

DOI: 10.32364/2618-8430-2021-4-1-23-30

## Особенности васкулогенеза и ангиогенеза в плаценте на фоне химиотерапии

Ю.Э. Доброхотова<sup>1</sup>, Е.И. Боровкова<sup>1</sup>, А.М. Арутюнян<sup>1</sup>, С.Ж. Данелян<sup>2</sup>, Е.М. Малышева<sup>2</sup>, Н.В. Жарков<sup>2,3</sup>, Т.Н. Аксенова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

<sup>2</sup>ГБУЗ «ГКБ № 40 ДЗМ», Москва, Россия

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования:** изучить процесс васкулогенеза и ангиогенеза в плацентах на фоне химиотерапии.

**Материал и методы:** исследована структура плацент 57 беременных в возрасте от 22 до 38 лет, разделенных на 3 группы: с проведением химиотерапии и без проведения химиотерапии и контрольную группу, которую составили здоровые беременные. Работа выполнена на срезах центральной части плацент, полученных после родоразрешения. После стандартного гистологического исследования проводилось иммуногистохимическое исследование. Для CD31, CD34 оценивали интенсивность реакции, для VEGF, VEGFR1 и VEGFR2, помимо оценки интенсивности реакции, также подсчитывали количество позитивно окрашенных клеток в 1 поле зрения, для eNOS по такой же методике определяли среднее значение позитивно окрашенных клеток отдельно в эпителиальных клетках и клетках стромы.

**Результаты исследования:** при изучении препаратов плацент женщин контрольной группы отмечалось соответствие степени созревания ворсинчатого дерева сроку гестации. В 100% плацент беременных с онкопатологией, которым проводилась химиотерапия, и 46,8% плацент беременных с онкопатологией без химиотерапии отмечалось несоответствие созревания ворсинчатого дерева сроку гестации с отставанием от гестационного срока на 2–4 нед. В результате иммуногистохимического исследования не было выявлено значимых отличий в концентрациях CD31, CD39, eNOS, VEGF, VEGFR1 и VEGFR2 в ткани плацент от пациенток с онкопатологией без химиотерапии и пациенток в контрольной группе. В плацентах женщин, получавших химиотерапию, интенсивность реакции VEGF и плотность клеток с положительным окрашиванием в 2 раза превышали показатели в контрольной группе, в 11 раз была повышена активность VEGFR1 и в 1,4 раза — VEGFR2. Среднее количество клеток, экспрессирующих VEGFR1 и VEGFR2, в 1 поле зрения возросло в 1,5 и 1,7 раза соответственно. Также выявлено снижение количества CD31 (в 1,6 раза) и CD 34 (в 1,3 раза), повышение уровня eNOS в эпителии и строме ворсин в 1,4 и 1,3 раза соответственно.

**Заключение:** выявленные нами особенности иммуногистохимического распределения экспрессии VEGF и его рецепторов в ткани плацент беременных, получающих терапию цитостатиками, в определенной мере отражают процессы компенсации и нарушения функционирования системы мать — плацента — плод в условиях преплацентарной гипоксии.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** ангиогенез, васкулогенез, сосудистые факторы роста, химиотерапия, гипоксия, плацентарная недостаточность.

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Ю.Э. Доброхотова, Боровкова Е.И., Арутюнян А.М. и др. Особенности васкулогенеза и ангиогенеза в плаценте на фоне химиотерапии. РМЖ. Мать и дитя. 2021;4(1):23–30. DOI: 10.32364/2618-8430-2021-4-1-23-30.

## Placental vasculogenesis and angiogenesis in women undergoing chemotherapy

Yu.E. Dobrokhotova<sup>1</sup>, E.I. Borovkova<sup>1</sup>, A.M. Arutyunyan<sup>1</sup>, S.Zh. Danelyan<sup>2</sup>, E.M. Malysheva<sup>2</sup>, N.V. Zharkov<sup>2,3</sup>, T.N. Aksenova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>City Clinical Hospital No. 40, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim:** to study placental vasculogenesis and angiogenesis in women receiving chemotherapy.

**Patients and Methods:** placental structure was examined in 57 pregnant women aged 22–38 years who were subdivided into 3 groups, i.e., women with malignancies receiving or not receiving chemotherapy and healthy controls. The slices of the central part of placentas collected after childbirth were examined. Immunohistochemistry (IHC) was performed after standard histology. IHC intensity was assessed for CD31 and CD34. In addition to IHC intensity, the number of positive cells per field of view was calculated for VEGF, VEGFR1, and VEGFR2. Mean counts of positive cells separately for epithelial and stromal cells were calculated for eNOS.

**Results:** in the control group, the maturity of the placental villous tree matched the gestational age. Meanwhile, in 100% of pregnant women with malignancies receiving chemotherapy and in 46.8% of pregnant women with malignancies not receiving chemotherapy, the maturity of

the placental villous tree was 2–4 weeks behind the gestational age. IHC revealed no significant differences in the placental concentrations of CD31, CD39, eNOS, VEGF, VEGFR1, and VEGFR2 between women with malignancies not receiving chemotherapy and the controls. In women receiving chemotherapy, IHC intensity and the number of positive cells were twice as high as in the control group. The activity of VEGFR1 and VEGFR2 was 11 times higher and 1.4 times higher, respectively, than in the control group. The mean number of cells expressing VEGFR1 and VEGFR2 per field of view increased by 1.5 times and 1.7 times, respectively. In addition, 1.6-fold reduction in CD31 level and 1.3-fold reduction in CD34 level as well as 1.4-fold increase in epithelial eNOS level and 1.3-fold increase in stromal eNOS level were revealed.

**Conclusions:** our findings on IHC distribution of the expression of VEGF and its receptors in the placental tissue of pregnant women undergoing cytostatic chemotherapy in part illustrate the processes of the compensation and impaired functioning of the mother-placenta-fetus system in pre-placental hypoxia.

**KEYWORDS:** angiogenesis, vasculogenesis, vascular growth factor, chemotherapy, hypoxia, placental insufficiency.

**FOR CITATION:** Yu.E. Dobrokhotova, Borovkova E.I., Arutyunyan A.M. et al. Placental vasculogenesis and angiogenesis in women undergoing chemotherapy. Russian Journal of Woman and Child Health. 2021;4(1):23–30. DOI: 10.32364/2618-8430-2021-4-1-23-30.

## ВВЕДЕНИЕ

Формирование плаценты — это сложный и многоэтапный процесс, полноценность которого во многом определяется васкуло- и ангиогенезом. Васкулогенез — это образование новых кровеносных сосудов из мезодермальных клеток-предшественников эндотелиальных клеток (гемангиобластов), которое начинается в конце 3-й недели гестации [1]. Ангиогенез — это образование сосудов из уже существующих структур за счет механизмов элонгации, инвагинации и капиллярного почкования [2].

Элонгация — это удлинение сосуда за счет пролиферации эндотелиальных клеток, которое представляет собой неразветвляющийся ангиогенез. Инвагинация и капиллярное почкование являются разветвляющимся ангиогенезом. При инвагинации происходит образование нового сосуда внутри просвета предыдущего за счет миграции эндотелиальных клеток, а при капиллярном почковании новая боковая ветвь сосуда формируется при помощи ее латерального роста.

Васкулогенез и ангиогенез регулируются цитокинами и факторами роста [3]. Одним из наиболее значимых является сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) [4–6]. Установлено, что рецепторы VEGFR1 и VEGFR2 экспрессируются в плацентарном синцитиотрофобласте, эндотелиальных клетках капилляров плацентарных ворсин [7, 8]. VEGF, связываясь с мембранными тирозинкиназными рецепторами VEGFR1 (нерастворимая форма), запускает каскад реакций, дающих старт ангиогенезу. Активация VEGFR2 способствует повышению сосудистой проницаемости, миграции и пролиферации эндотелиальных клеток. Установлено, что уровень VEGF увеличивается со сроком гестации и к III триместру в 5 раз превышает исходные показатели [9]. На поздних стадиях ангиогенеза макрофаги, фибробласты и гладкомышечные клетки секретируют антиангиогенные факторы, тормозящие миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток, обеспечивая оптимальный баланс между ангиогенезом и апоптозом эндотелиальных клеток, который необходим для нормального функционирования плаценты [10, 11].

В ходе иммуногистохимических исследований плацент было обнаружено, что VEGF и его рецепторы VEGFR1 и VEGFR2 локализуются не во всех слоях плаценты, а только в цитотрофобласте, ангиогенных клетках, клетках Гофбауэра и преэндотелиальных клетках, формирующих примитивную сосудистую сеть. На фоне гипоксии экспрессия VEGF и VEGFR1 в плаценте несколько повышается [12, 13], а экспрессия VEGFR2 снижается [14].

Тонус сосудов фетоплацентарного комплекса контролируется несколькими вазоактивными медиаторами, глав-

ным из которых является оксид азота (NO), синтезируемый под влиянием эндотелиальной синтазы (eNOS). Основное предназначение продукции NO заключается в поддержании низкой сосудистой резистентности в плацентарных артериях не только посредством паракринного эффекта, но и за счет ангиогенеза [15, 16]. Экспериментально доказано, что участие NO более значимо в процессах ангиогенеза, нежели васкулогенеза. Во II и III триместрах продукция эндотелиальной синтазы происходит в синцитиотрофобласте. Образование NO плацентарной NOS в межворсинчатом пространстве может препятствовать адгезии и агрегации тромбоцитов и способствовать расслаблению гладкомышечных клеток ворсин [17]. Иммуногистохимически было обнаружено, что в III триместре беременности трехкратно повышается экспрессия eNOS в эндотелии плацентарных сосудов по сравнению с другими отделами кровеносного русла [18], eNOS индуцирует пролиферацию эндотелиальных клеток и ангиогенез. В эндотелиальных клетках VEGF индуцирует eNOS-зависимый синтез NO путем активации VEGFR1 и VEGFR2. Обнаружено, что очень высокий уровень NO может предотвратить ангиогенез, а его влияние на клеточную пролиферацию зависит от концентрации [19].

Важную роль в процессах неоваскуляризации играют ангиогенные Т-лимфоциты (CD31) [20, 21]. Они локализуются между эндотелиальными клетками кровеносных сосудов, обеспечивают клеточную адгезию и регулируют эндотелиальную проницаемость. CD31 характеризуют активность процессов ангиогенеза [22]. Маркером ранней дифференцировки клеток-предшественников гемопоза и эндотелиальных клеток является трансмембранный белок CD34, он локализуется в ворсинках плацент и сосудистой сети [23]. Данный белок определяет сосудистую плотность, а его уровень коррелирует с процессами васкулогенеза [24]. На фоне плацентарной недостаточности, задержки роста плода и переносенной беременности уровень экспрессии CD34 в капиллярах ворсин цитотрофобласта снижается [25]. Маркеры CD34 и CD31 используются для иммуногистохимической детекции кровеносных сосудов и оценки их плотности в ткани [26].

Проведение химиотерапии во время беременности допустимо со II триместра, но сопряжено с рядом рисков [27, 28], прежде всего формированием плацентарной недостаточности. Плацента выступает в качестве биологического барьера, все химиопрепараты проникают через нее путем пассивной или облегченной диффузии и путем активного транспорта [29]. Скорость проникновения определяется молекулярным весом лекарственного препарата, его липофильностью и связью с белками-переносчиками.

Частично происходит абсорбция химиопрепаратов в тканях плаценты, что позволяет снизить концентрацию лекарств в плодном кровотоке.

Исследований, посвященных изучению влияния химиопрепаратов на структурные и функциональные изменения в плаценте, недостаточно.

**Цель исследования:** изучить процесс васкуло- и ангиогенеза в плацентах на фоне химиотерапии.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное исследование по дизайну «случай — контроль», одобренное Локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. Все пациентки дали информированное согласие на участие в исследовании. В исследование были включены 57 беременных. Первую группу составили 10 беременных с онкопатологией, которым проводилась химиотерапия ( $n=10$ ), 2-ю группу — 32 беременные с онкопатологией без химиотерапии, 3-ю группу, контрольную, — 15 здоровых пациенток с физиологически протекающей беременностью.

Возраст пациенток 1-й группы был от 22 до 38 лет ( $29\pm 3,81$  года). У 2 женщин во время беременности была диагностирована лимфома Ходжкина II и IV стадии (проведено 3 и 6 курсов химиотерапии по схеме BEACOPP-14 в 29, 32, 35-ю недели гестации и в послеродовом периоде). У 6 пациенток во время беременности диагностирован плоскоклеточный неороговевающий рак шейки матки T1aNOM0–T2bNOM0, IA–IB стадии, проведено 3 курса химиотерапии по схеме: доцетаксел 75–100 мг/м<sup>2</sup>, карбоплатин 500 мг (AUC-5) — у трех пациенток в сроки 26, 29 и 32 нед. и у остальных трех в сроки 27, 30 и 33 нед. гестации. У 2 пациенток во время беременности диагностирована светлоклеточная карцинома молочной железы T3N2M0–T4bN3M1, тройной негативный тип, проведено 2 курса химиотерапии по схеме AC доксорубин 80 мг/м<sup>2</sup>, циклофосфан 800 мг/м<sup>2</sup> у одной пациентки в сроки 22 и 25 нед. и у второй — в сроки 24 и 27 нед. гестации.

Течение беременности в группе пациенток с онкопатологией на фоне химиотерапии было физиологическим у 4 (40%) женщин. Во II–III триместрах у 3 (30%) пациенток диагностирована угроза преждевременных родов, у 3 (30%) — развилось нарушение маточно-плацентарного кровотока (НМПК) IA степени, у 2 (20%) — задержка роста плода 1-й степени, у 4 (40%) — анемия легкой и средней степени.

Во всех случаях было проведено оперативное родоразрешение путем операции кесарева сечения в сроки  $32,1\pm 2,9$  нед.

Возраст беременных 2-й группы был от 22 до 39 лет ( $33\pm 3,99$  года). У 6 пациенток беременность протекала на фоне рака молочной железы (*in situ* ( $n=2$ ); инвазивный неспецифический рак T1cN2M0–T4bN1Mx, тройной негативный тип ( $n=2$ ); низкодифференцированный инфильтративный протоковый неспецифический рак T2NOM0 ( $n=1$ ); апокринная карцинома T2NxMx, люминальный тип B ( $n=1$ )), при этом в 1 случае заболевание выявлено в послеродовом периоде, в остальных случаях — во время беременности. Онкоконсилиумом было принято решение родоразрешить беременных в сроки, близкие к доношенному, и назначить химиотерапию в послеродовом периоде.

У 13 пациенток во время беременности был выявлен плоскоклеточный рак шейки матки *in situ* ( $n=4$ ) и инва-

зивный плоскоклеточный рак шейки матки T1bNxM0–T1b2N1M0, IB–IB2 ( $n=9$ ). У 2 пациенток во время беременности диагностирован светлоклеточный рак почки T1bNOM0–T2bNOM0 II стадии и еще у 2 пациенток — папиллярный переходо-клеточный рак мочевого пузыря T1NxM0. У 3 пациенток беременность наступила после консервативного лечения высокодифференцированной аденокарциномы эндометрия T1aNOM0. По одной пациентке было с муцинозной цистаденокарциномой T1aNOM0, IA, высокодифференцированной эндометриоидной цистаденокарциномой T1aNOM0, аденокарциномой околоушной слюнной железы T2N2M0, лимфомой Ходжкина I стадии, папиллярным раком щитовидной железы T1aNOM0 и меланомой бедра T2aNOM0, диагностированными во время беременности. Поскольку во время беременности онкологическое заболевание не прогрессировало, онкоконсилиумом было принято решение назначить химиотерапию после родоразрешения.

Во 2-й группе течение беременности у 9 (28,1%) пациенток осложнилось анемическим синдромом, у 19 (59,4%) — угрозой преждевременных родов и плацентарной недостаточностью (НМПК IA и II степени и задержкой роста плода 2–3-й степени) в 3 (9,4%) случаях.

Роды в срок и через естественные родовые пути произошли у 13 (40,6%) пациенток, путем операции кесарева сечения — у 19 (59,4%). Средний срок оперативного родоразрешения составил  $37,8\pm 2,19$  нед.

Третью, контрольную, группу составили 15 здоровых женщин с физиологически протекающей беременностью в возрасте от 23 до 37 лет ( $29,0\pm 4,1$  года). Все были родоразрешены влагалищным путем в срок  $39,6\pm 1,4$  нед.

Морфологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование проводилось на базе отделения патоморфологии ГБУЗ «ГКБ № 40 ДЗМ». После родоразрешения из центральной части плаценты вырезали участок размером 2×2 см и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. После стандартной парафиновой проводки изготавливали срезы, которые окрашивали гематоксилином Майера и эозином. После стандартного гистологического исследования проводили ИГХ-исследование на депарафинированных срезах толщиной 4–5 мкм. Депарафинирование, демаскировку антигеном и ИГХ-исследования проводили по стандартным протоколам с использованием автостейнера Leica Bond Max. В качестве первичных антител использовали мышинные моноклональные антитела к CD31 (клон JC70, Cell Marque, разведение 1:100), CD34 (клон QBEnd/10, Cell Marque, разведение 1:100), VEGF (клон C12, Cloud-Clone Corp., разведение 1:100) и кроличьи поликлональные антитела к VEGFR1 (GeneTex, разведение 1:100), VEGFR2 (GeneTex, разведение 1:100) и eNOS (Cloud-Clone Corp., разведение 1:100). После проведения ИГХ-реакции ядра клеток докрасивали гематоксилином Майера.

Оценку ИГХ-реакции проводили с использованием полуколичественных и количественных методов. Для CD31, CD34 оценивали интенсивность реакции по шкале от 0 до 3 баллов (0 баллов — реакция отсутствует, 1 балл — слабая реакция, 2 балла — умеренная реакция, 3 балла — выраженная реакция) — это объективная оценка, она проводится с помощью автоматизированной аппаратуры (микроспектрофотометры, денситометры) с использованием единого принципа измерения по закону Ламберта — Бэра на основе поглощения света. Для VEGF, VEGFR1 и VEGFR2, помимо оценки интенсивности реакции, также

подсчитывали количество позитивно окрашенных клеток в 1 поле зрения (при увеличении 200). Подсчет позитивно окрашенных клеток выполняли в 10 полях зрения при увеличении 200 и рассчитывали среднее арифметическое. Для eNOS по такой же методике определяли среднее значение позитивно окрашенных клеток отдельно в эпителиальных клетках и клетках стромы.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 25 (IBM, США). Рассчитывали средние значения, стандартное отклонение, стандартную ошибку среднего, 95% доверительный интервал. Так как распределение показателей соответствовало нормальному, для определения различий между группами использовали Т-критерий Стьюдента и критерий  $\chi^2$ . Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Материалом для морфологического исследования служили участки центральной части плацент, полученных от 42 женщин с онкологическими заболеваниями и 15 здоровых пациенток.

При гистологическом изучении препаратов плацент здоровых беременных (контрольная группа), окрашенных гематоксилином и эозином, отмечались соответствие степени созревания ворсинчатого дерева сроку гестации, умеренно выраженные компенсаторно-приспособительные и инволютивно-дистрофические процессы. В 10 (100%) плацентах из 1-й группы и 15 (46,8%) плацентах из 2-й группы отмечалось несоответствие созревания ворсинчатого дерева сроку гестации с отставанием от гестационного срока на 2–4 нед. При этом во всех плацентах из 1-й группы выявлялись разной степени выраженности отек стромы ворсин и широкое межворсинчатое пространство. Основную массу ворсинчатого дерева составляли ворсины крупного диаметра с небольшим количеством капилляров.

При ИГХ-исследовании гистологических препаратов плацент в структуре трофобласта и эндотелии сосудов оценивали интенсивность реакции и количество позитивно окрашенных клеток (табл. 1). Интенсивность реакции — это качественный показатель, а среднее количество клеток (плотность) — это количественный показатель, который рассчитывается по числу позитивно окрашенных клеток в 1 поле зрения.

В результате нами не было выявлено значимых отличий в концентрациях CD31, CD39, eNOS, VEGF, VEGFR1 и VEGFR2 в ткани плацент от пациенток с онкопатологией без химиотерапии и пациенток контрольной группы ( $p > 0,05$ ).

В плацентах пациенток, получавших химиотерапевтическое лечение, обнаружено значимое повышение уровня VEGF и его рецепторов. Интенсивность реакции VEGF и плотность клеток с положительным окрашиванием в 2 раза превышали показатели в контрольной группе. В 11 раз была повышена активность VEGFR1 и в 1,4 раза — VEGFR2. Среднее количество клеток, экспрессирующих VEGFR1 и VEGFR2, в 1 поле зрения возросло в 1,5 и 1,7 раза соответственно. Эти результаты могут свидетельствовать о развитии компенсаторной реакции на гипоксию [30, 31]. Гипоксия обусловлена несколькими факторами: а) как следует из ИГХ, в группе беременных с химиотерапией снижено количество CD31 и CD34, которые являются показателями ангиогенеза,

**Таблица 1.** Экспрессия гликопротеинов, факторов роста и их рецепторов в плаценте

**Table 1.** Placental expression of glycoproteins, growth factors, and their receptors

Маркер Marker	1-я группа Group 1	2-я группа Group 2	3-я группа Group 3
<b>CD31</b>	1,6±0,3 (1,5-2,0)	2,3±0,3 (1,5-3,0)	2,5±0,4 (2,0-3,0)
<b>CD34</b>	2,3±0,3 (2,0-2,5)	2,7±0,2 (2,0-3,0)	2,9±0,2 (2,5-3,0)
<b>eNOS:</b>			
эпителий / epithelial	3,0±0,0 (3,0-3,0)	2,5±0,3 (2,0-3,0)	2,1±0,2 (2,0-2,5)
строма / stromal	2,8±0,5 (2,0-3,0)	2,3±0,2 (2,0-3,0)	2,1±0,2 (2,0-2,5)
<b>VEGF:</b>			
интенсивность реакции IHC intensity	1,4±0,3 (1,0-1,5)	1,1±0,49 (0,5-2,0)	0,7±0,3 (0,5-1,0)
среднее количество клеток mean cell count	23,5±2,9 (20,0-26,4)	18,5±3,0 (24,6-32,4)	11,9±2,6 (8,0-15,3)
<b>VEGFR1:</b>			
интенсивность реакции IHC intensity	1,1±0,9 (0,0-2,0)	0,1±0,1 (0,0-2,5)	0,1±0,2 (0,0-0,5)
среднее количество клеток mean cell count	21,5±2,2 (19,8-24,6)	16,9±3,0 (9,9-25,4)	14,5±1,3 (12,9-15,8)
<b>VEGFR2:</b>			
интенсивность реакции IHC intensity	2,8±0,3 (2,5-3,0)	1,9±0,4 (1,5-3,0)	2,0±0,5 (1,5-2,5)
среднее количество клеток mean cell count	36,7±7,2 (29,4-45,5)	22,8±2,2 (18,9-42,3)	21,8±1,5 (19,9-24,1)

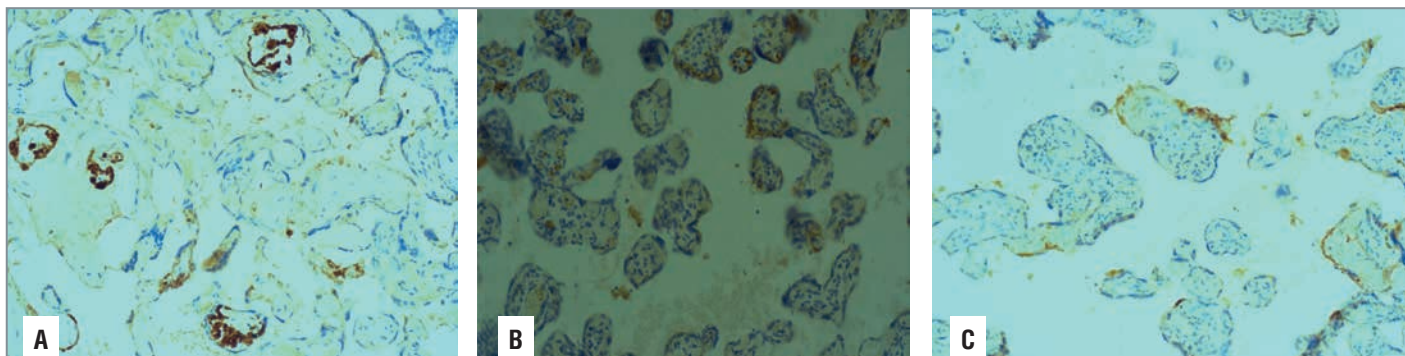
**Примечание.** Статистическая значимость различий: между 1-й и 2-й группами во всех случаях  $p > 0,05$ , между 2-й и 3-й, 1-й и 3-й — во всех случаях  $p < 0,05$ .

**Note.** significance of differences:  $p > 0.05$  group 1 vs. group 2;  $p < 0.05$  group 2 vs. group 3 and group 1 vs. group 3.

соответственно, на фоне лечения онкопатологии химиопрепаратами образование сосудов (ангиогенез, васкулогенез) в развивающейся плаценте не такое активное, как в здоровой плаценте; б) у беременных с онкопатологией на фоне химиотерапии выявлены НМПК в 30% случаев и анемия легкой и средней степени в 40%: НМПК может быть спровоцировано нарушенным ангиогенезом в плаценте, а анемия может быть как следствием подавления эритроцитарного ростка кроветворения вследствие химиотерапии, что является одним из частых осложнений этого лечения, так и следствием гемодилуции при беременности, что является физиологическим процессом.

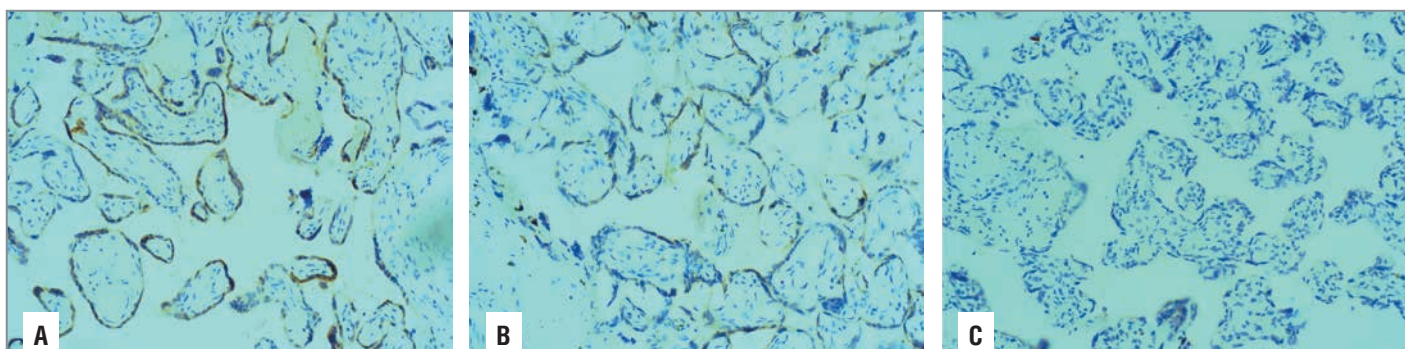
Весьма интересные данные получены при анализе соотношений интенсивности экспрессии рецепторов и самого фактора роста. В нормальных плацентах при анализе иммуногистохимического распределения рецепторов по сравнению с самим фактором роста наблюдаются более низкие уровни их экспрессии для VEGFR1 и более высокие для VEGFR2. В группе пациенток с химиотерапией отношение интенсивности VEGFR1/VEGF было выше нормальных показателей в 5,5 раза, а отношение интенсивности VEGFR2/VEGF было ниже, чем в контрольной группе, в 1,4 раза (рис. 1–3).

CD31 является показателем активности процессов ангиогенеза, т. е. образования сосудов из уже имеющихся,



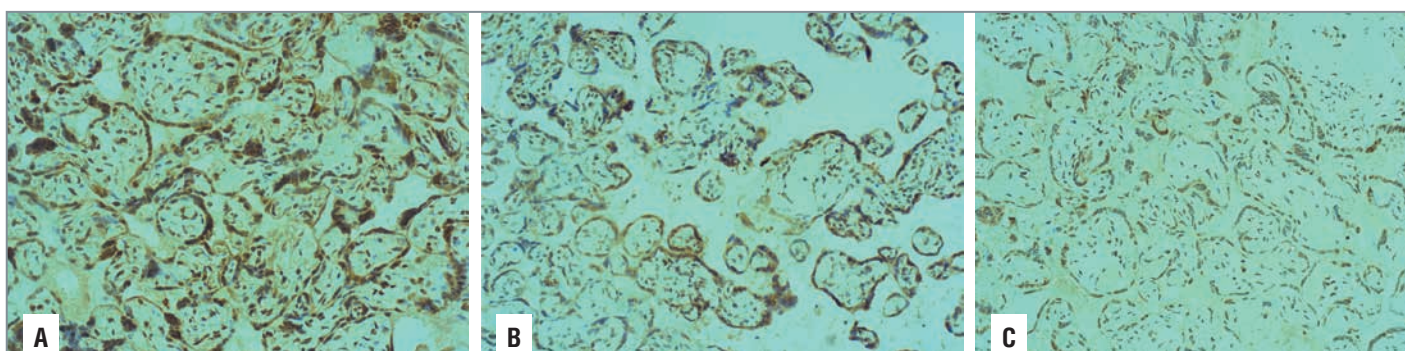
**Рис. 1.** Интенсивность ИГХ-реакции VEGF в тканях плацент в 1-й (А), 2-й (В) и 3-й (С) группах.  $\times 200$

**Fig. 1.** Placental VEGF intensity by IHC in group 1 (A), group 2 (B), and group 3 (C).  $\times 200$



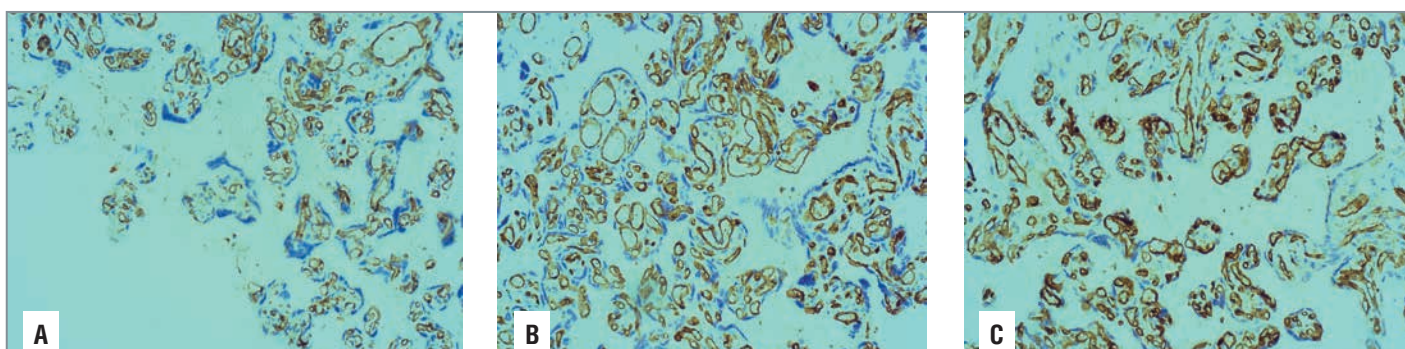
**Рис. 2.** Интенсивность ИГХ-реакции VEGFR1 в тканях плацент в 1-й (А), 2-й (В) и 3-й (С) группах.  $\times 200$

**Fig. 2.** Placental VEGFR1 intensity by IHC in group 1 (A), group 2 (B), and group 3 (C).  $\times 200$



**Рис. 3.** Интенсивность ИГХ-реакции VEGFR2 в тканях плацент в 1-й (А), 2-й (В) и 3-й (С) группах.  $\times 200$

**Fig. 3.** Placental VEGFR2 intensity by IHC in group 1 (A), group 2 (B), and group 3 (C).  $\times 200$

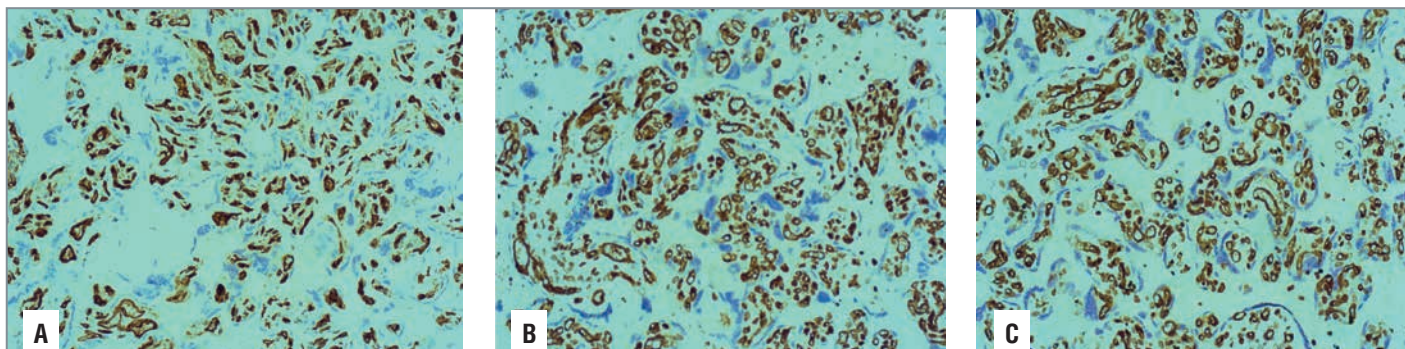


**Рис. 4.** Экспрессия CD31 в тканях плацент в 1-й (А), 2-й (В) и 3-й (С) группах.  $\times 200$

**Fig. 4.** Placental CD31 expression in group 1 (A), group 2 (B), and group 3 (C).  $\times 200$

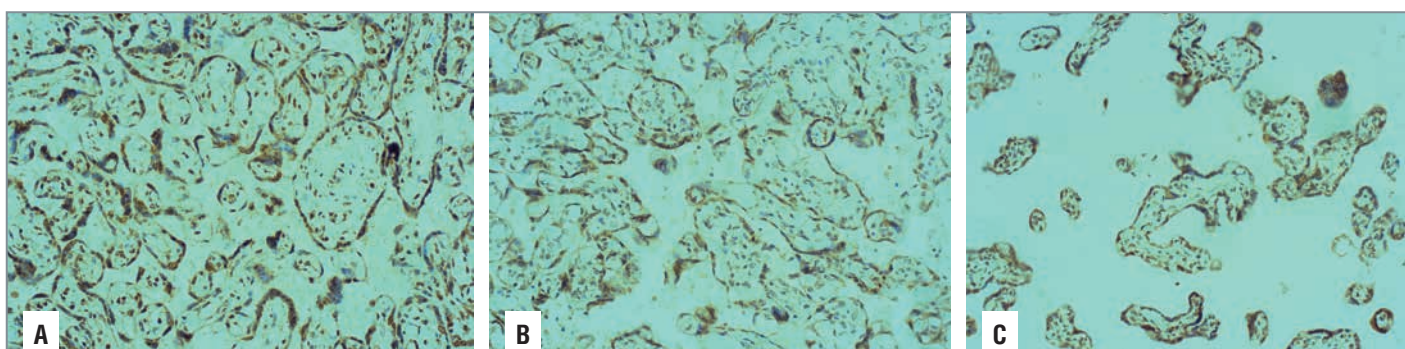
а CD34 отражает процессы васкулогенеза. В тканях плацент от пациенток, получавших химиотерапию, по сравнению с контрольной группой выявлено снижение количества CD31 (в 1,6 раза) и CD34 (в 1,3 раза) (рис. 4, 5). Получен-

ные результаты позволяют предположить, что химиотерапевтические средства в большей степени влияют на процесс ветвления сосудов и образования капиллярной сети, нежели на формирование сосудов *de novo*.



**Рис. 5.** Экспрессия CD34 в тканях плацент в 1-й (А), 2-й (В) и 3-й (С) группах.  $\times 200$

**Fig. 5.** Placental CD34 expression in group 1 (A), group 2 (B), and group 3 (C).  $\times 200$



**Рис. 6.** Интенсивность ИГХ-реакции eNOS в тканях плацент в 1-й (А), 2-й (В) и 3-й (С) группах.  $\times 200$

**Fig. 6.** Placental eNOS intensity by IHC in group 1 (A), group 2 (B), and group 3 (C).  $\times 200$

Экспрессия eNOS коррелирует с увеличением содержания VEGF, поскольку только при активации рецепторов к VEGF запускаются процессы образования eNOS и синтеза NO. В тканях плацент от пациенток после химиотерапии выявлено повышение уровня eNOS в эпителии и строме ворсин в 1,4 и 1,3 раза соответственно (рис. 6).

Вопрос ангиогенеза в плаценте в условиях химиотерапии требует дальнейшего изучения с выполнением исследований, включающих большую выборку пациентов, а также влияние различных схем химиотерапии на сосудистую сеть плаценты.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты иммуногистохимического исследования нормальных плацент в целом согласуются с данными литературы о распределении VEGF и его рецепторов [2]. Полученные в ходе сравнительного анализа данные свидетельствуют об отсутствии самостоятельного влияния онкологических заболеваний на процессы ангио- и васкулогенеза.

Нами установлено, что в плацентах беременных на фоне химиотерапии преобладает ангиогенез без ветвления сосудов. При этом отмечается более выраженная экспрессия VEGF и его рецепторов VEGFR2 по сравнению с нормальными плацентами. В нормальных условиях связывание VEGF с VEGFR2 активирует процессы ангиогенеза путем усиления пролиферации эндотелиоцитов и их роста. В условиях умеренной гипоксии связывание VEGF с его рецептором VEGFR2 вызывает гиперкапилляризацию промежуточных ворсин по классическому механизму обратной связи, что сопровождается выраженной экспрессией VEGF и VEGFR2 в эндотелиальных клетках сосудов ворсин.

Несмотря на то, что на фоне химиотерапии создаются условия для развития преплацентарной гипоксии и выявляется сочетанное повышение экспрессии VEGF и VEGFR2, гистологическое изучение препаратов показало преобладание ангиогенеза без ветвления сосудов. Подобные изменения, по-видимому, обусловлены влиянием факторов и механизмов, препятствующих связыванию VEGF с его рецептором и, соответственно, ингибирующих характерные для гипоксии процессы ангиогенеза с ветвлением.

Выявленные нами особенности иммуногистохимического распределения экспрессии VEGF и его рецепторов в ткани плаценты беременных, получающих терапию цитостатиками, в определенной мере отражают процессы компенсации и нарушения функционирования системы мать — плацента — плод в условиях преплацентарной гипоксии.

## Литература

1. Rosen L.S. VEGF-targeted therapy: therapeutic potential and recent advances. *Oncologist*. 2005;10:382–391. DOI: 10.1634/theoncologist.10-6-382.
2. Соколов Д.И. Васкулогенез и ангиогенез в развитии плаценты. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2007;56(3):129–133.
3. Demir R. Expression of VEGF receptors VEGFR-1 and VEGFR-2, angiopoietin receptors Tie-1 and Tie-2 in chorionic villi tree during early pregnancy. *Folia Histochem Cytobiol*. 2009;47(3):435–445. DOI: 10.2478/v10042-009-0100-5.
4. Qin Liu, Tao Yin, Guoping Wang et al. Vascular endothelial growth receptor 1 acts as a stress-associated protein in the therapeutic response to thalidomide. *Exp Ther Med*. 2017;14:4263–4271. DOI: 10.3892/etm.2017.5028.
5. Seo-Ho Lee, Byung-Ju Kim, Uh-Hyun Kim. The critical role of uterine CD31 as a post-progesterone signal in early pregnancy. *Reproduction*. 2017;154:595–605. DOI: 10.1530/REP-17-0419.

6. Kulandavelu S., Whiteley K.J., Bainbridge S.A. et al. Endothelial NO synthase augments fetoplacental blood flow, placental vascularization, and fetal growth in mice. *Hypertension*. 2013;61:259–266. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.201996.
7. Зубжицкая Л.Б., Кошелева Н.Г., Шаповалова Е.А. и др. Особенности состояния плацентарного барьера женщин при влиянии экзогенных и эндогенных факторов. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2015;64(5):36–47.
8. Gardner V., Madu C.O., Lu Y. Anti-VEGF therapy in cancer: a double-edged sword. *Intech open science*, 2017, chapter 19, 385–410. DOI: 10.5772/66763.
9. Al-Hijji J., Andolf E., Laurini R., Batra S. Nitric oxide synthase activity in human trophoblast, term placenta and pregnant myometrium. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003;1(1):51. DOI: 10.1186/1477-7827-1-51.
10. Manolea M.M., Gavrila O.A., Popescu F.C., Novac L. The importance of immunohistochemical evaluation of the vascular changes from the decidua and placenta in recurrent pregnancy loss. *Rom J Morphol Embryol*. 2012;53(2):363–368.
11. Min-cheol Kang, Seo Jin Park, Hei Jung Kim et al. Gestational loss and growth restriction by angiogenic defects in placental growth factor transgenic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34:2276–2282. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.303693.
12. Krause B.J., Hanson M.A., Casanello P. Role of nitric oxide in placental vascular development and function. *Placenta*. 2011;32:797–805. DOI: 10.1016/j.placenta.2011.06.025.
13. Helske S., Vuorela P., Carpen O. et al. Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1, 2 and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies. *Mol Hum Reprod*. 2001;7(2):205–210. DOI: 10.1093/molehr/7.2.205.
14. Nevo O., Lee D.K., Caniggia I. Attenuation of VEGFR-2 expression by sFlt-1 and low oxygen in human placenta. *Plos One*. 2013;8(11):e81176. DOI: 10.1371/journal.pone.0081176.
15. Ramirez-Velez R., Bustamante J., Czerniczyniec A. et al. Effect of exercise training on eNOS expression, NO production and oxygen metabolism in human placenta. *PLoS One*. 2013;8(11):e80225. DOI: 10.1371/journal.pone.0080225.
16. Mackiewicz Z., Dudek E., Glab G. et al. CD34 stem cells in normal placenta tissues and in placenta with intrauterine growth retardation. *Acta medica lituanica*. 2004;11(2):34–38.
17. Лысяк Д.С., Волкова Н.Н. Патофизиологические механизмы формирования плацентарной недостаточности. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2012;4:134–137.
18. Sheppard C., Shaw C.E., Li Y. Endothelium-derived nitric oxide synthase protein expression in ovine placental arteries. *Biol Reprod*. 2001;64:1494–1499. DOI: 10.1095/biolreprod64.5.1494.
19. Волкова Е.В., Копылова Ю.В. Роль сосудистых факторов роста в патогенезе плацентарной недостаточности. *Акушерство, гинекология, репродукция*. 2013;7(2):29–33.
20. Соколов Д.И., Колобов А.В., Лесничия М.В. и др. Роль проангиогенных и антиангиогенных факторов в развитии плаценты. *Медицинская иммунология*. 2008;10(4–5):347–352.
21. Daenen L.G.M., Roodhart J.M.L., van Amersfoort M. et al. Chemotherapy enhances metastasis formation via VEGFR-1-expressing endothelial cells. *Cancer Res*. 2011;71(22):6976–6985. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0627.
22. Dong-bao Chen, Jing Zheng. Regulation of placental angiogenesis. *Manuscript* 2013. DOI: 10.1111/micc.12093.
23. Robin C., Bollerot K., Mendes S. et al. Human placenta is a potent hematopoietic niche containing hematopoietic stem and progenitor cells throughout development. *Cell Stem Cell*. 2009;5(4):385–395. DOI: 10.1016/j.stem.2009.08.020.
24. Ульянина Е.В., Фаткуллин И.Ф. Роль сосудистого эндотелиального фактора роста в прогнозе сосудистых нарушений у беременных с синдромом задержки развития плода. *Казанский медицинский журнал*. 2015;96(2):220–223.
25. Федорова М.В., Смирнова Т.Л. Иммуногистохимические различия плацент при пролонгированной и истинно переношенной беременности. *Вестник Чувашского университета*. 2013;3:560–563.
26. Нефедова Н.А., Харлова О.А., Данилова Н.В. и др. Маркеры ангиогенеза при опухолевом росте. *Архив патологии*. 2016;2:55–62.
27. Доброхотова Ю.Э., Боровкова Е.И., Арутюнян А.М. Ассоциированный с беременностью рак молочной железы. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2019;19(4):77–81.
28. Доброхотова Ю.Э., Боровкова Е.И., Залеская С.А. и др. Химиотерапия во время беременности: возможности и риски. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2019;19(3):81–85.
29. Доброхотова Ю.Э., Боровкова Е.И. Акушерские риски химиотерапии во время беременности. *Гинекология*. 2018;6:16–19.
30. Malamitsi-Puchner A., Boutsikou T., Economou E. et al. Vascular endothelial growth factor and placenta growth factor in intrauterine growth-restricted fetuses and neonates. *Mediators Inflamm*. 2005;2005(5):293–297. DOI: 10.1155/MI.2005.293.
31. Арутюнян И.В., Кананыхина Е.Ю., Макаров А.В. Роль рецепторов VEGF-A165 в ангиогенезе. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2013;VIII(1):12–18.

## References

- Rosen L.S. VEGF-targeted therapy: therapeutic potential and recent advances. *Oncologist*. 2005;10:382–391. DOI: 10.1634/theoncologist.10-6-382.
- Sokolov D.I. Vasculogenesis and angiogenesis in development of a placenta. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2007;56(3):129–133 (in Russ.).
- Demir R. Expression of VEGF receptors VEGFR-1 and VEGFR-2, angiopoietin receptors Tie-1 and Tie-2 in chorionic villi tree during early pregnancy. *Folia Histochem Cytobiol*. 2009;47(3):435–445. DOI: 10.2478/v10042-009-0100-5.
- Qin Liu, Tao Yin, Guoping Wang et al. Vascular endothelial growth receptor 1 acts as a stress-associated protein in the therapeutic response to thalidomide. *Exp Ther Med*. 2017;14:4263–4271. DOI: 10.3892/etm.2017.5028.
- Seo-Ho Lee, Byung-Ju Kim, Uh-Hyun Kim. The critical role of uterine CD31 as a post-progesterone signal in early pregnancy. *Reproduction*. 2017;154:595–605. DOI: 10.1530/REP-17-0419.
- Kulandavelu S., Whiteley K.J., Bainbridge S.A. et al. Endothelial NO synthase augments fetoplacental blood flow, placental vascularization, and fetal growth in mice. *Hypertension*. 2013;61:259–266. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.201996.
- Zubzhiitskaya L.B., Kosheleva N.G., Shapovalova E.A. et al. Status of placental barrier of women at the influence of exogenous and endogenous factors. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2015;64(5):36–47 (in Russ.).
- Gardner V., Madu C.O., Lu Y. Anti-VEGF therapy in cancer: a double-edged sword. *Intech open science*, 2017, chapter 19, 385–410. DOI: 10.5772/66763.
- Al-Hijji J., Andolf E., Laurini R., Batra S. Nitric oxide synthase activity in human trophoblast, term placenta and pregnant myometrium. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003;1(1):51. DOI: 10.1186/1477-7827-1-51.
- Manolea M.M., Gavrila O.A., Popescu F.C., Novac L. The importance of immunohistochemical evaluation of the vascular changes from the decidua and placenta in recurrent pregnancy loss. *Rom J Morphol Embryol*. 2012;53(2):363–368.
- Min-cheol Kang, Seo Jin Park, Hei Jung Kim et al. Gestational loss and growth restriction by angiogenic defects in placental growth factor transgenic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34:2276–2282. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.303693.
- Krause B.J., Hanson M.A., Casanello P. Role of nitric oxide in placental vascular development and function. *Placenta*. 2011;32:797–805. DOI: 10.1016/j.placenta.2011.06.025.
- Helske S., Vuorela P., Carpen O. et al. Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1, 2 and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies. *Mol Hum Reprod*. 2001;7(2):205–210. DOI: 10.1093/molehr/7.2.205.
- Nevo O., Lee D.K., Caniggia I. Attenuation of VEGFR-2 expression by sFlt-1 and low oxygen in human placenta. *Plos One*. 2013;8(11):e81176. DOI: 10.1371/journal.pone.0081176.
- Ramirez-Velez R., Bustamante J., Czerniczyniec A. et al. Effect of exercise training on eNOS expression, NO production and oxygen metabolism in human placenta. *PLoS One*. 2013;8(11):e80225. DOI: 10.1371/journal.pone.0080225.
- Mackiewicz Z., Dudek E., Glab G. et al. CD34 stem cells in normal placenta tissues and in placenta with intrauterine growth retardation. *Acta medica lituanica*. 2004;11(2):34–38.
- Lysyak D.S., Volkova N.N. Pathophysiological mechanisms of placental insufficiency. *Far East Medical Journal*. 2012;4:134–137 (in Russ.).

18. Sheppard C., Shaw C.E., Li Y. Endothelium-derived nitric oxide synthase protein expression in ovine placental arteries. *Biol Reprod.* 2001;64:1494–1499. DOI: 10.1095/biolreprod64.5.1494.
19. Volkova E.V., Kopylova Yu.V. The role of vascular growth factors in the pathogenesis of placental insufficiency. *Obstetrics, gynecology and reproduction.* 2013;7(2):29–33 (in Russ.).
20. Sokolov D.I., Kolobov A.V., Lesnichiya M.V. et al. Role of pro- and antiangiogenic factors in placental development. *Medical immunology.* 2008;10(4–5):347–352 (in Russ.).
21. Daenen L.G.M., Roodhart J.M.L., van Amersfoort M. et al. Chemotherapy enhances metastasis formation via VEGFR-1-expressing endothelial cells. *Cancer Res.* 2011;71(22):6976–6985. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0627.
22. Dong-bao Chen, Jing Zheng. Regulation of placental angiogenesis. *Manuscript* 2013. DOI: 10.1111/micc.12093.
23. Robin C., Bollerot K., Mendes S. et al. Human placenta is a potent hematopoietic niche containing hematopoietic stem and progenitor cells throughout development. *Cell Stem Cell.* 2009;5(4):385–395. DOI: 10.1016/j.stem.2009.08.020.
24. Ul'yanina E.V., Fatkullin I.F. Vascular endothelial growth factor role in predicting vascular disorders in pregnant with fetal growth restriction syndrome. *Kazan medical journal.* 2015;96(2):220–223 (in Russ.).
25. Fedorova M.V., Smirnova T.L. Immunohistochemical differences in the placentas of prolonged and the true post-term pregnancy. *Bulletin of the Chuvash University.* 2013;3:560–563 (in Russ.).
26. Nefedova N.A., Kharlova O.A., Danilova N.V. et al. Markers of angiogenesis in tumor growth. *Archive of pathology.* 2016;2:55–62 (in Russ.).
27. Dobrokhotova Yu.E., Borovkova E.I., Arutyunyan A.M. Breast cancer associated with pregnancy. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist.* 2019;19(4):77–81 (in Russ.).
28. Dobrokhotova Yu.E., Borovkova E.I., Zalesskaya S.A. et al. Chemotherapy during pregnancy: opportunities and risks. *Russian bulletin of obstetrician-gynecologist.* 2019;19(3):81–85 (in Russ.).
29. Dobrokhotova Yu.E., Borovkova E.I. Obstetric risks of chemotherapy during pregnancy. *Gynecology.* 2018;6:16–19 (in Russ.).
30. Malamitsi-Puchner A., Boutsikou T., Economou E. et al. Vascular endothelial growth factor and placenta growth factor in intrauterine growth-restricted fetuses and neonates. *Mediators Inflamm.* 2005;2005(5):293–297. DOI: 10.1155/MI.2005.293.
31. Arutyunyan I.V., Kananykhina E. Yu., Makarov A.V. Role of VEGF-A165 receptors in angiogenesis. *Cellular transplantation and tissue engineering.* 2013;VIII(1):12–18 (in Russ.).

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

**Доброхотова Юлия Эдуардовна** — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России; 117997, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1; ORCID iD 0000-0002-7830-2290.

**Боровкова Екатерина Игоревна** — д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России; 117997, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1; ORCID iD 0000-0001-7140-262X.

**Арутюнян Анна Меружановна** — аспирант кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России; 117997, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1; ORCID iD 0000-0002-6392-5444.

**Данелян Соня Жоровна** — к.м.н., врач высшей квалификационной категории, заведующая родильным домом ГБУЗ «ГКБ № 40 ДЗМ»; 129336, Россия, г. Москва, ул. Таймырская, д. 6; ORCID iD 0000-0002-8594-6406.

**Малышева Евгения Михайловна** — к.м.н., заведующая патологоанатомическим отделением ГБУЗ «ГКБ № 40 ДЗМ»; 129301, Россия, г. Москва, ул. Касаткина, д. 7; ORCID iD 0000-0003-0974-0403.

**Жарков Николай Владимирович** — к.б.н., биолог Центрального патологоанатомического отделения ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; врач-патологоанатом ГБУЗ «ГКБ № 40 ДЗМ»; 129301, Россия, г. Москва, ул. Касаткина, д. 7; ORCID iD 0000-0001-7183-0456.

**Аксенова Татьяна Николаевна** — врач-патологоанатом ГБУЗ «ГКБ № 40 ДЗМ»; 129301, Россия, г. Москва, ул. Касаткина, д. 7; ORCID iD 0000-0001-6848-0459.

**Контактная информация:** Арутюнян Анна Меружановна, e-mail: [annochka21.90@mail.ru](mailto:annochka21.90@mail.ru). **Прозрачность финансовой деятельности:** никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Конфликт интересов отсутствует.** Статья поступила 07.12.2020, поступила после рецензирования 30.12.2020, принята в печать 29.01.2021.

#### ABOUT THE AUTHORS:

**Yuliya E. Dobrokhotova** — *Doct. of Sci. (Med.)*, professor, Head of the Department of Obstetrics & Gynecology of the Medical Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov str., Moscow, 117437, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-7830-2290.

**Ekaterina I. Borovkova** — *Doct. of Sci. (Med.)*, professor of the Department of Obstetrics & Gynecology of the Medical Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov str., Moscow, 117437, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-7140-262X.

**Anna M. Arutyunyan** — *postgraduate student of the Department of Obstetrics & Gynecology of the Medical Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov str., Moscow, 117437, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-6392-5444.*

**Sonya Zh. Danelyan** — *Cand. of Sci. (Med.)*, obstetrician gynecologist of the highest qualification category, Head of the Maternity Hospital, City Clinical Hospital No. 40; 6, Taimyrskaya str., Moscow, 129336, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-8594-6406.

**Evgeniya M. Malysheva** — *Cand. of Sci. (Med.)*, Head of the Department of Morbid Anatomy, City Clinical Hospital No. 40; 7, Kasatkin str., Moscow, 129301, Russian Federation; ORCID iD 0000-0003-0974-0403.

**Nikolai V. Zharkov** — *Cand. of Sci. (Biol.)*, biologist of the Centralized Department of Morbid Anatomy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8 Build. 2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russian Federation; morbid anatomist of the Department of Morbid Anatomy, City Clinical Hospital No. 40; 7, Kasatkin str., Moscow, 129301, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-7183-0456.

**Tat'yana N. Aksenova** — *morbid anatomist of the Department of Morbid Anatomy, City Clinical Hospital No. 40; 7, Kasatkin str., Moscow, 129301, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-6848-0459.*

**Contact information:** Anna M. Arutyunyan, e-mail: [annochka21.90@mail.ru](mailto:annochka21.90@mail.ru). **Financial Disclosure:** no authors have a financial or property interest in any material or method mentioned. **There is no conflict of interests.** Received 07.12.2020, revised 30.12.2020, accepted 29.01.2021.