

УДК 614.2/616/618
ББК 51:57.1:57.3
Т29

Т29 Тезисы V Общероссийской научно-практической конференции акушеров-гинекологов «Оттовские чтения»
(15–16 ноября 2023 года, г. Санкт-Петербург). – М. : Редакция журнала StatusPraesens, 2023. – 60 с.

ISBN 978-5-907218-93-2

В издании собраны тезисы докладов и научные материалы, подготовленные участниками V Общероссийской научно-практической конференции акушеров-гинекологов «Оттовские чтения» (15–16 ноября 2023 года, г. Санкт-Петербург). Программа «Оттовских чтений» насыщена междисциплинарными дискуссиями, мастер-классами, школами, где вместе с экспертами в области женского здоровья, в том числе с плеядой экспертов НИИ им. Д.О. Отта, обсуждаются актуальные темы современного акушерства и гинекологии. Специальный раздел посвящён тезисам, поданным на конкурс молодых учёных «Репродуктивная медицина: взгляд молодых».

Издание предназначено для акушеров-гинекологов женских консультаций, родильных домов и перинатальных центров, гинекологических отделений многопрофильных стационаров, сотрудников и руководителей кафедр акушерства и гинекологии, слушателей факультетов повышения квалификации медицинских работников и последипломного образования, аспирантов, клинических ординаторов и студентов медицинских вузов.

**УДК 614.2/616/618
ББК 51:57.1:57.3**

3. Goldenberg M., Burke Y.Z., Matanes E., Lowenstein L. Transvaginal Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery (NOTES) for prophylactic bilateral salpingo-oophorectomy // *Surg. Oncol.* – 2020. – Dec. – Vol. 35. – P. 79–80.

Влияние тромбоцитарных микровезикул на функциональные характеристики эндотелиальных клеток линии EA.hy926

Перевязкина М.А., лаборант-исследователь;

Земетова М.С., мл. научный сотрудник.

Руководитель: **Соколов Д.И.**, проф.

НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта.

Email: marinaperev17@mail.ru; моб. тел.: +7 (911) 835 0551.

Микровезикулы (МВ) тромбоцитов плазмы крови здоровых небеременных женщин дозозависимо изменяли пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток (ЭК) линии EA.hy926. Влияния тромбоцитарных МВ здоровых женщин на трансэндотелиальную миграцию клеток линии THP-1 не обнаружено.

Ключевые слова: внеклеточные везикулы, микровезикулы, тромбоциты, эндотелий.

Platelet-derived microvesicles, extracted from blood of healthy non-pregnant women, influenced concentration-dependent proliferation and migration of endothelial cell line EA.hy926. There was no significant effect on THP-1 cell line migration while co-incubated with pMV.

Keywords: extracellular vesicles, microvesicles, platelets, endothelium.

Актуальность. Внеклеточные везикулы являются посредниками межклеточной коммуникации [1]. Тромбоцитарные МВ – наиболее распространенная популяция везикул периферической крови. Антифосфолипидный синдром (АФС) – аутоиммунное заболевание, характеризующееся дисфункцией ЭК и тромбозами и провоцирующее осложнённое течение беременности. При АФС наблюдается повышенная продукция МВ. Предполагают, что МВ участвуют в патогенезе АФС [2].

Цель исследования – оценить влияние тромбоцитарных микровезикул (МВ) на функциональные характеристики эндотелиальных клеток линии EA.hy926.

Материалы и методы. Использовали клетки линии EA.hy926. Для выделения тромбоцитарных МВ (тМВ) из крови 15 здоровых женщин репродуктивного возраста во второй фазе менструального цикла использовали метод дифференциального центрифугирования. Для оценки миграции за сутки до эксперимента в 96-луночный планшет вносили ЭК до образования конфлюэнтного монослоя. В день эксперимента из плазмы получали МВ. Целостность монослоя нарушали, проводя черту в лунке наконечником от дозатора. Затем МВ разводили культуральной средой 0% ЭТС, вносили в лунки с ЭК в разных концентрациях по белку. Содержание ЭТС в каждой лунке доводили до 2,5%. В качестве положительного контроля использовали лунки с 10% ЭТС. После 24 ч инкубации удаляли среду и окрашивали клетки красителем кристаллическим фиолетовым. Каждую лунку фотографировали. Фотографии обрабатывали в программе MarkMigration. О миграции судили по изменению количества клеток и площади разрушенного монослоя. В качестве контроля использовали данные по миграции клеток, культивированных без тМВ. Для оценки

пролиферации за сутки до эксперимента в 96-луночный планшет вносили $2,5 \times 10^3$ ЭК в 100 мкл полной культуральной среды DMEM/F-12 с содержанием ЭТС 10%. Затем тМВ разводили культуральной средой DMEM/F-12 ЭТС 0%, вносили в лунки планшета с ЭК в разных концентрациях. Содержание ЭТС в каждой лунке доводили до 2,5%. В качестве положительного контроля использовали лунки с 10% ЭТС. Через 72 ч удаляли среду и окрашивали клетки красителем кристаллическим фиолетовым. Затем краситель экстрагировали 50% уксусной кислотой и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре. В качестве контроля использовали данные оптических плотностей клеток, культивированных без тМВ. Для статистического анализа использовали непараметрический критерий Уилкоксона. Для оценки трансэндотелиальной миграции ЭК вносили во вставки для 24-луночных планшетов с поликарбонатным фильтром (размер пор 8 мкм, BD Falcon, США) в количестве 4×10^4 клеток на вставку в 200 мкл среды, 10% ЭТС, культивировали сутки до образования монослоя. Среду удаляли и во вставки вносили 200 мкл разведенных тМВ, часть лунок оставляли интактными, инкубировали сутки. Среду удаляли, в каждую вставку добавляли клетки линии THP-1 (1×10^6 клеток в 200 мкл среды ЭК 10% ЭТС). В нижнюю камеру добавляли 700 мкл полной среды для ЭК, инкубировали сутки. В качестве положительного контроля использовали 20% ЭТС без добавления тМВ. После миграции клетки из нижней камеры осаждали центрифугированием, обрабатывали Fc-блокирующим реагентом, а затем обрабатывали моноклональными антителами к CD11a, CD11b, CD18. Интенсивность флуоресценции анализировали на проточном цитометре FACS Canto II. Для статистического анализа использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

Результаты. Высокие концентрации тМВ из плазмы здоровых небеременных женщин снижали пролиферацию и миграцию ЭК, низкие концентрации тМВ стимулировали пролиферацию и миграцию ЭК. Культивирование ЭК совместно с тМВ не влияло на миграцию клеток линии THP-1.

Заключение. Тромбоцитарные МВ влияют на функциональные функции ЭК. Полученные данные послужат контролем для последующего изучения тМВ женщин с АФС.

Литература

1. Van Niel G., DiAngelo G., Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2018. – Vol. 19. – №4. – P. 213–228.
2. Stok U., Blökar E., Lenassi M. et al. Characterization of Plasma-Derived Small Extracellular Vesicles Indicates Ongoing Endothelial and Platelet Activation in Patients with Thrombotic Antiphospholipid Syndrome // *Cells.* – 2020. – Vol. 9. – №5.