

УДК: 916:615.273:618.36:636.1

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.325

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАРКЕРА ВИМЕНТИНА В ПЛАЦЕНТЕ КОРОВ В НОРМЕ И ПРИ ЗАДЕРЖАНИИ ПОСЛЕДА

Авдеев В.С. * – д-р ветеринар. наук, проф. кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0001-6154-275X); Макавичик 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 родового акта задержанием последа.

Key words: placenta, cattle, histological studies, complication of labor by retention of the afterbirth.

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

Поступила: 29.01.2024

Принята к публикации: 25.03.2024

Опубликована онлайн: 02.04.2024



РЕФЕРАТ

Современные молочные предприятия несут финансовые убытки в виду высокой заболеваемости дойного стада после отела. В текущем исследовании представлено распределение внеклеточного матрикса соотношения мезенхимальных элементов плаценты у коров при физиологических и осложненных родах с задержанием последа. Ткани карункулов и котиледонов собирали каждые 6 часов после спонтанных родов до высвобождения плодных оболочек. В зависимости от времени высвобождения плодных оболочек после родов образцы были классифицированы следующим образом: 1 - контрольная группа, в которой плодные оболочки высвобождались в течение 6 часов после родов, считались завершёнными, спонтанными и физиологическими (Partus normalis); 2 - опытная группа, в которой плодные оболочки высвобождались через 9-12 часов после выведения плода, роды считали патологическими с задержанием последа (Retenzio sekundarium). Выявление изменений в содержании виментин - содержащих элементов предполагает разработку системы экспресс-диагностики репродуктивных патологий у крупного рогатого скота молочного направления в родах и после отела. Образцы плаценты коров при физиологических родах, и задержанием последа подвергали стандартным гистологическим процедурам. Парафиновые срезы плаценты толщиной 5 мкм, монтировали на стекла, обработанные поли-L-лизинном («Menzel»). С помощью иммуногистохимического и иммуно-

флуоресцентного окрашивания изучали иммулокализацию антител к виментину используя клон EPR3776 (кроличьи, моноклональные, Тайвань, GeneTex, Int. Corp). Изучена локализация содержания промежуточных филаментов мезенхимального фенотипа в плаценте коровы при которой выявили присутствие большого количества мелких капилляров как в ворсинах котиледонов, так и в карункулярных криптах при беременности и родах в норме, а также равновесное соотношение мезенхимальных структур в плаценте. В родах, осложненных задержанием последа, продемонстрировано снижение васкуляризации ворсин хориона в котиледонах и деградация филаментов, участвующих в формировании клеточных контактов между цитотрофобластами ворсин хориона котиледонов фетальной части плаценты и эндотелио-, эпителиоцитами крипт карункулов материнской части плаценты. Выраженная экспрессия виментина была обнаружена в клетках, выстилающих крипты карункулов, а также в цитоплазматической мембране цитотрофобластов ворсин. Изучение соотношения мезенхимальных элементов с использованием иммунофлуоресцентного метода окрашивания антител к виментину показало, что значительное снижение их как в цитотрофобластах котиледонов, так и в эпителиоцитах карункулов наблюдается в плаценте коров при развитии состояния плацентарной недостаточности, приводящей к осложнению родов задержанием последа. Настоящее исследование предоставляет первые доказательства того, что виментин экспрессируется в плацентах крупного рогатого скота в гестационный, предродовой и родовой периоды, и предполагает, что этот филамент возможно в сочетании со стеридогенными гомонами опосредует отделение плодной части плаценты от материнской.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В современных предприятиях по содержанию крупного рогатого скота молочного направления остро стоит проблема перинатальных заболеваний (аборт, гипотрофия плода, преждевременные роды) и патологических родов (мёртворожденность, задержание последа, родильный парез, апикулярный пролапсис матки), при которых патогенез остается малоизученным, а существующие подходы к профилактике и лечению этих заболеваний остаются симптоматическими [2, 6]. Несмотря на многочисленные публикации [8, 13], и первые научные предложения [14], в программы разведения некоторых молочных предприятий и племенных организаций внедрено использование экспресс-тестов осложненной беременности, патологических родов и репродуктивных заболеваний после отела. Однако, как полагают исследователи в области акушерства и гинекологии, [5] ни один из методов прогнозирования репродуктивных патологий не нашел широкого практического применения. Физиологические особенности обмена веществ у высокопродуктивного дойного стада регулируют формирование и реор-

ганизацию плаценты, мезенхимальную трансформацию, что может способствовать гипотрофии плода, аборт, преждевременным родам, задержанию последа и репродуктивным патологиям, что в свою очередь может повлечь осложнения инфекционной природы [3]. Морфологические параметры определения степени развития плаценты по данным Н. Li, Н. Dai, J. Li, 2023 включают такие критерии, как «...иммуномодулирующие свойства мезенхимальных стромальных/стволовых клеток, связь с метаболизмом, митотический индекс и наличие выраженности фокусов апоптоза мезенхимальных клеток синцитиотрофобластов» [4]. Согласно современным представлениям, ангиогенез и мезенхимальная трансформация перехода клеток являются ключевыми факторами эмбриогенеза, которые непосредственно связаны с завершением гестационного процесса перед родами и во время родов. Эпителиально-мезенхимальная трансформация на последних сроках гестации перед родами и непосредственно в родах представляет собой сложный процесс, в результате которого неподвижные поляризованные эпителиальные клетки приобретают фенотип подвижных мезен-

химальных клеток. Этот процесс может наблюдаться как при физиологических и адаптационных состояниях, так и при патологии [5]. Клинические испытания по свидетельству U. Galderisi, Peluso G, Di G. Bernardo 2022, «...основанные на мезенхимальных стромальных клетках, растут в геометрической прогрессии» [11]. Поэтому необходимы дополнительные исследования плаценты [7, 10] с целью оптимизации диагностических подходов и понимание данной иммулокализации виментина. Полученные результаты В. В. Делекторской и др., 2018 демонстрируют, что «...экспрессия виментина как маркера эпителиально-мезенхимального перехода играет важную роль в прогрессии карциноидных опухолей, поэтому может быть использована в диагностических целях, а также служить потенциальным параметром оценки прогноза гинекологических патологий и бесплодия» [1]. Кроме того, ряд исследователей [12] особо выделяет иммунный дефицит, повышение агрегации эритроцитов и тромбоцитов, изменение коагуляционных свойств крови, нарушение микроциркуляции с повреждением эндотелия капилляров, особенно в тканях формирующейся плаценты; эндокринной патологии - недостаточности, приводящей к нарушению маточно-плацентарного кровообращения и диффузно-перфузионной недостаточности плаценты. В наших предыдущих работах [3] при морфологических исследованиях материнской и плодной частей плаценты у коров с осложнением беременности токсикоз подобного состояния, обусловленного плацентарной недостаточностью, отмечаются сосудистые изменения с элементами застойной гиперемии, кровоизлияниями, появлением экстравазатов и дистрофических явлениях. Следует отметить, что, несмотря на тот факт, что ангиогенез и эпителиально-мезенхимальная трансформация активируются одними и теми же факторами плацентарного микроокружения [9, 11], в научной литературе недостаточно информации о том, какие типы сосудов плодовой части плаценты связаны с процессами эпителиально-

мезенхимальной трансформации с сосудами материнской части плаценты, а какие нет. Учитывая, что оценка выраженности экспрессии виментина может быть использована для диагностики патологического состояния плодовой части плаценты, целью настоящего исследования явилось изучение особенностей экспрессии виментина и их корреляций с различными типами материнских сосудов эндометрия матки.

Цель – определить маркер виментина в плаценте коров в норме и при задержании последа. Основными задачами являлись: 1 - определить критерий изменений в плацентарных структурах коров при развитии состояния осложнения родового процесса, завершившиеся задержанием последа; 2 - провести иммуногистохимическое и иммунофлуоресцентное окрашивание промежуточных филаментов при спонтанных родах и завершившихся задержанием последа в родах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Лабораторные исследования проведены в условиях кафедр генетических и репродуктивных биотехнологий, биологии, экологии и гистологии и микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Исследованию подвергались плацента: карункулы, котиледоны как отдельно, так и всего плацентома, по 15 образцов от каждой плаценты (n=10). Исследуемый материал получен в высокотехнологичных молочных предприятиях Ленинградской области от животных в родах. В зависимости от времени высвобождения плодных оболочек после родов образцы были классифицированы следующим образом: 1 - контрольная группа, в которой плодные оболочки высвобождались из родовых путей в течение 9-12 часов после выведения плода, роды считали завершёнными, спонтанными и физиологическими (n=5); и 2 - опытная группа, в которой плодные оболочки высвобождались после 9-12 часов после выведения плода самостоятельно или жи-

вотному оказывалось медикаментозная, либо оперативная помощь, роды считали патологическими с задержанием последа ($n=5$). Ткани карункулов и котиленонов у животных контрольной и опытной отбирали у крупного рогатого скота голштинской породы, возраста от 3 до 5 лет, массой от 650 до 750 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 фиксации осуществляли промывку органов в водопроводной воде, обезживание 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) по общепринятым методикам. Изучение и фотографирование гистологических препаратов проводили с использованием светоптического микроскопа Микмед-5 ЛОМО (АО «Ломо», Россия) при разных увеличениях. Для выявления межклеточного вещества соединительной ткани использовали окраски по Вейгерту (на эластические волокна), по Маллори (на коллагеновые волокна), толудиновым синим при pH 2,5 (на сульфатированные гликозаминогликаны) и pH 5,5 (на несulfатированные гликозаминогликаны),

ШИК-реакцию (на гликопротеины). Образцы плаценты для иммуногистохимического исследования рассекли на фрагменты толщиной не менее 5 мм с общей площадью до 3 см² и фиксировали в нейтральном 10% забуференном 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»). Использовали антитела к виментину (клон EPR3776 кроличьи, моноклональные, Тайвань, GeneTex, Int. Corp).

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 3-3'-диаминобензидином из набора протокола. На заключительном этапе реакции срезы докрашивали гематоксилином Майера. Индексы пролиферации определяли по среднему проценту меченых 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. Оценку пролиферативной активности производили путем подсчета удельного количества виментин-позитивных клеток к общему количеству клеток.

Парафиновые срезы образцов тканей толщиной 5 мкм, предназначенные для иммунофлуоресцентного окрашивания, монтировали на стекла, обработанные

поли-L-лизином (Menzel, Германия). Срезы после депарафинизации инкубировали в растворе глицина для снижения автофлуоресценции, фиксировали и окрашивали антителами, конъюгированными с флуорохромом, для идентификации следующих специфических клеточных популяций. Демаскировку антигена осуществляли путем кипячения срезов при 100 °C в цитратном буфере с pH=6,0 в течение 10 минут. Затем стекла горизонтально помещали во влажную камеру, наносили 2 вида первичных антител (мышинные и кроличьи) и оставляли на ночь при температуре 4 °C. На следующий день стекла со срезами промывали в двух сменах 0,05 М Трис буфера по 20 минут. Инкубировали 1 час с вторичными антителами, конъюгированными с Alexa 594 (козьи-антикроличьи, Abcam).

Промывали буфером в общей сложности 30 минут. Далее на срезы наносили несколько капель заключающей среды.

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.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате исследования среди клеток трофобласта в поле зрения регистрировали двуклеточные клетки, наблюдаются участки миграции диплокариоцитов по направлению к крипам карункулов материнской плаценты. Количество диплокариоцитов на единицу площади в плаценте коровы при физиологически протекающих спонтанных родах составляло $8,5 \pm 2,1$ и превышало число гигантских

клеток на единицу площади у коров при осложненных патологических родах, завершившихся задержанием последа ($2,8 \pm 0,84$, $p < 0,001$) (Таблица 1).

Локализация виментина в плацентарных структурах при физиологически протекающих спонтанных родах и при осложнении родов, завершившихся задержанием последа, свидетельствует о том, что в ворсинах хориона на единицу площади котиледона соединительная ткань выглядит уплотненной, содержит много волокнистых структур.

У коров при физиологически завершившихся спонтанных родах в структурах аллантохориона наблюдались различия в содержании коллагена между сосудами, отдельные локусы без коллагеновых волокон, умеренные реакции оболочек артерий и вен (рис. 1А).

В широких участках при осложнении беременности, завершившейся задержанием последа, регистрировали признаки гомогенизации коллагена, гетерогенные уровни фуксинофилии пучков коллагеновых волокон в различных зонах плаценты. В центральной части ворсин также выявляли иммунопозитивные к виментину клетки, формирующие стенки капилляров – эндотелиоциты (рис. 1Б).

На микропрепаратах плаценты (рис. 1 А, Б) виментин позитивные клетки определялись в количестве 12627 ± 1328 , а на срезах плацентом с физиологически протекающей беременностью их уровень составил 6289 ± 251 , что статистически достоверно и в среднем на 59,8% превышало значение данных в гистопрепаратах полученных плацентом от коров с осложненной беременностью.

Таблица 1 – Структурно-клеточная организация трофобластической выстилки карункулов и котиледонов в норме и патологии (сетка Автандилова, = 0,0073 мм)

Количество	Физиологически протекающие спонтанные роды	Осложнение родов завершившиеся задержанием последа
Диплокариоциты, кл/мм ²	$8,5 \pm 2,13$	$2,8 \pm 0,84$, $p < 0,001$
Эпителио-эндотелиоциты, кл/мм ²	$6,5 \pm 1,91$	$15,5 \pm 3,53$, $p < 0,001$

Таблица 2 – Показатели пролиферативной активности клеток в зоне плацентом, полученных иммуногистохимическим методом с антителами к белку виментина

Группы животных	Общее кол-во ядер клеток (M±m)	Общее кол-во виментин позитивных клеток	Индекс пролиферации, %
Физиологические роды завершившиеся, спонтанными родами (n=5)	8549±234	6289±251	65,8
Осложненные роды, завершившиеся, задержанием последа (n=5)	20147±1334, p≤0,001	12627±1328, p≤0,001	59,8

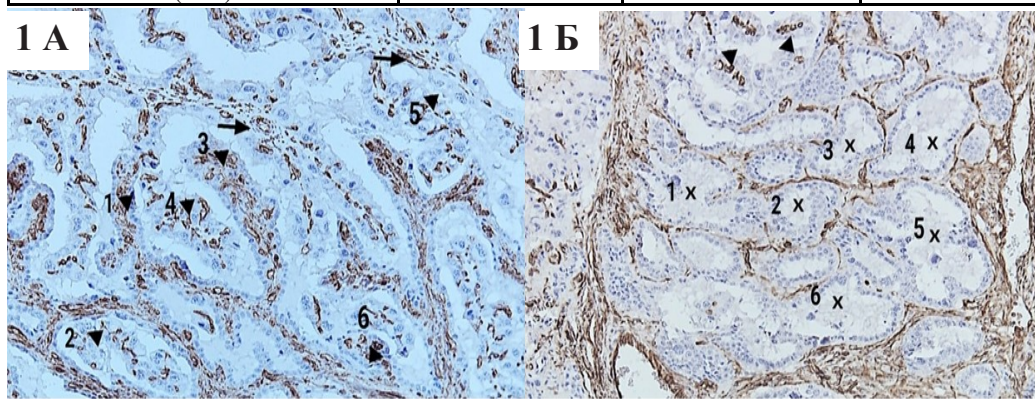


Рисунок 1А – Иммунолокализация антител к виментину при физиологически протекающих спонтанных родах. ПАП-метод. Окраска гематоксилином Майера. Общее увеличение 200. (Виментин-положительные структуры, входящие в состав маточных септ, а также формирующие строму ворсин хориона и стенки капилляров, отмечено стрелками).

Рисунок 1Б – Иммунолокализация антител к виментину при осложнении родов, завершившихся задержанием последа. ПАП-метод. Окраска гематоксилином Майера. Общее увеличение 200. (Редукция терминальных ворсин хориона (указано крестиками) и снижение васкуляризации оставшихся ворсин (показано стрелками)).

Индекс виментина составил 65,8 % меченных ядер клеток. В ворсинах хориона слабую митотическую активность обнаруживали только в цитотрофобластах, менее 20%. При гистологическом анализе зоны плацентом на срезах общее количество ядер клеток цитотрофобластов составило 8549±234. На срезах плацентом полученных от коров с осложненными родами завершившейся задержанием последа, данный показатель составлял 20147±1334, что достоверно превосходило число клеток цитотрофобласта (Таблица 2).

Проведенная иммуногистохимическая реакция для обнаружения виментина

подтвердила деградацию фибробластов, составляющих остов промежуточных и терминальных ворсин: в просвете крипт регистрировали только бесструктурные массы и небольшое количество макрофагоподобных клеток. В центральной части неизменных ворсин отмечали резкое снижение количества мелких капилляров (рис. 1Б), где происходила редукция терминальных ворсин хориона (указано крестиками) и снижение васкуляризации оставшихся ворсин (показано стрелками) в котиледоне.

Результаты изучения соотношения эпителиальных и мезенхимальных элементов с использованием иммунофлуоресцентного метода (рис. 2А) подтвердили, что значительное снижение цитокератиновых филаментов как в цитотрофобластах ворсинчатого котиледона, так и в эпителиоцитах карункулов наблюдаются в плаценте коров при развитии состояния

осложнения родового процесса, завершившихся задержанием последа, по сравнению с физиологически протекающими родами, завершившихся спонтанным родовым процессом, (рис. 2А,Б).

При этом виментиновые филаменты также подвергались частичной деградации, что указывает на преждевременную деградацию внеклеточного матрикса.

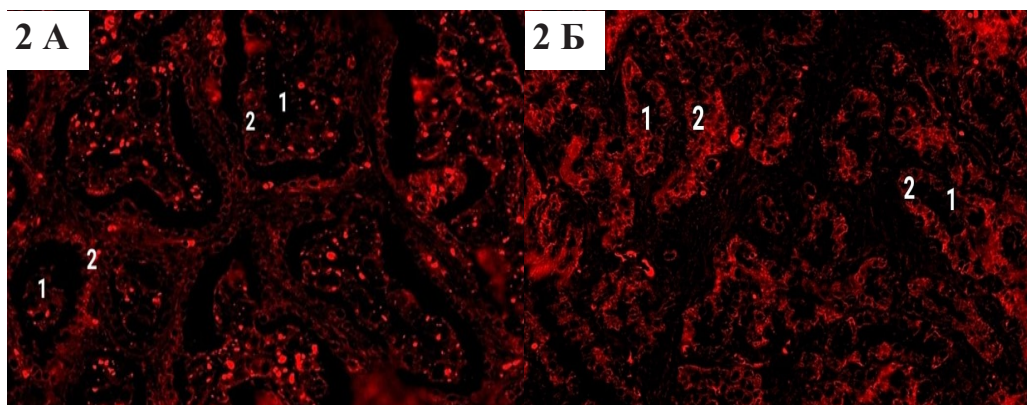


Рисунок 2А – Спонтанные роды. Локализация виментина в плацентарных структурах при физиологически протекающих родах. Выраженная экспрессия виментина (1 – в ворсине хориона котиледона; 2 – в крипте карункула) в клетках выстилки маточных крипт, а также в цитотрофобластах ворсин хориона.

Иммунофлуоресцентный метод. Общее увеличение $\times 400$

Рисунок 2Б – Патологические роды. Локализация виментина в плацентарных структурах при осложнении родов задержанием последа. Слабая экспрессия на виментина (1 – в ворсине хориона котиледона; 2 – в крипте карункула) и отсутствие реакции на эпителиальные филаменты в клетках выстилки маточных крипт.

Иммунофлуоресцентный метод. Общее увеличение $\times 400$

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Отмеченные нами изменения являются важным аспектом работы вследствие того, что плацента коров относится к десмохориальному типу. В работах В. Д. Новикова и др., 1992, показано: «...чем плотнее контакт образуется между плодной и материнской частью плаценты, тем лучше обеспечивается внутриутробное развитие плода» [2]. Кроме того, С. Castro, М. Diessler, С. Barbeito, С. Merkis, 2020 показали: «...диагностическую и прогностическую ценность иммунолокализации маркеров содержания промежуточных филаментов эпителиального и мезенхимального фенотипа в плаценте

при осложнении беременности и родового процесса» [6]. В целом полученные данные в ходе проведения иммуногистохимической реакции окрашивания антигенов при осложнении беременности на последних сроках гестации и родового акта крупного рогатого скота согласуются с полученными данными у женщин [1]. Поэтому соотношение цитокератина и виментина можно использовать в качестве критерия изменений в плацентарных структурах коров при развитии состояния осложнения родового процесса, завершающегося задержанием последа [7, 11]. Результаты проведенного иммуногистохимического окрашивания промежуточ-

ных филаментов эпителиального и мезенхимального фенотипа в плаценте коров при физиологически протекающем родовом акте, завершившегося спонтанными родами, выявили присутствие мелких капилляров как в ворсинах котиледонов, так и в карункулярных криптах. С другой стороны, анализ мезенхимальных филаментов в плаценте коровы при осложнении родового процесса, завершившегося задержанием последа, продемонстрировал - снижение васкуляризации ворсин хориона в котиледонах. Настоящее исследование предоставляет первые доказательства того, что виментин экспрессируется в плацентах крупного рогатого скота на последних сроках гестации и непосредственно в период выведения новорожденного из родовых путей, и предполагает, что этот филамент возможно в сочетании со стероидогенными гормонами опосредует отделение плодной части плаценты от материнской.

DETERMINATION OF THE MARKER OF THE EPITHELIAL-MESENCHYMAL FILAMENT VIMENTIN IN THE PLACENTA OF COWS DURING DETENTION OF THE ESTABLISHMENT

Avdeenko V.S. * – D.V.N., Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies (ORCID 0000-0001-6154-275X), **Makavchik S.A.** – D.V.N., Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology (ORCID 0000-0001-5435-8321), **Safronov D.I.** – Ph.D., 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, St. Petersburg, Russia

*avdeenko0106@mail.ru

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

ABSTRACT

Modern dairy enterprises suffer financial losses due to the high morbidity of the dairy herd after calving. The current study presents the distribution of the extracellular matrix of the ratio of mesenchymal elements of the placenta in cows during physiological and complicated labor with retained placenta. Caruncle and cotyledon tissues were collected every 6 hours after spontaneous labor until the membranes were released. Depending on the time of release of membranes after birth, the samples were classified as follows: 1 - control group, in which the membranes were released within 6 hours after birth, considered complete, spontaneous and physiological (Partus normalis); 2 - experimental group, in which the membranes were released 9-12 hours after the fetus was delivered, the birth was considered pathological with retention of the placenta (Retenzio sekundarium). Identification of changes in the content of vimentin-containing elements involves the development of a system for express diagnostics of reproductive pathologies in dairy cattle during labor and after calving. Samples of placenta from cows undergoing physiological labor and placenta retention 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 immunohistochemical and immunofluorescence double staining, the immunolocalization of antibodies to vimentin was studied using clone EPR3776 (rabbit, monoclonal, Taiwan, GeneTex, Int. Corp). The localization of the content of intermediate filaments of the mesenchymal phenotype in the cow placenta was studied, in which the presence of a large number of small capillaries was revealed both in the villi of the cotyledons and in the caruncular crypts during normal pregnancy and childbirth, as well as the equilibrium ratio of mesenchymal structures in the placenta. In childbirth complicated by placenta retention, a decrease in the

vascularization of chorionic villi in the cotyledons and degradation of 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 endothelial and epithelial cells of the crypts of the caruncles of the maternal part of the placenta were demonstrated. Pronounced expression of vimentin was found in the cells lining the crypts of caruncles, as well as in the cytoplasmic membrane of villous cytotrophoblasts. A study of the ratio of mesenchymal elements using the immunofluorescent method of double staining of antibodies to vimentin showed that a significant decrease in them both in the cytotrophoblasts of cotyledons and in the epithelial cells of caruncles is observed in the placenta of cows with the development of a state of placental insufficiency, leading to a complication of labor by retention of the placenta. The present study provides the first evidence that vimentin is expressed in bovine placentomes during the gestational, prenatal, and parturient periods and suggests that this filament may, in combination with steroidogenic hormones, mediate the separation of the fetal placenta from the maternal placenta.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Делекторская В.В., Чемерис Г.Ю., Смирнова Е.А. Иммуногистохимический анализ aberrантной экспрессии виментина в карциноидных опухолях легкого. Успехи молекулярной онкологии 2018;5 (4):104–109. DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-4-104-109.
2. Новиков В.Д., Ясакова Н.Т., Авдеенко В.С., Машак С.В., Цыцорина Т.Н., Герасимова Ю.В. Эпителиостромальные взаимоотношения в котилодонной плаценте жвачных в нормальных и патологических условиях // Морфология. - 1992. - Л 1. - С. 97-103.
3. Приходько С. А., Родин П.В., Авдеенко В.С., Плешков К.В. Морфогенез плаценты у крупного рогатого скота при эклампсии. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2020, №1, С. 117-121.
4. Li H, Dai H, Li J. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal/stemcells: The link with metabolism. J Adv Res (2023) 45:15–29. doi: 10.1016/j.jare.2022.05.012
5. Tavares Farias S.F.S., Barbosa H.T.S., Xavier Júnior F.A.F., Monteiro Evangelista J.S.A., Machado da Silva L.D.. Macro and microscopic characteristics of the placenta and its relationship with the weight and the Apgar score of canine neonates. // Theriogenology. V.202, 2023, p. 21-27.
6. Castro C., Diessler M., Barbeito C., Merkis C. Caracterización del vascular y estudio de la angiogenesis en la placenta de la gata. // Investigación Joven, 7 (2) (2020), pp. 453-454
7. G. Sarli, C. Castagnetti, C. Bianco, G. Ballotta, G. Tura, M. Caporaletti, D. Zambelli. Canine placenta histological findings and microvascular density: the histological basis of a negative neonatal outcome? // Animals, 11 (5) (2021), p. 1418, 10.3390/ani11051418
8. Tesi M., Miragliotta V., Scala, Aronica E., Lazzarini G., Fanelli D., Rota A., Abramo F. Gross and histological findings in the canine placenta and amnion at term: what's normal, abnormal or pathological? // Reprod Domest Anim, 56 (5), 2021, pp. 691-702, 10.1111/rda.13905
9. Gomes M.T., Palasiewicz K., Gadiyar V., Lahey K., Calianese D., Birge R.B., et. al., Phosphatidylserine externalization by apoptotic cells is dispensable for specific recognition leading to innate apoptotic immune responses. J. Biol Chem (2022) 298 (7):102034. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102034
10. Tesi M., Miragliotta V., Scala L., Aronica E., Lazzarini G., Fanelli D., Abramo F., Rota A. Relationship between placental characteristics and puppies' birth weight in toy and small sized dog breeds. // Theriogenology, 141. - 2020, pp. 1-8.
11. Galderisi U., Peluso G., Di Bernardo G. Clinical trials based on mesenchymalstromal cells are exponentially increasing: where are we in recent years? Stem Cell Rev Rep (2022) 18(1):23–36. doi: 10.1007/s12015-021-10231-w
12. Jiang P., Zhang Y., Ru B., Yang Y., Vu T., Paul R., et. al. Systematic investigation of cytokine signaling activity at the tissue and

single-cell levels. *Nat Methods* (2021) 18 (10):1181–91. doi: 10.1038/s41592-021-01274-5

13. Calianese D.C., Birge R.B. Biology of phosphatidylserine (PS): basic physiology and implications in immunology, infectious disease, and cancer. *Cell Commun Signal* (2020) 18(1):41. doi: 10.1186/s12964-020-00543-8

14. Reddoch-Cardenas K.M., Peltier G.C., Chance T.C., Nair P.M., Meledeo M.A., Ramasubramanian A.K., et. al. Cold storage of platelets in platelet additive solution maintains mitochondrial integrity by limiting initiation of apoptosis-mediated pathways. *Transfusion* (2021) 61(1):178–90. doi: 10.1111/trf.16185

15. Иммунофлуоресцентный анализ экспрессии виментина в эпителиальных клетках / Т. А. Бугуш, С. А. Калужный, А. А. Башарина [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. – 2019. – Т. 60, № 6. – С. 384–391.

REFERENCES

1. Delektorskaya V.V., Chemeris G.Yu., Smirnova E.A. Immunohistochemical analysis of aberrant expression of vimentin in lung carcinoid tumors. *Advances in Molecular Oncology* 2018;5(4):104–109. DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-4-104-109.

2. Novikov V.D., Yasakova N.T., Avdeenko B.C., Mashak C.B., Tsitsorina T.N., Gerasimova Yu.V. Epitheliostromal relationships in the cotyledon placenta of ruminants under normal and pathological conditions // *Morphology*. - 1992. - L 1. - p. 97–102.

3. Prikhodko S. A., Rodin P.V., Avdeenko V.S., Plemeshov K.V. Placental morphogenesis in cattle with eclampsia. // *Issues of regulatory regulation in veterinary medicine*. 2020, No. 1, pp. 117–121.

4. Li H, Dai H, Li J. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal/stem cells: The link with metabolism. *J Adv Res* (2023) 45:15–29. doi: 10.1016/j.jare.2022.05.012

5. Tavares Farias S.F.S., Barbosa H.T.S., Xavier Júnior F.A.F., Monteiro Evangelista J.S.A., Machado da Silva L.D.. Macro and microscopic characteristics of the placenta

and its relationship with the weight and the Apgar score of canine neonates. // *Theriogenology*. V.202, 2023, p. 21–27.

6. Castro C., Diessler M., Barbeito C., Merkis C. Caracterización del vascular y estudio de la angiogenesis en la placenta de la gata. // *Investigación Joven*, 7 (2) (2020), pp. 453–454

7. G. Sarli, C. Castagnetti, C. Bianco, G. Ballotta, G. Tura, M. Caporaletti, D. Zambelli. Canine placenta histological findings and microvascular density: the histological basis of a negative neonatal outcome? // *Animals*, 11 (5) (2021), p. 1418, 10.3390/ani11051418

8. Tesi M., Miragliotta V., Scala, Aronica E., Lazzarini G., Fanelli D., Rota A., Abramo F. Gross and histological findings in the canine placenta and amnion at term: what's normal, abnormal or pathological? // *Reprod Domest Anim*, 56 (5), 2021, pp. 691–702, 10.1111/rda.13905

9. Gomes M.T., Palasiewicz K., Gadiyar V., Lahey K., Calianese D., Birge R.B., et. al., Phosphatidylserine externalization by apoptotic cells is dispensable for specific recognition leading to innate apoptotic immune responses. *J. Biol Chem* (2022) 298 (7):102034. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102034

10. Tesi M., Miragliotta V., Scala L., Aronica E., Lazzarini G., Fanelli D., Abramo F., Rota A. Relationship between placental characteristics and puppies' birth weight in toy and small sized dog breeds. // *Theriogenology*, 141. - 2020, pp. 1–8.

11. Galderisi U., Peluso G., Di Bernardo G. Clinical trials based on mesenchymal stromal cells are exponentially increasing: where are we in recent years? *Stem Cell Rev Rep* (2022) 18(1):23–36. doi: 10.1007/s12015-021-10231-w

12. Jiang P., Zhang Y., Ru B., Yang Y., Vu T., Paul R., et. al. Systematic investigation of cytokine signaling activity at the tissue and single-cell levels. *Nat Methods* (2021) 18 (10):1181–91. doi: 10.1038/s41592-021-01274-5

13. Calianese D.C., Birge R.B. Biology of phosphatidylserine (PS): basic physiology and implications in immunology, infectious disease, and cancer. *Cell Commun Signal* (2020) 18(1):41. doi: 10.1186/s12964-

020-00543-8

14.Reddoch-Cardenas K.M., Peltier G.C., Chance T.C., Nair P.M., Meledeo M.A., Ramasubramanian A.K, et. al. Cold storage of platelets in platelet additive solution maintains mitochondrial integrity. by limiting initiation of apoptosis-mediated pathways. Transfusion (2021) 61(1):178–90. doi: 10.1111/trf.16185

15. Immunofluorescent analysis of vimentin expression in epithelial cells / T. A. Bogush, S. A. Kalyuzhny, A. A. Basharina [et al.] // Bulletin of Moscow University. Episode 2: Chemistry. – 2019. – T. 60, No. 6. – P. 384-391.