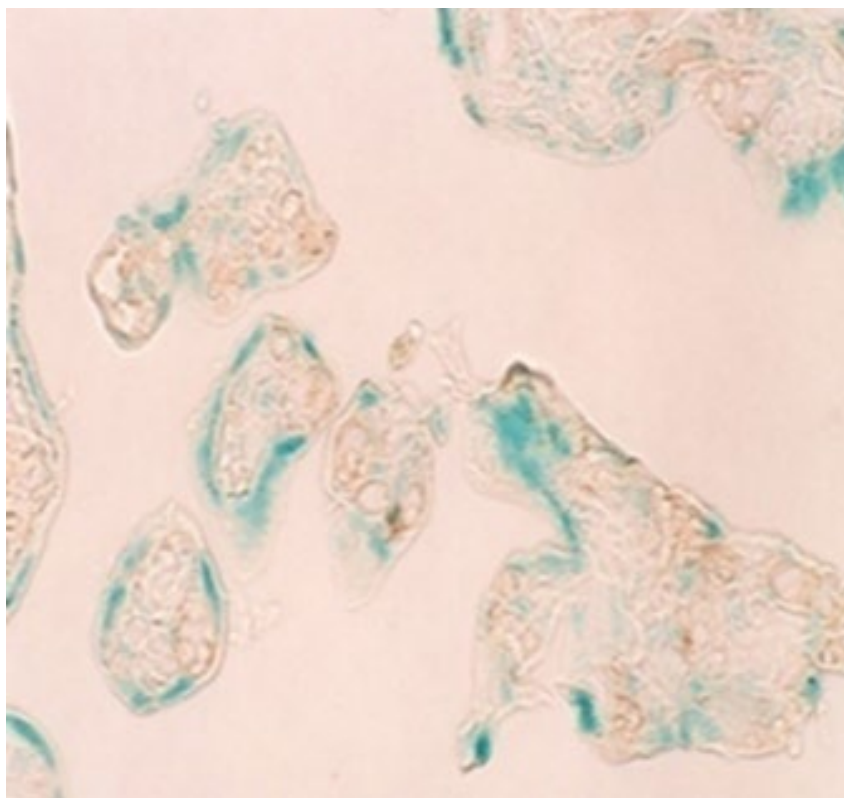


**Рис. 3.47** – Плацента жінки III групи (питома масова активність радіонуклідів  $>4,8$  Бк/кг) 22 тижні гестації. Виразна експресія СЕА в клітинах хоральної оболонки. Імуногістохімічна експресія МКАТ СЕА.  $\times 100$  №5698

В частині плацент II групи ( 22 тижні вагітності) при антенатальній загибелі плоду відмічено накопичення радіонуклідів 10,4 Бк/кг та більше.

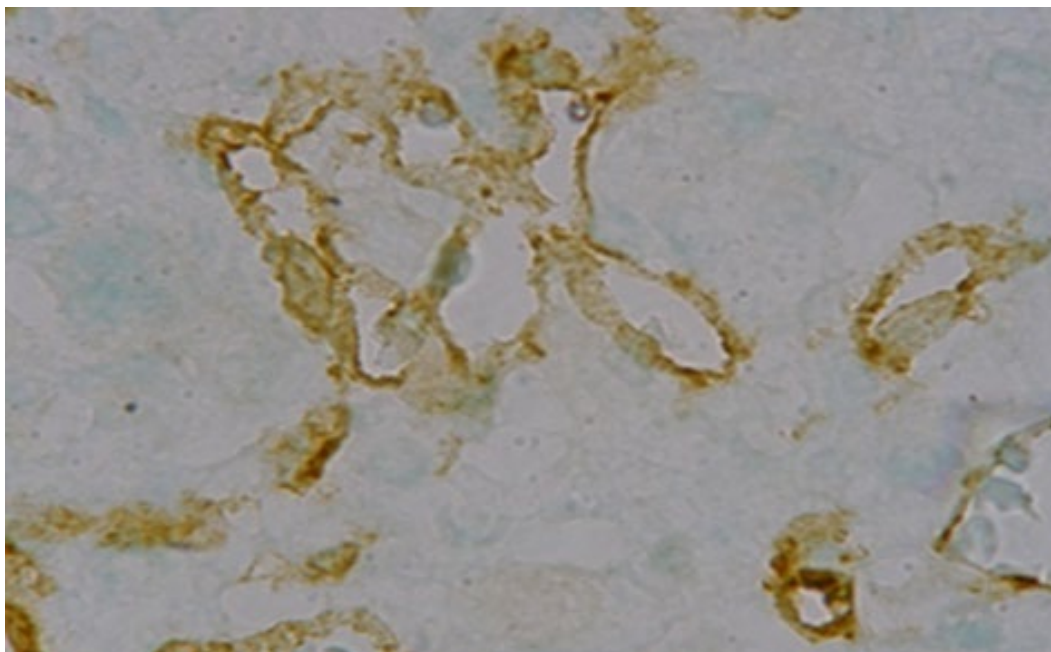
Аналіз отриманих даних нашого імуногістохімічного дослідження СЕА (карциноембріональний антиген) встановив, що при морфологічному дослідженні плацент першої групи жінок віком 18-39 років відповідають термінам гестації 39-40 тижнів вагітності виявлені зміни, які були представлені в лабораторії морфології протягом попередніх років.

В II та III групах при внутрішньому опроміненні були виявлені зміни в структурах плацентарного бар'єру в залежності від накопичення радіонуклідів особливо більше 4,8 Бк/кг. Найбільші структурні зміни спостерігалися в III гр., особливо при імуногістохімічному дослідженні СЕА. Експресія виявлена в мембранах та цитоплазмі стромального компоненту ворсинок (рис. 3.48).



**Рис. 3.48** – Плацента жінки III групи (питома масова активність радіонуклідів >4,8 Бк/кг) 39 тижнів гестації. Експресія СЕА в мембранах та цитоплазмі стромального компоненту ворсинок. Імуногістохімічна експресія МКАТ СЕА. x100 №6333

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



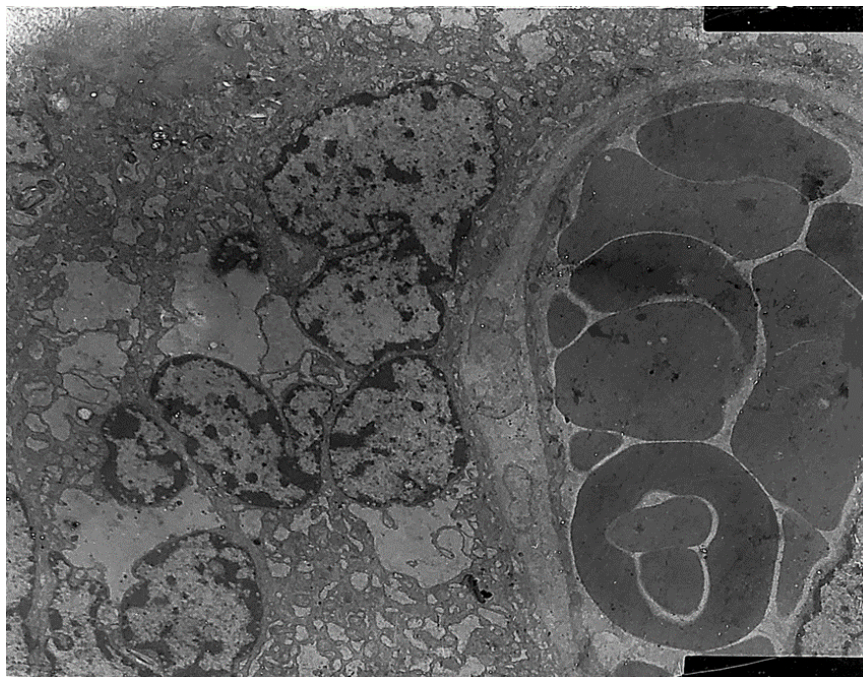
**Рис. 3.49** – Плацента жінки III групи (питома масова активність радіонуклідів  $>4,8$  Бк/кг) 39 тижнів гестації. Експресія СЕА в мембранах судин. Імунногістохімічна експресія МКАТ СЕА.  $\times 630$  №6333

Виявлені нами дані підвищення експресії СЕА в структурах плаценти при внутрішньому опроміненні у жінок потребують подальших досліджень у плані розширення різноманітних типів антигенів СЕА. А також дослідження в динаміці гестації, котрі можливо мають значення в перинатальному онкогенезі.

Слід звернути особливу увагу на зміни експресії СЕА, який не виявляється (по даним літератури та нашим дослідженням в плацентах при фізіологічній вагітності та при різній патології). Однак в наших дослідженнях при внутрішньоутробному опроміненні цезієм-137 виявлено наявність канцер-ембріональної експресії в структурах плацентарного бар'єру.



Ультраструктурно в ядрах синцитіальних вузликів в усіх досліджуваних групах рівномірний розподіл хроматину. Однак, в дослідженнях при стресі обумовленим внутрішнім опроміненням виявлені ядра синцитіотрофобласту з нерівномірною конденсацією хроматину під оболонкою (рис. 3.50).



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

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

Виявлено, що при накопиченні радіонуклідів більше 4,8 Бк відмічається часткове та повне зниження судинної перфузії в материнській та плодовій структурах плаценти (згідно новітній класифікації патологія плаценти, Амстердам 2015).

Одним із головних результатів наших досліджень є виявлення виразної експресії СЕА в цитоплазмі ендотелія судин фетального типу, та вогнищ децидуальної оболонки ,при внутрішньому опроміненні інкорпоровуванням радіонуклідами  $>4,8$  Бк/кг та більше. В плацентах ІІ групи при антенатальній гибелі плоду відмічено накопичення радіонуклідів  $10,4$  Бк/кг та більше.

В заключенні цього підрозділу 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  $>4,8$  Бк/кг. Експресія канцерембріонального антигену 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 «протоколу дослідження плаценти» виявлено в основному масу плаценти від  $425,0$  гр. до  $600,0$  гр., крім одного випадку  $380,0$  гр. Що вказує на поодинокі випадки гіпо- та гіперплазії плаценти в порівнянні з І групою (в середньому  $500,0$  гр.).

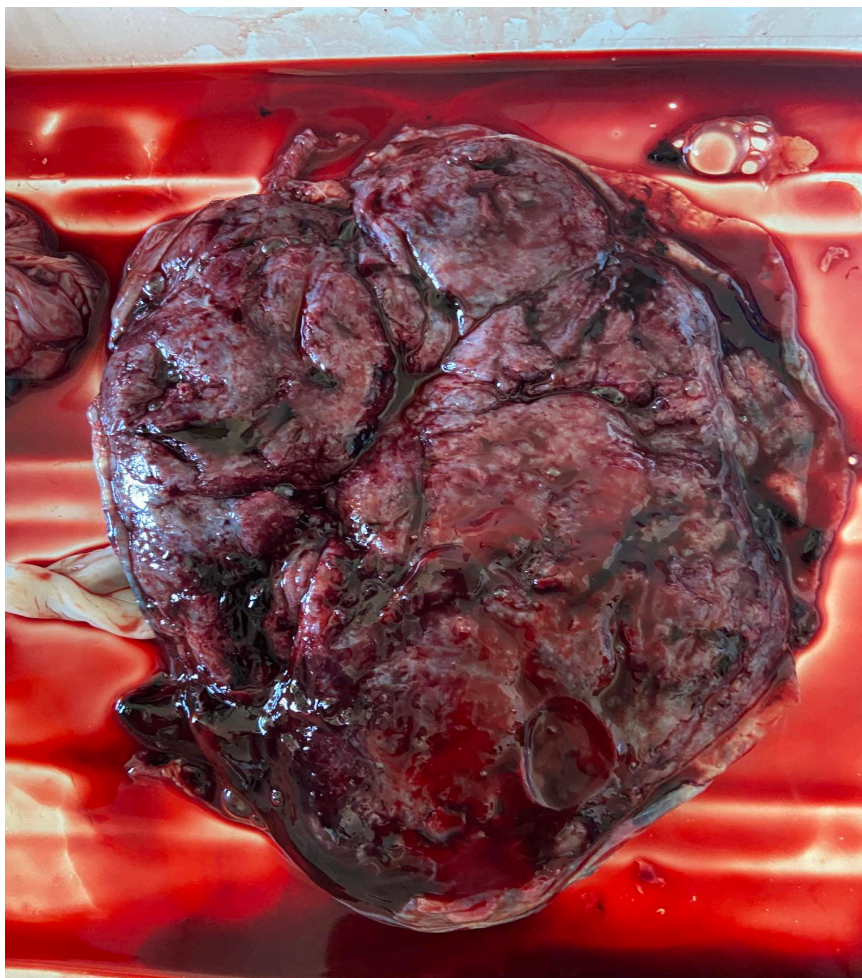
При огляді плодової частини плаценти було відмічено тромбоз судин плаценти та пуповини, наявність білих інфарктів центрального та/або крайового розташування, та псевдовузли пуповини. У жінок які перенесли коронавірусне інфікування в ранній період вагітності зміни пуповини та поширеність інфарктів мали більш виражений характер (рис. 3.51).



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

При огляді материнської частини плаценти було відмічено наявність кальцифікатів дифузного поширення, білі інфаркти центрального та крайового розташування, та згустки крові тромботичного характеру. У жінок які перенесли коронавірусне інфікування в ранній період вагітності поширеність кальцифікатів та інфарктів має більш виражений характер (рис. 3.52).





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

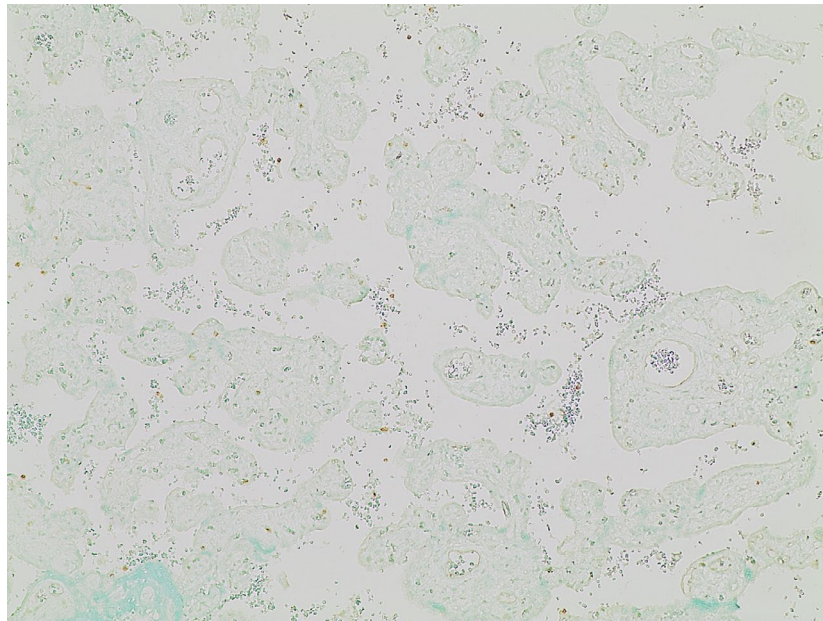
В основному гістологічно плаценти відповідали строку гестації (38-40 тижнів вагітності та не були уражені запальним процесом). В плаценті одної жінки з гіпоплазією відмічались мікровогнища лімфоцитарних інфільтратів в децидуальній оболонці та вогнища незрілих ворсинок (затримка дозрівання ворсинок), мікровогнища екстравільозного трофобласту.

В плацентах з гіперплазією (600,0 гр.) відмічалась наявність гістопатологічних змін у вигляді внутрішніх материнських інфарктів, відкладень фібрину та тромбоз в судинах децидуальної оболонки, а також міжворсинчатих структур (табл. 3.1).

В пуповині у 20 % спостережень плацент з COVID-19 відмічено помірний набряк вартонових драглей. А в децидуальній оболонці частина судин з повнокров'ям, що мало місце при гіперплазії плаценти (табл. 3.1).

В основному структура плацентарного бар'єру (більше 50 %) відповідала строку гестації 38-40 тижнів вагітності (табл. 3.1).

При дослідженні СЕА в IV групі не виявлена експресія в клітинах стромі та мембранах судин ворсин термінальних та середніх (рис. 3.53 ).



**Рис. 3.53** – Плацента жінки IV групи (з перенесеним COVID-19 в 20 тижнів гестації) 40 тижнів гестації. Експресія СЕА не виявлена в клітинах стромі та мембранах судин ворсин. Імунногістохімічна експресія МКАТ СЕА. X200 №8018

Аналіз отриманих даних (табл. 3.3) виявив більше ніж в 60 % плацентах жінок що перенесли COVID-19 (IV гр.) в прозорі фетальних мікросудин в термінальних та проміжних ворсинок наявність тромбів, мікротромбів з вираженою експресією тромбоспондина-1 (рис. 3.54 А, Б, В) в порівнянні з I групою. Крім того в частині судин відмічався частковий пристіночний тромбоз.



Таблиця 3.4

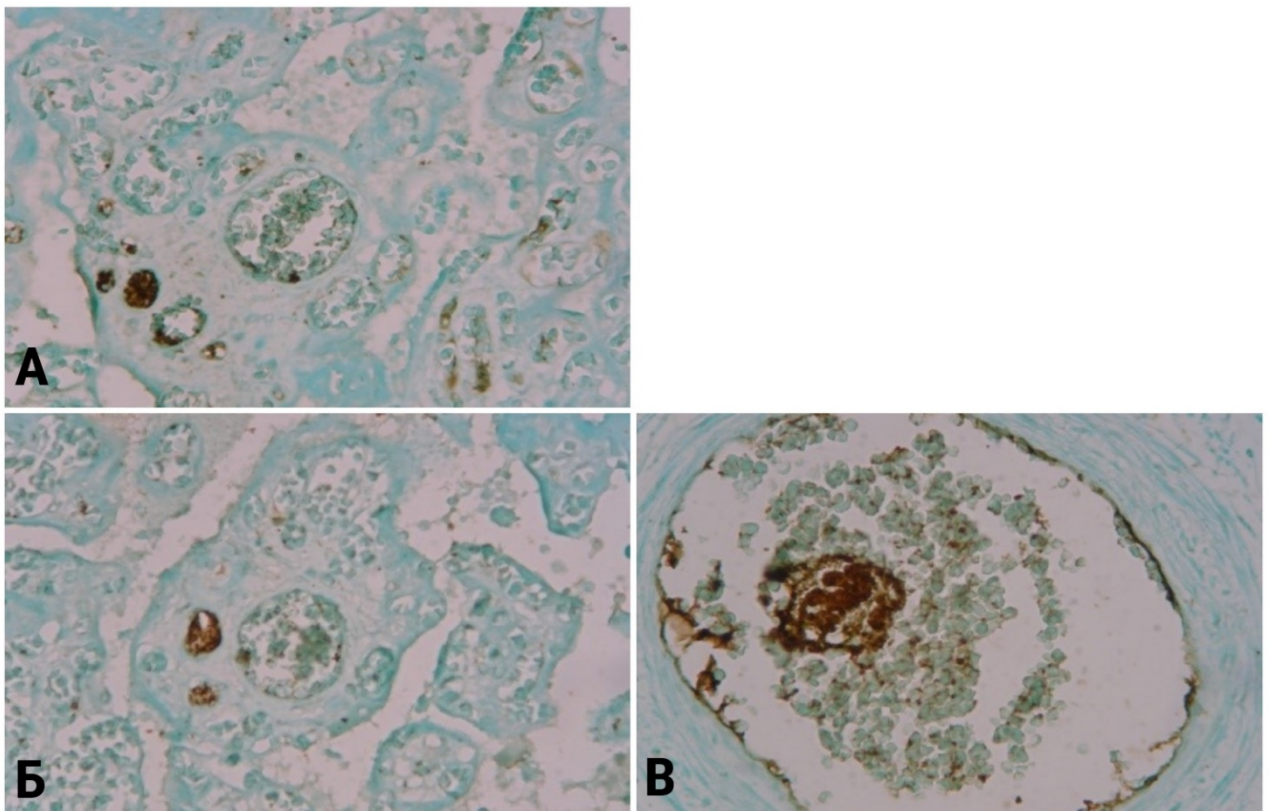
**Імуногісохімічні особливості експресії тромбоспондина - 1 в плацентах жінок, що перенесли COVID-19**

Групи плацент	Експресія тромбоспондину-1 (в %)			
	Тромбоз судин	Частковий тромбоз	В базальних мембранах	В міжворсинчастому просторі
4а гр. COVID-19 (в I половині гестації)	21	12	10,2	1**
4б гр. COVID-19 (в II половині гестації)	40,5	18	11	1*
1гр. Порівняння	1*	1*	1*	1

*Примітки: \*-поодинокі; \*\*-вогнища.*

Встановлено більш виразні зміни експресії TSP-1 в плацентах жінок, які перехворіли COVID-19 в 2-й половині гестації.

В порівняльній групі (позитивна експресія тільки в поверхневих мембранах ворсинок та в міжворсинчастому просторі (табл. 3.4).



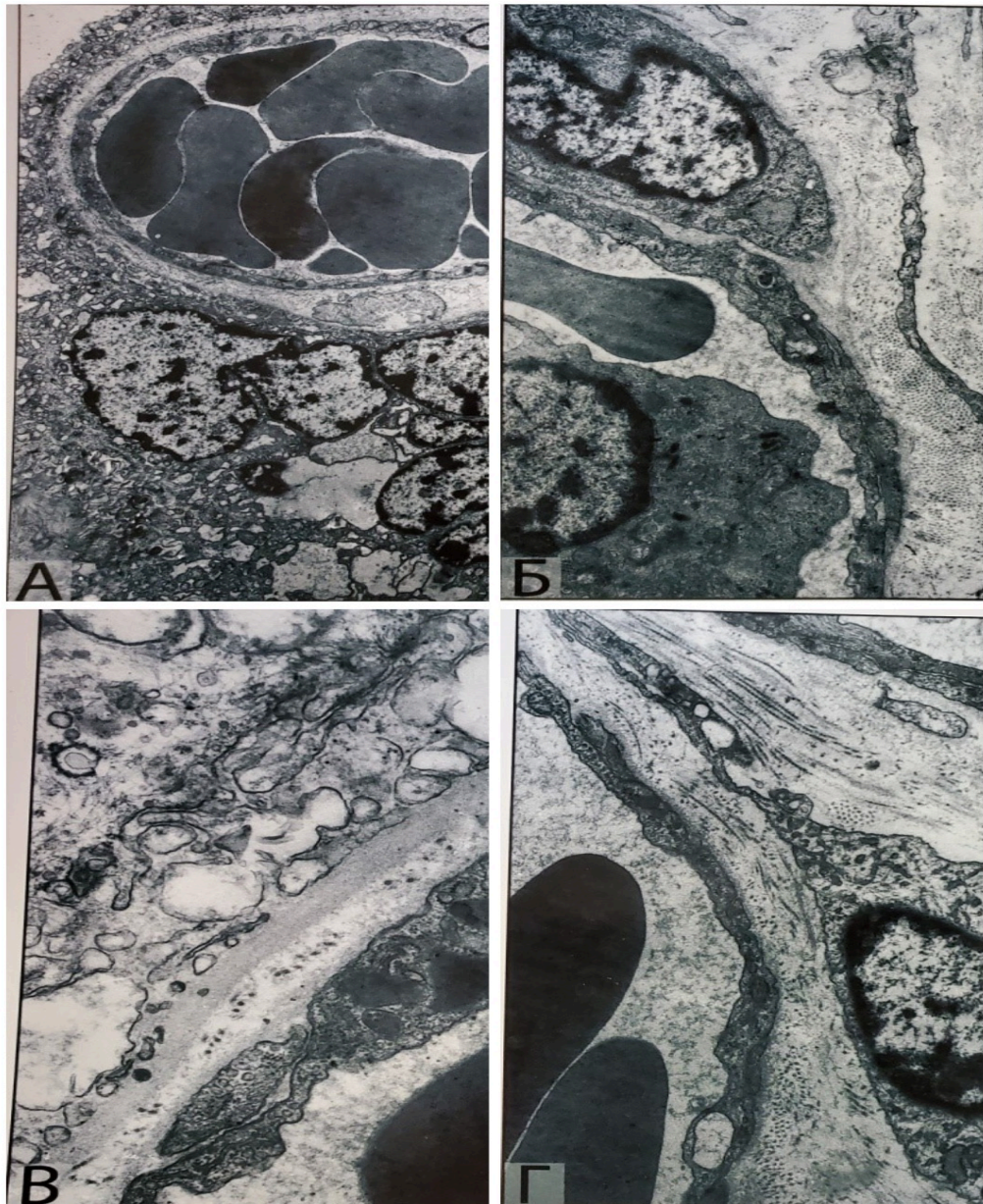
**Рис. 3.54 А-В** – Плацента жінки IV групи (з перенесеним COVID-19 в 26 тижнів гестації) 37 тижнів гестації. Виразена позитивна експресія TSP-1 в тромбах фетальних мікросудин ворсин хоріона в плаценті жінки, яка перенесла

COVID-19. Імуногістохімічна експресія МКАТ TSP-1. Рис. А, Б- х100. Рис. В- х400 №7723

Наявність тромбозу ми фіксували також при дослідженні плацент на рутинних методах дослідження з забарвленням гематоксилін-еозин та ван-Гізон, однак вони не виявлялися в дрібних судинах (капілярах, венулах).

Таким чином, імуногістохімічні 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, що перенесли коронавірусне інфікування та може бути імуногістохімічним маркером критерію тромбозу фетальних судин плаценти.

Паралельно в плацентах жінок, що перенесли короно вірусне інфікування проводилось дослідження ультраструктури плацентарного бар'єру. Було виявлено наявність віріону COVID-19 в структурах синцитіотрофобласта (рис. 3.55 В). В мікросудинах стаз та початок тромбозу в фетальних капілярах (рис. 3.55 А) на фоні периваскулярного набряку (рис. 3.55 Б, Г). Відмічалось нерівномірне розширення гладкого ендоплазматичного ретикулуму (рис. 3.55 В) та зменшення крист в мітохондріях.

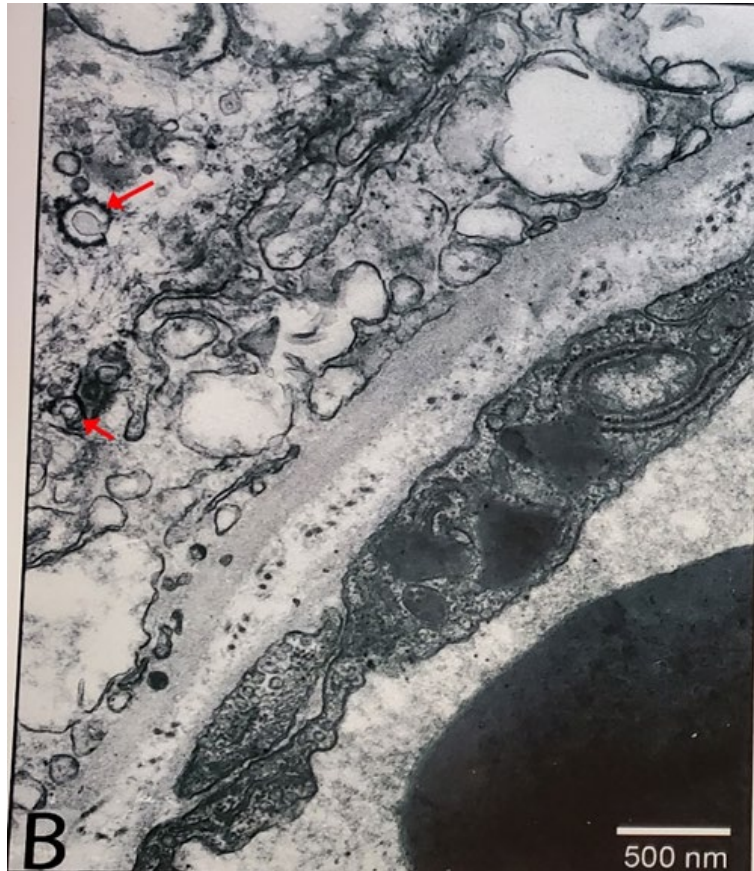


**Рис. 3.55 А-Г** – Трансмійсна електрона мїкрофотографїя плаценти жїнки IV групи (з перенесеним COVID-19 в 34 тижнїв гестацїї) 40 тижнїв гестацїї. Ультраструктура плацентарного бар'єру з наявністю: А- стаз в фетальному капїлярї, вогнища вузликїв ядер синцитїотрофобласта. В- наявність вїрїону COVID-19. Б, Г- периваскулярний набряк в стїнцї судин. №7696

На ультраструктурному рївнї виявленї змїни ультраструктур ядер синцитїальних вузликїв (рис. 3.55 А), якї мають просвітлення матрикс при наявностї COVID-19 в плацентї на початку розвитку. В дослідженнях IVа та IVб



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



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

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

### 3.5 Морфометричне дослідження багатоядерного синцитіотрофобласту

Проведено окреме дослідження багатоядерного синцитіотрофобласту 40 плацент жінок 39-40 тижнів вагітності, які були розділені на чотири групи. Досліджено плаценти жінок, які перенесли COVID-19 у першій половині вагітності – IVa група з 10 випадків (до 20 тижнів) та у другій половині вагітності – IVб група по 10 випадків (39-40 тижнів). Плацента від жінок з хронічним стресом внаслідок внутрішнього опромінення з вмістом радіонуклідів 4,8 Бк/кг і більше – III група 10 випадків. У порівняльній групі I було 10 випадків плаценти у жінок з фізіологічною вагітністю без COVID-19, переважно протягом 39-40 тижнів гестації (табл. 3.5 ).

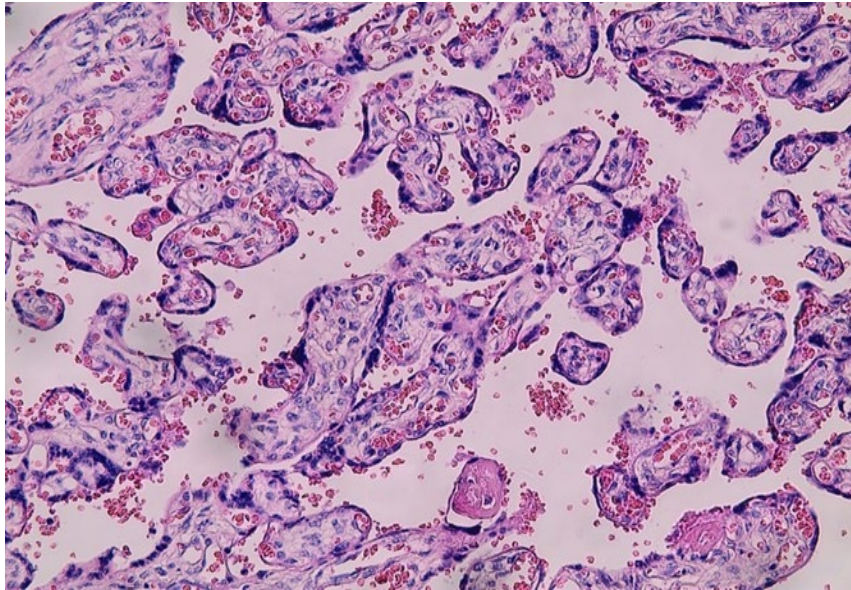
Таблиця 3.5

#### Морфометричний аналіз вузликів синцитіотрофобласту 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 IVa. COVID-19 ранній період, n=10	72,04±12,4 ( 677 %)
Група IVб. COVID-19 пізній період, n=10	61,21±21,6 ( 560 %)

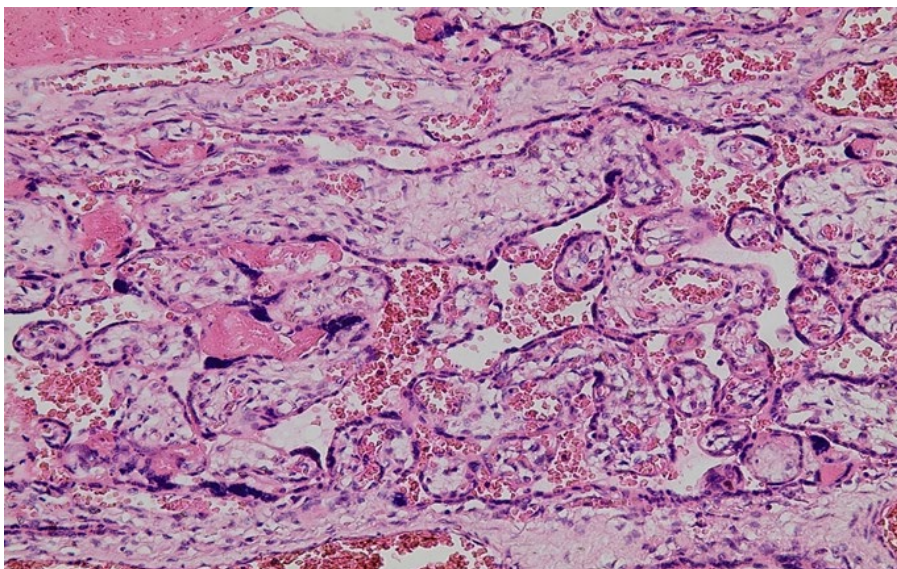
Гістологічно в I групі порівняння була наявність синцитіотрофобласту з багатоядерним епітелієм в поодиноких ворсинках (рис. 3.57 ), з рівномірним розташуванням їх в полях зору (таб. 3.5 ).





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

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

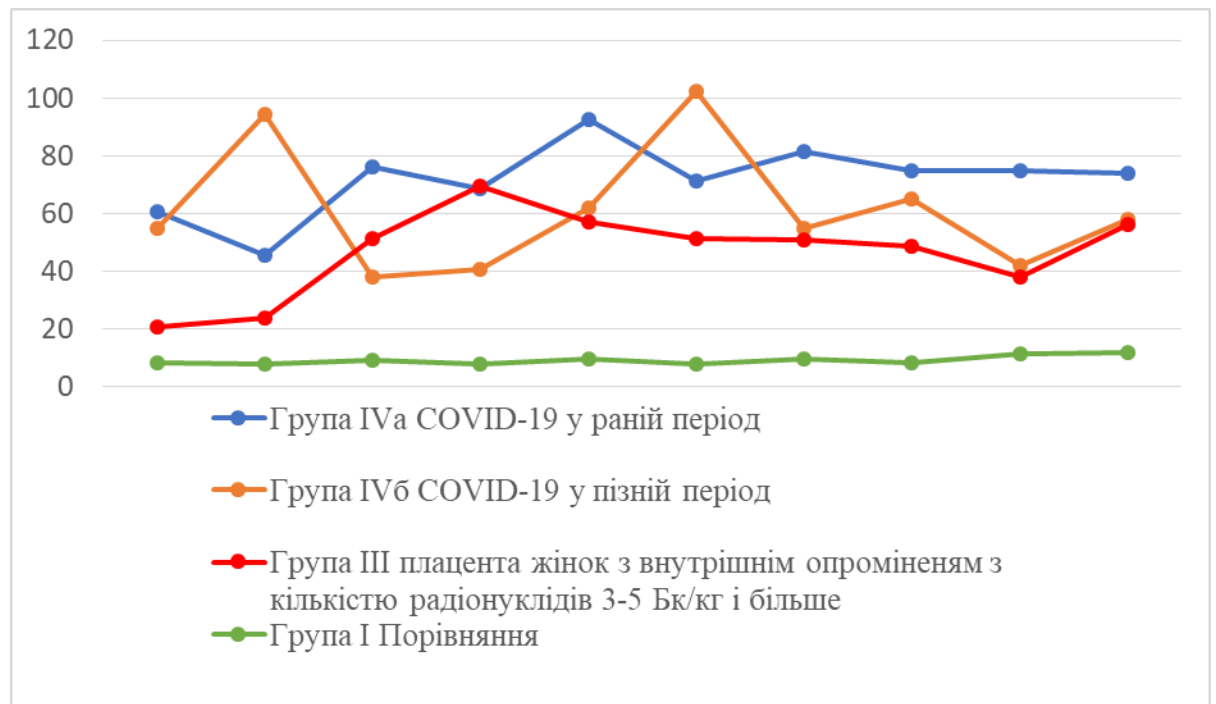


**Рис. 3.58** – Плацента жінки III групи (з високими показниками внутрішнього опромінення >4,8 Бк/кг) 33 тижні гестації. Наявність збільшення

синцитіальних вузликів у ворсинах хоріона. Забарвлення гематоксилін еозином збільшення  $\times 200$  №6145

Аналіз гістологічних даних у IVa та IVб групах ( 95 % CI 63,18-80,89;  $p < 0,001$  і 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 та середніх ворсин які достовірно виявили 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 в IVa та IVб групах ( 95 % CI 63,18-80,89;  $p < 0,001$  і 95 % CI 45,74-76,67;  $p < 0,001$  ) у вигляді скупчень в порівнянні з I групою ( 95 % CI 8,19-10,34;  $p < 0,001$  ) та III групою ( 95 % CI 35,98-57,59;  $p < 0,001$  ) внутрішнього опромінення (табл. 3.5 ), (рис. 3.59 ).



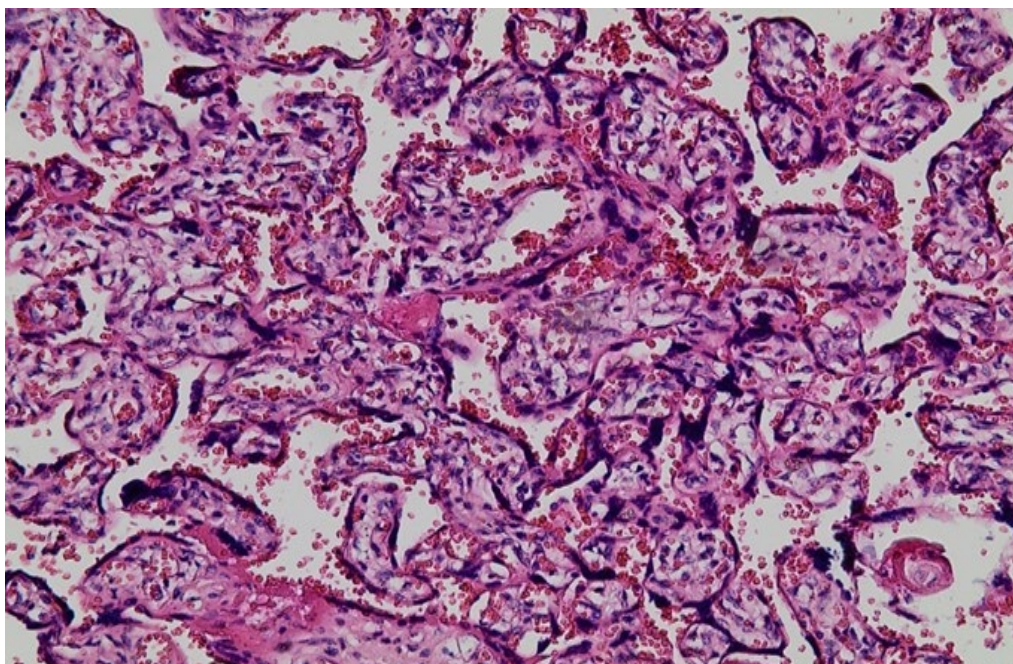
**Рис. 3.59** – Вузлики синцитіотрофобласту, як маркери хронічного стресу

Морфометричний аналіз синцитіальних вузликів встановив достовірне збільшення в плаценті жінок з хронічним стресом в порівнянні з I групою. Значне



збільшення відмічалось у жінок які перенесли COVID-19, особливо в ранньому періоді гестації.

При дослідженні 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) 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 порівнянні з I групою, у якої в середньому відмічено  $9,27 \pm 1,5$  вузликів (табл. 3.5), (рис. 3.59 ). У групах, що перенесли хронічний стрес, обумовленого COVID-19 та внутрішнім опроміненням достовірно збільшується кількість багатоядерних синцитіальних вузликів. Особливо це виражено у групах IVa та IVб (з

перенесеним COVID-19), у яких в середньому відмічено  $72,04 \pm 12,4$  та  $61,21 \pm 21,6$  вузликів відповідно (табл. 3.5 ), (рис. 3.59 ).

Також, гістологічно було виявлено нерівномірні зміни в плані вогнищ мікровідшарування децидуальної оболонки в усіх досліджуваних групах, в порівнянні з I групою. Тобто відповідно до амстердамської класифікації (2016) 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 в порівнянні з I групою, які проявлялись статистично доведеним збільшенням вузликів синцитіотрофобласту багатоядерного епітелію з нерівномірним розподілом їх у ворсинках хоріона.

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

Нами було проведено імуногістохімічне дослідження 50 плацент жінок 39-40 тижнів вагітності, які були розділені на п'ять груп. Досліджено плаценти жінок, які перенесли COVID-19 у першій половині вагітності – IVa група з 10 випадків (до 20 тижнів) та у другій половині вагітності – IVб група по 10 випадків ( 39-40 тижнів). Плаценти від жінок з хронічним стресом внаслідок внутрішнього опромінення з вмістом радіонуклідів 4,8 Бк/кг і більше – III група 10 випадків. Плаценти від жінок з передчасними пологами та живонародженими (22-36 тижнів гестації) – IIa група 10 випадків. У порівняльній групі I було 10 випадків плаценти у жінок з фізіологічною вагітністю без COVID-19, переважно протягом 39-40 тижнів гестації (табл. 3.6-3.7 ). Дослідження проводилось з порівнянням загальної кількості стовбурових клітин різних груп із апоптозними клітинами, для визначення змін регенераторних можливостей при хронічному стресі різного генезу.

Таблиця 3.6

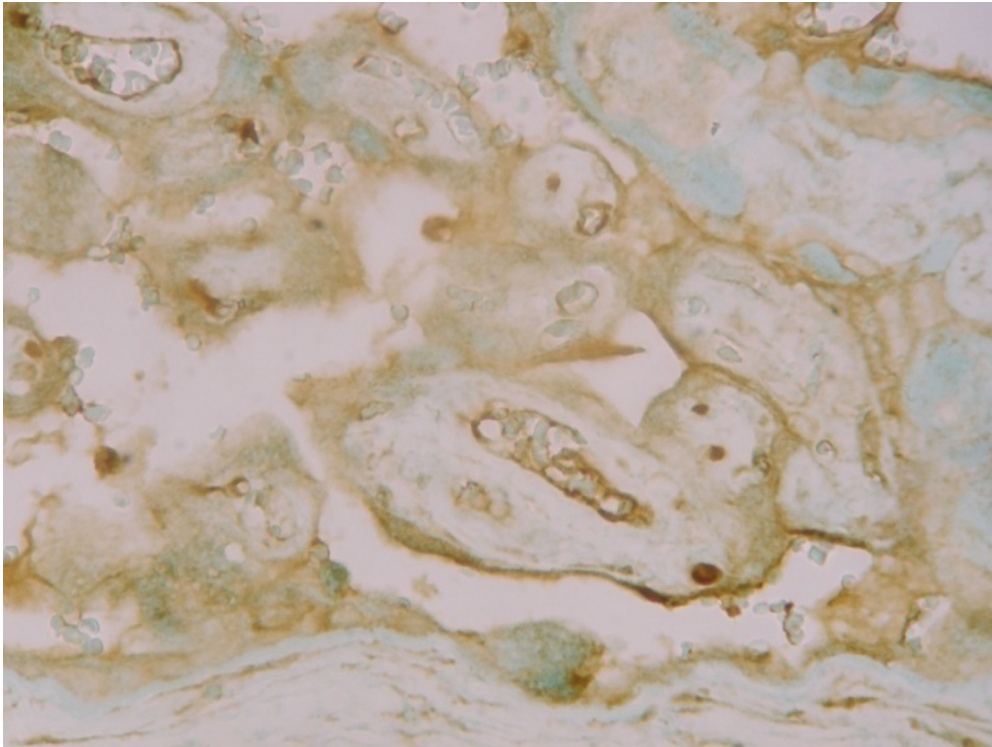
**Імуногістохімічний аналіз маркера стовбурових клітин CD-117**

<b>Групи</b>		<b>Кількість клітин в 10 полях зору x10</b>
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%)

При імуногістохімічному дослідженні маркера стовбурових клітин CD-117 у групі порівняння виявлена позитивна експресія ( 2-3 бала) в 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 % CI 5,15-5,3; p<0,001 ) (табл. 3.6 ), (рис. 3.63 ).

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



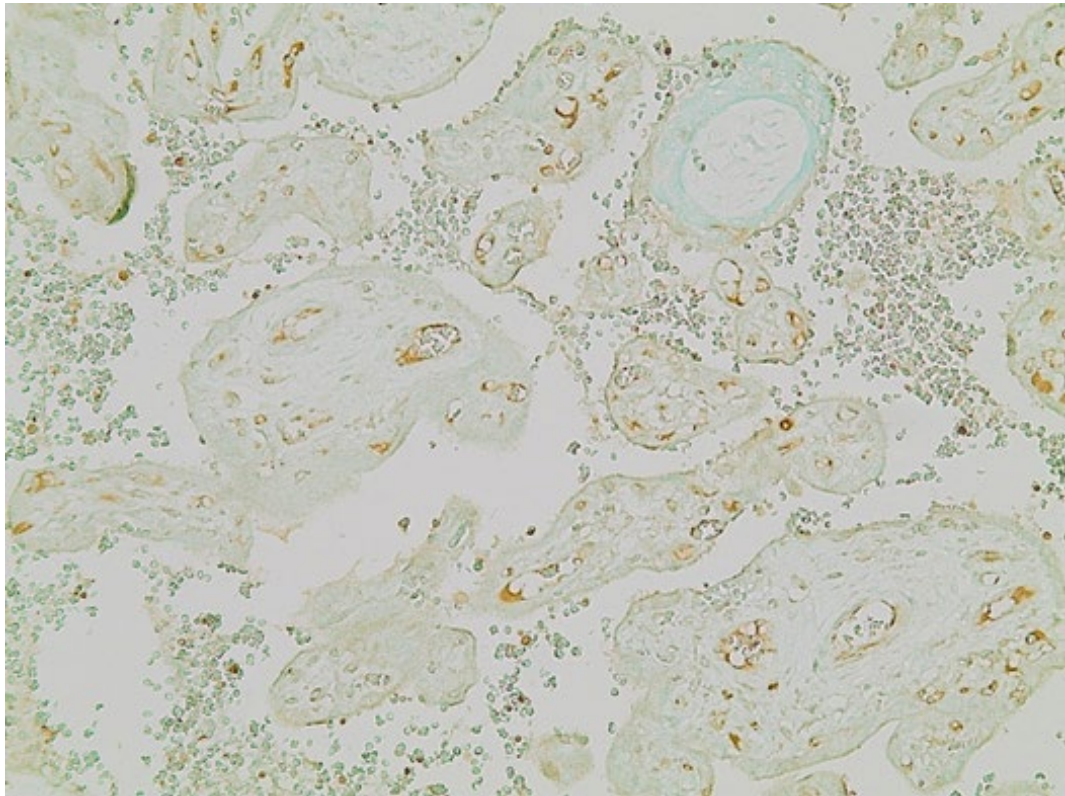


**Рис. 3.61** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-117 в стромі ворсин та в хоральній оболонці (2-3 бала). Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-117. x200. №5810

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 виявлене зниження експресії до 1-0 балів вогнищево.

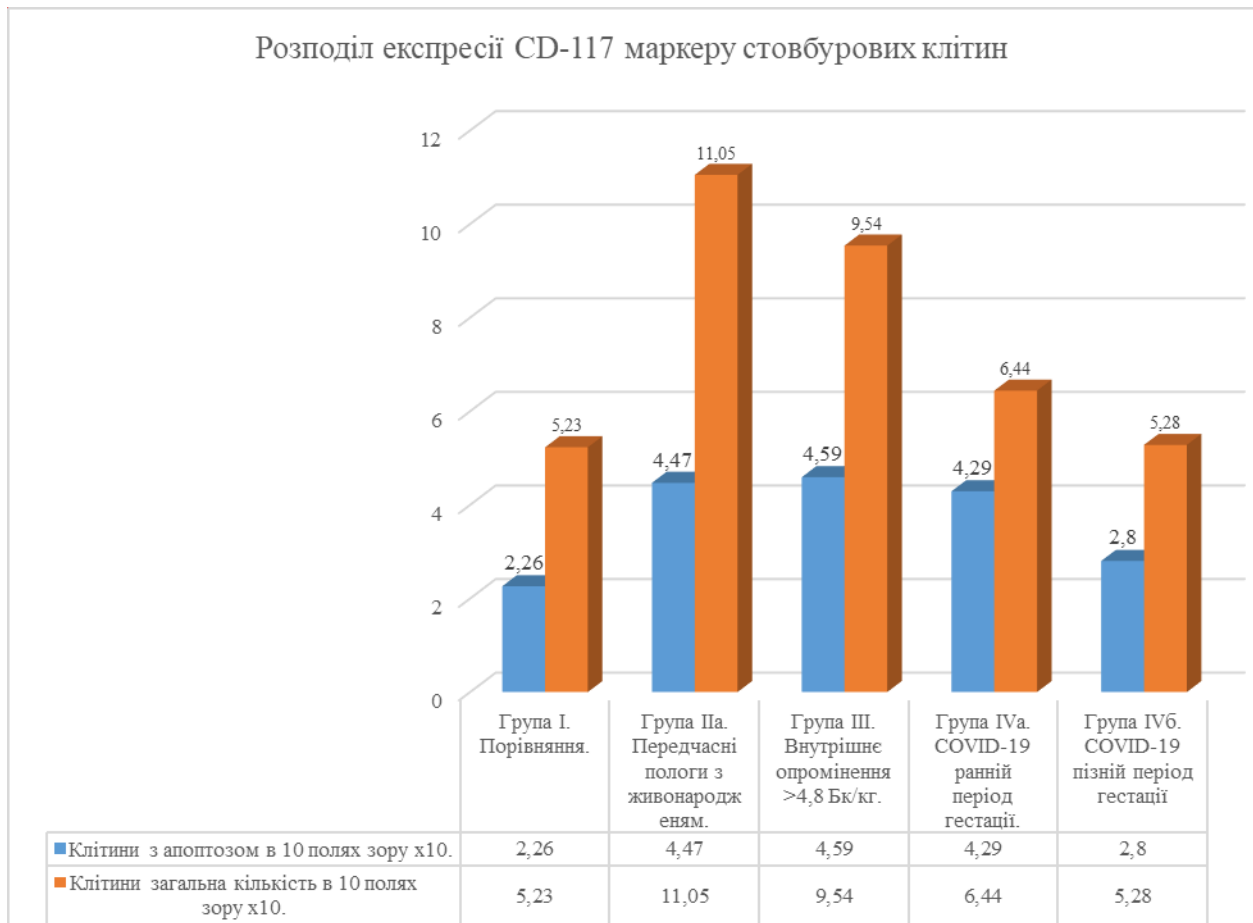
Аналіз імуногістохімічних маркерів стовбурових клітин CD-117, та CD-44 в порівнянні з I групою (табл. 3.2 ) встановив, що експресія CD-117 в плаценті досліджуваних груп IIa, III, IVa та IVб виявлена нерівномірність розташування маркера стовбурових клітин CD-117 (рис. 3.62) найбільш статистично доведено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

Загальна кількість стовбурових клітин у групі з внутрішнім опроміненням та маркером CD-117 в середньому складає  $9,54 \pm 0,17$  ( 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  $>4,8$  Бк/кг. Дистрофія та некроз окремих клітин плацентарного бар'єру. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-117.  $\times 200$  №5957

Але відмічалось пошкодження у вигляді дистрофії, пікноза та апоптоза CD-117 позитивних клітин, особливо в 80% випадків, що вказує на зменшення функціональних особливостей стовбурових клітин. В частині плацентарних структур ворсинок, а також децидуальної оболонки такі скупчення були в групах 3 та 4. В середньому кількість стовбурових клітин з апоптозом у групі з внутрішнім опроміненням та маркером CD-117 складає  $4,59 \pm 0,23$  ( 95 % СІ 4,41-4,76;  $p < 0,001$  ), що на 103 % більше ніж у групі порівняння (табл. 3.6 ), (рис. 3.63).



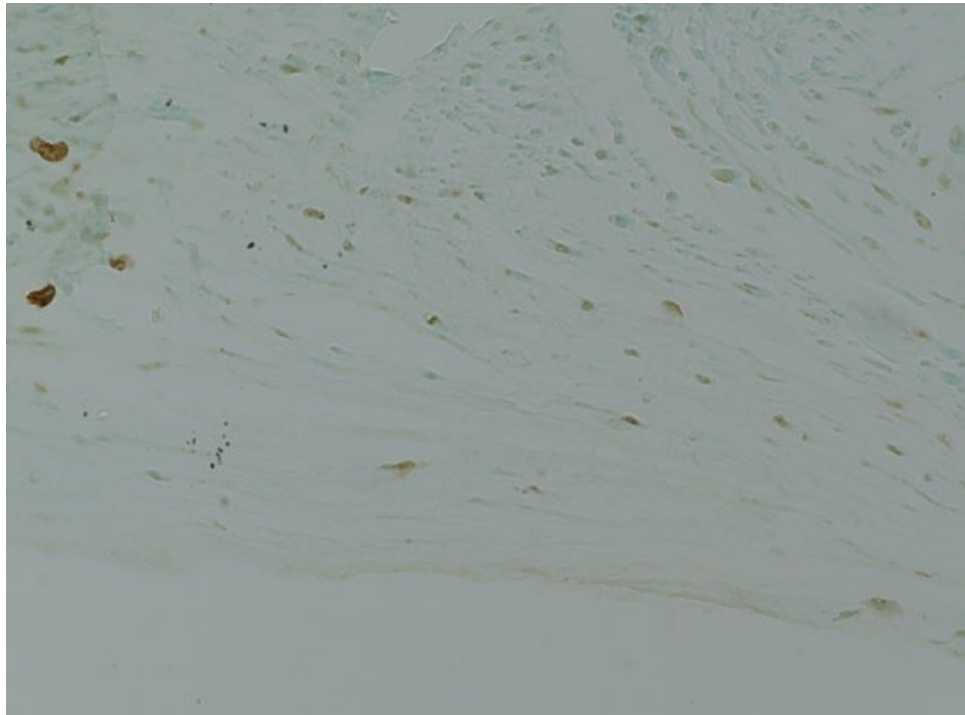
**Рис. 3.63** –Розподіл експресії маркеру стовбурових клітин CD-117, загальної кількості стовбурових клітин до клітин з апоптозом.

Слід відмітити нерівномірність експресії маркерів CD-117 та CD-44 у структурах пуповини в групах 3 та 4. У групі 3 експресія CD-44 була більш виразною ніж в CD-117 (табл. 3.5, 3.6), в поодиноких випадках були виявлені 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 в ранній період гестації та маркером CD-117 в середньому складає  $6,44 \pm 0,27$  ( 95 % СІ 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, пікноза та апоптоза CD-117 позитивних клітин (табл. 3.2 ), (рис. 3.64 ).

В середньому кількість стовбурових клітин з апоптозом у групі з перенесеним COVID-19 в ранній період гестації та маркером CD-117 складає  $4,29 \pm 0,21$  ( 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) 40 тижнів гестації. Експресія CD-117 в 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 складає  $5,28 \pm 0,38$  ( 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 ).

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

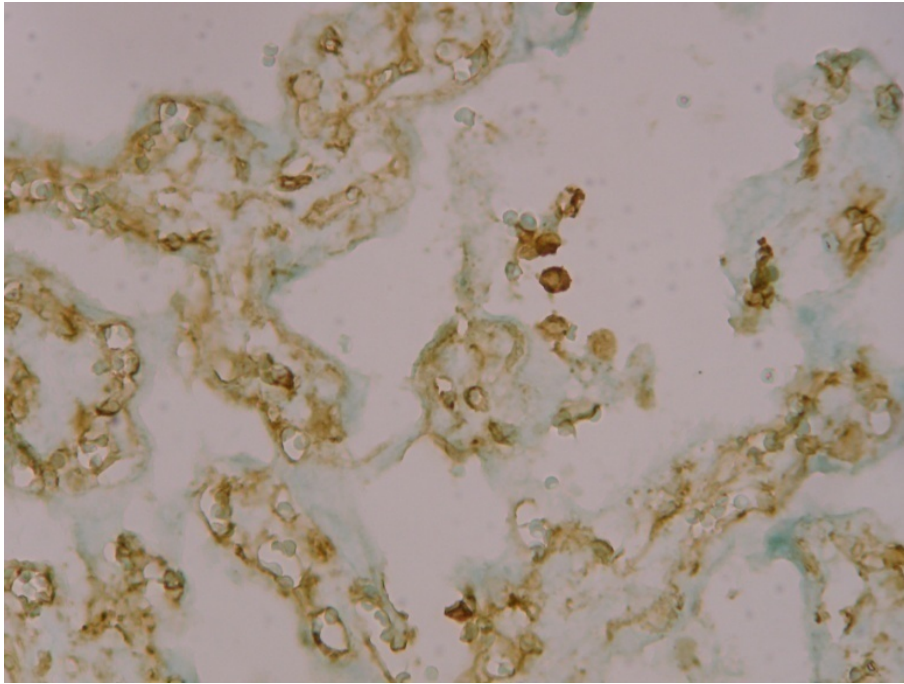
Таблиця 3.7

**Імуногістохімічний аналіз маркера стовбурових клітин CD-44**

<b>Групи</b>		<b>Кількість клітин в 10 полях зору x10</b>
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%)

При імуногістохімічному дослідженні маркера стовбурових клітин CD-44 виявлена позитивна експресія ( 2 бала) в стромі ворсин, в децидуальній тканині, хоріальній пластині та плідних оболонках (таб. 3.2 ), (рис. 3.65 ). Загальна кількість стовбурових клітин в середньому склала 8,35±0,13 ( 95 % СІ 8,25-8,44;  $p < 0,001$  ) (табл. 3.7 ), (рис. 3.68 ).

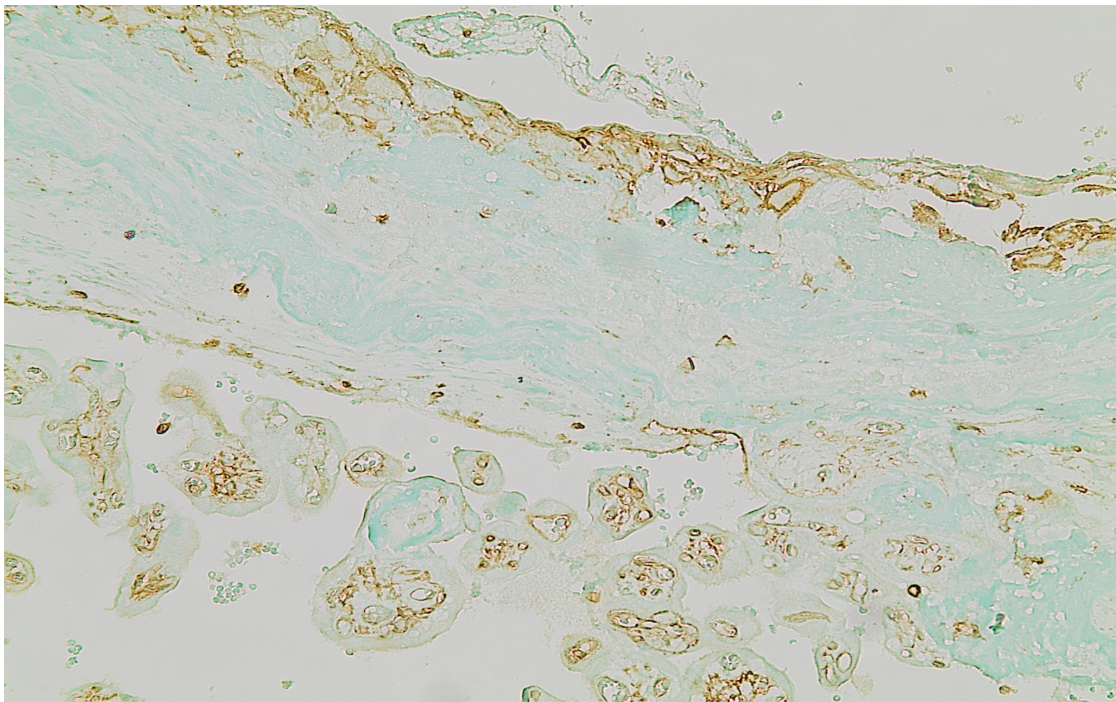




**Рис. 3.65** – Плацента жінки 40 тижнів вагітності (група порівняння). Експресія CD-44 в клітинах строми ворсин. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-44. x200. №5810

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

Імуногістохімічні дослідження маркерів стовбурових клітин підгрупи живонароджених виявили нерівномірну вогнищеву експресію CD-117 та CD-44 (рис. 3.66 ) в різні строки 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 стромы, особливо децидуальної оболонки.



**Рис. 3.66** – Плацента жінки з передчасними пологами в терміні гестації 30 тижнів підгрупа живонароджених. Нерівномірність експресії CD-44 в хоріальних структурах та децидуальної оболонки. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-44. x200. №6140

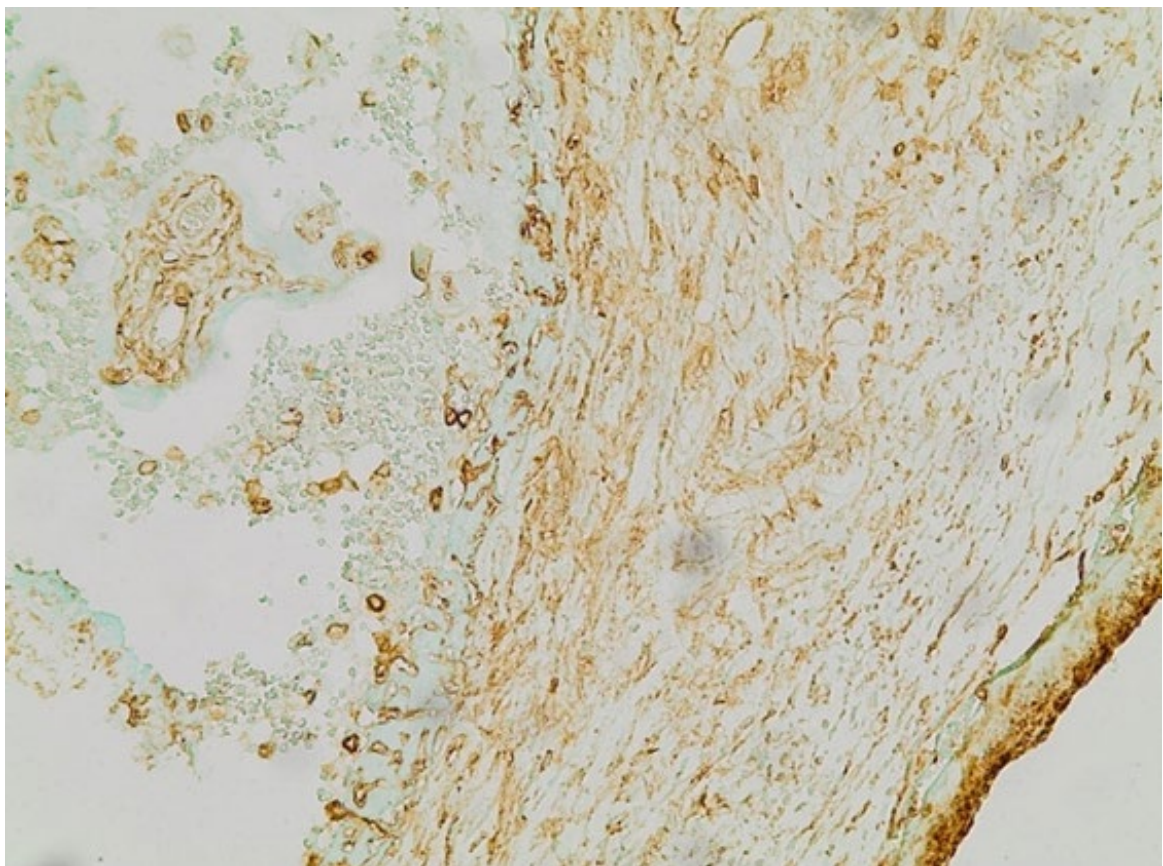
Загальна кількість стовбурових клітин у групі з передчасними пологами підгрупи живонароджених та маркером CD-44 в середньому складає  $11,14 \pm 0,15$  (95 % CI 11,03-11,24;  $p < 0,001$  ), що на 33,41 % більше ніж у групі порівняння (табл. 3.7 ), (рис. 3.68 ).

В середньому кількість стовбурових клітин з апоптозом у групі з передчасними пологами підгрупи живонароджених та маркером CD-44 складає

$5,01 \pm 0,15$  ( 95 % CI 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 виявив значне збільшення CD-44 позитивних клітин в полях зору ( $\times 200$ ), 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 та маркером CD-44 в середньому складає  $18,68 \pm 0,23$  ( 95 % CI 18,5-18,85;  $p < 0,001$  ), що на 123,71 % більше ніж у групі порівняння (табл. 3.7), (рис. 3.68).

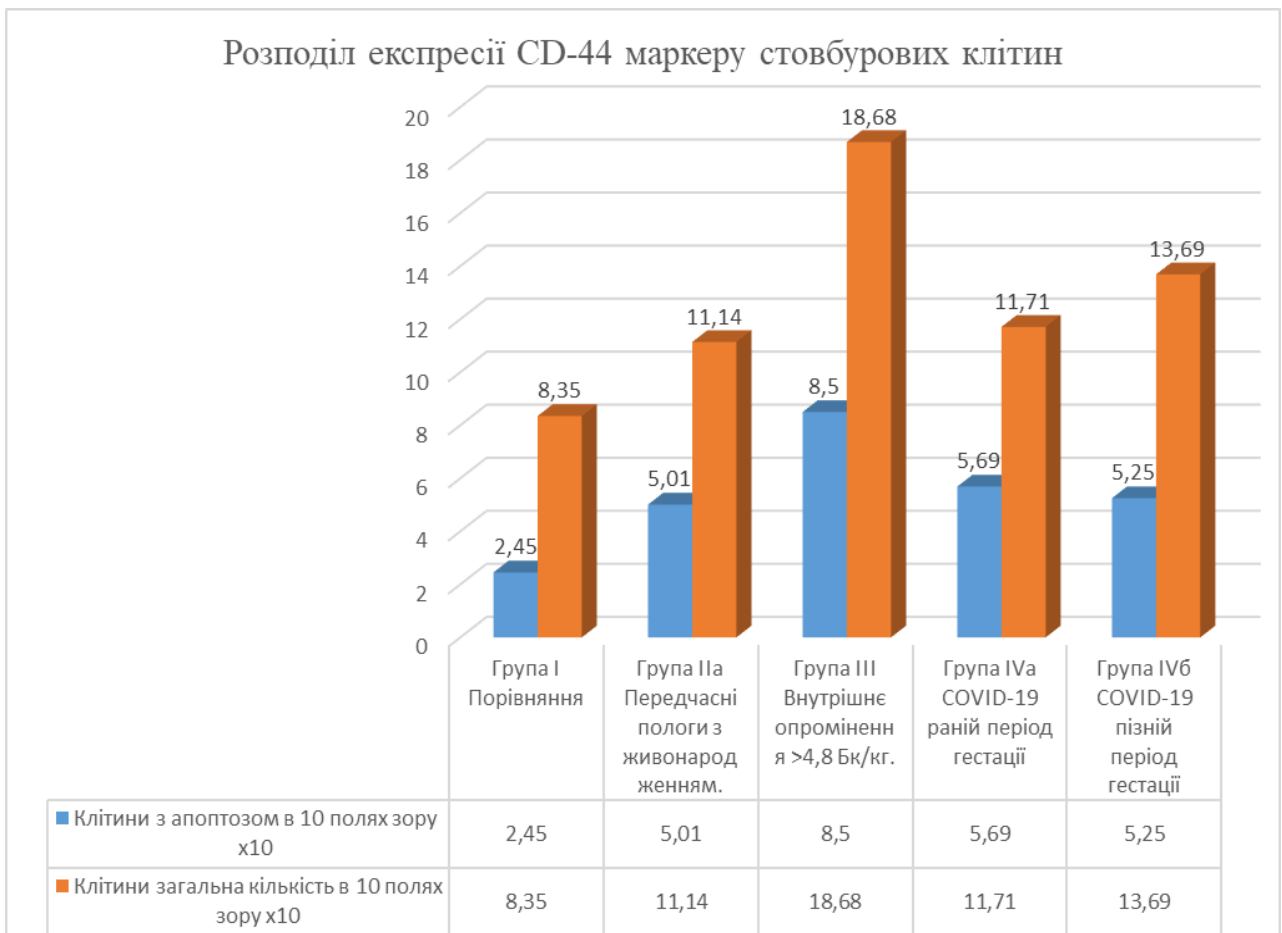


**Рис. 3.67** – Плацента 30 тижнів гестації з внутрішнім опроміненням 6 Бк/кг. Експресія CD-44 в ворсинках хоріона групи з внутрішнім опроміненням  $>4,8$  Бк/кг. Прояви дистрофії та апоптозу клітин плацентарного бар'єру. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-44.  $\times 200$  №5957

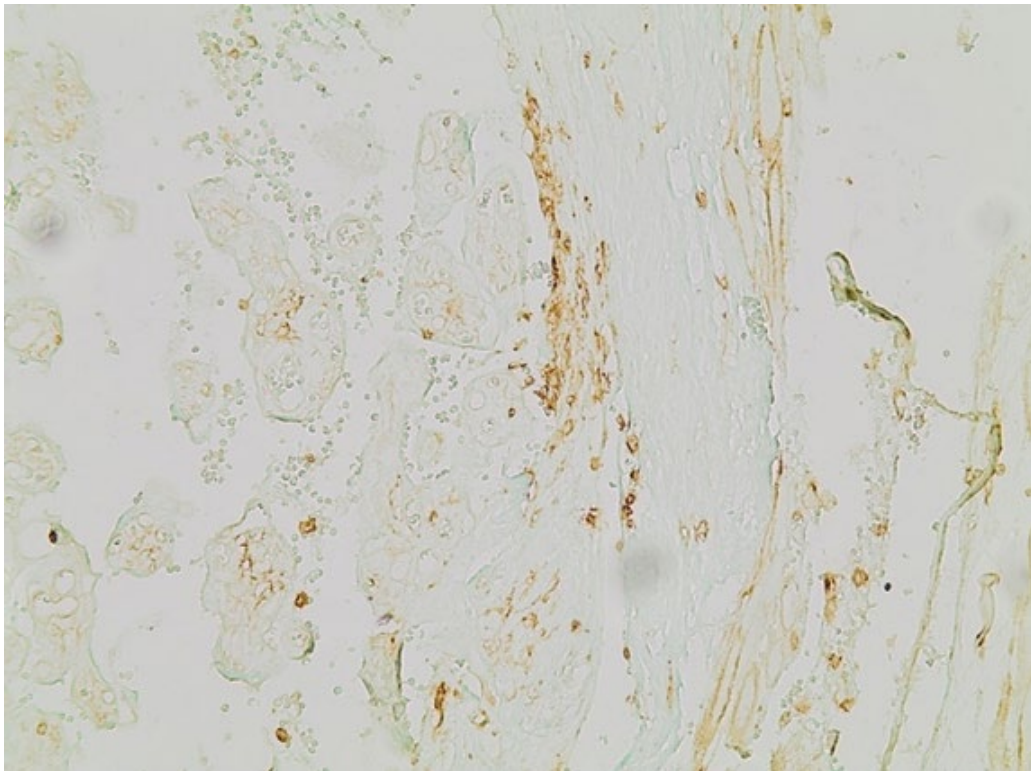


В середньому кількість стовбурових клітин з апоптозом у групі з внутрішнім опроміненням та маркером CD-44 складає  $8,5 \pm 0,23$  ( 95 % СІ 8,33-8,66;  $p < 0,001$  ), що на 246,93 % більше ніж у групі порівняння (табл. 3.7 ), (рис. 3.68 ).

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



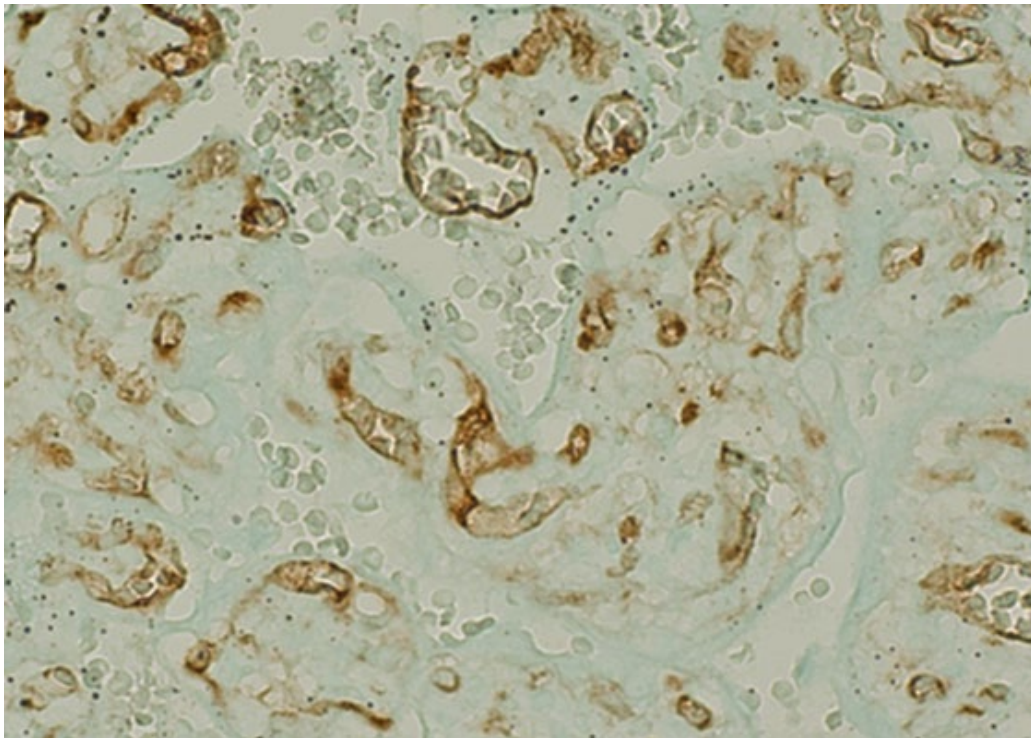
**Рис. 3.68** – Розподіл експресії маркеру стовбурових клітин CD-117, загальної кількості стовбурових клітин до клітин з апоптозом.



**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 >4,8 Бк/кг. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-44. x200 №6212

Відмічається нерівномірність експресії CD-44 та вогнищевий характер у IVa підгрупі в меншій ступені (рис. 3.70 ). В частині ворсин збільшувалась кількість (табл. 3.2 ) стовбурових клітин.





**Рис. 3.70** – Плацента жінки IV групи (яка перенесла COVID у ранньому періоді 20 тижнів гестації) 40 тижнів гестації. Експресія CD-44 в ворсинках хоріона групи з перенесеним COVID-19. Імуногістохімічна експресія МКАТ CD-44. x630 №8808

У групі IV(а та б) в більшості випадків наявна дифузна виразна експресія CD-44 та 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 в ранній період гестації та маркером CD-44 в середньому складає  $11,71 \pm 0,14$  ( 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 в ранній період гестації та маркером CD-44 складає  $4,29 \pm 0,21$  ( 95 % СІ 5,57-5,8;  $p < 0,001$  ), що на 89,8 % більше ніж у групі порівняння (табл. 3.7), (рис. 3.68).

Загальна кількість стовбурових клітин у групі з перенесеним COVID-19 в пізній період гестації та маркером CD-44 в середньому складає  $13,69 \pm 0,31$  ( 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 складає  $5,25 \pm 0,35$  ( 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 та CD-44» встановлено збільшення експресії імуногістохімічних маркерів стовбурових клітин CD-117, CD-44 у досліджуваних групах в порівнянні з I групою.

Виявлено статистично доведене збільшення експресії імуногістохімічних маркерів CD-44 на фоні дистрофічно – деструктивних змін в плацентарних структурах при внутрішнім опроміненні.

Імуногістохімічна експресія маркерів CD-117 та CD-44 зазнала виражених дистрофічних змін в клітинах плацентарного бар'єру нерівномірно вогнищево при перенесеному COVID-19.

Статистично доведено важливий факт дистрофії та апоптозу цих клітин в 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 фоні хронічного стресу, який обумовлений хронічним внутрішнім опроміненням; пост-COVID періодом, передчасними пологами.

Ідея виконання представленої роботи присвячено впливу хронічного стресу [101], котрий можна характеризувати як «суперстрес» тому що поява нових факторів сьогодення (радіаційна катастрофа, пандемія COVID-19) має велике значення на здоров'я плоду та матері. Дія хронічного стресу на структури плаценти, органу котрий приймає участь в формуванні та розвитку внутрішньоутробного плоду має значення для діагностики та прогнозування в клінічних умовах. В стресових умовах відома дія факторів на регенеруючі структури до котрих можна віднести, в першу чергу, стовбурові клітини. Встановлено, що вони представлені у великій кількості в плаценті [37].

В результаті наших досліджень плацент жінок, які зазнали дії хронічного стресу, обумовленого передчасними пологами, внутрішнім опроміненням та перенесеним COVID-19, були виявлені патологічні зміни у материнських та плодових структурах (згідно класифікації Амстердам 2015-2016р.), які допомагають клініцистам встановити причини смерті плода.

При аналізі отриманих даних було встановлено, що частіше всього відмічалось відшарування децидуальної оболонки, яке зустрічалось у жінок з передчасними пологами. Це ускладнення яке зачіпає 5-15 % вагітних, за даними літератури (пов'язано зі зменшенням інвазії трофобласту та хронічною гіпоксією внаслідок недостатністю матко-плацентарного кровообігу [102].

Відшарування плаценти має багатфакторну етіологію, в основному пов'язану з матково-плацентарними структурами. Слід відмітити, що відшарування плаценти в групі жінок з передчасними пологами та антинатальною загибеллю плода було найбільш вираженим та розповсюдженим.

Також, до загальних змін у плаценті груп дослідження, в порівнянні з контролем, можна віднести порушення судинної перфузії материнських факторів, які проявлялись внутрішніми інфарктами, прискореним дозріванням ворсин з фіброзом їх стромы, змінами фетальних судин та їх централізацією (згідно класифікації Амстердам 2015-2016р.).

У випадках мертвородження при передчасних пологах ведуче місце по мортальності плоду займає децидуальна артеріопатія з порушенням інвазії трофобласта та проявами плацентарної дисфункції [1].

В наших дослідженнях децидуальна артеріопатія була встановлена в плацентах жінок із звичним невиношуванням вагітності (в деяких випадках було 3-4 передчасних пологів). Імуногістохімічно вивчена експресія судинних маркерів (CD-31, CD-105, VEGF) не відмічалась в стінках судин децидуальної оболонки. Це вказує на порушення інвазії та важливість в 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 при внутрішньому опроміненні та перенесеному COVID-19.

Таким чином, були визначені загальні зміни у плаценті, що несприятливо впливають на стан плода, і 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 синцитія у ворсинчастому хоріоні. Особливо великі показники до 6-7 разів ( 677 % ), в порівнянні з I групою, були відмічені 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 цитотрофобласта. Ядра багатоядерного синцитіотрофобласта є немітотичними, але механізм зупинки клітинного циклу в синцитіотрофобласта не відомий [5].

Встановлено, 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 фоні хронічного стресу, нами були вивчені маркери стовбурових клітин C-kit CD-117, CD-44.

В останні роки були отримані нові данні ролі регенераторних можливостей стовбурових клітин в плаценті, оскільки, вона багата на стовбурові клітини та їх родоначальників, 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, CD-44 на фоні дистрофічно –деструктивних змін в плацентарних структурах при внутрішнім опроміненні та перенесеним COVID-19



в порівнянні з I групою. Найбільш виражені зміни клітин CD-117, CD-44 виявлені в плацентах з внутрішнім опроміненням.

Встановлені імуногістохімічні особливості стовбурових клітин у структурах плаценти при різній патології важливі з погляду регенераторних можливостей при їх застосуванні 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 при дії найпоширеніших шкідливих чинників – внутрішнього опромінення та перенесеного COVID-19.

Виявлені імуногістохімічні особливості експресії стовбурових клітин при внутрішньому опроміненні та перенесеному COVID-19 свідчать про різну спрямованість цих чинників. 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. Найвираженішою є дія 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.

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

Імуногістохімічні 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. що перенесли коронавірусне інфікування та може бути імуногістохімічним маркером критерію тромбозу фетальних судин плаценти. Ці данні підтверджуються на ультраструктурному рівні, виявлені зміни ультраструктур ядер синцитіальних вузликів, які мають просвітлення матриксу при наявності COVID-19 в плаценті на початку розвитку. В дослідженнях груп з COVID-19 на ранньому та пізньому етапі перебігу вагітності виявлено формування складжа та тромбозу в фетальних судинах плаценти та наявність віріону в плацентарному бар'єрі.

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

Нами 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  $>4,8$  Бк/кг. Експресія канцерембріонального антигену була відсутня в інших групах.

Відомо по даним літератури, що в нормі у людини наявна секреція СЕА у сироватці крові, рівень 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 є молекулами ембріонального періоду, але є поодинокі праці присвячені вивченню їх експресії і функціонуванню в ембріонах [104].

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

Підвищення експресії СЕА в структурах плаценти при внутрішньому опроміненні і пухлинах у жінок потребують подальших досліджень у плані

розширення різноманітних типів антигенів СЕА. А також дослідження в динаміці гестації гістопатології, котрі можливо мають значення в перинатальному онкогенезі.

Розроблені нами морфологічні, імуногістохімічні та ультраструктурні критерії уражень плаценти при дії хронічного стресу є важливими для клінічної діагностики та прогнозування здоров'я матері та плоду в майбутньому. Особливо, при дії стресу обумовленого бойовими діями (котрі проходять у нашій країні), що викликають особливий стан з перевищенням людських ресурсів (особливо вагітних) для подальшого прогнозування впливу стресогених факторів в 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 – визначенню морфологічних та імуногістохімічних особливостей стовбурових клітин плацентарного бар'єру жінок на фоні хронічного стресу у вагітних, який обумовлений хронічним внутрішнім опроміненням, пост-COVID періодом.

1. Встановлені загальні гістопатологічні зміни структур плацентарного бар'єру при дії 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 хоріону у плацентах жінок з хронічним стресом, обумовленим перенесеним COVID-19 та внутрішнім опроміненням на фоні 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 білку для участі в процесах гестації.

3. Виявлено достовірне збільшення експресії імуногістохімічних маркерів CD-117, CD-44 на фоні дистрофічно –деструктивних змін в плацентарних структурах при внутрішнім опроміненні та перенесеним COVID-19 в порівнянні з I групою. Найбільш виражені зміни клітин CD-117, CD-44 виявлені в плацентах з внутрішнім опроміненням.

4. Виявлене 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 тромбів в материнській частині плаценти, що є предиктором для діагностики 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, 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 хоріону плацент жінок, що хворіли COVID-19 під час вагітності достовірно вищі в порівнянні з I групою.

6. Виявлена експресія карциноембріонального антигену (CEA) в синцитії та структурах фетальних судин ворсинок хоріона в основному термінальних та середніх в плаценті жінок з внутрішнім опроміненням при інкорпоруванні радіонуклідами  $>4,8$  Бк/кг, що може слугувати предиктором в перинатальному онкогенезі. Експресія канцерембріонального антигену була відсутня в інших групах.

7. Встановлені 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 фоні відсутності імуногістохімічної експресії судинних маркерів (CD-31, CD-105, VEGF) у стінках судин плацентарного бар'єру. Паралельно з цим були виявлені **плодові** плацентарні судинні процеси : 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.

8. Розроблені морфологічні, імуногістохімічні та ультраструктурні критерії ушкоджень плаценти при дії хронічного стресу в досліджуваних групах, важливих для клініцистів (представлені в практичних рекомендаціях).



## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

У всіх групах досліджень були виявленні загальні патоморфологічні зміни, які проявлялись відшаруванням дицидуальної оболонки порушенням перфузії в структурах плацентарного бар'єру, внутрішніми інфарктами.

Встановлені критерії пошкодження плаценти при хронічному стресі, визначили предиктори для профілактичних і клінічних заходів.

Предиктори плацентарних порушень при хронічному стресі на гістологічному та імуногістохімічному рівнях.

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

2. Імуногістохімічно виявлені дистрофічні зміни стовбурових клітин, які екстрюють CD-117 та CD-44, що змінює регенераторні властивості цих клітин при їх застосуванні в практичній медицині.

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

4. Наявність експресії канцер ембріонального антигену (CEA) в цитоплазмі синцитіотрофобласта та ендотеліальних клітин – є онкомаркером.

## 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 прееклампсії 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](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](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](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](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](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
<b>Форма № 013-2/0</b>
<b>Затверджена наказом МОЗ України №417</b>
<p><b>ПРОТОКОЛ</b></p> <p><b>ДОСЛІДЖЕННЯ ПЛАЦЕНТИ № _____</b></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 доли – 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 (потрібне підкреслити)**

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

Хоральна платівка. Набрякла, розволокнень, виразне повнокров'я судин.

Шар Лангганса. Звичайної товщини, потоншений, потовщений.

**Ворсинчастий хоріон**

**Ворсинки**

	стовбурові	середнього калібру	термінальні
Форма: звичайна			
витагнута			
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			

облітерацією	склероз	з			
ендотелію	проліферація				
	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\***

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

Прізвище дитини, вага, зріст, стать, живонароджений, мертвонароджений, 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 стромы ворсин.

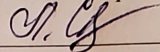
Структурні особливості плацентарної дисфункції: первинна, вторинна; гостра, хронічна (абсолютна, відносна).

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

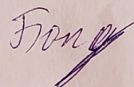


№	ФІО	Стать: Ж-2	Рік народження	Діагноз хворих за МКХ -10
59	Т-о М.Ю.	2	1987	О60
60	Ж-й Н.М.	2	1978	О60
61	В-й Л.А.	2	1979	О60
62	П-а-Б-а А.Б	2	1981	О60
63	О-о О.С.	2	1990	О60
64	Л-а Д.О.	2	1988	О60
65	Г-а О.К.	2	1990	О60
66	П-о І.А.	2	1989	О60
67	П-о Н.Д.	2	1978	О60
68	К-о Г.Ю.	2	1992	О60
69	М-к Л.О.	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

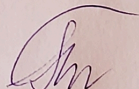


№	ФІО	Стать: Ж-2	Рік народження	Діагноз хворих за МКХ -10
89	Т-а Н.В.	2	1988	О60, U07.1
90	В-а Ю.В.	2	1987	О60, U07.1
91	Н-а О.П.	2	1987	О60, U07.1
92	К-к Д.	2	1986	О60, U07.1
93	Л-ь Г.О.	2	1994	О60, U07.1
94	С-а Ю.С.	2	1986	О60, U07.1
95	Л-а А.Ю.	2	1990	О60, U07.1
96	Б-к Т.	2	1982	О60, U07.1
97	Б-р В.В.	2	1991	О60, U07.1
98	П-о В.Д.	2	1992	О60, U07.1
99	І-о Я.Ю.	2	1985	О60, U07.1
100	Г-о Ю.В.	2	1984	О60, 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, отримано 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. (2021). MORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF A WOMAN’S PLACENTA DURING MISCARRIAGE ON THE BACKGROUND OF INTERNAL IRRADIATION. 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 діагнозі і прогнозування плаценти в жінки при

внутрішньому опраміненню. VI Міжнародна науково-практична конференція. НАУКОВА СПІЛКА: МІЖДИСЦИПЛІНАРНІ ДОСЛІДЖЕННЯ; 2022 січ. 26-28; Гамбург, Німеччина Гамбург; 2022.

*(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 МІЖНАРОДНИЙ ФОРУМ: ПРОБЛЕМИ ТА НАУКОВІ РІШЕННЯ" в рамках IX Міжнародної науково-практичної конференції 2022 лют. 6-8; Мельбурн, Австралія. Мельбурн; 2022.

*(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. Науково-практична конференція «Карциноембріональний антиген в діагнозі і прогнозування плаценти в жінки при внутрішньому опроміненні», VI Міжнародна науково-практична конференція НАУКОВА СПІЛКА: МІЖДИСЦИПЛІНАРНІ ДОСЛІДЖЕННЯ (26-28 січня 2022 р., Гамбург, Німеччина);

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