

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наличие полиморфизма PON1 Gln192Arg ассоциировано с возникновением олигозооспермии у гетерозигот по мутантной аллели.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ, в рамках в рамках проектной части государственного задания в сфере научной деятельности Министерства образования и науки РФ №6.703.2014/К.

## ВЛИЯНИЕ КЛЕТОК ТРОФОБЛАСТА НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ НК-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЖЕНЩИН ВНЕ И ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Михайлова В.А., Викнянщук А.Н.,

Михайлова Е.А., Сельков С.А., Соколов Д.И.

ФГБНУ «НИИ АГ и Р им Д.О.Отта»,  
г. Санкт-Петербург

## АКТУАЛЬНОСТЬ

Формирование и регуляция иммунологической толерантности в системе мать-плацента-плод во многом связана с присутствующими в эндометрии и децидуальной оболочке лейкоцитами. Одной из основных популяций лейкоцитов, присутствующих в эндометрии, являются НК-клетки, количество которых изменяется в ходе менструального цикла (МЦ). В первом триместре беременности НК-клетки составляют до 70% лейкоцитов децидуальной оболочки. Взаимодействие НК-клеток и клеток трофобласта является неотъемлемым процессом, способствующим формированию и развитию плаценты. В настоящее время механизмы, вызывающие изменение количества НК-клеток в зоне маточно-плацентарного контакта четко не определены.

## ЦЕЛЬ

Целью исследования явилась оценка влияния клеток трофобласта линии JEG-3 на пролиферативную активность НК-клеток при беременности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 59 женщин (20 здоровых небеременных женщин в пролиферативной фазе МЦ, 19 здоровых небеременных женщин в секреторной фазе МЦ, 20 беременных женщин на сроке 6–7 недель с физиологическим течением беременности (ФБ). В исследовании использовали периферическую кровь пациенток из локтевой вены и клетки трофобласта линии JEG-3.

Мононуклеары выделяли стерильно и инкубировали в присутствии клеток трофобласта в атмосфере 100% влажности и 5% CO<sub>2</sub> при 37°C в течение 6 суток. В часть лунок вносили рекомбинантный IL-2 («Ронколейкин», Биотех, Россия) (200 МЕ/мл). Затем клетки фиксировали и пермеабелизировали (коммерческий набор Cytotfix/Cytoperm (BD, США)). Клетки также окрашивали антителами к CD45, CD56, CD3 и внутриклеточному маркеру пролиферации Ki-67 (BD, США). Анализ флуоресценции НК-клеток проводили при помощи проточного цитофлуориметра FACS Canto II (BD, США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что при культивировании мононуклеаров периферической крови в присутствии IL-2 во всех исследуемых группах интенсивность экспрессии НК-клетками Ki-67 была выше по сравнению со спонтанным уровнем. Спонтанный уровень экспрессии НК-клетками группы женщин с ФБ Ki-67 был в 2 раза выше по сравнению с группами небеременных женщин в пролиферативной и секреторной фазах МЦ. В присутствии IL-2 интенсивность экспрессии Ki-67 НК-клетками группы женщин с ФБ была в 5 раз выше по сравнению с группами небеременных женщин в пролиферативной и секреторной фазах МЦ.

Интенсивность экспрессии НК-клетками, стимулированными IL-2, маркера пролиферации Ki-67 была ниже в присутствии клеток трофобласта по сравнению с таковой при стимуляции IL-2 в отсутствие клеток трофобласта во всех исследуемых группах. Данное ингибирующее действие клеток трофобласта было выражено слабее в отношении НК-клеток группы небеременных женщин в секреторной фазе МЦ по сравнению с группой небеременных женщин в пролиферативной фазе МЦ.

В присутствии клеток трофобласта линии JEG-3 интенсивность экспрессии Ki-67 стимулированными IL-2 НК-клетками группы женщин с ФБ была ниже по сравнению с таковой при культивировании без клеток трофобласта в присутствии IL-2. Однако интенсивность экспрессии Ki-67 в данном случае была в 5 раз выше по сравнению с группой небеременных женщин в пролиферативной фазе МЦ и примерно в 3,5 раза выше по сравнению с группой небеременных женщин в секреторной фазе МЦ.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, клетки трофобласта линии JEG-3 модулируют спонтанную и индуцированную IL-2 пролиферативную активность НК-клеток периферической крови небеременных и беременных женщин.

## ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВЫПОЛНЕНИЯ БИОПСИЙ ЭМБРИОНОВ

Мусатова Е.В., Ковалева Я.В., Сергеев С.А.,  
Померанцева Е.А.

ООО «Центр Генетики и Репродуктивной Медицины  
«ГЕНЕТИКО», г. Москва

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Биопсия эмбриона является важным этапом, обеспечивающим возможность проведения преимплантационной генетической диагностики (ПГД). Качество выполнения биопсии непосредственно определяет не только возможность проведения дальнейшего анализа, но и точность получаемых результатов. Тестовая биопсия, осуществляемая эмбриологом еще до получения биопсийного материала для ПГД, отражает навыки работы конкретного специалиста и может позволить оценить вероятность возникновения ошибок при проведении биопсий в ходе дальнейшей работы.

### ЦЕЛЬ

С целью оценки качества работы тестовые биопсии выполнили 35 эмбриологов из раз-

личных клиник, руководствуясь полученной инструкцией по правилам сбора и маркировки биопсийного материала.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках тестовых биопсий был получен материал 304 эмбрионов (107 образцов бластомеров и 197 образцов трофэктодермы). В среднем на каждого эмбриолога пришлось по 6,7 ( $\pm$  2,4) тестовых образцов. В ходе дальнейшей работы эмбриологов в рамках биопсий эмбрионов, выполненных для ПГД, получено 1675 образцов (170 образцов бластомеров и 1505 образцов трофэктодермы). Была осуществлена полногеномная амплификация ДНК биопсийного материала с положительными и отрицательными контролями. С целью визуализации продуктов полногеномной амплификации проводился электрофорез в агарозном геле с последующей оценкой прохождения амплификации в опытных образцах и положительных контролях, а также определением чистоты отрицательных контролей.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ данных тестовых биопсий выявил отсутствие амплификации 14% образцов бластомеров и 8% образцов трофэктодермы. Контаминация биопсийного материала зафиксирована в 12% случаев при биопсий бластомеров и в 8% случаев при биопсий трофэктодермы. 31 эмбриолог получил удовлетворительные результаты тестовых биопсий после первого выполнения; 4 эмбриолога не были допущены до выполнения биопсий для ПГД после первой попытки тестовой биопсии, двое из них выполнили тестовую биопсию со второго раза. При выполнении биопсий эмбрионов для ПГД были получены следующие результаты. Отсутствие амплификации материала бластомеров наблюдалось в 8% случаев, а трофэктодермы – в 5%. Контаминация при биопсии бластомеров отмечена в 1,2% случаев, а при биопсии трофэктодермы – в 3,45%.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка качества выполнения биопсии эмбриона является неотъемлемой процедурой при проведении ПГД и позволяет не только оценить, но и улучшить качество биопсии. Анализ факторов, влияющих на качество осуществления биоп-