

УДК 611.019:[611.013.85+611.16]

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СОСУДОВ ПЛАЦЕНТ ЖИТЕЛЬНИЦ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ) В УСЛОВИЯХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Фомина В.С.^{1,2}, Гармаева Д.К.¹, Лоскутова К.С.^{1,3}, Тимофеева А.Н.³, Чернова М.А.³

¹ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», Якутск, e-mail: fomina.valeria.89@mail.ru;

²ГБУ РС (Я) «Якутская республиканская офтальмологическая клиническая больница», Якутск;

³ГАУ РС (Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины им. М.Е. Николаева», Якутск

Благодаря иммуногистохимическим методам исследования можно интерпретировать перестройку клеточного и тканевого компонента при различных экзо- и эндогенных факторах, в частности при адаптационных процессах. Цель работы: установить иммуногистохимические особенности адаптивной перестройки сосудов плаценты при физиологической беременности у женщин Республики Саха (Якутия). Материалы и методы: проведено морфологическое исследование сосудов плаценты женщин коренной и некоренной национальности Якутии при физиологической беременности, рассматриваемых в разрезе результата воздействия экстремальных природных факторов Якутии, с применением иммуногистохимического метода: обнаружение экспрессии антигена с помощью набора моноклональных антител к α -гладкомышечному актину и CD34. CD34 позитивные клетки в плацентах у группы женщин коренной национальности преимущественно были выявлены в сосудах терминальных ворсин, тогда как у группы женщин некоренной национальности их наблюдали в сосудах промежуточных дифференцированных ворсин, что характеризует разнонаправленное компенсаторное ремоделирование сосудов ворсин хориона. Слабовыраженную мышечную ткань ворсин определяли у группы женщин коренной национальности 2-го периода зрелого возраста, умеренно выраженную определяли у группы женщин коренной и некоренной национальности 1-го периода зрелого возраста, и резко выраженную мышечную ткань – у группы женщин некоренной национальности 2-го периода зрелого возраста. Анализ экспрессии иммуногистохимических маркеров CD34, α -гладкомышечного актина у женщин Якутии с физиологическим течением беременности показал достоверные отличия в этническом и возрастном аспекте, в развитии компенсаторно-приспособительных реакций, носящих разнонаправленный характер по группам. Высокий показатель удельной доли сосудов, экспрессирующих CD34, был отмечен у группы женщин некоренной национальности 2-го периода зрелого возраста. У группы женщин некоренной национальности во 2-м периоде зрелого возраста гладкомышечная ткань в ворсинках становится гиперплазированной, а у группы женщин коренной национальности во 2-м периоде зрелого возраста отмечаются признаки гипоплазии мышечной ткани в ворсинках хориона.

Ключевые слова: плацента, ангиоархитектоника, иммуногистохимия, CD34, гладкомышечный актин, Республика Саха (Якутия).

IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF PLACENTA VESSELS OF RESIDENTS OF THE REPUBLIC OF SAKHA (YAKUTIA) UNDER CONDITIONS OF PHYSIOLOGICAL PREGNANCY

Fomina V.S.^{1,2}, Garmaeva D.K.¹, Loskutova K.S.^{1,3}, Timofeeva A.N.³, Chernova M.A.³

¹Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosova», Yakutsk, e-mail: fomina.valeria.89@mail.ru;

²GBU RS (Yakutia) «Yakut Republican Ophthalmological Clinical Hospital», Yakutsk;

³State Autonomous Institution of the Republic of Sakha (Yakutia) «Republican Hospital No. 1 – National Center of Medicine named after. M. E. Nikolaeva», Yakutsk

Thanks to immunohistochemistry methods, it is possible to interpret the restructuring of the cellular and tissue components under various exo- and endogenous factors, in particular during adaptation processes. The goal is to establish the immunohistochemical features of the adaptive restructuring of placental vessels during physiological pregnancy in women of the Republic of Sakha (Yakutia). Materials and methods: a morphological study of placental tissues of women of indigenous and non-indigenous nationality of Yakutia during physiological pregnancy was carried out, considered in the context of the result of exposure to extreme natural factors of Yakutia, using an immunohistochemical method: detection of antigen expression using a set of monoclonal

antibodies to α -smooth muscle actin and CD-34. CD34 positive cells in the placentas of a group of indigenous women during physiological pregnancy were predominantly observed in the vessels of the terminal villi, while in the group of non-indigenous women they were observed in intermediate differentiated vessels, which characterizes multidirectional compensatory remodeling of chorionic villi vessels. Weakly expressed muscle tissue of the villi was determined in a group of women of indigenous nationality in the 2nd period of adulthood, moderately expressed muscle tissue was determined in a group of women of indigenous and non-indigenous nationality in the 1st period of adulthood and pronounced muscle tissue in a group of women of non-indigenous nationality in the 2nd period of adulthood. According to these data, there is multidirectional compensatory hyperplasia of the muscular structures of the vessels of the chorionic villi. In a group of women of non-indigenous nationality in the 2nd period of adulthood, the smooth muscle tissue in the villi becomes hyperplastic, and in a group of women of indigenous nationality in the 2nd period of adulthood there are signs of hypoplasia of muscle tissue in the chorionic villi. Analysis of the expression of immunohistochemical method markers CD-34, α -smooth muscle actin in women of Yakutia with a physiological course of pregnancy showed significant differences in ethnic and age aspects, in the development of compensatory and adaptive reactions, which were multidirectional in nature across groups.

Keywords: placenta, angioarchitecture, immunohistochemistry, CD34, smooth muscle actin, Republic of Sakha (Yakutia).

Одним из современных, инновационных направлений морфологии, внесшим значительный вклад в развитие морфологической науки, являются иммуногистохимические (ИГХ) исследования – высокочувствительные, структурно-специфические, информативные, широко используемые в патологической и нормальной морфологии [1, 2]. Плацента представляет собой комплекс собственной сосудистой системы и анатомически взаимосвязанной с ней сосудистой системы пуповины. И именно структурные проявления их реакций на внешние климатоэкологические воздействия, такие как условия Республики Саха (Якутия), могут служить адекватными и объективными морфологическими критериями для оценки любых неблагоприятных воздействий внешней среды [3, 4]. Существует множество данных о морфологии плаценты, однако для более детального понимания необходимо изучить локальные механизмы адаптации на клеточно-тканевом уровне [5].

В проанализированных авторами исследованиях было показано, что наибольший показатель площади просвета сосудов в терминальных ворсинках плаценты установлен у женщин коренной национальности 2-го периода зрелого возраста ($458,75 \text{ мкм}^2$), а наименьший показатель площади сосудов наблюдался у группы некоренных женщин 2-го периода зрелого возраста ($110,68 \text{ мкм}^2$) [6]. Такое четырехкратное снижение показателя площади сосудов позволяет предположить, что у группы некоренных женщин с возрастом компенсаторные механизмы становятся несовершенными [7].

Исходя из сказанного, требуются углубленные знания на субклеточном, клеточном и тканевом уровнях, которые позволили бы максимально детализировать компенсаторные механизмы адаптивной перестройки сосудов. Для дифференцировки ангиоархитектоники внутренних органов в качестве диагностических маркеров чаще используются гладкомышечный актин и CD-34, которые свойственны соответствующим типам тканей. α -

гладкомышечный актин (α -smooth muscle actin (SMA) – промежуточный филамент, цитоплазматический белок, характерен для гладкомышечных структур [8]. CD34 – трансмембранный белок, обладает высокой чувствительностью в отношении сосудов, позитивен в эндотелии кровеносных сосудов, а также и в некоторых стволовых клетках [9].

В проанализированной авторами литературе не найдено работ, посвященных изучению иммуногистохимических особенностей адаптивной перестройки сосудов плаценты при физиологической беременности у женщин Республики Саха (Якутия). В то же время поиск морфологических маркеров адаптации организма человека к экстремальным климатическим условиям является актуальной научно-практической задачей.

Цель исследования: установить иммуногистохимические особенности адаптивной перестройки сосудов плаценты при физиологической беременности у женщин Республики Саха (Якутия) в этническом и возрастном аспекте.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования стали плаценты при физиологической беременности, рассматриваемые в разрезе результата воздействия экстремальных природных факторов Республики Саха (Якутия) (далее – РС(Я)), в этническом и возрастном аспекте. Проспективное исследование проведено на базе патологоанатомического отделения ГАУ РС(Я) «РБ № 1 НЦМ им. М.Е. Николаева» в период 2021–2023 гг.

После скринингового анализа 517 протоколов плацент женщин были отобраны 149 плацент (28,8%). К критериям включения были отнесены женщины, жительницы Якутии 1-го и 2-го зрелого периода со сроком проживания более 10 лет в Республике до наступления настоящей беременности; доношенная беременность в сроке гестации 37–40 недель, завершившаяся живорождением; роды через естественные родовые пути; наличие данных анамнеза и клинико-инструментальных методов наблюдения и обследования беременных и их новорожденных. Критериями исключения были соматическая патология, многоплодная беременность, беременность в результате вспомогательных репродуктивных технологий, острая плацентарная недостаточность, хроническая плацентарная недостаточность, курение, наркомания, алкоголизм.

Первую группу составили 79 плацент от женщин коренной национальности (якутки, эвенки, эвены и юкагиры). Во вторую группу вошли 70 плацент от женщин некоренной национальности (русские, украинцы, татары), проживающих в Республике более 10 лет. Распределение по возрастному составу проводили согласно схеме возрастной периодизации онтогенеза человека, принятой на VII Всесоюзной конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии АПН СССР в Москве в 1965 г. (табл. 1).

Таблица 1

Распределение исследуемых групп женщин по возрастному составу и этнической принадлежности

Этническая принадлежность	Группа женщин коренной национальности, n (%)		Группа женщин некоренной национальности, n (%)	
	1-й период зрелого возраста	2-й период зрелого возраста	1-й период зрелого возраста	2-й период зрелого возраста
Количество женщин	53 (35,6%)	26 (17,4%)	42 (28,2%)	28 (18,8%)

Исследование плацент проводили согласно методам, предложенным А.П. Миловановым (1999) [10]. Микроскопическое исследование выполняли в соответствии со стандартными протоколами, рекомендованными в руководствах по гистологической технике и гистохимии. Из плацентарной ткани иссекались объекты размером 1,0x0,7 см из краевой и парацентральной и центральной зон, по 2 участка из каждой зоны, с включением плодной и материнской поверхности. Фрагменты плацент после фиксации в 10%-ном забуференном растворе формалина подвергали гистологической проводке, заливали в парафин. Для гистологического исследования использовали срезы толщиной 3–5 мкм с применением обзорной окраски препаратов гематоксилином и эозином. Для иммуногистохимического исследования CD-34+ клеток идентифицировали с помощью моноклональных антител cloneQBend-10 (Dako, Дания). Для объективизации степени адаптивной перестройки гладкомышечного компонента в сосудах плаценты проводили исследование согласно стандартизированным протоколам с использованием моноклональных антител к цитоплазматическому антигену, α -SMA Мо α -Hu (Alpha Smooth Muscle actin, Дания), который экспрессируется на гладкомышечных клетках.

Микропрепараты изучали на аппаратно-программном комплексе для биологических исследований с системой документирования на основе микроскопа Leica DM 2500 с фотокамерой Nikon (при увеличении x20, x40, x100). Фотосъемку производили на увеличении x200 (окуляр 10 х, объектив 20 х), по 5 полей зрения для каждого микропрепарата. Статистический анализ данных выполнен в программе IBM SPSS Statistics версия 26.0.0.0. Для оценки нормальности распределения был использован критерий Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса для групп с $n > 50$ и использован критерий Шапиро–Уилка для групп с $n < 50$; при $p < 0,05$ – распределение, отличное от нормального, $p > 0,05$ – распределение нормальное. Сравнительный анализ количественных данных с нормальным распределением

выполнен с помощью параметрических методов и оценкой t-критерия Стьюдента или t-критерия Стьюдента в модификации Уэлча в зависимости от равенства дисперсий сравниваемых выборок. Оценка дисперсий проведена с помощью критерия Ливиня, при $p > 0,05$ выбран t-критерий Стьюдента, при $p < 0,05$ – t-критерий Стьюдента в модификации Уэлча.

Результаты исследования и их обсуждение. При ИГХ-исследовании плацент женщин РС(Я) с использованием антител CD-34 высокий показатель – 38,4% удельной доли сосудов, экспрессирующих CD-34, был выявлен в группе женщин некоренной национальности 2-го периода зрелого возраста, что на 6% выше, чем в группе женщин коренной национальности 2-го периода зрелого возраста (32,4%), и на 19,2% выше, чем в группе женщин коренной национальности 1-го периода зрелого возраста (13,2%) (табл. 2).

Таблица 2

Распределение по группам удельной доли сосудов, экспрессирующих CD-34

Показатель	Группа женщин коренной национальности		Группа женщин некоренной национальности	
	1-й период зрелого возраста	2-й период зрелого возраста	1-й период зрелого возраста	2-й период зрелого возраста
Удельная доля сосудов, (ME ± SD)	13,2% ± 0,81	32,4% ± 1,02	16% ± 0,57	38,4% ± 1,4

Преобладающая локализация CD-34+ клеток в плацентах группы женщин некоренной национальности была выявлена на уровне сосудов промежуточных дифференцированных ворсин (рис. 1).

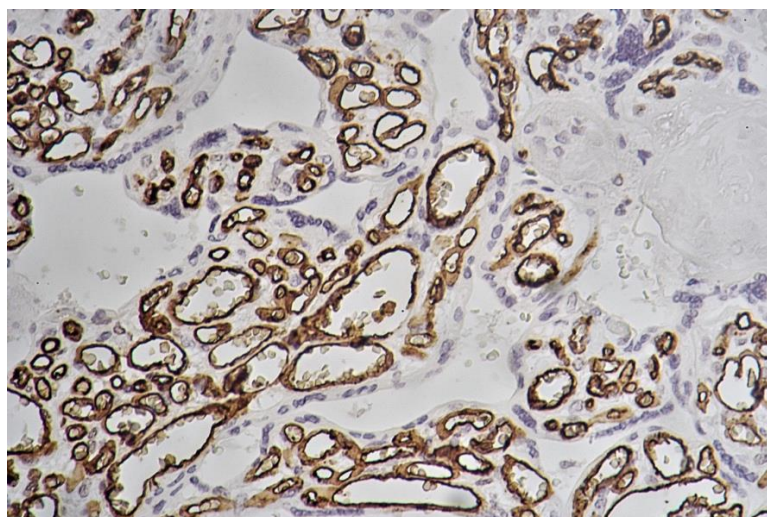


Рис. 1. Иммуногистохимическая реакция с антителами к CD-34-антигену в промежуточных дифференцированных ворсинах хориона плаценты у женщины некоренной национальности при физиологической беременности. Докраска гематоксилином. Увеличение x200

В плацентах женщин коренной национальности преобладающая локализация CD-34+ клеток была выявлена на уровне сосудов терминальных ворсин (рис. 2).

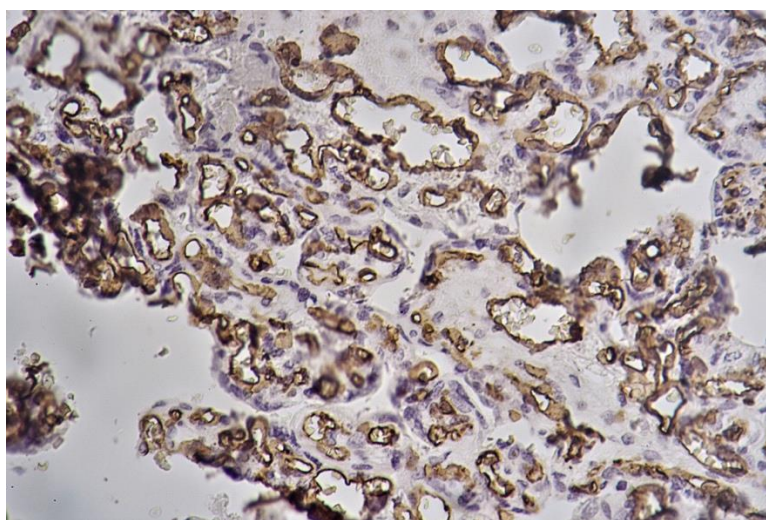


Рис. 2. Иммуногистохимическая реакция с антителами к CD-34-антигену в терминальных ворсинах хориона в плацентах у женщин коренной национальности при физиологической беременности. Докраска гематоксилином. Увеличение x200

Экспрессия CD-34 в плацентах группы женщин некоренной национальности носила выраженный синхронный характер в терминальных ворсинках и промежуточных дифференцированных, причем в последних отмечались признаки ангиоматоза (рис. 3). Это важный момент, так как при анализе литературы известно, что компенсаторная гиперплазия сосудов ворсинчатого дерева происходит в нескольких направлениях, а именно: гистогематические структуры ворсинчатого дерева путем пролонгации до конца гестации митотической активности цитотрофобласта ворсин и ангиогенеза с формированием полноценных синцитиокапиллярных мембран обеспечивают достижение наиболее эффективного уровня адаптационных реакций в плаценте и нормального течения беременности у женщин коренного народа и уроженок Крайнего Севера [11].

Представленные выше данные являются результатом одного из немногих исследований структуры сосудов плаценты и их особенностей адаптации в условиях Крайнего Севера. Подобное исследование было проведено только в 1979 г. Н.И. Цирельниковым, который выявил хроническую фетоплацентарную недостаточность, выраженность которой прямо

коррелировала с продолжительностью жизни в условиях Заполярья [12]. Далее морфометрические и гистологические показатели плаценты и пуповины при физиологической беременности у жительниц Заполярья исследованы недостаточно. В связи с этим в условиях динамично меняющихся климатоэкологических условий актуально изучение «географической нормы» строения этого провизорного органа у женщин – жительниц этих регионов.

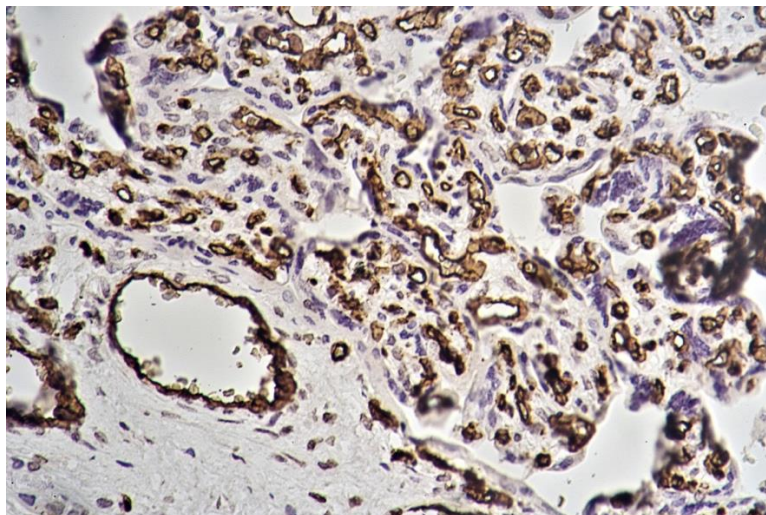


Рис. 3. Иммуногистохимическая реакция с антителами к CD-34-антигену в эндотелии сосудов промежуточных дифференцированных и терминальных ворсин хориона в плацентах группы женщин некоренной национальности при физиологической беременности. Докраска гематоксилином. Увеличение x200

Показатели экспрессии SMA являются разнонаправленными в исследуемых группах плацент. Гистоархитектоника характеризуется неоднородностью распределения гладкомышечной ткани в сосудах ворсинок хориона, различная степень выраженности ткани в ворсинках плаценты позволила выделить 3 вида реакций: слабовыраженная, умеренно выраженная и резко выраженная мышечная ткань (рис. 4).

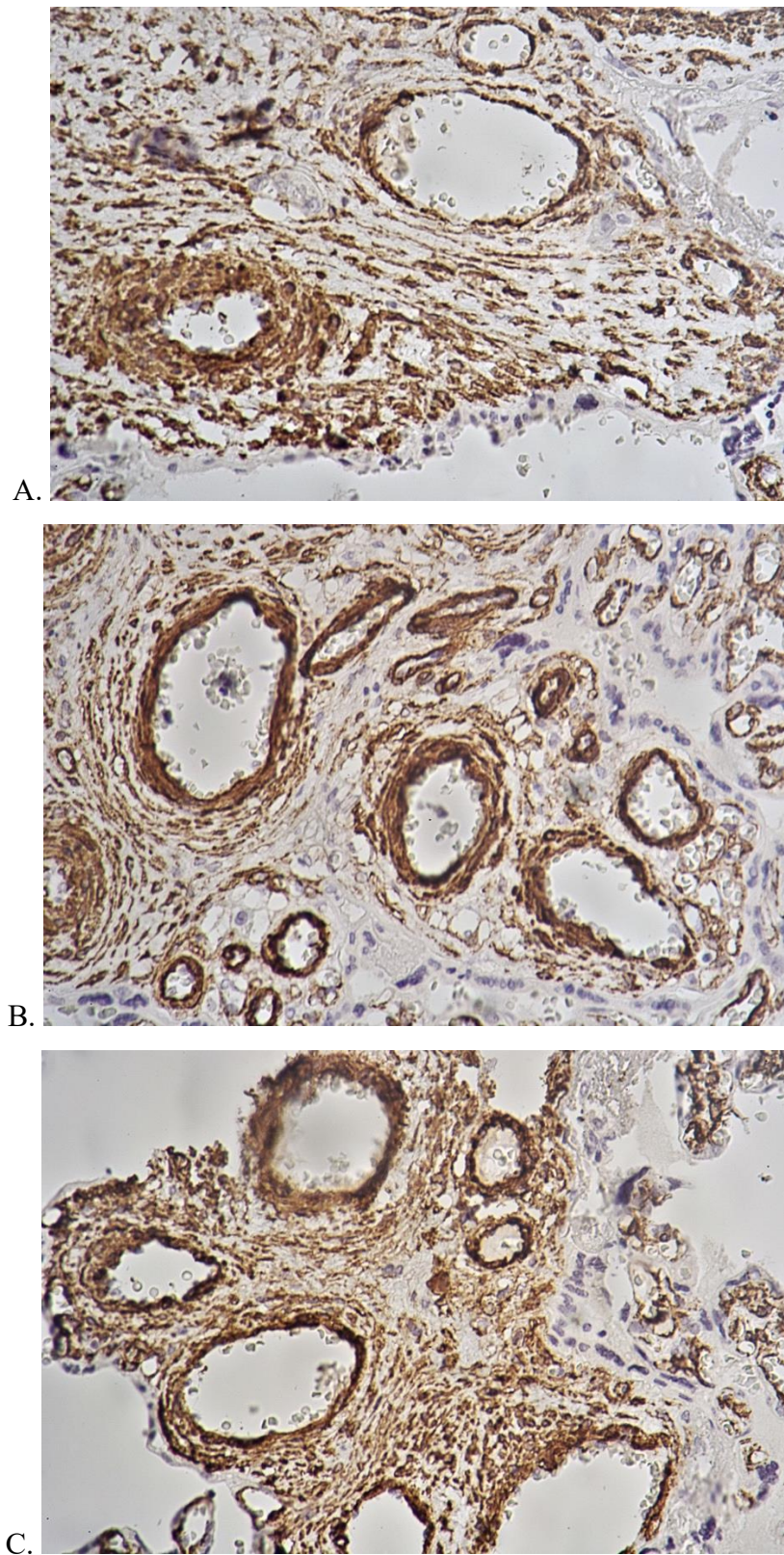


Рис. 4. Иммуногистохимическая реакция с антителами к SMA-антигену в сосудах ворсин хориона. Выраженность гладкомышечных структур в сосудах ворсинок хориона: А – слабовыраженная мышечная ткань; В – умеренно выраженная ткань; С – резко выраженная ткань. Докраска гематоксилином. Увеличение x200

При слабовыраженной ткани гладкомышечные волокна распределены внутри соединительнотканного пласта с присутствием некоторого интервала между волокнами, таким образом, плотность распределения гладкомышечной ткани низкая. Соединительная ткань была распределена равномерно, участки рыхлой и плотной соединительной ткани чередовались. При умеренно выраженной ткани гладкомышечные волокна плотно прилегают друг к другу, соединительная ткань выражена в меньшей степени. Резко выраженная ткань характеризуется наиболее плотным распределением гладкомышечных волокон по ворсинке, соединительная ткань практически не выражена.

Количественная оценка выраженности мышечной ткани в сосудах ворсинок хориона проводилась определением площади экспрессии исследуемых антигенов SMA. В результате исследований было выявлено, что слабовыраженная мышечная ткань определялась у группы женщин коренной национальности 2-го периода зрелого возраста, умеренная выраженная определялась у группы женщин некоренной национальности и группы женщин коренной национальности 1-го периода зрелого возраста, резко выраженная гладкомышечная ткань – у группы женщин некоренной национальности 2-го периода зрелого возраста. Таким образом, имеется разнонаправленная компенсаторная гиперплазия мышечных структур сосудов ворсин хориона. У группы женщин некоренной национальности во 2-м периоде зрелого возраста гладкомышечный слой становится гиперплазированным, а у группы женщин коренной национальности во 2-м периоде зрелого возраста, наоборот, происходит гипоплазия мышечной ткани (табл. 3). Различия, обнаруженные рядом авторов, объяснялись в основном этническими и биологическими факторами. Однако все еще невозможно четко разделить влияние материнских факторов и факторов окружающей среды [13]. Данные свидетельствуют о наличии большего функционального резерва в плацентах аборигенов, способных при необходимости уменьшать толщину стенок сосуда за счет мышечного слоя и увеличивать количество синцитиокапиллярных мембран, улучшая диффузионную проводимость между кровью матери и плода [14].

Таблица 3

Удельная площадь экспрессии SMA в сосудах ворсинок хориона плацент женщин РС(Я) в этническом и возрастном аспекте

Показатель	Группа женщин коренной национальности		Группа женщин некоренной национальности	
	1-й период зрелого возраста (20)	2-й период зрелого возраста (20)	1-й период зрелого возраста (20)	2-й период зрелого возраста (20)

Удельная площадь экспрессии SMA, (ME \pm SD)	43,5% \pm 2,35	32,6% \pm 1,95	46,5% \pm 2,01	54,8% \pm 4,2
--	------------------	------------------	------------------	-----------------

Выводы

При физиологической беременности у женщин Республики Саха (Якутия) установлены следующие иммуногистохимические показатели в сосудах плацент.

1. Анализ экспрессии маркеров CD34 показал различия ангиоархитектоники различного характера в сравниваемых группах. Так, у группы женщин коренной национальности CD34+ клетки при физиологической беременности преимущественно были выявлены в сосудах терминальных ворсин хориона. У группы женщин некоренной национальности CD34+ клетки были локализованы преимущественно в сосудах промежуточных дифференцированных ворсин. При этом высокий показатель удельной доли сосудов, экспрессирующих CD34, наблюдали в плацентах у группы женщин некоренной национальности 2-го периода зрелого возраста.

2. Наименьшая экспрессия SMA наблюдалась в ворсинах хориона у группы женщин коренной национальности 2-го периода зрелого возраста, умеренно выраженная экспрессия наблюдалась у группы женщин некоренной и коренной национальности 1-го периода зрелого возраста, резко выраженная мышечная ткань в ворсинах хориона – у группы женщин некоренной национальности 2-го периода зрелого возраста. Таким образом, у группы женщин некоренной национальности во 2-м периоде зрелого возраста гладкомышечный слой в ворсинках хориона становится гиперплазированным, а у группы коренных женщин во 2-м периоде зрелого возраста отмечаются признаки гипоплазии мышечной ткани ворсин хориона. Согласно этим данным, имеется разнонаправленная компенсаторная гиперплазия мышечных структур сосудов ворсин хориона.

3. Полученные нами результаты ИГХ-исследований показали, что сосуды плаценты у женщин коренной и некоренной национальности подвергаются ремоделированию в разные возрастные периоды.

Список литературы

1. Anastasiu D.M., Cean A., Bojin M. F., Gluhovschi A., Panaitescu C., Păunescu V., Tănăsie G. Explants-isolated human placenta and umbilical cord cells share characteristics of both epithelial and mesenchymal stem cells // Rom J. Morphol Embryol. 2016. Vol. 57. Is. 2 P. 383-390.

2. Takizawa T., Ogoyama M., Takahashi H., Ohkuchi A. Immunohistochemical analysis of the distribution of DROSHA in villous trophoblast of the human placenta // *Journal of Reproductive Immunology*. 2021. Vol. 148. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165037821001509>. (дата обращения: 11.01.2024). DOI: 10.1016/j.jri.2021.103420.
3. Чёрная Е.Е., Попов А.Д., Каспарова А.Э., Юрина М.А., Шумилов С.П. Беременность и адаптация в условиях субарктического региона // *Экология человека*. 2018. № 12. С. 46-54.
4. Чащин В.П., Гудков А.Б., Попова О.Н., Одланд Ю.О., Ковшов А.А. Характеристика основных факторов риска нарушений здоровья населения, проживающего на территориях активного природопользования в Арктике // *Экология человека*. 2014. № 1. С. 3-12.
5. Салимова З.Н., Камилова М.Я., Рахматуллоева Д.М., Гулакова Д.М. Гистологическая картина плацент и особенности экспрессии {CD34}⁺ в клетках эндотелия сосудов хориона беременных с анемией // *Вестник Авиценны*. 2017. Т. 19. № 3. С. 286-291.
6. Фомина В.С., Гармаева Д.К. Показатели морфометрии плаценты жительниц Республики Саха (Якутия) при физиологической беременности // *Морфологические ведомости*. 2023. № 3. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.morpholetter.com/jour/article/view/814> (дата обращения: 11.01.2024).
7. Романова А.А. Морфофункциональная характеристика сосудистого русла плацент жительниц Крайнего Севера при физиологическом и патологическом течении беременности: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Екатеринбург, 2020. 144 с.
8. Атякшин Д.А., Бухвалов И.Б., Тиманн М. Гистохимия ферментов. Воронеж: Научная книга, 2016. 120 с.
9. Arakelian L., Lion J., Churlaud G., Bargui R., Thierry B., Mutabazi E., Bruneval P., Alberdi A.J., Doliger C., Veysiere M., Larghero J., Mooney N. Endothelial CD34 expression and regulation of immune cell response in-vitro // *Scientific Reports*. 2023. № 13 (1). P. 13512. DOI: 10.1038/s41598-023-40622-7.
10. Милованов А.П. Патология системы мать – плацента – плод. М: Руководство для врачей, 1999. 448 с.
11. Stanek J. Chorangiogenesis of chorionic villi: what does it really mean? // *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2016. Vol. 140. № 6. P. 588-593.
12. Цирельников Н.И. Плацентарно-плодные взаимоотношения как основа развития и дифференцировки дефинитивных органов и тканей // *Архив патологии*. 2005. № 1. С. 54-57.
13. Шаталова И.Г. Анализ изменений последов у женщин, подвергшихся неблагоприятному воздействию загрязненной воздушной среды // *Известия Самарского*

научного центра РАН. 2009. № 1–5. [Электронный ресурс]. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/analiz-izmeneniy-posledov-u-zhenschin-podvergshih-sya-neblagopriyatnomu-vozdeystviyu-zagryaznennoy-vozdushnoy-sredy> (дата обращения: 11.01.2024).

14. Mayhew T.M. Allometric studies on growth and development of the human placenta: growth of tissue compartments and diffusive conductances in relation to placental volume and fetal mass // *J. Anat.* 2006. № 208 (6). P. 785-94. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2006.00566.x.