

*Ю.К. Абаев,
Н.И. Телятицкий*
Заживление ран у плода

Белорусский государственный медицинский университет

В обзоре литературы изложены сведения о раневой репарации во внутриутробном периоде. Отражены внешние и внутренние факторы, оказывающие влияние на процесс раневого заживления у плода. Приведены сравнительные данные о заживлении ран у плодов различного срока гестации. Ключевые слова: раневое заживление, плод.

При наличии большинства пренатально диагностируемых пороков более рациональным является проведение оперативного лечения в специализированных хирургических центрах после рождения плода. Однако существует группа аномалий плода, плаценты и пуповины, которая приводит к значительным и необратимым нарушениям развития, затрудняющим их хирургическое лечение после рождения ребенка. В таких случаях рационально проведение вмешательства уже во внутриутробном периоде [1, 6, 10, 20]. В настоящее время разработаны показания к выполнению оперативных вмешательств в фетальном периоде [6].

Хирургия плода: диафрагмальная грыжа (предупреждение развития гипоплазии легких); обструкция мочевыводящих путей (предупреждение развития почечной недостаточности и гипоплазии легких); крестцово-копчиковая тератома (предупреждение развития сердечной недостаточности); объемные образования грудной клетки (предупреждение развития гипоплазии легких и сердечной недостаточности); дефекты невральнoй трубки (предупреждение образования менингомиелоцеле).

Хирургия плаценты, пуповины и оболочек: хорионангиома (предупреждение развития сердечной недостаточности и отека); амниотические тяжи (предупреждение развития деформаций и ампутаций частей плода); осложнения монохориальной беременности (предупреждение развития сердечной недостаточности, фето-фетального трансфузионного синдрома, синдром акардии); гибель одного близнеца (предупреждение развития сердечной недостаточности и/или неврологических нарушений).

Оптимальным сроком для проведения операции во внутриутробном периоде является возраст плода 18 – 30 нед гестации. Существует два типа операций, выполняемых в фетальной хирургии: открытым способом с вскрытием полости матки и эндоскопическим путем [1]. Операции открытым способом проводятся под эндотрахеальной анестезией. Плоду вводят анальгетики и миорелаксанты для ограничения подвижности. Производится лапаротомия и гистеротомия. Плод выводится из полости матки или приближается к области разреза. Необходимый объем амниотической жидкости поддерживается путем выведения в операционную рану только части плода, на которой производится вмешательство и постоянной перфузии теплого раствора Рингер-лактата. После окончания операции оболочки и стенка матки тщательно

ушиваются для избежания подтекания вод [20].

Эндоскопическое антенатальное вмешательство, обладая меньшей инвазивностью, позволяет избежать осложнений, которые сопровождают открытые операции, а именно – уменьшить частоту преждевременных родов, предотвратить охлаждение и дегидратацию плода. Под контролем эхографии определяется место введения троакара. Обычно вводится три троакара. Используемые инструменты имеют размеры 3 – 5 мм, диаметр фетоскопа 1,2 – 2 мм. Одной из главных проблем при проведении эндоскопической операции является плохая видимость, вследствие недостаточной прозрачности вод [1, 6].

Внутриутробная коррекция врожденных аномалий не может эффективно осуществляться без понимания механизмов заживления ран у плода. В то время как у взрослых процесс раневого заживления в значительной степени изучен, механизмы фетальной ранации только начинают разъясняться [4, 8, 18]. Для изучения раневого заживления у плодов используются различные модели на мышах, крысах, морских свинках, кроликах, овцах, обезьянах и других животных. Образцы ткани плода получают при помощи имплантантов из поливинилалкоголя (ПВА-губка), политетрафлюороэтилена, камеры Hunt-Schilling и др. [3, 8, 12]. Экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что раневое заживление у плода имеет существенные отличия от заживления ран у детей и взрослых. Прежде всего, это связано с безрубцовым заживлением ран в фетальном периоде [2, 4, 16]. Только в поздние сроки гестации кожные раны плодов начинают заживать с формированием рубца [11, 12].

У взрослых млекопитающих раневое заживление является ответом на травму и завершается восполнением тканевого дефекта с образованием рубцовой ткани. При этом процесс раневого заживления последовательно включает фазы воспаления, пролиферации и ремоделирования рубца [7]. В фазе воспаления первыми в процесс вовлекаются полиморфно-ядерные лейкоциты (ПЯЛ), обеспечивающие очищение раны и антибактериальную защиту, в последующем – макрофаги и лимфоциты. В этой фазе раневого заживления происходит секреция факторов роста, цитокинов и компонентов экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ). При этом главной эффекторной клеткой, координирующей заживление раны, является макрофаг.

В фазе пролиферации происходит размножение фибробластов и эндотелиальных клеток. Исходный раневой матрикс, богатый фибрином, постепенно замещается коллагеном. В финальной фазе раневого заживления – фазе ремоделирования, между коллагеновыми молекулами образуются прочные поперечные связи, происходит упорядочивание коллагеновых фибрилл и, в результате, формируется зрелый рубец. При патологическом течении заживления возможно образование гипертрофического рубца или келоида, что приводит к функциональным и косметическим проблемам.

Между плодом и взрослым организмом существуют многочисленные, внешние и внутренние различия. Прежде всего, плод запрограммирован для постоянного роста, в отличие от периода внеутробного существования [18, 20].

За 10 лунных месяцев превращения оплодотворенной яйцеклетки в сформированный плод, масса его перед рождением увеличивается в 6×10^{12} раз. Для столь интенсивного роста плод должен быть обеспечен благоприятными внешними и внутренними условиями [7].

Важной особенностью фетального периода является то, что кожные раны плода постоянно омываются амниотической жидкостью (АЖ), богатой гиалуроновой кислотой (ГК) и фибронектином, являющимися компонентами ЭЦМ [9, 18]. В АЖ содержатся также факторы роста, стимулирующие активность раневых клеток. Кроме того, АЖ создает идеальное влажное микроэкологическое пространство для раны, способствующее формированию раневого матрикса, благоприятного для клеточного взаимодействия и облегчающее миграцию эпителиальных клеток.

Важнейшее внутреннее различие между плодом и взрослым заключается в особенностях оксигенации плода [18]. Фетальная артериальная кровь имеет pO_2 не превышающее 20 мм рт. ст., что ниже, чем у альпиниста, находящегося на вершине Эвереста без кислородной маски. Тканевое pO_2 у плодов ягнят в середине срока гестации составляет 16 мм рт. ст., тогда как в ткани у взрослого животного – 45 – 60 мм рт. ст. Частичная компенсация низкого содержания кислорода в крови и тканях плода происходит за счет фетального гемоглобина, имеющего более высокое сродство к O_2 чем гемоглобин взрослого.

Возникает вопрос, почему у плода заживление происходит так быстро, несмотря на наличие гипоксемии? Ранее считалось, что продукция коллагена и эпителизация в ране (два интегральных компонента раневого заживления) существенно зависят от напряжения кислорода в тканях раны. Однако в настоящее время установлено прямо противоположное, то есть раневое заживление стимулируется и облегчается в относительно гипоксичных раневых условиях [7]. Оптимальный рост фибробластов в тканевой культуре наблюдается при низком парциальном давлении кислорода (5 – 10 мм рт. ст.), а эпидермальный клеточный рост ингибируется при уровне кислорода выше, чем в окружающей воздухе. Установлено также, что хроническая тканевая гипоксия является потенциальным стимулятором пролиферации капилляров. Градиент кислорода между краями раны и ее центром стимулирует рост капилляров в направлении гипоксического центра раны. В этом процессе участвуют макрофаги, которые стимулируются локальной гипоксией к высвобождению факторов роста.

Другим фактором, влияющим на процесс раневого заживления в фетальном периоде, является значительное отличие в строении кожи плода и взрослого. На 9 – 14 нед гестации эпидермис плода человека имеет слоистое строение, в последующем наблюдается фолликулярная кератинизация (14 – 24 нед), а после 24 нед гестации развивается межфолликулярная кератинизация. Между 4 и 24 нед гестации, внешний слой кожи плода (перидерма) имеет множество виковорсинок.

Перидерма обладает абсорбционными способностями и функционирует как диализирующая мембрана по отношению к амниотической жидкости [18].

Важное различие между плодом и взрослым заключается в функционировании иммунной системы [6, 20]. Внешнее окружение плода стерильно. До середины периода гестации, у плода имеет место нейтропения и отсутствует способность иммунологической идентификации. ПЯЛ в ранах у плода обладают низкой способностью к хемотаксису и обнаруживаются в небольшом количестве, что является одной из причин отсутствия типичного воспалительного ответа, наблюдаемого у взрослых [2, 4, 8].

Так как воспаление играет большую роль в процессе репарации в постнатальном периоде, невыраженная воспалительная реакция плода в ответ на травму является важным отличительным признаком фетальной репарации. После инъекции флогогенного агента каррагинина в дерму плодов кролика на 19, 23 и 27 сут гестации (весь период гестации 31 сут), у плодов более раннего срока гестации наблюдается практически полное отсутствие воспалительной реакции и постепенное возрастание воспалительного ответа у плодов более позднего срока гестации [18]. Аналогичные результаты получены на плодах животных других видов [19].

Раневые макрофаги являются ключевыми клетками в процессе раневого заживления у взрослого. Если ПЯЛ могут быть элиминированы из раны без негативных последствий для образования грануляционной ткани, то отсутствие макрофагов вызывает выраженные нарушения процесса раневого заживления [18]. В фетальном периоде в ранах наблюдается значительное количество макрофагов, в то время как численность ПЯЛ никогда не достигает высокого уровня. При использовании полимеразной цепной реакции установлено, что фетальные макрофаги, экспрессируя фактор роста, действуют как регуляторы процесса раневого заживления. Раневые макрофаги координируют деградацию и ремоделирование ЭЦМ посредством избирательной активации и ингибирования протеиназ.

Эксперименты на модели ран у плодов ягнят свидетельствуют, что гистологически кожа после заживления ран неотличима от неповрежденной дермы. Это позволяет считать, что обменные реакции в фетальном раневом матриксе осуществляется быстро и эффективно [17]. Исследования свидетельствуют, что заживление фетальной раны является процессом ближе стоящим к регенерации, чем к репарации.

Th.M. Krummel et al. установили [12], что раневой матрикс у плодов кролика богат гликозаминогликанами (ГАГ), причем содержание ГАГ в 10 раз превышает их наличие в неповрежденной коже плодов и значительно выше чем у взрослых животных. Главным компонентом ГАГ является гиалуроновая кислота (ГК). Раневой матрикс играет большую роль в процессе заживления. ГК является ключевым структурным и функциональным компонентом ЭЦМ, благоприятствуя клеточной пролиферации. Длительное присутствие ГК в матриксе раны плода, вероятно, является одним из факторов, способствующих процессу раневого заживлению путем регенерации, а не образования рубцовой ткани. M.T. Longaker et al. [13] обнаружили, что сыворотка плодов ягнят обладает способностью стимулировать синтез ГК с пиком активности в

середине срока гестации. Из фетальной сыворотки выделен гликопротеин, обладающий такой способностью. После рождения способность сыворотки животных стимулировать синтез ГК значительно уменьшается.

Анализ раневой жидкости, полученной при помощи цилиндра Hunt-Schilling, имплантированного в середине срока гестации плодам ягнят, показывает значительное повышение уровня активности раневой жидкости стимулировать синтез ГК по сравнению с взрослыми на 1 – 14 сут после имплантации. Причем данная активность раневой жидкости имеет бимодальное распределение. Первый ее пик (1 – 4 сут) отражает способность стимулировать синтез ГК фетальной сыворотки, тогда как второй пик (8 – 14 сут) – данную способность раневых фибробластов. Этот феномен, возможно, лежит в основе высокого уровня содержания и длительного присутствия ГК в ЭЦМ фетальных ран.

АЖ также содержит высокую концентрацию ГК и обладает активностью стимулировать синтез ГК [17], пик которой, в отличие от фетальной сыворотки, приходится на конец периода гестации. Это, по-видимому, отражает увеличивающееся содержание мочи плода в АЖ, так как фетальная моча обладает высокой активностью стимулировать синтез ГК. Вследствие постоянного контакта ран плода с АЖ обеспечивается дополнительное отложение ГК в раневом матриксе у плода.

Таким образом, способность стимулировать синтез ГК сохраняется в фетальной ране в течение длительного периода и обеспечивается из различных источников, в то время как у взрослого ГК откладывается из тромбоцитарно-фибринового сгустка крови в течение короткого периода времени на раннем этапе процесса раневого заживления. Кроме того, в ранах взрослых, после отложения ГК, начинает продуцироваться гиалуронидаза, что приводит к разрушению ГК и замещению раневого матрикса коллагеном [4]. Таким образом, в фетальной ране, богатой ГК и ЭЦМ, обеспечивается высокая клеточная подвижность и пролиферация, что, по-видимому, способствует быстрому и безрубцовому заживлению фетальных ран.

Все механизмы, лежащие в основе безрубцового заживления фетальных ран, до конца не известны. Некоторые из них имеют отношение к коллагеновому синтезу и фибриллогенезу. Полученные к настоящему времени данные о роли коллагена в формировании фетального раневого матрикса противоречивы. Так, Th.M. Krummel et al. [12], имплантируя ПВА-губку плодам кролика, не смогли установить отложение коллагена. В то же время, при иммуногистохимическом исследовании с использованием антител к коллагену типа I, III и IV было показано его наличие, причем образцы коллагена, полученные у 75- и 100-суточных плодов ягнят через 2 нед после нанесения ран, не отличались от образцов неповрежденной кожи. У плодов более позднего срока гестации (120 сут) наблюдалось уже некоторое сходство с заживлением ран у взрослого с образованием рубца.

A.R. Burd et al. [4] имплантировали ПВА-губку взрослым животным и плодам ягнят на 75 и 100 сут гестации, с извлечением губки на 5, 10, 15 и 20 сут

после имплантации. Авторы установили значительное отложение коллагена в фетальных имплантатах, причем у плодов содержание было выше, чем у взрослых животных во все дни исследования. Во всех группах исследования наблюдалось постепенное возрастание прочности ран. Противоречивые результаты, полученные разными авторами, вероятно, обусловлены особенностями используемых методик [11].

Исследования *in vitro* позволяют считать, что фетальные фибробласты более активно синтезируют коллаген, чем фибробласты у взрослых [14]. Используя пассируемые кожные фибробласты человеческого плода и взрослого, показано, что активность фермента пролил гидроксилазы, играющего важную роль в регуляции синтеза коллагена, у фетальных фибробластов до 20 нед гестации значительно выше, чем у фибробластов взрослого. После 20 нед активность данного фермента уменьшается и постепенно достигает уровня взрослого. Проллил гидроксилаза в фетальных клетках, в отличие от клеток взрослого, контролируется поли-ADP-рибозо-синтетазой – энзимом, участвующим в регуляции опухолевого роста и клеточной репарации. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что фетальный механизм коллагенового синтеза подвержен более тонкой регуляции по сравнению с взрослым организмом [8].

Так как коллаген является главным компонентом рубцовой ткани в постантальном периоде у человека и животных, возникает вопрос, почему у плода откладывается богатый коллагеном матрикс и, в то же время, раневое заживление происходит без образования рубца? Вероятно, безрубцовое заживление обусловлено особенностями организации раневого матрикса плода. Матрикс, богатый ГК обеспечивает создание среды, способствующей упорядоченному отложению коллагеновых фибрилл в фетальных ранах, тогда как коллагеновые фибриллы в раневом матриксе взрослых выстраиваются менее организованно, что влечет за собой образование рубца [18].

Различия, наблюдающиеся в раневом заживлении плода и взрослого организма, могут быть обусловлены и другими компонентам ЭЦМ, помимо ГК и коллагена, а именно – адгезионными гликопротеинами, и в первую очередь их рецепторами, известными как интегрины. В течение эмбриогенеза, так же как и процесса раневого заживления, имеют место специфические взаимодействия между мигрирующими клетками и ЭЦМ [18]. ЭЦМ обеспечивает создание каркаса для прикрепления клеток, их адгезии и миграции.

В ЭЦМ обнаружены различные гликопротеины, обеспечивающие адгезию клеток – фибронектин, тромбоспондин, тенасцин. Фибронектин содержится в значительно больших количествах в коже у плода, чем у новорожденного и взрослого. Известно, что при местном применении, фибронектин ускоряет раневое заживление экспериментальных ран. Возможно, именно повышенное отложение фибронектина в течение эмбриогенеза и морфогенеза, обеспечивает благоприятную среду для пролиферации и миграции клеток.

М.Т. Longaker et al. установили [15], что фибронектин откладывается в кожных ранах у плодов кролика раньше, чем у взрослых животных. АЖ

содержит фибронектин и может быть важным источником данного гликопротеина [9]. Тенасцин принимает участие в эпителиально-мезенхимальных взаимодействиях в процессе развития плода и способствует клеточной миграции. Иммуногистохимически обнаружено, что в ранах у плодов мышей и овец тенасцин откладывается раньше, чем у взрослых животных. Таким образом, более раннее отложение фибронектина и тенасцина в фетальном раневом матриксе, может способствовать быстрой эпителизации и заживлению фетальных ран [18].

Заживление ран вторичным натяжением у взрослых сопровождается контракцией. Th.M. Krummel et al. [12], изучая заживление открытых ран плодов кролика не наблюдали уменьшения их размеров. Клеточным элементом, обеспечивающим феномен раневой контракции, являются миофибробласты [5]. При использовании иммунологических и электронно-микроскопических методов в ранах у плодов не было обнаружено присутствия миофибробластов. Следует, однако, отметить, что контракция ран не всегда требует присутствия миофибробластов. Фибробласты кожи плодов кролика также обладают контрактильной способностью, причем в большей степени, чем фибробласты у взрослого. Отсутствие заживления открытых ран у плодов кролика, вероятно, происходит не в результате дефекта контрактильной способности фетальных фибробластов.

Установлено, что АЖ ингибирует контракцию фетальных фибробластов, а также фибробластов у взрослого [18]. Эти данные, полученные *in vitro* могут объяснить заживление открытых ран у плодов кролика после изоляции их от АЖ силиконовым покрытием. В других исследованиях, у плодов ягнят установлено заживление открытых ран при наличии раневой контракции. При этом иммунологическими и электронно-микроскопическими методами установлено присутствие миофибробластов в ранах в присутствии матрикса богатого ГК [5].

Быстрый рост плода позволяет предположить влияние факторов роста на процесс раневого заживления в фетальном периоде. Факторы роста, в противоположность гормонам, действуют на близлежащие клетки (паракриновый эффект), или на клетки, которые их секретируют (аутокриновый эффект). Например, трансформирующий фактор роста бета (TGF- β) продуцируется многими клетками раны и может стимулировать пролиферацию клеток, особенно в соединительной ткани, но может ингибировать пролиферацию, например, эпителиальных клеток. TGF- β может также стимулировать синтез таких компонентов ЭЦМ, как фибронектин, протеогликаны и коллаген. Фетальные фибробласты способны реагировать на экзогенный TGF- β синтезом коллагена.

Локальное применение TGF- β ускоряет раневое заживление и увеличивает прочность ран у крыс. В процессе внутриутробного роста плода и в послеродовом периоде у фибробластов наблюдается прогрессивное снижение количества клеточных рецепторов TGF- β . Дальнейшие исследования должны прояснить роль факторов роста в клеточном взаимодействии, пролиферации и

дифференциации в процессе фетального раневого заживления [8, 16, 17, 18].

Сложность исследования раневого заживления у плодов *in vivo* облегчена разработкой модели *in vitro*. A.R. Burd et al. [3] разработали модель эксплантата (ткани культивируемой вне организма) кожи плодов ягнят. Кожа плода среднего срока гестации, помещается в питательную среду, после чего на ней наносилась резаная рана. К 7 сут кожный дефект уменьшается в размере и наблюдается его эпителизация. Такая модель позволяет исследовать *in vitro* влияние различных факторов на фетальное заживление ран.

Прогресс в фетальной хирургии невозможен без изучения особенностей раневого заживления во внутриутробном периоде. Данные исследования позволят установить механизмы, приводящие к безрубцовому заживлению ран у плода. Кроме того, понимание биологических особенностей регенерации в фетальном периоде будет способствовать более эффективному лечению ран у детей и взрослых.

Литература

1. Гусева, О.И. Современные представления о внутриутробной хирургии. //Ультразвуковая диагностика в акушерстве, гинекологии и педиатрии. – 2001. – Т. 9, № 3. – С.227 – 236.
2. Adzick, N.S., Lorenz, H.P. Cells, matrix, growth factors, and the surgeon: The biology of scarless fetal wound repair //Ann. Surg. – 1994. – Vol. 220. – P.10 – 18.
3. Burd, A.R., Longaker, M.T., Adzick, N.S. et al. Fetal wound healing: An *in vitro* explant model //J. Pediatr. Surg. – 1990. – Vol. 25, N 8. – P.898 – 901.
4. Burd, A.R., Longaker, M.T., Adzick, N.S. et al. Fetal wound healing in a large animal model: The deposition of collagen is confirmed //Br. J. Plast. Surg. – 1990. – Vol. 43. – P.571.
5. Cass, D.L., Sylvester, K.G., Yang, E.Y. et al. Myofibroblast persistence in the fetal sheep wounds is associated with scar formation //J. Pediatr. Surg. – 1997. – Vol. 32, N 7. – P. 1017 – 1021.
6. D,cunha, Ch., Bingham, W., Sankaran, K. Maternal-fetal therapy. Part II: surgical //Neonat. Intensive Care. – 2003. – Vol. 16, N 1. – P.45 – 54.
7. Field, Ch.K., Kerstein, M.D. Overview of the wound healing in the moist environment //Am J. Surg. – 1994. – Vol. 167, N 1A (Suppl.) – 2S – 6S.
8. Frantz, F.W., Diegelmann, R.F., Mast, B.A., Cohen, I.K. Biology of fetal wound healing: collagen biosynthesis during dermal repair //J. Pediatr. Surg. – 1992. – Vol. 27, N 8. – P. 945 – 949.
9. Harris, M.C., Mennuti, M.T., Kline, J.A. et al. Amniotic fluid fibronectin concentrations with advancing gestational age //Obstet. Gynecol. – 1988. – Vol. 72. – P.593.
10. Harrison, M.R., Golbus, M.S., Filly, R.A. et al. Fetal surgery for congenital hydronephrosis //N. Engl. J. Med. – 1982. – Vol. 306. – P.591 – 593.
11. Julia, M.V., Albert, A., Morales, L. et al. Wound healing in fetal period: The resistance of the scar to rupture //J. Pediatr. Surg. – 1993. – Vol. 28, N 11. – P. 1458 – 1462.

12. Krummel, Th.M., Nelsen, J.M., Diegelmann, R.F. et al. Fetal response to injury in the rabbit //J. Pediatr. Surg. – 1987. – Vol. 22, N 7. – P.640 – 644.
13. Longaker, M.T., Harrison, M.R., Crombleholme, T.M. et al. Studies in fetal wound healing: I. A factor in fetal serum that stimulates deposition of hyaluronic acid //J. Pediatr. Surg. – 1989. – Vol. 24, N 8. – P.789 – 792.
14. Longaker, M.T., Harrison, M.R., Langer, J.C. et al. Studies in fetal wound healing: II. A fetal environment accelerates fibroblast migration in vitro //J. Pediatr. Surg. – 1989. – Vol. 24, N 8. – P.793 – 798.
15. Longaker, M.T., Whitby, D.J., Ferguson, M.W.J. et al. Studies in fetal wound healing: III. Early deposition of fibronectin distinguishes fetal from adult wound healing //J. Pediatr. Surg. – 1989. – Vol. 24, N 8. – P.799 – 805.
16. Longaker, M.T., Whitby, D.J., Adzick, N.S. et al. Studies in fetal wound healing, YI. Second and early third trimester fetal wounds demonstrate rapid collagen deposition without scar formation //J. Pediatr. Surg. – 1990. – Vol. 25, N 1. – P.63 – 69.
17. Longaker, M.T., Adzick, N.S., Hall, J.H. et al. Studies in fetal wound healing, YII. Fetal wound healing may be modulated by hyaluronic acid stimulating activity in amniotic fluid //J. Pediatr. Surg. – 1990. – Vol. 25, N 4. – P.430 – 433.
18. Longaker, M.T., Adzick, N.S. The biology of fetal wound healing: A review //Plast Reconstr Surg. – 1991. – Vol. 87, N 4. – P.788 – 798.
19. Lorenz, H.P., Whitby, D.J., Longaker, M.T. et al. Fetal wound healing: The ontogeny of scar formation in the non-human primate //Ann. Surg. – 1993. – Vol. 217. – P.391 – 396.
20. Sullivan, K.M., Adzick, N.C. Fetal surgery //Clin. Obstet. Gynecol. – 1994. – Vol. 37. – P.355 – 371.