

МОРФОМЕТРИЯ ДЕСКВАМИРОВАННЫХ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ В ДИАГНОСТИКЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БЕРЕМЕННЫХ

MORPHOMETRY OF CIRCULATING ENDOTHELIAL CELLS IN THE DIAGNOSIS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PREGNANT WOMEN

**A. Mironov
M. Umakhanova
A. Gukockiy**

Summary. The study of the state of the endothelial system in pregnant women in the first trimester of pregnancy. Used classical markers of endothelial dysfunction, and also used a new parameter of the lesion endothelial function, obtained with the help of computer morfometria circulating endotheliocytes. The study demonstrated the informative value of a new marker of endothelial dysfunction in the diagnosis of vascular disorders in pregnant women.

Keywords: pregnancy, endothelium, morphometry.

Миронов Алексей Валентинович

ФГБОУ ВО МГМСУ им. А. И. Евдокимова (Москва)

Mironov75av@gmail.com

Умаханова Мадина Мусаевна

ФГБОУ ВО МГМСУ им. А. И. Евдокимова (Москва)

Жукоцкий Александр Васильевич

ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова

Аннотация. Проведено исследование состояния эндотелиальной системы у беременных в I триместре беременности. Использованы классические маркеры дисфункции эндотелия, а также применен новый параметр поражения эндотелиальной системы, полученный с помощью компьютерной морфометрии циркулирующих десквамированных эндотелиоцитов. Проведенное исследование продемонстрировало информативность нового маркера эндотелиальной дисфункции в диагностике нарушений сосудистой системы у беременных.

Ключевые слова: беременность, эндотелий, морфометрия.

Актуальность

Важнейшей задачей современного акушерства является снижение акушерских осложнений, что неразрывно связано с процессами имплантации плодного яйца, этапами формирования хориона на ранних сроках беременности. Сосудистые нарушения являются одной из главных причин гестационных осложнений [1], понимание этих процессов поможет распознать многие механизмы материнской, перинатальной и детской заболеваемости. На современном этапе в исследованиях большое значение отводится эндотелию сосудов, как фактору, способному объединить основные механизмы гомеостаза в системе микроциркуляции фетоплацентарного комплекса [2]. Вопросы своевременного выявления нарушений адаптации и иницирования патологических механизмов, вызывающих дестабилизацию сосудистого статуса фетоплацентарной системы, являются решающими в профилактике акушерской и перинатальной патологии [3].

Пациенты и методы исследования

Нами осуществлено исследование эндотелиальной системы у беременной в I триместре. Проспективное исследование проводилось методом «случай-контроль».

Обследовано 180 женщин, у которых беременность была прервана: у 90 пациенток диагностирована неразвивающаяся беременность, у 90 женщин проведен медицинский аборт по желанию. Неразвивающаяся беременность является необратимым и конечным проявлением нарушений в маточно-плодовых отношениях, и участие в этом процессе эндотелиальной системы неоспоримо, что подтверждают множество исследований [3–5 и т.д.]. Выбор для нашего исследования данной нозологии позволил использовать критические изменения в сосудистой системе при несостоявшемся выкидыше в качестве информативной модели развития эндотелиальной дисфункции у беременных.

Все женщины находились на стационарном лечении в гинекологических отделениях ГБУЗ ГКБ № 13 ДЗ г. Москвы, где проводилось комплексное обследование. Помимо общеклинического обследования для выполнения поставленных задач в работе также использованы дополнительные лабораторные исследования:

1. Количественное определение С-реактивного белка высокочувствительным методом иммунотурбидиметрии с латексным усилением.
2. Количественное определение фактора фон Виллебранда методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител.

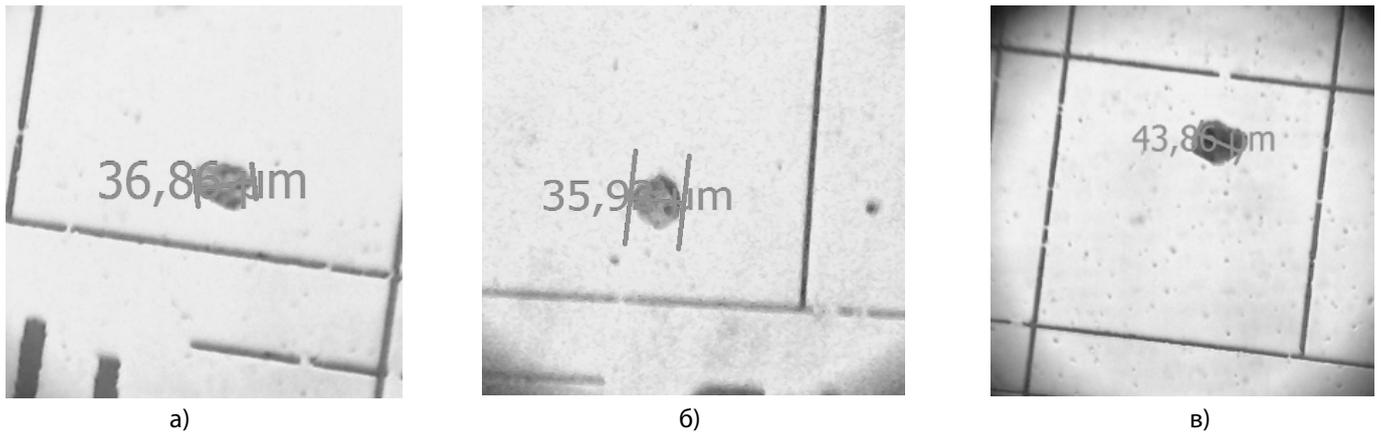


Рис. 1.(а, б, в) — Десквамированные эндотелиоциты периферической крови в камере Горяева. Морфоденситометрическое исследование в программе Leika Application Suite LAZ EZ Version 2.1.0. (2012). Окраска метиленовый синий. Увеличение 600х.

3. Количественное определение белка апоптоза p53 в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа.
4. Количественное определение альбумина в образцах мочи методом иммуноферментного анализа иммунотурбидиметрическим методом.

У всех беременных проведена цитологическая диагностика эндотелиальной дисфункции. Определение количества десквамированных эндотелиальных клеток (ДЭК) в периферической крови проводили по методике, разработанной J. Nladovec с соавт. в 1978 г. [6] в модификации (Овсяник Д. М. с соавт., 2014) [7]:

1. Пробирку с кровью центрифугируют при 1000 оборотов/мин 10 мин.
2. В пластиковую пробирку переносят 1 мл полученной плазмы и добавляют 0,1 мл 0,1% раствора АДФ.
3. Пробирку встряхивают в течение 10 минут при комнатной температуре, а затем центрифугируют при 2000 об/мин в течение 10 минут.
4. Из полученной надосадочной жидкости переносят 0,2 мл в пластиковую пробирку и добавляют 40 мкл 0,1% раствора метиленового синего. Через 5 минут проводят микроскопию полученного материала (600х) для выявления циркулирующих ДЭК (рисунок 1).
5. Подсчет циркулирующих эндотелиальных клеток проводят во всём объеме камеры Горяева (10 мкл), начиная с её верхнего левого угла. У одного пациента считают десять проб по 10 мкл плазмы (всего 100 мкл). Суммируют данные о количестве циркулирующих ДЭК во всех десяти пробах и устанавливают их общее количество, которое выражается в единицах на 100 мкл плазмы.

В проведенном исследовании мы усовершенствовали классический метод цитологической диагностики эн-

дототелиальной дисфункции с помощью компьютерной морфометрии циркулирующих ДЭК. Цитологические препараты исследовали с помощью микроскопа Leika DM 1000 с компьютерной видеоприставкой с использованием вычислительной системы обработки и анализа изображений Leika Application Suite LAZ EZ Version 2.1.0. (2012). Производилась фотофиксация десквамированного эндотелиоцита и определение его среднего эквивалентного диаметра (рис. 1)

Статистическая обработка данных выполнена с использованием пакетов прикладных программ Statistica 10 и SAS JMP 11 и Excel (Microsoft Office Excel 2003) Были определены средняя арифметическая величина (M), ошибка средней арифметической (m), отклонение варианты (v). Для сравнения параметрических величин, рассчитанных на основе полученных выборок, применялся классический t-тест Стьюдента. Сравнение непараметрических величин проводилось на основе критерия Манна-Уитни-Уилкинсона. Для описания количественных показателей использовались среднее значение и стандартное отклонение в формате «M±S». Корреляционный анализ проводился на основе непараметрической ранговой корреляции по Спирмену. Статистическая значимость фиксировалась на уровне вероятности ошибки p<0,05.

Результаты и их обсуждение

Средний возраст беременных основной группы составил 30,94±2,6 лет, в контрольной группе 31,36±2,1 лет. По антропометрическим показателям сравниваемые группы были статистически сопоставимы. Следует отметить, что в основной группе чаще встречались беременные с ожирением II степени (6 человек, 6,7%). В контрольной группе ожирение II степени выявлено только у 3 беременных (3,3%). Малоактивный образ жизни

(гиподинамия — ограничение двигательной активности, обусловленное особенностями образа жизни и профессиональной деятельности) в основной группе встречался у 47 женщин (51,1%), в контрольной группе гиподинамия выявлена только у 4 человек (4,4%), что явилось достоверным отличием в исследуемых группах ($p < 0,001$; $t = 8,6$). При исследовании вредных привычек следует выделить никотиновую зависимость. В контрольной группе этот показатель составил 41,1% (37 чел.), в основной группе курили 14,4% беременных (13 чел.) ($p < 0,001$; $t = 4,26$). При заболеваниях, сопряженных с поражением сосудов, эндотелий представляет орган-мишень. Курение, ожирение и гиподинамия являются важными патогенетическими факторами развития эндотелиальной дисфункции, и выявленные различия актуальны в свете проводимого исследования. Статистически значимых отличий при исследовании соматических заболеваний в исследуемых группах выявлено не было. Гипертоническая болезнь и сахарный диабет были критериями исключения в дизайне исследования, так как являются самостоятельными предикторами развития эндотелиальной дисфункции.

При исследовании акушерского анамнеза обнаружены достоверно более высокие показатели невынашивания в основной группе, что объяснимо с учетом критериев включения в исследуемых группах. Невынашивание в анамнезе встречалось у 23 женщин (25,6%) основной группе, у 6 беременных диагностировано привычное невынашивание. В контрольной группе прерывание беременности в анамнезе выявлено у 9 беременных (10%) ($p < 0,05$; $t = 2,9$), привычного невынашивания в контрольной группе выявлено не было. При исследовании гинекологической патологии следует выделить дисфункциональные маточные кровотечения, которые диагностировались до настоящей беременности у 9 пациенток основной группы (10%), и у 1 пациентки контрольной группы (1,1%) ($p < 0,05$; $t = 2,66$). По остальным параметрам гинекологической патологии исследуемый контингент был статистически сопоставим.

У всех беременных проведена оценка состояния эндотелиальной системы. Одним из классических методов диагностики дисфункции эндотелия является определение количества циркулирующих десквамированных эндотелиальных клеток в периферической крови [6]. Десквамированные эндотелиоциты — это клетки, которые отделяются от стенки кровеносного сосуда в процессе его повреждения [8] и потому могут выступать прямым клеточным маркером поражения эндотелиальной системы [9]. Продолжительность нахождения циркулирующих ДЭК в крови составляет около 24–42 часов, в течение которых происходит их захват и разрушение макрофагами печени, лёгких и селезёнки [10]. В то же время, многими авторами показано увеличение количества этих клеток

при различных патологических состояниях, включающих инфекционные заболевания, иммунно-опосредованные васкулиты, злокачественные новообразования и широкий спектр сердечно-сосудистых заболеваний [8]. Метод подсчета количества циркулирующих ДЭК, разработанный J. Hladovec с соавт. (1978), основан на визуальной количественной оценке десквамированных клеток путем световой микроскопии [6]. По способу, предложенному авторами, эндотелиальную дисфункцию диагностируют при значении показателя, превышающем $2,77 \times 10^5$ в 1 л плазмы. По данным В.С. Савельева (2010) количество циркулирующих эндотелиоцитов в плазме крови в норме составляет от 2 до 4 ед/ 100 мкл [11]. П.Е. Асташев (2011) предложил выделять степени эндотелиальной дисфункции по количеству десквамированных эндотелиальных клеток [12]. При значениях количества ДЭК от 6 до 10 клеток степень повреждения стенок сосудов расценивали как легкую, от 11 до 25 — среднюю, а от 26 и выше — как выраженную. В нашем исследовании при сравнении показателей среднего количества ДЭК в исследуемых группах получено статистически достоверное повышение более чем в 2 раза в группе беременных с несостоявшимся выкидышем: $12,6 \pm 5,89 \times 10^4$ кл/100мл в основной группе и $5,5 \pm 2,12 \times 10^4$ кл/100мл — в контрольной группе ($p < 0,0001$).

Также нами проведена оценка состояния эндотелиальной системы у беременных с помощью морфометрического исследования ДЭК, позволяющего оптимизировать диагностику эндотелиальной дисфункции с позиций доступности и малоинвазивности метода, основанного на анализе изучаемой патологии на клеточном уровне.

В научной литературе использование морфометрического метода в исследовании циркулирующих ДЭК имеет отражение лишь в единичных работах. Как известно, апоптоз является одним из основных механизмов повреждения эндотелиоцитов [9]. Наиболее доступным и простым методом выявления апоптотических клеток и изучения их морфологических особенностей служит световая микроскопия цитологических препаратов [13]. В.И. Козловский и соавт. (2008) исследовали морфологию циркулирующих ДЭК с помощью световой микроскопии [10]. В работе показано увеличение количества клеток с признаками апоптоза у больных с артериальной гипертензией. В литературе упоминается методика проточной цитометрии десквамированных эндотелиоцитов, которая используется для определения количества «зрелых» ДЭК и исключения клеток, с измененной геометрией [9]. Методика проточной цитометрии, основана на регистрации сигналов светорассеяния и флуоресценции лазерного луча от каждой отдельно взятой клетки. В исследовании поврежденные клетки исключали из анализа, так как они дают слабое рассеивание.

Увеличение же в крови содержания «зрелых» ДЭК связывали с патологией в ответ на повреждение стенки сосуда [14]. В зарубежной литературе мы нашли ссылку на метод сортировки циркулирующих ДЭК, активированных флюоресценцией, и расчета соотношения между апоптозными клетками эндотелия (CD-146) и клетками-предшественниками (CD-34), как показатель степени поражения эндотелиальной системы [15].

Научных работ с детальным исследованием морфометрических параметров циркулирующих ДЭК периферической крови в доступной литературе нами найдено не было. Тем не менее, морфометрическое исследование циркулирующих эндотелиоцитов может являться перспективным направлением исследования дисфункции эндотелия. Изучение патогенеза эндотелиальной дисфункции позволяет рассматривать минимальные отклонения в структуре клеток как важные маркеры необратимых изменений в эндотелиальной системе, своевременная регистрация которых является важным шагом в профилактике и лечении сосудистой патологии.

При витальной компьютерной морфометрии ДЭК также получены достоверные отличия в исследуемых группах. Средний эквивалентный диаметр ДЭК в группе с физиологическим течением беременности составил $43,9 \pm 3,99$ мкм, что в 1,5 раза выше данного показателя группы с несостоявшимся выкидышем $29,5 \pm 9,40$ мкм ($p < 0,0001$). Основным механизмом поражения эндотелиоцитов является апоптоз, в процессе которого геометрическая форма клетки изменяется, проходя стадии конденсации и дробления ядра, фрагментации (блеббинга) и формирования апоптозных телец. Таким образом, морфометрия клеток позволяет дать дополнительную характеристику степени повреждения эндотелиоцитов, а именно — определить активность апоптоза в изучаемой ткани.

В исследуемых группах проведена диагностика классических биохимических маркеров поражения эндотелиальной системы. В работе использовались те показатели, которые доступны в повседневной практике и объективно отражают нарушения эндотелиальной системы при рассматриваемой патологии. Данный этап исследования был необходим для оценки достоверности разработанного морфометрического показателя эндотелиальной дисфункции и определения корреляции между изучаемыми маркерами поражения эндотелиальной системы.

По данным литературы, у большинства женщин с ранними репродуктивными потерями обнаруживается изменение концентрации биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции: снижение уровней оксида азота в два-три раза, E-селектина — в полтора раза

и увеличение эндотелина-1 в пять раз [16], отмечается повышение экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР), ФНО- α [17]. Сопровождающие самопроизвольный выкидыш локальные кровоизлияния в хорионе в I триместре беременности, обуславливают накопление тромбина, увеличивающего экспрессию в децидуальных клетках трофобласта рецепторов для сосудистого и плацентарного факторов роста [18]. При угрозе прерывания беременности у женщин с урогенитальной инфекцией отмечается увеличение экспрессии молекул адгезии, усилении продукции провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6, TNF- α и т.п., что инициирует процессы апоптоза и отражается в увеличении клеток с супрессорно-цитотоксической активностью, повышении маркеров апоптоза CD95 и AnnexinV [19].

Для изучения эндотелиальной дисфункции в исследуемых группах мы использовали определение концентрации С-реактивного белка в сыворотке крови, фактора фон Виллебранда в сыворотке крови, а также определение микроальбуминурии. Кроме того, мы изучили концентрацию в сыворотке крови белка p53 — маркера апоптоза, что позволило проанализировать механизм поражения эндотелиоцитов в свете проводимого исследования.

Средний показатель С-реактивного белка в нашем исследовании составил $3,3 \pm 2,12$ мг/мл в основной группе, и $1,8 \pm 0,84$ мг/мл — у беременных контрольной группы ($p = 0,0056$). Средний показатель фактора фон Виллебранда также превышал в основной группе соответствующий результат контрольной группы: $120,0 \pm 20,18\%$ в группе с неразвивающейся беременностью, и $101,6 \pm 9,47\%$ — в контрольной группе ($p = 0,0005$). Показатель микроальбуминурии был почти в 2 раза выше в основной группе: в группе с несостоявшимся выкидышем этот показатель составил $0,02 \pm 0,011$ мкг/мл, и $0,01 \pm 0,006$ мкг/мл — в контрольной группе ($p = 0,0003$). Маркер апоптоза белок p53 сыворотки крови в основной группе составил $0,01 \pm 0,011$ Ед/мл, и $0,003 \pm 0,013$ Ед/мл в контрольной группе ($p = 0,0009$).

Полученные данные продемонстрировали статистически достоверное отличие изученных параметров в сравниваемых группах беременных, что подтверждает информативность выбранных показателей в качестве достоверных биохимических маркеров поражения сосудистой системы у женщины в I триместре беременности.

Для подтверждения правильности используемой гипотезы о достоверности нового морфоцитометрического параметра поражения эндотелиальной системы были изучены корреляционные отношения между новым параметром — среднего диаметра ДЭК (СДДЭК) и классическими маркерами эндотелиальной дисфунк-

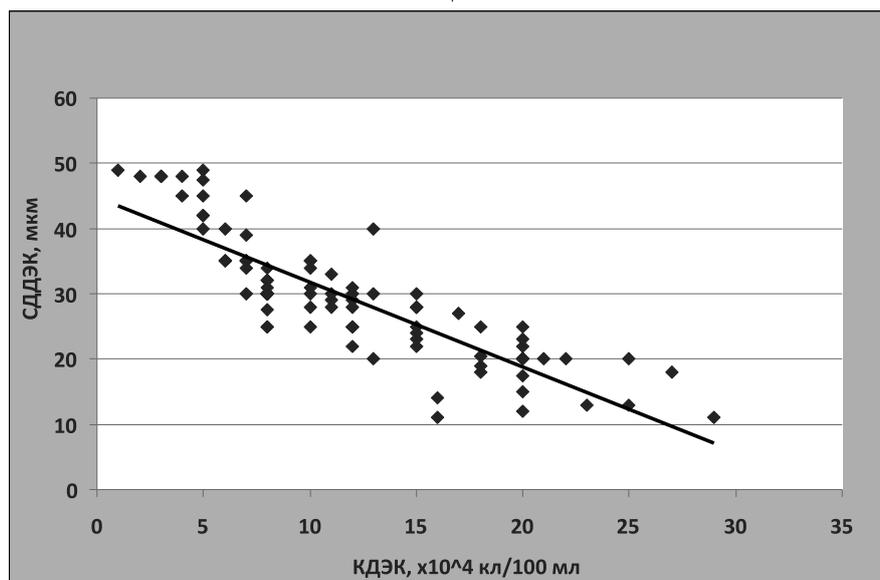


Рис. 6. Диаграмма линейной корреляции среднего эквивалентного диаметра ДЭК (СДДЭК) и среднего количества ДЭК (КДЭК).

ции, включенными в наше исследование. В литературных источниках встречаются работы по определению прогностической ценности цитологической диагностики эндотелиальной дисфункции. По данным S.K. Nadar (2005), количество ДЭК в сыворотке крови коррелировало с уровнем фактора фон Виллебранда ($r=0,35$; $p=0,001$), растворимого Е-селектина ($r=0,43$; $p<0,001$), являющимися плазменными маркерами эндотелиальной дисфункции [20]. В другом исследовании установлено увеличение числа циркулирующих ДЭК и содержания биохимического маркера воспаления С-реактивного протеина у больных с инфарктом миокарда по сравнению со здоровыми. Эти показатели коррелировали между собой ($r=0,5$; $p=0,001$) [21]. L. X. Yang и соавт. у пациентов с ИБС обнаружили значимую корреляцию числа циркулирующих ДЭК и уровня малонового диальдегида ($r=0,8$) в зависимости от тяжести заболевания и проведения терапии. Выявленное соотношение показателей позволяло судить о тяжести и прогнозе ИБС [22]. У больных с застойной сердечной недостаточностью A. Y. Chong и соавт. (2004) обнаружили обратную зависимость между эндотелий-зависимой вазодилатацией и числом циркулирующих ДЭК ($p=0,002$), а также положительной — между количеством ДЭК и фактором фон Виллебранда ($p=0,032$) [23]. Детального исследования диагностической значимости морфометрических параметров циркулирующих ДЭК в доступной литературе нами найдено не было.

Мы определили вероятностные связи между традиционным цитометрическим параметром эндотелиальной системы — количеством ДЭК, определенным по ме-

тодике J. Hladovec (1978), и средним эквивалентным диаметром циркулирующих ДЭК. Расчет коэффициента Спирмана показал высокий уровень корреляции между исследуемыми показателями. Анализ продемонстрировал обратную зависимость количества десквамированных эндотелиоцитов и их среднего диаметра: с количеством ДЭК эквивалентный диаметр ДЭК коррелирует сильно и отрицательно ($r_s = -0,95$). То есть, увеличение количества ДЭК в периферической крови сопровождалось уменьшением их среднего эквивалентного диаметра (рис. 3).

Были изучены вероятностные связи между СДДЭК и биохимическими маркерами эндотелиальной дисфункции. Показатель высокочувствительного С-реактивного белка в сыворотке крови продемонстрировал сильную отрицательную корреляционную связь со средним эквивалентным диаметром ДЭК и составил $r_s = -0,91$. Коэффициент корреляции микроальбуминурии и среднего диаметра ДЭК также показал удовлетворительный результат минус 0,72. Коэффициент корреляции фактора фон Виллебранда и среднего эквивалентного диаметра ДЭК составил минус 0,69.

Результаты корреляционного анализа среднего эквивалентного диаметра ДЭК со всеми рассмотренными параметрами поражения эндотелиальной системы у беременной показывают, что 80% связей оказались сильными (более 0,70 по абсолютной величине) и 20% связей оказались умеренными (более 0,30, но менее 0,71 по абсолютной величине); из них 40% являются прямыми (положительными) и 60% — обратными (отрицательными).

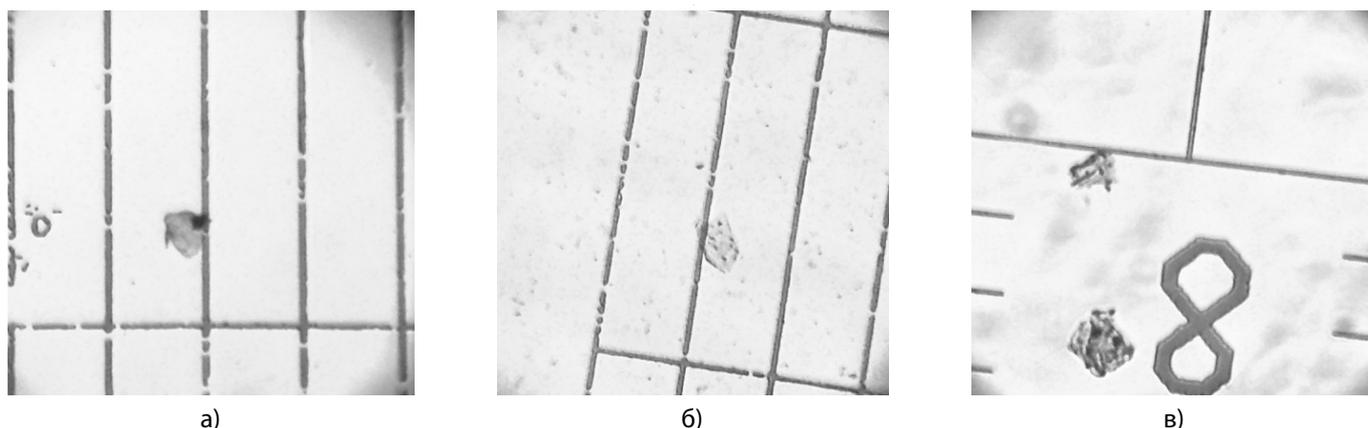


Рис. 2 (а, б, в). Десквамированные эндотелиоциты в камере Горяева. Окраска метиленовый синий. Стрелками указаны скопления конденсированного хроматина. Увеличение 600х.

Таким образом, в итоге проведенного исследования предложен новый маркер эндотелиальной дисфункции — средний эквивалентный диаметр ДЭК — морфометрический параметр, прогностическая эффективность которого обоснована участием апоптоза в патогенезе поражения эндотелиальной системы. Проведенный корреляционный анализ актуализирует новый морфометрический параметр наряду с традиционными маркерами эндотелиальной дисфункции, а также позволяет применять его как ранний прогностический тест сосудистых нарушений в фетоплацентарной системе, совершенствуя наши представления о роли эндотелиальной дисфункции в патогенезе нарушений гестации.

Полученные результаты продемонстрировали достоверность отличий выбранных нами параметров ДЭК, что дефинирует актуальность морфометрического исследования десквамированных эндотелиоцитов периферической крови с целью определения нарушений эндотелиальной системы у беременных. Следует отметить, что при морфоденситометрии окрашенных препаратов ДЭК нами были зафиксированы изменения ядер клеток: фрагментацию, маргинацию и компактизацию хроматина с формированием хроматометров, что подтверждает участие апоптоза в патогенезе изучаемой патологии и открывает перспективы исследования эндотелиальной дисфункции на молекулярном уровне.

Заключение

Задачи раннего выявления дезадаптации биологических объектов и инициирования патологических процессов остаются на сегодняшний день актуальными в современной медицине. Создание новых технологий диагностики патологии фетоплацентарного комплекса, совершенствование методов раннего обнаружения нарушений сосудистого гомеостаза представляют важ-

нейшую задачу в акушерстве. Витальная компьютерная морфометрия десквамированных эндотелиоцитов у беременных имеет равную эффективность с такими классическими методами диагностики эндотелиальной дисфункции, как исследование биохимических маркеров поражения эндотелиальной системы (фактор фон Виллебранда, С-реактивный белок, микроальбуминурия), а также подсчет циркулирующих ДЭК в периферической крови. Разработанный морфометрический анализ поражения эндотелиальной системы основан на принципиально новом объекте исследования, относящемуся к разделу эксфолиантной цитологии — десквамированными эндотелиоцитами периферической крови. Десквамация эндотелиальных клеток — маркер необратимых изменений в эндотелии, и метод, позволяющий определить степень этих изменений, может являться объективным критерием поражения эндотелиальной системы. Современные технологии направлены на повышение точности измерений, объективизацию получаемых результатов, что определяет комплексный подход в решении поставленных дифференциально-диагностических задач. Используемая технология основана на изучении морфогенеза сосудистой системы, а точнее на активности апоптоза эндотелиоцитов, что определяет новый вектор диагностического поиска биомаркеров поражения эндотелиальной системы. Знание патогенетических особенностей изучаемой нозологии позволяет совершенствовать диагностические подходы в данной области. Разработанная технология витальной компьютерной морфометрии десквамированных эндотелиоцитов может быть использована в практической медицине в качестве дополнительного, малоинвазивного и быстро выполняемого метода прогнозирования сосудистой патологии. Создание новой пренатальной диагностики нарушений фетоплацентарного комплекса является перспективным направлением снижения материнской, перинатальной и детской заболеваемости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сидорова, И.С., Никитина, Н.А. Особенности патогенеза эндотелиоза при преэклампсии// Акушерство и гинекология — 2015. — № 1 — С. 72–78.
2. Бицадзе, В.О. Тромбофилия как важнейшее звено патогенеза осложненной беременности / В.О. Бицадзе, А.Д. Макацария, Д.Х. Хизроева и др.//Практическая медицина. — 2012. — 5(60). С. 22–9.
3. Моисеева, И.В., Мансур-Хассан, С.Х. Функциональные показатели эндотелия в динамике физиологической беременности у женщин (по данным реактивной пробы плечевой артерии)//Аспирантский вестник Поволжья.-2015. — № 3–4. -С. 78–82.
4. Ордиянц, И. М. Цитоморфометрическое прогнозирование невынашивания ранней беременности / И. М. Ордиянц, Д. А. Макаева, Д. Олусола и др.// Журн. Мать и Дитя в Кубассе. — 2012. — № 1. — С. 83–87.
5. Banek, C.T., Bauer, A.J., Gingery, A., Gilbert, J.S. //Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. — 2012. —Vol. 303, N6. — P. 658–664.
6. Hladovec, J. Circulating endothelial cells in acute myocardial infarction and angina pectoris / J. Hladovec, I. Prerovsky, V. Stanek et al.//Klin. Wochenschr. — 1978. — 56(20). — P. 1033–1036.
7. Овсяник, Д. М. Диагностика ранних признаков инфицирования панкреонекроза. Медицинские новости. — 2014. — № 10. — С. 60–66.
8. Li, C., Chen, R., Deng, C. An effective treatment for penile strangulation. Molecular Medicine Reports. —2013. — 8(1). — P. 201–204.
9. Феоктистова, В. С. Новый подход к оценке дисфункции эндотелия: определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток методом проточной цитометрии/ В. С. Феоктистова, Т. В. Вавилова, О. В. Сироткина и др. // Клиническая лабораторная диагностика. — 2015 — Т. 60, № 4. — С. 23–27.
10. Козловский, В. И. Методы определения числа циркулирующих в крови эндотелиоцитов (методические рекомендации)/ В. И. Козловский, А. П. Солодков, О. Д. Мяделец и др. — Издание Витебского государственного медицинского университета, 2008. — 29 с.
11. Савельев, В. С. Перитонит и эндотоксиновая агрессия / В. С. Савельев, В. А. Петухов. — М., 2012. — 326 с.
12. Асташев, П.Е., Гудымович, В. Г. Маркеры эндотелиальной дисфункции как прогностический признак течения внутрисердечного инфекционного процесса //Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н. И. Пирогова. — 2011. — Т. 6. — № 3. — С. 3–8.
13. Мнихович М. В. Оценка апоптоза при раке молочной железы по данным изучения полутонких срезов и электронной микроскопии//Морфология. — 2011. — Т. V, № 2. — С. 45–48.
14. Mancuso, P. Validation of a standardized method for enumerating circulating endothelial cells and progenitors: flow cytometry and molecular and ultrastructural analyses/ P. Mancuso, P. Antoniotti, J. Quarna et al. //Clin. Cancer Res. — 2009. — № 5(1). — P. 267–73.
15. Woywodt, A. Circulating endothelial cells: life, death, detachment and repair of the endothelial cell layer/ A. Woywodt, F. H. Balhmann, K. Groot et al. //Nephrol Dial Transplant. — 2002. — 17. P. 1728–1730.
16. Ордиянц, И. М. Цитоморфометрическое прогнозирование невынашивания ранней беременности / И. М. Ордиянц, Д. А. Макаева, Д. Олусола и др.// Журн. Мать и Дитя в Кубассе. — 2012. — № 1. — С. 83–87.
17. Эльжорукаева, Ж. А. Терапия угрозы прерывания беременности утроежестаном: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. мед. наук / Ростовский НИИ акушерства и педиатрии, 2006. — 21 с.
18. Дивакова, Т.С., Фомина, М. П. Особенности влияния дигидрогестерона и ацетилсалициловой кислоты на плацентарный ангиогенез при осложненной беременности // Медицинские новости. — 2014. — № 2. — С. 67–72.
19. Левкович, М. А. Роль иммунологических факторов в прогнозировании исхода беременности при урогенитальной инфекции // Медицинская иммунология. — 2004. — Т. 6, № 3–5. — С. 382.
20. Nadar, S.K., Lip, G.Y., Lee, K.W. //Thromb. Haemost. — 2005. — Vol. 94, № 4. — P. 707–712.
21. Wang, C., Li, H., Fu, P. Clin. Hemorheol. Microcirc. — 2005. — Vol. 32, № 4. — P. 287–296.
22. Yang, L.X., Zhu, S.J. // Zhonghua Nei Ke Za Zhi. — 1993. — Vol. 32, № 12. — P. 816–818.
23. Chong, A.Y., Blann, A.D., Patel, J. // Circulation. — 2004. — Vol. 110. — P. 1794–1798.

© Миронов Алексей Валентинович (Mironov75av@gmail.com), Умаханова Мадина Мусаевна, Жукоцкий Александр Васильевич.

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»