

УДК: 916:615.273:618.36:636.1

DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.403

ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАРКЕРА ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ KI-67 В ПЛАЦЕНТЕ КОРОВ ПРИ ОСЛОЖНЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ РОДАХ

Авдеенко В.С. * – д-р ветеринар. наук, проф. кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0001-6154-275X); Макавчик С.А. – д-р ветеринар. наук, доц. кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии (ORCID 0000-0001-5435-8321); Сафронов Д.И. – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры биологии, экологии и гистологии (ORCID 0000-0002-0803); Моисеева К.А. – асп. кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии (ORCID 0000-0003-4526-7430).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*avdeenko0106@mail.ru

Ключевые слова: плацента, крупный рогатый скот, гистологические исследования, осложнение беременности и родов.

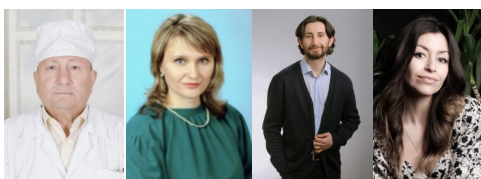
Key words: placenta, cattle, histological studies, complication of pregnancy and labor.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда 23-26-00284, <https://rscf.ru/project/23-26-00284/>.

Поступила: 10.10.2023

Принята к публикации: 17.11.2023

Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

В современных высокотехнологичных молочных предприятиях остро стоит проблема перинатальных заболеваний высокопродуктивного молочного скота. В текущем исследовании представлено распределение внеклеточного матрикса у коров при физиологической беременности, завершающейся спонтанными родами (ФБ/СР), и осложненной беременностью с симптомами преэклампсия/эклампсия, завершающейся патологическими родами (ОБ/ПР) с помощью гистологических, гистохимических (ГХ) и иммуногистохимических (ИГХ) методов исследования. Биопсийный материал плацент был получен от 10 коров в родах: от 5 коров при ФБ/СР и от 5 коров при ОБ/ПР. Образцы плацент коров при ФБ/СР и ОБ/ПР подвергали стандартным гистологическим процедурам. Парафиновые срезы плаценты толщиной 5 мкм, монтировали на стекла, обработанные поли-L-лизин («Menzel»). С помощью ИГХ исследования изучали иммунолокализацию биомаркера Ki-67. Гистохимическим изучением в плацентах коров при ФБ/СР выявили присутствие большого количества мелких капилляров как в ворсинах котиледонов, так и в карункулярных криптах, а также равновесное соотношение мезенхимальных и эпителиальных структур. Проведенная реакция на виментин показала деградацию фибробластов. В просвете крипт регистрировали только бесструктурные массы и небольшое количество мак-

рофагподобных клеток. Кроме того, в центральной части неизмененных ворсин установили резкое снижение количества мелких капилляров, а также редукцию терминальных ворсин хориона и снижение васкуляризации оставшихся ворсин. Иммунолокализация содержания промежуточных биомаркера показала содержание большого количества Ki-67 в клетках выстилки крипт. При беременности ОБ/ПР продемонстрировано снижение васкуляризации ворсин хориона в котиледонах и деградацию цитокератиновых филamentos, участвующих в формировании клеточных контактов между цитотрофобластами ворсин хориона котиледонов фетальной части плаценты и эпителиоцитами крипт карункулов материнской части плаценты, что позволит в будущем разработать иммуноферментный анализ (ИФА) как экспресс – тест диагностики репродуктивных патологий у молочного скота. Выраженная экспрессия белка Ki-67 была обнаружена в клетках, выстилающих крипты карункулов, а также в цитоплазматической мембране цитотрофобластов ворсин. В плаценте коров, беременность и роды которых осложнялись патологией, пролиферативная активность клеток выстилки маточных крипт сохранялась на физиологическом уровне, в то время как отдельные ворсины хориона были полностью редуцированы, а в сохранившихся индексе экспрессии Ki-67 составил 36,94%.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В современных высокотехнологичных молочных предприятиях остро стоит проблема перинатальных заболеваний, которые остаются малоизученными, а существующие подходы к профилактике и лечению этих заболеваний остаются симптоматическими [1, 2]. Несмотря на многочисленные публикации [3], в программы разведения молочных коров некоторых молочных предприятий и племенных организаций экспресс-тестов репродуктивных патологий и заболеваний новорожденных телят в неонатальный период, не существует четкого соглашения о том, как оптимально данные заболевания прогнозировать в будущем. Как полагают [1, 3, 4] ни один из методов прогнозирования репродуктивных патологий в подобных предприятиях не нашел широкого практического применения. Физиологические особенности обмена веществ у высокопродуктивного дойного стада, регулирующие формирование и реорганизацию плаценты, эпителиально-мезенхимальную трансформацию, которые могут вызывать ПЭ/Э, задержание последа и репродуктивные патологии (воспаление матки, заболевания и функциональные расстройства яичников), что в свою очередь может повлечь осложнения инфекционной природы [2,3]. По данным [4,5] плацента формируется из трофобластов, образующихся на ранних сроках беременности посредством пролифе-

рации и дифференцировки стволовых клеток трофобласта (TSC). На стадии бластоцисты TSCs дифференцируются в монуцлеарные цитотрофобласты (СТВ), поддерживая быстрый рост и адгезию, связанные с классическими маркерами, включая Ki67, CD31 и SPP1. Часть СТВ по материалам исследований [6] проникает в эпителий просвета матки (LE) с образованием вневорсинчатого трофобласта (EVT), а EVT прикрепляет плаценту к стенке матки и реконструирует материнские спиральные артериолы, чтобы гарантировать адекватное кровоснабжение развивающегося плода. Остальные СТВ стоящие за EVT по данным [6,7] слиты в синцитиотрофобласт (STB), одновременно клетки-предшественники мезодермального происхождения дифференцируются в эндотелиальные клетки сосудов, образуя начальные капилляры, которые следуют направлению инвазии СТВ. Кроме того, [8] считают, что они объединяются с СТВ и STB, образуя ворсинчатые трофобласты (VTS). Одним из маркеров для определения так называемой «фракции роста клеточной популяции» является белок Ki 67, по экспрессии которого можно исследовать пролиферативную активность, функции белка описаны [9] на молекулярном уровне, что дает возможность использования данного белка в качестве достоверного маркера для выявления всего пула пролиферирующих клеток. Цитокератин-18 по данным

[10] специфически экспрессируется эпителиальными клетками, такими как плацентарные трофобласты и является биомаркером апоптоза клеток. Цитокератин-18 (ЦК-18) по данным относится к семейству цитокератинов I типа. Он также является белком промежуточных филаментов, но только эпителиальных клеток, его основная роль заключается в защите эпителиальных клеток от механических и немеханических повреждений, а также формирования контактов между клетками. Полученные результаты M.G. Mendez, S. Kojima, R.D. Goldman, 2010 убедительно показали, что «...виментин контрастирует с кератинами, которые являются промежуточными филаментами эпителиальных клеток, кроме того он широко используется в качестве маркера эпителиально-мезенхимального перехода клеток. Кроме того, ряд исследователей [11, 12, 13] особо выделяют иммунный дефицит, повышение агрегации эритроцитов и тромбоцитов, изменение коагуляционных свойств крови, нарушение микроциркуляции с повреждением эндотелия капилляров, особенно в тканях формирующейся плаценты; и эндокринной патологии - недостаточности, приводящей к нарушению маточно-плацентарного кровообращения и диффузно-перфузионной недостаточности плаценты. Таким образом, ранняя беременность является наиболее критическим периодом для роста и развития трофобласта, которые определяют успех плацентации. Необходимы дополнительные исследования плаценты для того, чтобы улучшить диагностические подходы и наше понимание данной иммунолокализации виментина, ЦК-18 и Ki-67 [11].

Цель – установить морфологические изменения в плаценте у коров при ФБ/СР и ОБ/ПР и изучить с помощью иммуногистохимических (ИГХ) методов исследования иммунолокализацию Ki-67.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Лабораторные исследования проведены в условиях кафедр генетических и репродуктивных биотехнологий, биоло-

гии, экологии и гистологии и микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Микроструктурному исследованию подвергались плацента: карункулы, котиледоны как отдельно, так и всего плацентома, по 15 образцов от каждой плаценты. Исследуемый материал получен в высокотехнологичных молочных предприятиях Ленинградской области от животных в родах (n=5 при физиологически протекающей беременности завершившихся нормальными – спонтанными родами и n=5 при осложнённой беременности преэклампсией/эклампсией завершившихся задержанием последа) крупного рогатого скота голштинской породы, возраста от 3 до 5 лет, массой от 650 до 700 кг, с удоем от 11000 до 15000 литров за лактацию. Возраст и масса новорожденных соответствовали сроку гестации. Визуально отделившиеся последа соответствовали сроку созревания плаценты и продолжительности гестации. Изготовление гистологических препаратов выполнялось по общепринятой методике с использованием световой микроскопии. Фиксацию изучаемого материала проводили в 10% нейтральном забуференном формалине HistoSafe (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) в течение 24 часов. После нее осуществляли промывку органов в водопроводной воде, обезвоживание в дегидратирующем растворе Изопреп (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) по возрастающей концентрации в нескольких сериях по 30 минут в каждом. Уплотнение материала проводили в двух сериях парафиновых сред Гистомикс (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) по 50 минут. Гистологические срезы получали на ротационном микротоме «Ротмик-2» (ЗАО «Орион Медик», Россия) толщиной 5 мкм, которые впоследствии монтировали на предметные стекла и окрашивали стандартными методами для обзорного исследования (гематоксилином и эозином (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) и специальными методами (альциановый синий для выявления кислых гликозаминоглика-

нов, ШИК-реакция для выявления нейтральных гликозамингликанов, (ООО «ЭргоПродакшн», Россия)) по общепринятым методикам. Изучение и фотографирование гистологических препаратов проводили с использованием светооптического микроскопа Микмед-5 ЛОМО (АО «Ломо», Россия) при разных увеличениях. Образцы плаценты для иммуногистохимического исследования рассекли на фрагменты толщиной не менее 5 мм с общей площадью до 3 см² и фиксировали в нейтральном 10% забуферном формалине. Далее образцы карункулов и котиленонов подвергали стандартным гистологическим процедурам, до заключения их в парафиновую среду Histomix (Биовитрум). Гистологические срезы получали на ротационном микротоме «Ротмик-2» (ЗАО «Орион Медик», Россия) толщиной 5 мкм, которые впоследствии монтировали на предметные стекла, обработанные поли-L-лизинном («Menzel»). Для блокирования эндогенной пероксидазы срезы после депарафинизации инкубировали 20 минут в 3% перекиси водорода. Демаскировку антигена осуществляли путем кипячения срезов при 100°C в цитратном буфере с pH=6,0 в течение 10 минут.

Постановку иммуногистохимических реакций проводили с помощью пероксидаза-полимерной системы визуализации согласно инструкции производителя (Lab Vision, Thermo). Для блокирования эндогенной пероксидазы срезы после депарафинизации инкубировали 20 минут в 3% перекиси водорода. Демаскировку антигена осуществляли путем кипячения срезов при 100°C в цитратном буфере с pH=6,0 в течение 10 минут. Затем реакцию визуализировали с помощью хромогена, такого как 3-3'-диаминобензидином из набора протокола. На заключительном этапе реакции срезы докрашивали гематоксилином Майера. При анализе цифровых количественных показателей использовали тест Манна-Уитни, а также ранговый однофакторный индекс Крускала-Уоллиса. При статистической

обработке цифровых данных применяли пакет программ STATISTICA (StatSoft Inc., США, версия 7.0), которая адаптирована к ПК Microsoft Excel 2000 SPSS 10.0.5 for Windows.

Индексы пролиферации определяли по среднему проценту меченных ядер клеток на 100 просмотренных клеток при пересчете на 1000 клеток и оценивались: отсутствие реакции, слабая реакция (менее 20% клеток), умеренная реакция (20-50% клеток) и выраженная реакция – более 50% клеток. Характер иммуногистохимической реакции оценивали визуально и определяли удельное количество позитивно окрашенных клеток стандартизированными методами морфометрии в иммуногистохимии. Оценку пролиферативной активности производили путем подсчета удельного количества Ki-67-позитивных клеток к общему количеству клеток.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

При обзорных методах исследования хорион имел типичную ворсинчатую, сильно разветвленную структуру. Основу ворсин составляла рыхлая волокнистая соединительная ткань с фокусами миксоидного строения и обильной васкуляризацией. Клетки цитотрофобласта имели вид кубических, округло-овальных, уплощенных и полигональных клеток. В плодной части плаценты отмечалась умеренная и выраженная внутриклеточная вакуолизация клеток, вследствие чего они приобретали перстневидную и просветленную морфологию. Ядра среднего и крупного размера, округло-овальной формы, нормохромные с одним-двумя средними и мелкими нуклеолами. Иногда выявлялись двух- и трехъядерные клетки. При нормально протекающей беременности наблюдалось положительное диффузное окрашивание в области базальной мембраны клеток трофобласта, умеренное число клеток с равномерным цитоплазматическим окрашиванием, располагающихся преимущественно у основания ворсин хориона (рис. 1А). В отдельных случаях отмечалось нарушение клеточных групп с подлежащей соединительной

тканью (слищивание). Субэпителиально располагалась широкая, разветвленная капиллярная сеть с хорошо выраженным полнокровием (рис. 1Б).

В строме ворсин котеледонов регистрировались тонкие коллагеновые нити, а ШИК-позитивные компоненты составляли межклеточное вещество маточных сеппт карункулов (рис. 2А).

При патологической беременности отмечали диффузное неравномерное окрашивание по периферии округло-овальных, вероятно, децидуальных кле-

ток в составе карункула. Также регистрировали окрашивание волокнистого матрикса соединительной ткани. Пучки коллагеновых волокон маточных сеппт набухали, отмечалась локальная отслойка эпителиальной выстилки, некротические массы вместо ворсин хориона. Фрагмент карункула имел хорошо выраженную соединительнотканную основу, характеризующуюся диффузным фиброзом с умеренной нейтрофильной инфильтрацией. Поверхность имела многочисленные ворсинчатые выпячивания, субтотально

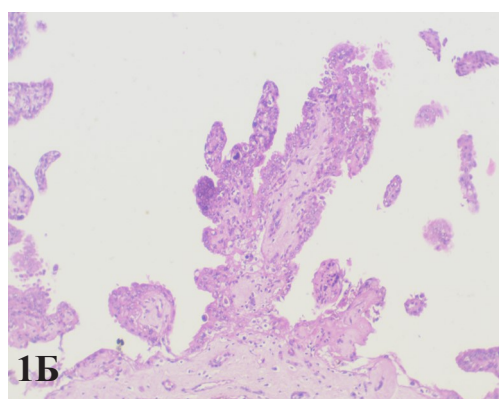
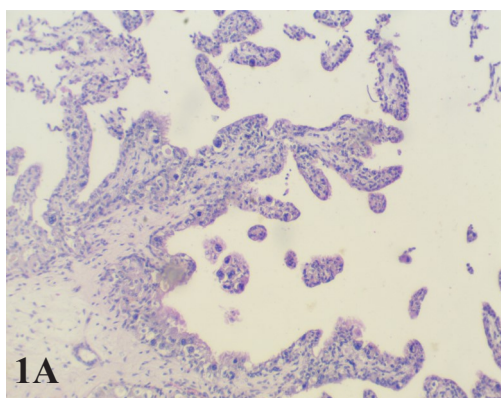


Рисунок 1А – Архитектоника плаценты коровы при физиологической беременности. Окраска гематоксилином и эозином. Общее увеличение 200.

Рисунок 1Б – Архитектоника плаценты коровы при осложненной беременности. Окраска гематоксилином и эозином. Общее увеличение 200.

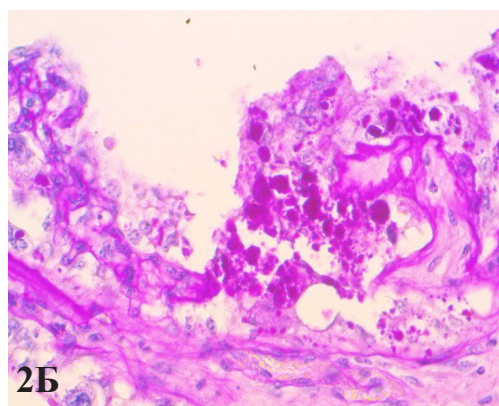
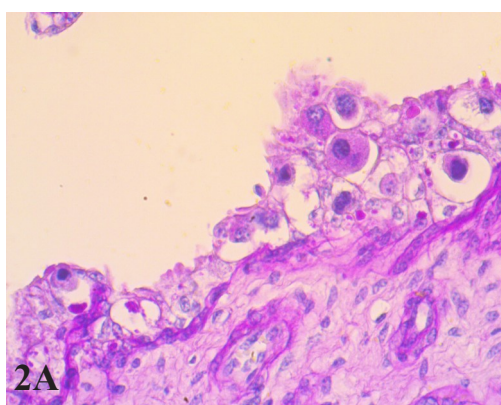


Рисунок 2А – Структурная организация плаценты коровы при физиологической беременности. ШИК-реакция. Общее увеличение 200.

Рисунок 2Б – Структурная организация плаценты коровы при осложненной беременности. ШИК-реакция. Общее увеличение 200.

замещалась поверхностными эпителизированными дефектами (вероятно, эрозиями), выявлялись отдельные низкопризматические группы клеток с признаками дистрофии в виде просветленной цитоплазмы и с образованием в субэпителиальной области очагов грануляционной ткани (рис.2Б).

При иммуногистохимическом исследовании плаценты, полученной в родах от клинически здоровых коров, установлена активная экспрессия Ki-67, которая наблюдалась в эпителиоцитах, выстилающих лакуны маточных крипт. Индекс пролиферации Ki-67 составил 36,94% меченных ядер клеток. В ворсинах хориона митотическая активность обнаруживалась только в цитотрофобластах, от 20 до 50%. При гистологическом анализе зоны плацентом на срезах общее количество ядер клеток цитотрофобластов составило $8945 \pm 345,5$. На срезах плацентом полу-

ченных от коров с осложненной беременностью, завершившейся патологическими родами данный показатель был равен $27818 \pm 304,7$ при статистически достоверной разнице, что превосходило число клеток цитотрофобласта в 3,1 раза (Таблица 1).

На срезах плацентом определялась Ki-67-позитивная ядерная экспрессия антигена преимущественно в зоне контакта ворсин хориона с криптами карункулов. На микропрепаратах плаценты Ki-67-позитивные клетки определялись в количестве $10276 \pm 322,8$, а на срезах плацентом с физиологически протекающей беременностью их уровень составил $6982 \pm 45,2$, что статистически достоверно и в среднем на 1,47 раза превышало значение данных в гистопрепаратах полученных плацентом от коров с осложненной беременностью (рис.3А, рис.3Б).

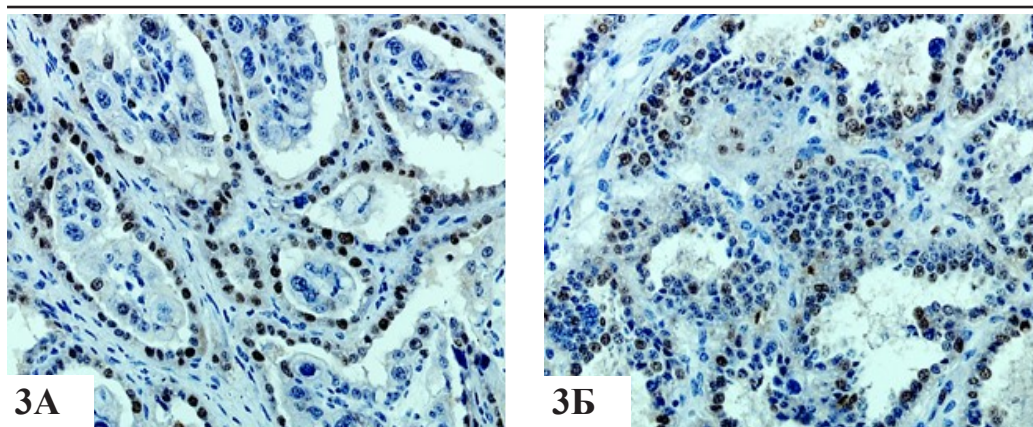
Таблица 1 – Морфометрические показатели пролиферативной активности клеток в зоне плацентом, иммуногистохимическим методом с антителами к белку Ki-67

Группы животных	Общее кол-во ядер клеток ($M \pm m$)	Общее кол-во Ki-67 позитивных клеток	Индекс пролиферации, %
Физиологическая беременность (n=5)	$8945 \pm 345,5$	$6982 \pm 45,2$	78,05
Осложнение беременности (n=5)	$27818 \pm 304,7^*$	$10276 \pm 322,8^*$	36,94

* данные достоверны относительно контроля, $p \leq 0,05$.

В плаценте коров, у которых осложненная беременность завершалась патологическими родами, пролиферативная активность клеток эпителиоцитов выстилки маточных крипт сохранялась на физиологическом уровне, в то время как отдельные ворсины хориона были полностью редуцированы, а в сохранившихся индекс экспрессии Ki-67 составил 36,94%. Необходимо отметить, что результаты иммуногистохимического исследования показали, что плацента коровы с ФБ, где активная экспрессия Ki-67 наблюдалась в эпителиоцитах, выстилающих лакуны маточных крипт, а в плацен-

те коров, беременность которых осложнялась ОБ/ПР, пролиферативная активность клеток выстилки маточных крипт сохранялась на физиологическом уровне, в то время как отдельные ворсины хориона были полностью редуцированы, а в сохранившихся индекс экспрессии Ki-67 составил от 20 до 50%. Актуальная методика использования маркера пролиферации Ki-67 применялась и Г.Л. Снигур и А.С. Кучерявенко при гистологическом и иммуногистохимическом (с использованием маркера пролиферации Ki-67) методах изучения пролиферативной активности клеток зоны размножения семенников крыс [10].



3А

3Б

Рисунок 3А – Иммунолокализация антител Ki-67 в плаценте коров при физиологической беременности, пероксидазно-антипероксидазный метод. До окраска гематоксилином Майера. Общее увеличение 200.

Рисунок 3Б – Иммунолокализация антител Ki-67 в плаценте коров при осложнении, пероксидазно-антипероксидазный метод. До окраска гематоксилином Майера. Общее увеличение 200.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенного гистологического и иммуногистохимического исследования содержания промежуточных филаментов эпителиального и мезенхимального фенотипа в плаценте коровы при ФБ/СР выявили присутствие большого количества мелких капилляров как в ворсинах котиледонов, так и в карункулярных криптах, равновесное соотношение мезенхимальных и эпителиальных структур в плаценте. Содержание большого количества промежуточного филамента цитокератина-18 в клетках выстилки крипт. С другой стороны, анализ эпителиальных и мезенхимальных филаментов в плаценте коровы при беременности, осложненной ОБ/ПР продемонстрировал снижение васкуляризации ворсин хориона в котиледонах. Деградация цитокератиновых филаментов, участвующих в формировании клеточных контактов между цитотрофобластами ворсинчатого дерева плода и эпителиоцитами материнской части плаценты. В плаценте коров, у которых осложненная беременность и патологические роды (ОБ/ПР), пролиферативная активность клеток выстилки маточных крипт сохранялась на физиологическом уровне, в то время как отдель-

ные ворсины хориона были полностью редуцированы, а в сохранившихся экспрессия Ki-67 не определялась. Таким образом, сохранение митотического потенциала в клетках материнской части плаценты на фоне тотального снижения пролиферации клеток трофобласта приводит к гиперплазии маточных крипт, полностью занимая свободное пространство карункулов.

LABORATORY METHODS FOR DETERMINING THE MARKER OF PROLIFERATIVE ACTIVITY KI-67 IN THE PLACENTA OF COWS WITH COMPLICATED PREGNANCY AND PATHOLOGICAL BIRTH

Avdeenko V.S. * – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies (ORCID 0000-0001-6154-275X); Makavchik S.A. – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology (ORCID 0000-0001-5435-8321); Safronov D.I. – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Biology, Ecology and Histology (ORCID 0000-0002-0803); Moiseeva K.A. – postgraduate student of the Department of

Microbiology, Virology and Immunology (ORCID 0000-0003-4526-7430).

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

Financing: *The study was supported by the Russian Science Foundation grant 23-26-00284, <https://rscf.ru/project/23-26-00284/>.*

ABSTRACT

In modern high-tech dairy enterprises, the problem of perinatal diseases in highly productive dairy cattle is acute. The current study presents the distribution of extracellular matrix in cows during physiological pregnancy ending in spontaneous labor (FB/SR) and complicated pregnancy with symptoms of preeclampsia/eclampsia ending in pathological labor (OB/PR) using histological, histochemical (HC) and immunohistochemical (IHC) research methods. Biopsy material of placentas was obtained from 10 cows during labor: from 5 cows with FB/SR and from 5 cows with OB/PR. Samples of placentas from cows with FB/SR and OB/PR were subjected to standard histological procedures. Paraffin sections of the placenta, 5 µm thick, were mounted on glasses treated with poly-L-lysine (Menzel). Using IHC studies, the immunolocalization of the Ki-67 biomarker was studied. A histochemical study in the placentas of cows with FB/SR revealed the presence of a large number of small capillaries both in the villi of the cotyledons and in the caruncular crypts, as well as an equilibrium ratio of mesenchymal and epithelial structures. The reaction to vimentin showed degradation of fibroblasts. In the lumen of the crypts, only structureless masses and a small number of macrophage-like cells were recorded. In addition, in the central part of the unchanged villi, a sharp decrease in the number of small capillaries was established, as well as a reduction in the terminal chorionic villi and a decrease in the vascularization of the remaining villi. Immunolocalization of the content of intermediate biomarkers showed the content of a large amount of Ki-67 in the cells of the crypt lining. During pregnancy OB/PR, a decrease in the vascularization of chorionic villi in the cotyledons and degradation of cytokeratin

filaments involved in the formation of cellular contacts between the cytotrophoblasts of the chorionic villi of the cotyledons of the fetal part of the placenta and the epithelial cells of the crypts of the caruncles of the maternal part of the placenta have been demonstrated, which will make it possible in the future to develop an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as a rapid – test for diagnosing reproductive pathologies in dairy cattle. Pronounced expression of the Ki-67 protein was found in the cells lining the crypts of the caruncles, as well as in the cytoplasmic membrane of the villous cytotrophoblasts. In the placenta of cows whose pregnancy and childbirth were complicated by pathology, the proliferative activity of the cells lining the uterine crypts remained at a physiological level, while individual chorionic villi were completely reduced, and in those that remained, the Ki-67 expression index was 36.94%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Приходько С. А., Родин П.В., Авдеев В.С., Плешков К.В. Мормогенез плаценты у крупного рогатого скота при эклампсии. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2020, №1, С. 117-121.
2. Новиков В.Д., Ясакова Н.Т., Авдеев В.С. Эпителио-стромальные взаимоотношения в плацентах жвачных в нормальных и патологических состояниях. // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии, 1991, Т. 6. – С. 27-32.
3. Новиков В.Д., Ясакова Н.Т., Авдеев В.С., Машак С.В., Цыцорина Т.Н., Герасимова Ю.В. Эпителио-стромальные взаимоотношения в котилендонной плаценте жвачных в нормальных и патологических условиях // Морфология. - 1992. - Л 1. - С. 97-103.
4. Sak, M.E. Placental expression of vimentin, desmin and ultrastructural changes in the villi in patients with HELLP syndrome / E. Deveci, A. Turgut, S. Sak, M.S. Evsen, T. Gul, S. Kalkanli Eur // Rev Med Pharmacol Sci. – 2013. – Vol. 17. – P. 874-882.
5. Tesi, M. Gross and histological findings in

- the canine placenta and amnion at term: what's normal, abnormal or pathological? / Miragliotta V., Scala, E. Aronica, G. Lazzarini, D. Fanelli, A. Rota, F. Abramo // *Reprod Domest Anim.* – 2021, Vol. 56. – P. 691-702.
6. Zeiler, M. Cells Tissues Organs. / R. Leiser, G.A. Johnson, H.-R. Tinneberg, C. Pfarrer. // *Pathology and Cell Biolog.* – 2007. – Vol. 186 Is. 4 (4) –P. 229–242.
7. Reddoch-Cardenas, K.M. Cold storage of platelets in platelet additive solution maintains mitochondrial integrity by limiting initiation of apoptosis-mediated pathways. Peltier G.C., Chance T.C., Nair P.M., Meledeo M.A., Ramasubramanian A.K. // *Transfusion.* – 2021. – Vol. 61. – P. 178–190.
8. Chiok, K.L.R., Shah, D.H. Identification of common highly expressed genes of *Salmonella* Enteritidis by in silico prediction of gene expression and in vitro transcriptomic analysis. // *Poult. Sci.* – 2019. – Vol. 98. – P. 2948–2963.
9. Knofler, M. Human placenta and trophoblast development: Key molecular mechanisms and model systems. / Haider S., Saleh L.; Pollheimer J.; Gamage T.; James J. // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2019. – Vol. 76. – P. 3479–3496.
10. Снигур, Г. Л. Особенности пролиферативной активности эпителиоцитов семенников крыс при дефиците магния / Г. Л. Снигур, А. С. Кучерявенко // *Волгоградский научно-медицинский журнал.* – 2020. – № 4. – С. 42-45.
11. Lucy, M.C., Evans, T.J., Poock, S.E. Lymphocytic foci in the endometrium of pregnant dairy cows: Characterization and association with reduced placental weight and embryonic loss. // *Theriogenology.* – 2016. – Vol. 86. – P. 1711–1719.
12. Cheng, Y. Cytokeratin 18 regulates the transcription and alternative splicing of apoptotic-related genes and pathways in HeLa cells / Qin K., Huang N., Zhou Z., Xiong H., Zhao J., Zhang Y., Yu S. // *Oncol Rep.* – 2019. – Vol. 42. – P. 301-312.
13. Kim, H.R., Abnormal expression of TIMP-2, SOD, vimentin and PAI proteins in cloned bovine placentae / Naruse K., Lee H.R., Han R.X., Park C.S., Jin D.I. // *Reprod. Domest. Anim.* – 2009. – Vol. 44. – P. 714-721.
- REFERENCES**
1. Prikhodko S.A., Rodin P.V., Avdeenko V.S., Plemeshov K.V. Morphogenesis of the placenta in cattle with eclampsia. // *Issues of legal regulation in veterinary medicine.* 2020, No. 1, pp. 117-121.
2. Novikov V.D., Yasakova N.T., Avdeenko V.S. Epithelio-stromal relationships in ruminant placentomes in normal and pathological conditions. // *Archives of Anatomy, Histology and Embryology*, 1991, T. 6. – P. 27-32.
3. Novikov V.D., Yasakova N.T., Avdeenko V.S., Mashak S.B., Tsytsorina T.N., Gerasimova Yu.V. Epitheliostromal relationships in the cotyledonal placenta of ruminants under normal and pathological conditions // *Morphology.* - 1992. - L 1. - P. 97-102.
4. Sak, M.E. Placental expression of vimentin, desmin and ultrastructural changes in the villi in patients with HELLP syndrome / E. Deveci, A. Turgut, S. Sak, M.S. Evsen, T. Gul, S. Kalkanli Eur // *Rev Med Pharmacol Sci.* – 2013. – Vol. 17. – P. 874-882.
5. Tesi, M. Gross and histological findings in the canine placenta and amnion at term: what's normal, abnormal or pathological? / Miragliotta V., Scala, E. Aronica, G. Lazzarini, D. Fanelli, A. Rota, F. Abramo // *Reprod Domest Anim.* – 2021, Vol. 56. – P. 691-702.
6. Zeiler, M. Cells Tissues Organs. / R. Leiser, G.A. Johnson, H.-R. Tinneberg, C. Pfarrer. // *Pathology and Cell Biolog.* – 2007. – Vol. 186 Is. 4 (4) –P. 229–242.
7. Reddoch-Cardenas, K.M. Cold storage of platelets in platelet additive solution maintains mitochondrial integrity by limiting initiation of apoptosis-mediated pathways. Peltier G.C., Chance T.C., Nair P.M., Meledeo M.A., Ramasubramanian A.K. // *Transfusion.* – 2021. – Vol. 61. – P. 178–190.
8. Chiok, K.L.R., Shah, D.H. Identification of common highly expressed genes of *Salmonella* Enteritidis by in silico prediction of gene expression and in vitro transcriptomic analysis. // *Poult. Sci.* – 2019. – Vol. 98. – P. 2948–2963.

9. Knofler, M. Human placenta and trophoblast development: Key molecular mechanisms and model systems. / Haider S., Saleh L.; Pollheimer J.; Gamage T.; James J. // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2019. – Vol.76. – P. 3479–3496.
10. Snigur, G. L. Features of the proliferative activity of epithelial cells of the testes of rats with magnesium deficiency / G. L. Snigur, A. S. Kucheryavenko // *Volgograd Journal of Medical Scientific Research.* – 2020. – No. 4. – P. 42-45.
11. Lucy, M.C., Evans, T.J., Poock, S.E. Lymphocytic foci in the endometrium of pregnant dairy cows: Characterization and association with reduced placental weight and embryonic loss. // *Theriogenology.* – 2016. – Vol. 86. – P. 1711–1719.
12. Cheng, Y. Cytokeratin 18 regulates the transcription and alternative splicing of apoptotic-related genes and pathways in HeLa cells / Qin K., Huang N., Zhou Z., Xiong H., Zhao J., Zhang Y., Yu S. // *Oncol Rep.* – 2019. – Vol.42. – P. 301-312.
13. Kim, H.R., Abnormal expression of TIMP-2, SOD, vimentin and PAI proteins in cloned bovine placentae / Naruse K., Lee H.R., Han R.X., Park C.S., Jin D.I. // *Reprod. Domestic. Anim.* – 2009. – Vol. 44. – P. 714-721.