

УДК 611.013.85

## ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ НЕКОТОРЫХ МАРКЁРОВ СИНЦИТИОТРОФОБЛАСТА НА РАННИХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА

<sup>1</sup>Груздев С.А., <sup>1</sup>Хайруллин Р.М., <sup>2</sup>Милованов А.П.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет» Минобрнауки России,  
Ульяновск, e-mail: khayrullin@list.ru;

<sup>2</sup>ФГБУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека РАН»,  
Москва, e-mail: a\_p\_milovanov@mail.ru

Выявление ранней динамики экспрессии маркеров синцитиотрофобласта играет важную роль в установлении физиологических механизмов беременности и причин нарушений её развития или прерывания. Иммуногистохимические методы могут увеличить точность диагностики, последовательность и характер событий, происходящих на ранних стадиях имплантации и плацентации. Целью исследования было определение начала и динамики иммуногистохимической экспрессии некоторых маркеров синцитиотрофобласта при физиологической беременности на ранних сроках развития. Изучены образцы плацентарной ткани, полученные в ходе медицинских абортот от 5,5 до 10,5 недель беременности. Для уточнения срока гестации использовали данные результатов ультразвукографии матки с определением теменно-копчикового размера эмбриона до прерывания беременности. Средний возраст матерей составил  $26,1 \pm 1,3$  лет, все пациентки были физически здоровы. Фрагменты плацентарной ткани фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном растворе формалина 24–48 часов и обрабатывали приёмами стандартной гистологической техники. После удаления парафина на тонких срезах выявлена экспрессия рецепторов к человеческому  $\beta$ -хорионическому гонадотропину –  $\beta$ -HCG; к рецепторам 3 типа фактора роста эндотелия сосудов – VEGFR-3 и плацентарной щелочной фосфатазе – PLAP. Гистохимический коэффициент был определён по обычной формуле. Только значения VEGFR-3 для гестационного возраста 7,5–10,5 недель имели нормальное распределение, значения других маркеров значительно отличаются от нормального распределения. Коэффициент линейной корреляции Пирсона PLAP с возрастом был равен  $r \pm m_r = 0,45 \pm 0,15$ , непараметрический коэффициент ранговой корреляции Спирмена был также статистически значимым и имел более высокое значение  $r_s = 0,661$  ( $p < 0,05$ ). Предложена формула уравнения множественной регрессии PLAP с ранними сроками беременности. Экспрессия рецепторов  $\beta$ -HCG имеет небольшое статистически значимое снижение гистохимического коэффициента от  $270,5 \pm 39,6$  на 5–7 неделе беременности до  $265,0 \pm 51,9$  в 7,5–10,5 недель беременности. Авторы показали, что ранняя интенсивная продукция гормонов синцитиотрофобласта синхронизирована с началом васкуляризации ворсинок и ангиогенеза, формированием полноценной капиллярной сети. Проанализированные количественные значения плацентарных маркеров могут быть использованы в качестве диагностических критериев патологии при ранних сроках беременности.

**Ключевые слова:** плацентарный синцитиотрофобласт, хорионический гонадотропин, vegfr-3, plap

## IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPRESSION OF SOME SYNCYTIOTROPHOBLAST MARKERS ON THE EARLY DEVELOPMENT STAGES OF HUMAN PLACENTA

<sup>1</sup>Gruzdev S.A., <sup>1</sup>Khairullin R.M., <sup>2</sup>Milovanov A.P.

<sup>1</sup>Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, e-mail: khayrullin@list.ru;

<sup>2</sup>Research Institute of Human Morphology, Moscow, e-mail: a\_p\_milovanov@mail.ru

Identification of early dynamics of syncytiotrophoblast markers expression is important in the determination of physiological mechanisms of pregnancy and identifying the cause of the violations of her development or miscarriage. Immunohistochemical methods can increase the accuracy of diagnosis of the sequence and nature of events occurring during the early stages of implantation and placentation. The aim of the study was to determine the beginning and early age dynamics of the immunohistochemical expression of some markers of syncytiotrophoblast in physiological pregnancy. We studied the placental tissue obtained during medical abortion on 5,5 to 10,5 weeks of gestation. To clarify gestation used with data on the results of ultrasonography of the uterus with the definition of embryonic parieto-coccygeal size before pregnancy termination. The average maternal age was  $26,1 \pm 1,3$  years, all patients were physical health. Placental tissue fragments were fixed in 10% neutral buffered formalin 24–48 h and were treated by standard histological techniques. After removal of the paraffin on thin sections revealed the expression of the receptor  $\beta$ -human chorionic gonadotropin hormone –  $\beta$ -HCGH; receptor 3 type of vascular endothelial growth factor – VEGFR-3 and placental alkaline phosphatase – PLAP. Histochemical score (HS) were determined by the usual formula. The values only VEGFR-3-for-gestational age 7,5–10,5 weeks had a normal distribution, the values of other markers were significantly different from normal distribution. The Pearson's linear correlation coefficient of PLAP HS with age was  $r \pm m_r = 0,45 \pm 0,15$ , nonparametric Spearman rank correlation was also statistically significant and higher  $r_s = 0,661$  ( $p < 0,05$ ). The Formula of multiple regression equation of PLAP expression with early gestation is proposed. Expression of the receptor  $\beta$ -HCG has a small statistically significant reduction of HS from  $270,5 \pm 39,6$  at 5–7 weeks of gestation to  $265,0 \pm 51,9$  to 7,5–10,5 weeks gestation. The authors showed that, early intensive production of syncytiotrophoblast hormones synchronized with the beginning of villous vascularization and angiogenesis, the formation of a complete capillary network. The analyzed quantitative values of placental markers can be used as diagnostic criteria for pathological early pregnancy.

**Keywords:** placental syncytiotrophoblast, chorionic gonadotropin, vegfr-3, plap

Усовершенствование существующих методов исследования, включая возможность определения иммуногистохимических маркеров синцитиотрофобласта, позволяет значительно увеличить точность определения последовательности и сущности событий, происходящих в период имплантации и ранних стадий плацентации. В литературе содержится немного информации о чёткой дифференциации процессов,

вовлечённых в морфогенез плаценты [6, 2]. Обнаружение в сыворотке крови беременной женщины некоторых продуктов синтеза плацентарной ткани (плацентарной щелочной фосфатазы, далее – PLAP, фактора роста эндотелия сосудов – VEGF, человеческого хорионического гонадотропина, далее –  $\beta$ -HCG) и других веществ, освобождаемых в результате апоптоза клеток плода, делает возможным использование их в качестве биомаркеров нарушений развития фето-плацентарного комплекса [7, 13, 3]. По данным ряда авторов, иммуногистохимический анализ позволяет определить некоторые плодные белки, PLAP или её ферментативную активность и указывает на увеличение концентрации маркеров синцитиотрофобласта в плазме крови у женщин с ранним началом преэклампсии по сравнению с нормальными показателями беременных женщин [8]. В отличие от более поздних стадий развития беременности обнаружение маркеров синцитиотрофобласта и эмбриональных клеток возможно уже на 5-й неделе беременности [4], что коррелирует с такими осложнениями беременности, как угроза невынашивания, многоводие, ранний токсикоз, анеуплоидия и преэклампсия [10, 14, 15]. Таким образом, определение сроков начала и динамики развития экспрессии маркеров синцитиотрофобласта является важным как при физиологической беременности, так и в установлении причин нарушений её развития или невынашивания.

**Целью исследования** является установление сроков начала и динамики иммуногистохимической экспрессии некоторых маркеров синцитиотрофобласта в условиях физиологической беременности.

#### **Материал и методы исследования**

Плацентарная ткань для исследований была получена при процедуре проведения медицинских абортов на сроках гестации от 5,5 до 10,5 недель развития. Срок гестации определялся по 1-у дню последней менструации. Для уточнения сроков гестации дополнительно использовали данные о результатах ультразвуковой диагностики с определением теменно-копчикового размера эмбриона по номограмме сонографа перед началом прерывания беременности. Средний возраст матери составил  $26,1 \pm 1,3$  лет, все пациентки были соматически здоровы. Полученную плацентарную ткань тщательно промывали дистиллированной холодной водой с инструментальным выделением фрагментов хориального слоя плаценты и ворсин. Эмбриональная ткань исключалась из исследования. Полученные таким образом фрагменты плацентарной ткани фиксировались в 10%-м нейтральном буферном растворе формалина 24–48 часов и обрабатывали по стандартной гистологической технике. Срезы толщиной 3–5 микрон окрашивали гематоксилином-эозином. Кроме того, после депарафинизации на тонких срезах выявляли экспрессию рецепторов к человеческому хорионическому  $\beta$ -гонадотропному гормону –  $\beta$ -HCG; к рецепторам 3 типа сосудистого эндотелиального фактора роста – VEGFR-3; плацентарную щелочную фосфатазу – PLAP. После депарафинизации и нанесения первичных антител маркеры выявлялись

с помощью Universal iSH Detection Kit. Для этого депарафинированные в ксилоле срезы регидратировали через спирты снижающейся концентрации и выдерживали в 1%-м растворе перекиси водорода и метанола в течение 10 минут, для погашения активности эндогенной пероксидазы. Далее срезы промывали в 0,15 М трис-буфере. Маркеры были детектированы с помощью пероксидаза-авидин-биотинового метода. Конечный продукт реакции определяли с помощью 3,3'-диаминобензидина (DAB, Sigma Chemical Co), содержащего 0,01% перекиси водорода в течение 2–3 мин. Срезы контрастировали гематоксилином Майера в течение 30 с, дегидратировали, просветляли в ксилоле. Постоянный положительный и отрицательный контроли были включены в каждую серию исследования. Препараты исследовали и фотодокументировали под световым микроскопом Leica DM500 и Leica DM4000 с использованием системы Leica Application Suite и цифровой фотокамеры высокого разрешения.

Интенсивность экспрессии рецепторов определяли стандартным полуколичественным методом с учётом интенсивности окрашивания (0 – негативная реакция; 1 – признаки иммуноэкспрессии в виде слабого окрашивания цитоплазмы клеток; 2 – умеренно выраженная (несомненная) экспрессия; 3 – максимальные экспрессия и значения процента положительных клеток. Гистохимический коэффициент определяли по соответствующей формуле HS (Histochemical score) =  $\sum P(i)xi$ , в которой  $i$  – интенсивность окрашивания, выраженная в баллах от 0 до 3-х,  $P(i)$  – процент клеток, окрашенных с разной интенсивностью. Результат подсчёта HS считали следующим образом: от 0 до 10 – отрицательный; от 10 до 100 – слабopоложительный; от 100 до 300 – положительный. Статистический анализ полученных результатов производили с использованием лицензионной программы «Statistica 6.0» фирмы StatSoft Inc. (USA) с использованием параметрической и непараметрической статистики.

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

Наиболее значимым показателем развития ворсин хориона является степень их васкуляризации, которая была нами исследована с помощью реакции к рецепторам VEGFR-3, избирательно экспрессирующимся в ангиобластах и эндотелиоцитах. На 5-й неделе гестации наблюдалась одновременная иммуноэкспрессия этого маркера в эндотелии капилляров эндометрия и ворсинах плаценты. По мере увеличения срока гестации происходит укрупнение капилляров и плотности их распределения с ориентацией новообразованной капиллярной сети в сторону эпителия ворсин на 6-й неделе и особенно выраженное на 7-й неделе (рис. 1, «А-D»). Подобные картины субэпителиального расположения примитивной капиллярной сети наблюдались и на 8-й неделе, что отражает, структурную готовность капилляров для предстоящего интенсивного гемохориального обмена (рис. 1, «Е-F»). Гистохимический коэффициент экспрессии рецепторов VEGFR-3 статистически значимо растёт в течение эмбрионального периода развития от  $210,0 \pm 62,5$  до  $235,5 \pm 53,8$  баллов, составляя в среднем  $223,1 \pm 58,9$  балла (таблица). Линейная корреляция этого маркера с возрастом оказалась незначимой ввиду несоответствия формы распределения данных нормальной.

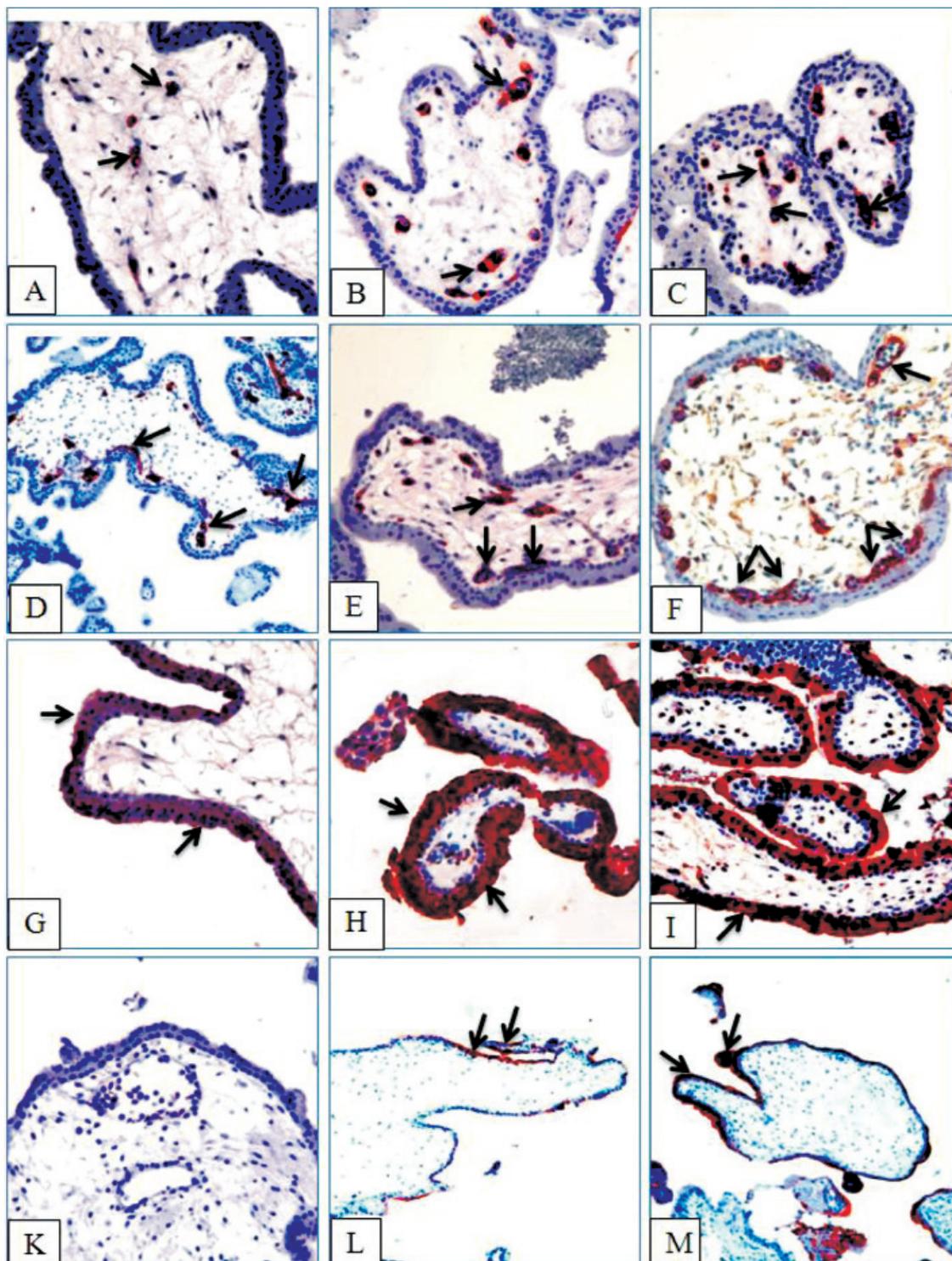


Рис. 1. Микрофото препаратов плаценты человека. Иммуногистохимическая экспрессия маркеров синцитиотрофобласта ворсин в виде продукта реакции красной окраски (указано стрелками), ув. x200. Экспрессия VEGFR-3 на 5–6 неделе гестации: А–В – васкулогенез в виде аутохтонно возникающих островков и небольших тяжей ангиобластов; С – ангиобласты и первичные капилляры; D – начало ангиогенеза в виде встречных тяжей ангиобластов между сформированными изолированными капиллярами. Экспрессия VEGFR-3 на 7–8 неделе гестации: E–F – сформированная первичная капиллярная сеть. Экспрессия  $\beta$ -ХГЧ на 6–7 неделе гестации: G–I – высокая активность маркера в апикальной зоне синцитиотрофобласта хориальных ворсин при негативной реакции в клетках цитотрофобласта. Экспрессия PLAP: K – отсутствие экспрессии маркера на 6–7 неделе; L–M (ув. x100) – экспрессия маркера на 8–9 неделе в зоне щётчатой каймы синцитиотрофобласта

Как правило, эмбриональные биоматериалы по подавляющему большинству количественных и качественных измеряемых параметров всегда имеют значительный разброс индивидуальных величин показателей. В связи с особенностями биоматериала и неболь-

шим объёмом исследуемой выборки нами предварительно были осуществлены процедуры проверки выпадов (артефактов) по методу, предложенному Плохинским (1970), и на соответствие распределения значений нормальному по критерию Шапиро-Уилка.

Показатели иммуногистохимической экспрессии маркёров синцитиотрофобласта плаценты человека 5–10,5 недель гестации в баллах ( $M \pm \sigma$ )

№ п/п	ИГХ-маркёр	Возраст эмбриона или плода в неделях гестации			*Уровень достоверности различий по t-критерию Стьюдента	*Уровень достоверности различий по критерию Колмогорова-Смирнова или Вальда-Вольфовица
		5–7 (n = 19)	7,5–10,5 (n = 20)	5–10,5 (n = 39)		
1	PLAP	0,00 ± 0,00*	23,5 ± 32,97*	12,05 ± 26,2	0,003643	0,003244
2	VEGFR-3	210,0 ± 62,5*	235,5 ± 53,8*	223,1 ± 58,9	0,179953	< 0,05
3	β-НСГН	270,5 ± 39,6*	265,0 ± 51,9*	267,7 ± 45,8	0,712071	0,008408

Из всех анализируемых групп значений только значения VEGFR-3 для гестационного возраста 7,5–10,5 недель имели нормальное распределение (значения критерия  $W = 0,91318$  при  $p = 0,07331$ ). Все остальные анализируемые группы имели распределение, статистически значимо отличающееся от нормального. При сравнении и поиске различий между возрастными группами 5–7 и 7,5–10,5 недель развития были использованы как параметрические, так и непараметрические критерии различий (см. таблицу). Иммуноэкспрессия плацентарной щелочной фосфатазы составила в среднем  $12,05 \pm 26,2$  баллов за исследованный период гестации и отчетливо выявлялась только после 7,5 недель ( $23,5 \pm 32,97$  баллов). Коэффициент линейной корреляции Пирсона этого маркёра с возрастом был статистически значимым, его значение было положительным и составило  $(r \pm m_r) = 0,45 \pm 0,15$ , непараметрическая ранговая корреляция Спирмена также для этого показателя была статистически значима и имела более высокое значение  $r_s = 0,661$  ( $p < 0,05$ ). Наличие статистически значимой линейной корреляции позволило построить график множественной регрессии показателя PLAP от гестационного возраста. Скорректированный коэффициент регрессии составил  $PLAP-R^2 = 0,50394847$  ( $p = 0,00000$ ), уравнение множественной линейной регрессии выглядит следующим образом:

$$HS \text{ PLAP} = 11,4 \cdot G - 72,9,$$

в котором «G» – возраст эмбриона или плода в неделях гестации. С учётом выраженной возрастной неравномерности экспрессии PLAP нами был осуществлён подбор её зависимости от возраста графическим способом в рамках опций программы Statistica.

Наилучшим графическим отражением зависимости оказался полиномиальный график, соответствующее уравнение имело следующий вид:

$$HS \text{ PLAP} = 243,2 - 74,6 \cdot G + 5,6 \cdot G^2 \text{ (рис. 2).}$$

Для маркёров VEGFR-3 и β-НСГН значения соответствующих скорректированных коэффициентов регрессии было недостоверным и составило  $VEGFR-3-R^2 = 0,03702769$  ( $p = 0,125207$ ) и  $\beta\text{-НСГН-}R^2 = 0,00091143$  ( $p = 0,332212$ ), соответственно. При обзорном анализе микропрепаратов указанные выше количественные закономерности иммуноэкспрессии PLAP также нашли отражение. Тщательные поиски не выявили присутствия этого фермента в тканях плаценты на 5–6 неделях гестации (рис. 1, «К»). Лишь на 7-й неделе изначально она выявлялась в синцитиальных почках и в отдельных участках покровного эпителия ворсин. На 8-й неделе иммуноэкспрессия PLAP определялась по всему периметру эпителия ворсин, в отдельных участках она явно концентрировалась в апикальной части синцитиотрофобласта, т.е. в зоне щёточной каймы (рис. 1, «L-M»).

На 5 неделе эмбриогенеза плода человека, согласно полученным результатам, наблюдается выраженная экспрессия рецепторов к β-НСГ в цитоплазме синцитиотрофобласта (рис. 1, «G»). Максимумы выявления продукта иммуногистохимической реакции приходятся 7–8-ю неделю развития, в период, когда рецепторы к β-НСГ обнаруживаются не только в цитоплазме, но и в свободных симпластах и стромальных макрофагах или клетках Кащенко-Гофбауэра (рис. 1, «H-I»). Полуколичественная оценка экспрессии рецепторов к β-НСГ с помощью непараметрических критериев выявила некоторое незначительное стати-

стически значимое снижение гистохимического коэффициента от  $270,5 \pm 39,6$  баллов в 5–7 недель гестации до  $265,0 \pm 51,9$  бал-

лов к 7,5–10,5 неделям гестации, составив в среднем за исследованный период  $267,7 \pm 45,8$  баллов (см. таблицу).

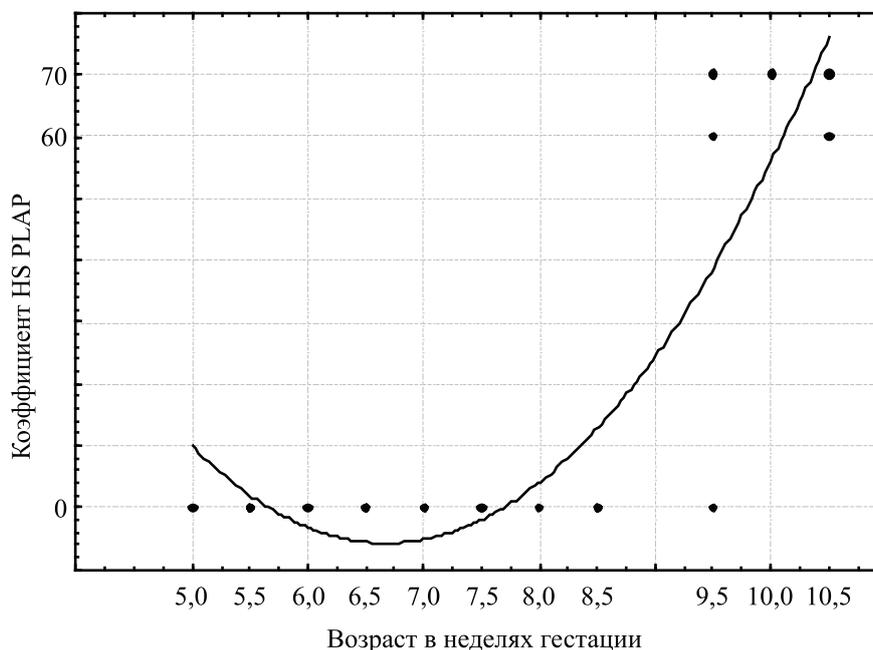


Рис. 2. Диаграмма полиномиальной зависимости значений гистохимического коэффициента экспрессии PLAP от возраста эмбриона или плода в неделях гестации

Отсутствие в настоящее время единого понимания начала и становления механизма эмбриохориального кровообращения не исключает по меньшей мере двух наиболее приемлемых точек зрения о его возникновении и развитии. Первая заключается в миграции эндovasкулярных трофобластов по децидуальным спиральным артериям, по путям, ведущим в межворсинчатое пространство к материнской крови [5, 11]. Согласно второй точке зрения трофобласты вырастают в децидуальные спиральные артерии и образуют трофобластические пробки, которые блокируют кровоток матери в межворсинчатом пространстве и предотвращают его вплоть до конца первого триместра (10–12 недель гестации) [9]. Ворсинчатый трофобласт содержит две популяции клеток: недифференцированные цитотрофобластические и полностью дифференцированные синцитиотрофобластические, которые управляют сложными бимолекулярными взаимодействиями и в качестве важного эндокринного органа производят многочисленные факторы роста, регулируя процессы развития и роста плаценты и плода. VEGF является чрезвычай-

но специфичным митогеном эндотелиальных клеток, который стимулирует эндотелиальную пролиферацию, миграцию клеток и замедляет апоптоз. Demig с соавт. [6] выявили, что клетки Гофбауэра часто обнаруживаются в непосредственной близости от цитотрофобласта, васкулогенных и ангиогенных клеток-предшественников ворсинчатой ткани. Эти факты наводят на мысль о том, что они задействованы в процессах сопровождения и формирования ангиогенных клеток во время развития ворсинчатого остова. Обнаруженные нами рецепторы к  $\beta$ -HCG подтверждают данные литературы о том, что его выработка достигает самого высокого уровня в 8 недель, а затем постепенно падает. Плацентарную щелочную фосфатазу, источником которой в организме матери является плацента, относят к белкам, ассоциированным с беременностью и опухолевым ростом. В онтогенезе его экспрессия регулируется таким образом, что до 10-й недели беременности в плаценте присутствует фосфатаза, похожая по свойствам на печеночную взрослого человека, на 10–13 неделях удаётся обнаружить плацентарный изоэнзим,

а к 14 неделям этот фермент обнаруживает полную активность, причём синтез его стимулируется эстрогенами [1]. Функция PLAP в организме матери представляется неоднозначной. По-видимому, этот энзим, участвуя в дефосфорилировании различных соединений, является активным ключевым ферментом многих метаболических процессов в быстрорастущих тканях матери и плода, для обеспечения которых обычных гидролаз было бы недостаточно [12]. Кроме того, PLAP принимает участие в активации факторов роста и, возможно, сама обладает такими свойствами. Есть также указания на то, что она может играть роль активатора плазминогена, что очень важно для регуляции системы гемостаза плаценты и плацентарного ложа. В условиях физиологической беременности PLAP, наряду с  $\beta$ -HCG, плацентарным лактогеном, специфическим бета-гликопротеином беременных и антигеном KI67, относится к маркерам дифференцировки трофобласта, поэтому она может быть надёжным индикатором срока гестации и развития плаценты [12].

#### Выводы

Таким образом, согласно полученным результатам, сроками начала экспрессии рецепторов к ранним маркерам, отражающим процессы физиологического морфогенеза плаценты,  $\beta$ -HCG и VEGF-3 следует считать 5 неделю гестации. PLAP в щёточной кайме синцитиотрофобласта при физиологической беременности начинает выявляться с 7 недели гестации. Начало интенсивной гормонопродуцирующей функции синцитиотрофобласта синхронизировано с началом васкуляризации ворсин и интенсивным ангиогенезом, формированием полноценной капиллярной сети и приближением её к эпителиальному покрову. Эти иммуногистохимические находки свидетельствуют о последовательности процессов структурной перестройки ворсин хориона для подготовки их к гемохориальному обмену. Количественные показатели исследованных нами плацентарных маркеров могут быть использованы в качестве исходных критериев патоморфологической диагностики при патологии ранней беременности, установления причин невынашивания и самопроизвольного прерывания.

Авторы заявляют об отсутствии каких бы то ни было конфликтов интересов с кем бы то ни было в отношении идеи, планирования, выполнения и опубликования ре-

зультатов настоящего исследования и их последующего использования в коммерческих или иных целях.

#### Список литературы

1. Беда Н.А. Плацентарная щелочная фосфатаза и острофазовые белки в иммунохимической оценке течения беременности и некоторой онкопатологии: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2002. – С. 9–27.
2. Anteby E.Y., Natanson-Yaron S., Greenfield C., Goldman-Wohl D., Haimov-Kochman R., Holzer H., Yagel S. Human placental Hofbauer cells express sprouty proteins: a possible modulating mechanism of villous branching // *Placenta*. – 2005. – Vol. 26. – № 6. – P. 476–483.
3. Bates D.O. An unexpected tail of VEGF and PlGF in pre-eclampsia // *Biochem. Soc. Trans.* – 2011. – Vol. 39. – № 6. – P. 1576–1582.
4. Birch L., English C.A., O'donoghue To Barigye O., Fisk N.M., Kir J.T. Accurate and reliable quantitative circulating fruit and total DNA in plasma mother from 5 to 41 weeks of pregnancy // *Clin. Chem.* – 2005. – Vol. 51. – P. 312–320.
5. Burrows T.D., King A., Loke Y.W. Trophoblast migration during human placental implantation // *Hum. Reprod. Update*. – 1996. – Vol. 2. – № 4. – P. 307–321.
6. Demir R., Kayisli U.A., Seval Y., Celik-Ozenci C., Korgun E.T., Demir-Weusten A.Y., Huppertz B. Sequential expression of VEGF and its receptors in human placental villi during very early pregnancy: differences between placental vasculogenesis and angiogenesis // *Placenta*. – 2004. – Vol. 25. – № 6. – pp. 560–572.
7. Di Lorenzo G., Ceccarello M., Cecotti V., Ronfani L., Monasta L., Vecchi Brumatti L., Montico M., D'Ottavio G. The first trimester maternal serum PlGF, free  $\beta$ -hCG and Papp-A, RR-13, uterine artery Doppler and maternal history for the prediction of pre-eclampsia // *Placenta*. – 2012. – Vol. 33. – № 6. – P. 495–501.
8. Goswami D., Tannetta D.S., Fuchisawa, Redman CW, Sargent I.L. Excessive discharge of microparticles syncytiotrophoblast is a sign of early onset pre-eclampsia, but not normal blood pressure intrauterine delay // *Placenta*. – 2006. – Vol. 27. – № 1. – P. 56–61.
9. Jaffe R., Jauniaux E., Hustin J. Maternal circulation in the first-trimester human placenta—myth or reality? // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1997. – Vol. 176. – № 3. – P. 695–705.
10. Leung T.N., Zhang J., Lau T.C., Lo Y.M. Maternal plasma DNA of the fetus as a marker for premature delivery // *The Lancet*. – 1998. – Vol. 352. – P. 1904–1905.
11. Meekins J.W., Luckas M.J., Pijnenborg R., Mc. Fadyen I.R. Histological study of decidual spiral arteries and the presence of maternal erythrocytes in the intervillous space during the first trimester of normal human pregnancy // *Placenta*. – 1997. – Vol. 18. – P. 459–464.
12. Onwuameze I.C., Onwubere B.J., Ezeoke A.C. Serum heat-stable alkaline phosphatase activity in normal pregnancy // *East. Afr. Med. J.* – 1999. – Vol. 76. – № 6. – P. 341–343.
13. Andraweera P.H., Dekker G.A., Lawrence J.A. Roberts. Placental expression of VEGF mRNA in the family of adverse pregnancy outcomes // *Placenta*. – 2012. – Vol. 33. – № 6. – P. 467–472.
14. Sekizawa, Sugito Y., Iwasaki M., Watanabe, Jimbo M., S Hoshi et al. Cell-free fetal DNA increases in the blood plasma of pregnant women with an indomitable // *Clin. Chem.* – 2001. – Vol. 47. – P. 2164–2165
15. Zhong Yu, Ng M.C., Lo Y.U., Chan J., Johnson P.J. The presence of mitochondrial tRNA (Leu (CID)) to G

3243 mutations in DNA, extracted from serum and plasma of patients with type 2 diabetes // *J. Clin. Pathol.* – 2000. – Vol. 53. – P. 466–469.

### References

1. Beda N.A. Placentarnaja welochnaja fosfataza i ostrofazovye belki v immunohimicheskoj ocenke techenija beremennosti i nekotoryh onkopatologii: dis. ... kand. med. nauk. M., 2002. pp. 9–27.
2. Anteby E.Y., Natanson-Yaron S., Greenfield C., Goldman-Wohl D., Haimov-Kochman R., Holzer H., Yagel S. Human placental Hofbauer cells express sprouty proteins: a possible modulating mechanism of villous branching // *Placenta*. 2005. Vol. 26. no. 6. pp. 476–483.
3. Bates D.O. An unexpected tail of VEGF and PlGF in pre-eclampsia // *Biochem. Soc. Trans.* 2011. Vol. 39. no. 6. pp. 1576–1582.
4. Birch L., English C.A., O'donoghue To Barigye O., Fisk N.M., Kir J.T. Accurate and reliable quantitative circulating fruit and total DNA in plasma mother from 5 to 41 weeks of pregnancy // *Clin. Chem.* 2005. Vol. 51. pp. 312–320.
5. Burrows T.D., King A., Loke Y.W. Trophoblast migration during human placental implantation // *Hum. Reprod. Update*. 1996. Vol. 2. no. 4. pp. 307–321.
6. Demir R., Kayisli U.A., Seval Y., Celik-Ozenci C., Korgun E.T., Demir-Weusten A.Y., Huppertz B. Sequential expression of VEGF and its receptors in human placental villi during very early pregnancy: differences between placental vasculogenesis and angiogenesis // *Placenta*. 2004. Vol. 25. no. 6. pp. 560–572.
7. Di Lorenzo G., Ceccarello M., Cecotti V., Ronfani L., Monasta L., Vecchi Brumatti L., Montico M., D'Ottavio G. The first trimester maternal serum PlGF, free  $\beta$ -hCG and Papp-A, RR-13, uterine artery Doppler and maternal history for the prediction of pre-eclampsia // *Placenta*. 2012. Vol. 33. no. 6. pp. 495–501.
8. Goswami D., Tannetta D.S., Fuchisawa, Redman CW, Sargent I.L. Excessive discharge of microparticles syncytiotrophoblast

is a sign of early onset pre-eclampsia, but not normal blood pressure intrauterine delay // *Placenta*. 2006. Vol. 27. no. 1. pp. 56–61.

9. Jaffe R., Jauniaux E., Hustin J. Maternal circulation in the first-trimester human placenta—myth or reality? // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1997. Vol. 176. no. 3. pp. 695–705.
10. Leung T.N., Zhang J., Lau T.C., Lo Y.M. Maternal plasma DNA of the fetus as a marker for premature delivery // *The Lancet*. 1998. Vol. 352. pp. 1904–1905.
11. Meekins J.W., Luckas M.J., Pijnenborg R., McFadyen I.R. Histological study of decidual spiral arteries and the presence of maternal erythrocytes in the intervillous space during the first trimester of normal human pregnancy // *Placenta*. 1997. Vol. 18. pp. 459–464.
12. Onwuameze I.C., Onwubere B.J., Ezeoke A.C. Serum heat-stable alkaline phosphatase activity in normal pregnancy // *East. Afr. Med. J.* 1999. Vol. 76. no. 6. pp. 341–343.
13. P.H. Andraweera, G.A. Dekker, J.A. Lawrence Roberts. Placental expression of VEGF mRNA in the family of adverse pregnancy outcomes // *Placenta*. 2012. Vol. 33. no. 6. pp. 467–472.
14. Sekizawa, Sugito Y., Iwasaki M., Watanabe, Jimbo M., S Hoshi et al. Cell-free fetal DNA increases in the blood plasma of pregnant women with an indomitable // *Clin. Chem.* 2001. Vol. 47. pp. 2164–2165.
15. Zhong Yu, Ng M.C., Lo Y.U., Chan J., Johnson P.J. The presence of mitochondrial tRNA (Leu (CID)) to G 3243 mutations in DNA, extracted from serum and plasma of patients with type 2 diabetes // *J. Clin. Pathol.* 2000. Vol. 53. pp. 466–469.

### Рецензенты:

Чарышкин А.Л., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой факультетской хирургии ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск;

Музурова Л.В., д.м.н., профессор кафедры анатомии человека ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ имени В.И. Разумовского», г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 15.11.2012.