

**ТРОМБОЦИТАРНО-МОНОЦИТАРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ И ИХ
ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРЕЭКЛАМПСИИ**

Павлов О.В.,
Чепанов С.В.,
Перетятко И.С.,
Мозговая Е.В.,
Коган И.Ю.,
Сельков С.А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

**PLATELET-MONOCYTE COMPLEXES AND THEIR POTENTIAL ROLE
IN THE PATHOGENESIS OF PREECLAMPSIA**

Pavlov O.V.,
Chepanov S.V.,
Peretyatko I.S.,
Mozgovaya E.V.,
Kogan I.Yu.,
Selkov S.A.

*D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine,
Saint-Petersburg, Russian Federation*

Резюме

Беременность характеризуется особым состоянием системы гемостаза и иммунной системы, при котором наблюдается активация их компонентов. Гиперактивация тромбоцитов и моноцитов может являться фактором, вызывающим различные осложнения беременности, в частности, преэклампсию. При этом патогенетическая роль тромбоцитарно-моноцитарных комплексов (ТМК), которые представляют интерес в качестве диагностического маркера и в качестве терапевтической мишени, исследована недостаточно. Целью исследования было определение количественных изменений в содержании и фенотипических характеристиках ТМК периферической крови при преэклампсии, а также оценка влияния тромбоцитов на экспрессию поверхностных маркерных белков моноцитов при физиологическом и патологическом течении беременности. Исследуемые группы составили женщины в возрасте 24-42 года с диагнозом тяжелая преэклампсия (35-41 недель беременности) и женщины с неосложненной (физиологической) беременностью (33-41 недель беременности). В общей популяции и субпопуляциях моноцитов периферической крови пациенток методами проточной цитофлуориметрии определяли содержание ТМК и уровни экспрессии CD62P, CD11b, CD86, CD162, HLA-DR, TREM-1 как в составе комплексов, так и в свободно циркулирующих клетках. Установлено, что при преэклампсии уровень ТМК повышен (29,3% всей популяции моноцитов) в сравнении с беременностью, протекающей без осложнений (17,5%), и это повышение происходит за счет двух субпопуляций моноцитов, их формирующих: классических и промежуточных. При этом в ТМК отмечено повышение уровней экспрессии поверхностных антигенов CD62P, CD162, HLA-DR, CD86, TREM-1, CD11b характеризующих активацию тромбоцитов и моноцитов. Фракции классических, промежуточных и неклассических моноцитов вносили различный вклад в изменение уровней экспрессии активационных маркеров моноцитов, связанное с преэклампсией. Сравнение ТМК и свободно циркулирующих моноцитов показало, что изменения поверхностного антигенного фенотипа моноцитов в составе ТМК обусловлены как влиянием тромбоцитов, так и другими факторами. При преэклампсии наблюдается индуцированное тромбоцитами усиление провоспалительных и адгезионных свойств моноцитов, что проявляется в повышении уровней экспрессии TREM-1 и CD11b в ТМК. В то же время повышение уровней экспрессии HLA-DR и CD86 в моноцитах не связано с их взаимодействием с тромбоцитами. Полученные результаты свидетельствуют о том, что преэклампсия сопровождается повышением содержания ТМК в периферической крови и активацией моноцитов в составе ТМК, демонстрируют иммуномодуляторное влияние тромбоцитов, а также дают обоснования значимости определения паттернов экспрессии поверхностных антигенных маркеров ТМК в диагностических и терапевтических целях.

Ключевые слова: беременность, преэклампсия, тромбоциты, моноциты, тромбоцитарно-моноцитарные комплексы, антигенный фенотип, иммуномодуляция.

Abstract

Pregnancy represents the state with particularly activated constituents of hemostasis and immune systems. Hyperactivation of platelets and monocytes may be a causative factor for pregnancy complications including preeclampsia. The pathogenetic role of platelet-monocyte complexes (PMC), recognized as diagnostic marker and therapeutic target, is poorly investigated. The aim of the study was to determine quantitative changes in the peripheral blood PMC level and antigenic phenotype in preeclampsia, and to evaluate effects of platelets on the expression of monocyte surface marker proteins in normal and pathological pregnancy. The tested groups included third trimester pregnant women diagnosed with severe preeclampsia (35-41 weeks of gestation) and women with uncomplicated (physiological) pregnancies (33-41 weeks of gestation). All participants were between the age of 24 and 42 years. PMC levels and CD62P, CD11b, CD86, CD162, HLA-DR, TREM-1 expressed by PMC and free circulating cells were determined by flow cytometry in the peripheral blood total monocytes and monocyte subpopulations. It was found that PMC level increased (29.2% of total monocyte population) when compared to uncomplicated pregnancy (17.5%), and this augmentation was ensured by two PMC-forming monocyte subpopulations: classical and intermediate. Moreover, expression levels of platelet and monocyte activation markers CD62P, CD162, HLA-DR, CD86, TREM-1, CD11b were significantly higher in preeclampsia. The fractions of classical, intermediate and non-classical monocytes differently contributed to preeclampsia-associated changes in the expression levels of monocyte activation markers. Comparison of PMC and free circulating monocytes demonstrated that observed changes in the surface antigenic phenotype of monocytes within PMC were ensured by platelets and other factors. In preeclampsia, platelet-induced augmentation of monocyte inflammatory and adhesive capacities displayed itself in the increased TREM-1 and CD11b expression. In contrast, increased levels of HLA-DR and CD86 in monocytes were not induced by the interaction with platelets. The results of the study suggest that preeclampsia is accompanied by increased peripheral blood PMC levels and activation of monocytes within PMC, demonstrate immunomodulatory effect of platelets, and provide a rationale for the evaluation of expression patterns of PMC surface antigenic markers with diagnostic and therapeutic purposes.

Keywords: pregnancy, preeclampsia, platelets, monocytes, platelet-monocyte complexes, antigenic phenotype, immunomodulation.

1 Введение

Беременность характеризуется особым состоянием двух важнейших физиологических систем, обеспечивающих гомеостаз организма: системы гемостаза и иммунной системы. С одной стороны, при беременности возникает феномен гиперкоагуляции (повышение уровня факторов свертывания крови, снижение уровня естественных антикоагулянтов и фибринолитической активности) как адаптивный механизм предотвращения кровотечения [17]. С другой стороны, происходят изменения, позволяющие говорить о формировании особого типа воспалительного ответа при беременности: переключение иммунного ответа с Th1 на Th2, увеличение количества регуляторных Т лимфоцитов (Treg), активация клеток врожденного звена иммунитета [11]. При физиологическом течении беременности наблюдается активация тромбоцитов [12, 37, 38] и моноцитов [11, 42], однако чрезмерная активация этих и других компонентов системы гемостаза и иммунной системы может служить причиной или дополнительным патофизиологическим фактором различных осложнений беременности.

Активированные тромбоциты вступают в непосредственный контакт с клетками иммунной системы, циркулирующими в периферической крови, образуя гетеротипические агрегаты - тромбоцитарно-лейкоцитарные комплексы - за счет взаимодействия поверхностных молекул, экспонированных на поверхности тромбоцитов и лейкоцитов, основную роль среди которых играет пара Р-селектин (CD62P) – PSGL-1 (CD162) [1, 41]. Тромбоцитарно-моноцитарные комплексы (ТМК) являются наиболее многочисленными и наиболее стабильными среди агрегатов, сформированных тромбоцитами и лейкоцитами [35] и представляют собой связующее звено между процессами тромбообразования и воспаления, тесная взаимосвязь которых нашла свое отражение в термине «тромбовоспаление» (thromboinflammation) [29]. Следствием взаимодействия моноцитов с активированными тромбоцитами может быть не только увеличение количества циркулирующих ТМК, но и фенотипические и функциональные изменения моноцитов, затрагивающие всю популяцию или отдельные субпопуляции и приводящие к нарушению физиологических процессов.

Внимание исследователей привлекает патофизиологическая роль ТМК, которые представляют интерес и в качестве диагностического маркера, и в качестве терапевтической мишени. Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о количественных и качественных изменениях ТМК при патологических состояниях, носящих характер воспаления (тромбовоспаления). В первую очередь, это сердечно-сосудистые заболевания и атеросклероз, при которых наблюдается корреляция между клиническими показателями этих заболеваний и уровнем ТМК в периферической крови [2, 24, 46]. Повышение содержания ТМК и других тромбоцитарно-лейкоцитарных комплексов отмечалось при сахарном диабете [9, 15, 45], ишемическом инсульте [21, 28, 39], хронической обструктивной болезни

легких [3, 26], заболеваниях печени [34] и почек [5, 14, 44], а также при бактериальных [22, 33, 43] и вирусных [33, 19, 20, 23] инфекциях. В последние годы накапливаются данные об участии ТМК в патогенезе осложнений, вызванных новой коронавирусной инфекцией (COVID-19), в частности, пневмонии [18, 40], и причинно-следственной связи между формированием тромбоцитарно-лейкоцитарных комплексов и возникновением тромботических явлений, характерных для этой инфекции [6].

Репродуктивные патологии, которые объединяют в понятие «большие акушерские синдромы», имеют различную этиологию, но общие патогенетические механизмы: недостаточное ремоделирование маточных артерий, эндотелиальная дисфункция, нарушения системы гемостаза и иммунной системы [7, 8, 32]. Одной из таких патологий является преэклампсия, которая представляет собой мультисистемное заболевание и характеризуется повышенным артериальным давлением в сочетании протеинурией, отеками и полиорганной недостаточностью. Преэклампсия остается одной из основных причин преждевременных родов, а также материнской и перинатальной смертности и морбидности [30]. Патогенез этого заболевания обусловлен эндотелиальной дисфункцией, активацией тромбоцитов и системным воспалительным ответом. Сведения о тромбоцитарно-моноцитарных взаимодействиях при преэклампсии единичны и противоречивы. Одна группа исследователей обнаружила у пациенток с преэклампсией повышенный уровень активации тромбоцитов, что выражалось в усилении экспрессии Р-селектина (CD62P) на поверхности тромбоцитов, увеличении количества тромбоцитарных микрочастиц, экспрессирующих Р-селектин и содержания тромбоцитарно-моноцитарных агрегатов в периферической крови [25]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было показано, что активированные тромбоциты индуцируют секрецию моноцитами в составе ТМК растворимой формы рецептора Flt-1 (sFlt-1), которая является патогенетическим фактором преэклампсии, способствуя повышению уровня sFlt-1 в циркуляции [27]. Эти данные позволяют сделать предположение о том, что взаимодействие активированных тромбоцитов с моноцитами может лежать в основе одного из механизмов патогенеза преэклампсии. Однако, в другом исследовании при сравнении групп женщин с преэклампсией, нормотензивных беременных и небеременных не было обнаружено существенных различий ни в степени активации тромбоцитов, ни в количестве ТМК, ни в уровнях экспрессии тканевого фактора моноцитами [13]. Таким образом, вопрос о роли ТМК в патогенезе преэклампсии остается открытым.

При преэклампсии под действием провоспалительных факторов, продуцируемых плацентой происходит изменение активационного статуса моноцитов [10], поэтому вступая в контакт с тромбоцитами при формировании ТМК, моноциты уже могут находиться в состоянии повышенной активации. Следовательно, фенотипические и функциональные изменения моноцитов в составе ТМК могут быть обусловлены как

89 взаимодействием с тромбоцитами, так и предсуществующей активацией
90 свободных моноцитов. При изучении морфофункциональных свойств
91 моноцитов в составе ТМК важно дифференцировать эти два пути активации.

92 Моноциты представляют собой гетерогенную популяцию, которую,
93 согласно современным представлениям, в соответствии со степенью
94 экспрессии поверхностных антигенов CD14 и CD16 подразделяют на три
95 субпопуляции: основная субпопуляция классических моноцитов
96 ($CD14^{++}CD16^{-}$) и две минорные фракции промежуточных ($CD14^{++}CD16^{+}$) и
97 неклассических моноцитов ($CD14^{+}CD16^{++}$) [43]. Три субпопуляции моноцитов
98 различаются функционально, демонстрируют разные паттерны экспрессии
99 поверхностных антигенных маркеров, цитокинов и хемокинов, и каждая
100 субпопуляция может выполнять свою роль при физиологических и
101 патологических состояниях [31]. Остается невыясненным вклад отдельных
102 субпопуляций в формирование ТМК и степень их участия в патогенезе
103 преэклампсии.

104 Целью нашего исследования было определение количественных
105 изменений в содержании и фенотипических характеристиках ТМК на уровне
106 всей популяции и отдельных субпопуляций моноцитов периферической крови
107 при преэклампсии, а также сравнительная оценка влияния тромбоцитов на
108 экспрессию поверхностных маркерных белков моноцитов при
109 физиологическом и патологическом развитии беременности.

110 2 Материалы и методы

111 Исследуемые группы: беременные женщины с диагнозом тяжелая
112 преэклампсия (срок беременности – 35-41 недель) и женщины с
113 неосложненной (физиологической) беременностью в третьем триместре (срок
114 беременности – 33-41 недель). Возраст пациенток составлял от 24 до 42 лет.
115 Проведение исследования было одобрено решением Этического комитета
116 ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О.Отта» (протокол № 114 от 14.12.201 г.).

117 Образцы периферической крови получали из локтевой вены
118 посредством пункции иглой 21G в вакутейнер с антикоагулянтом (3,8 %
119 цитрата натрия). Чтобы исключить посттравматическую агрегацию
120 тромбоцитов, первые 3-5 мл крови не использовали для анализа.
121 Лабораторные исследования начинали не позднее, чем через 20 мин после
122 взятия крови. К 100 мкл крови добавляли меченные флуорохромами
123 моноклональные антитела к следующим антигенам: CD45-PerCP, CD14-
124 AlexaFluor®700, CD41a-APC, CD16-PE-Cy7TM, CD62P-FITC, CD86-FITC, HLA-
125 DR-FITC, CD162-PE, CD11b-PE, TREM-1-PE (все антитела – BD Biosciences,
126 США) CD40-FITC, CD163-FITC, (все антитела – BioLegend, США). В качестве
127 изотипического контроля использовали неспецифические антитела, меченные
128 соответствующими флуорохромами. Инкубировали 20 мин в темноте при
129 комнатной температуре. По окончании инкубации проводили лизис
130 эритроцитов, добавляя десятикратный объем раствора BD FACSTMLysing
131 Solution (BD Biosciences, США). Пробы центрифугировали (300 g, 5 мин),
132 отбирали надосадочную жидкость и ресуспендировали осадок в 200 мкл BD

FACS™ Lysing Solution. Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson, США). Обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения FACSDiva (BD Biosciences, США). На двумерной гистограмме с координатами SSC/CD45 выделяли регион, соответствующий моноцитам, в котором анализировали 20000 событий. Для идентификации свободных моноцитов и ТМК выделенный регион анализировали на двумерной гистограмме с координатами CD14/CD41a. К свободным моноцитам относили события с фенотипом CD14⁺CD41a⁻, ТМК определяли как события с двойной положительной окраской - CD14⁺CD41a⁺. В каждой из этих популяций определяли экспрессию поверхностных антигенов с помощью специфических моноклональных антител. Для идентификации субпопуляций моноцитов, соответствующий регион на двумерной гистограмме SSC/CD45 проецировали на двумерную гистограмму с координатами CD14/CD16, где выделяли три субпопуляции моноцитов согласно принятой классификации: классические (CD14⁺⁺CD16⁻), промежуточные (CD14⁺⁺CD16⁺) и неклассические (CD14⁺CD16⁺⁺). В каждой из субпопуляций определяли свободные моноциты и ТМК по отсутствию или наличию CD41a соответственно, а также экспрессию ряда поверхностных антигенов. Измеряемые параметры: доля (%) положительно окрашенных клеток и медианная интенсивность флуоресценции (MFI). Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью прикладного пакета программы GraphPad Prism v. 8.0.1. Соответствие полученных данных нормальному распределению оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. В зависимости от результатов теста для оценки различий между группами применяли методы параметрической (t-тест) и непараметрической (тест Манна-Уитни) статистики. При сравнении фенотипических характеристик моноцитов в составе ТМК и свободных моноцитов оценку статистической значимости различий проводили с использованием парного t-теста и непараметрического критерия Уилкоксона.

3 Результаты

В периферической крови пациенток с тяжелой преэклампсией наблюдалось повышенное содержание ТМК (29,3% всей популяции моноцитов) в сравнении с пациентками, у которых беременность протекала без осложнений (17,5%) (рис. 1А). В субпопуляциях классических, промежуточных и неклассических моноцитов доля ТМК составила соответственно 17,4%, 18,3%, 13,2% (физиологическая беременность) и 29,3%, 28,1%, 17,3% (преэклампсия). Поскольку при формировании ТМК основная связь между тромбоцитами и моноцитами осуществляется за счет взаимодействия Р-селектина (CD62), высвобождаемого из альфа-гранул тромбоцита при его активации, с лигандом PSGL-1 (CD162) на поверхности моноцита, мы определяли экспрессию этих маркеров в ТМК при физиологическом и патологическом течении беременности. Хотя мы не наблюдали значимого увеличения количества CD62⁺ ТМК, достоверное увеличение значений MFI свидетельствует об активации тромбоцитов при

преэклампсии и усилении степени их взаимодействия с моноцитами в составе ТМК (рис. 1Б). Аналогичное изменение отмечалось при окраске на CD162 (рис. 1В), причем очевидно, что оно происходило благодаря увеличению количества молекул этого лиганда на поверхности моноцитов, а не за счет увеличения количества моноцитов, экспрессирующих CD162, так как в обоих случаях доля CD162⁺ ТМК составляла практически 100%.

Об активации моноцитов судили по экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС II) HLA-DR и костимуляторных молекул CD86, повышение уровня которых ассоциируется с воспалительным ответом. В обеих исследуемых группах положительная окраска на HLA-DR наблюдалась у 97% моноцитов в составе ТМК, однако у пациенток с преэклампсией значения MFI оказались выше, чем у женщин с неосложненной беременностью, что свидетельствует о более интенсивной экспрессии этого маркера и активации моноцитов при данной патологии (рис. 2А). При окраске на CD86 в этой группе наблюдалось увеличение MFI более, чем в полтора раза (рис. 2Б), а количество моноцитов, экспрессирующих эту молекулу на своей поверхности, возрастало с 30% до 53% (P=0,026)

TREM-1 (triggering receptor expressed on myeloid cells 1), экспрессируемый моноцитами и нейтрофилами, участвует в формировании воспалительного ответа, в том числе, стимулируя продукцию цитокинов и хемокинов [4]. Кроме того, этот рецептор, связываясь со своим лигандом на поверхности тромбоцитов, опосредует их взаимодействие с лейкоцитами [16]. Наше исследование показало, что при физиологической беременности 77% моноцитов в составе ТМК экспрессировали TREM-1. В группе пациенток с преэклампсией этот показатель был значительно выше и составлял 95% (p=0,026), а интенсивность флуоресценции возрастала в 1,7 раз (рис. 2В).

Если у женщин с неосложненной беременностью доля ТМК, экспрессирующих CD11b, составляла 69%, то при преэклампсии их количество возрастало до 87% (p=0,003), а значение MFI – в 1,6 раз (рис. 2Г). CD11b входит в состав полифункционального интегрина $\alpha_{\text{M}}\beta_2$ (Mac-1), который, в частности, опосредует такие функции моноцитов, как адгезия и фагоцитоз. Увеличение экспрессии CD11b моноцитами при преэклампсии может свидетельствовать об усилении их адгезионного потенциала, следствием чего является повышение вероятности тромбообразования и повреждающего действия в отношении эндотелия сосудов.

Анализ субпопуляций моноцитов показал, что повышенный уровень формирования тромбоцитарно-моноцитарных агрегатов, наблюдаемый при преэклампсии, обеспечивается за счет классических и промежуточных моноцитов, тогда как доля ТМК, образованных неклассическими моноцитами, существенно не изменялась в сравнении с неосложненной беременностью (рис. 3А). Во всех фракциях моноцитов связанное с преэклампсией изменение интенсивности экспрессии CD62P не было статистически значимым (рис. 3Б). При этом все три субпопуляции моноцитов у пациенток с преэклампсией демонстрировали усиление экспрессии CD162 (рис. 3Б) и

HLA-DR (рис. 4А). Ни в одной из субпопуляций наблюдаемое увеличение количества CD86⁺ комплексов в связи с преэклампсией не достигало статистической значимости, однако значимым было увеличение значений MFI в ТМК, образованных классическими и промежуточными моноцитами (рис. 4Б). Повышенный уровень экспрессии TREM-1 в ТМК при преэклампсии был обусловлен классическими моноцитами, тогда как в ТМК, образованных промежуточными и неклассическими моноцитами наблюдаемое увеличение уровней экспрессии этого маркера не достигало статистической значимости (рис. 4В). При окраске на CD11b в субпопуляции промежуточных моноцитов возрастала доля ТМК, экспрессирующих этот маркер, а в субпопуляции классических моноцитов усиливалась интенсивность его экспрессии (MFI) (рис. 4Г).

Для того, чтобы выяснить, индуцированы ли наблюдаемые фенотипические (и возможные функциональные) изменения в моноцитах их непосредственным взаимодействием с тромбоцитами в составе ТМК или же эти изменения вызваны другими факторами и являются характеристикой моноцитов еще до формирования тромбоцитарно-моноцитарных агрегатов, нами было проведено сравнение паттернов экспрессии поверхностных антигенов между ТМК и свободными моноцитами в одних и тех же образцах периферической крови, полученных от пациенток с неосложненной беременностью и пациенток с преэклампсией.

Анализ показал, что в обеих исследуемых группах формирование ТМК приводит к небольшому, но статистически значимому снижению уровня экспрессии CD162 (рис. 5А), что может быть связано с участием этих молекул в образовании контактов между моноцитами и тромбоцитами. Это снижение происходило в группе с физиологической беременностью и в группе с преэклампсией за счет субпопуляции классических моноцитов (рис. 5Б), которые составляют подавляющее большинство всей популяции моноцитов. В группе с физиологической беременностью взаимодействие моноцитов с тромбоцитами (формирование ТМК) приводило к снижению количества клеток, экспрессирующих маркеры активации HLA-DR и CD86, тогда как у пациенток с преэклампсией значимых изменений не было отмечено (рис. 6А, 7А). Снижение экспрессии HLA-DR при неосложненной беременности происходило во всех трех субпопуляциях моноцитов, а при преэклампсии - только в минорных субпопуляциях промежуточных и неклассических моноцитов (рис. 6Б), но эти изменения не проявлялись на уровне всей популяции моноцитов. У пациенток с физиологической беременностью уменьшение количества CD86⁺ клеток наблюдалось в субпопуляциях классических и неклассических моноцитов, тогда как у пациенток с преэклампсией значимых изменений во всех трех субпопуляциях не отмечалось (рис. 7Б).

В отношении TREM-1 тромбоциты оказывали стимулирующее воздействие: в обеих группах пациенток экспрессия этого рецептора моноцитами заметно усиливалась в результате их агрегации с тромбоцитами,

и этот эффект был обусловлен увеличением количества TREM-1-положительных моноцитов (рис. 8А). При физиологической беременности увеличение происходило за счет классических и промежуточных моноцитов, а при преэклампсии было обусловлено только классической субпопуляцией (рис. 8Б).

Взаимодействие с тромбоцитами оказывало стимулирующее воздействие и на экспрессию CD11b в моноцитах (рис. 9А), однако, в исследуемых группах в этом случае этот эффект проявлялся по-разному. У пациенток с физиологической беременностью, уровень CD11b повышался в субпопуляции классических моноцитов, и это происходило не за счет увеличения количества моноцитов, несущих на поверхности этот антиген, а, очевидно, в результате увеличения числа молекул CD11b, экспрессируемых отдельной клеткой. (рис. 9Б). У пациенток с преэклампсией фракция классических моноцитов не претерпевала существенных изменений, но возрастало количество CD11b⁺ клеток и значение MFI во фракции неклассических моноцитов (рис. 9Б).

4 Обсуждение результатов

Беременность сопровождается активацией компонентов систем гемостаза и иммунитета. Изменения активационного статуса тромбоцитов и моноцитов могут являться патогенетическим фактором ряда акушерских осложнений. В отличие от других немногочисленных исследований, посвященных изучению тромбоцитарно-моноцитарных взаимодействий при физиологическом и патологическом течении беременности, в нашем исследовании была произведена количественная оценка не только содержания ТМК, но и их поверхностного фенотипа, как в общей популяции моноцитов, так и в отдельных субпопуляциях.

Полученные нами результаты свидетельствуют о повышенном уровне тромбоцитарно-моноцитарных взаимодействий при преэклампсии, что выражается в увеличении количества гетеротипических агрегатов, образованных моноцитами и тромбоцитами, в периферической крови. В этой части наши данные согласуются с данными, полученными одной группой исследователей [25]. Противоречие с результатам, о которых сообщала другая группа исследователей, не обнаружившая значимых изменений [13], возможно, обусловлено различиями в методических подходах. Freitas и соавторы проводили предварительную фиксацию образцов крови 1% параформальдегидом [36], тогда как мы, как и Масау с соавторами [25], окрашивание специфическими антителами проводили в цельной нефиксированной крови. Проведенный нами субпопуляционный анализ показал, что фракция неклассических моноцитов обладает меньшей способностью к формированию агрегатов с тромбоцитами по сравнению с фракциями классических и промежуточных моноцитов.

Согласно нашим данным, увеличение количества ТМК при преэклампсии происходило за счет субпопуляций классических и промежуточных моноцитов, хотя повышенный уровень экспрессии молекулы CD162, осуществляющей связь моноцита с тромбоцитом, наблюдался во всех трех

субпопуляциях. Принимая во внимание усиление экспрессии CD162 свободными моноцитами при преэклампсии (неопубликованные данные), можно предположить, что аномальное количество ТМК при этой акушерской патологии обусловлено не только активацией тромбоцитов, но и активацией моноцитов за счет других факторов. На участие CD162 в формировании межклеточных связей указывает снижение экспрессии этой молекулы в ТМК по сравнению со свободными моноцитами.

Результаты определения уровней экспрессии ряда поверхностных маркеров моноцитов свидетельствуют о повышении активационного статуса моноцитов в составе ТМК при преэклампсии, что говорит о воспалительном компоненте в патогенезе этого заболевания. При этом для большинства определяемых маркеров на уровне всей популяции моноцитов мы наблюдали как увеличение количества клеток, экспрессирующих данный антиген, так и увеличение количества молекул на поверхности этих клеток. Субпопуляционный анализ выявил различия в паттернах экспрессии поверхностных маркеров. Оказалось, что повышение уровня экспрессии HLA-DR при преэклампсии происходит во всех трех фракциях моноцитов, тогда как экспрессия костимуляторной молекулы CD86 усиливалась в классических и промежуточных моноцитах. Значимые изменения экспрессии активационного маркера TREM-1 и адгезионной молекулы CD11b были отмечены только в субпопуляциях классических и промежуточных моноцитов соответственно. Таким образом, очевидно, что количественное определение ТМК и их фенотипирование следует проводить не только в общей популяции моноцитов, но и в отдельных субпопуляциях, так как изменения, происходящие в минорных фракциях моноцитов, не всегда детектируются на уровне всей популяции, что может приводить к искажениям в интерпретации роли ТМК в развитии тех или иных заболеваний, в том числе, преэклампсии.

Важным аспектом изучения межклеточных взаимодействий в норме и при патологических состояниях является выяснение вопроса о характере и направленности влияния одних клеток на другие. Применительно к ТМК это означает установление причинно-следственной связи между формированием межклеточных агрегатов и морфофункциональными изменениями тромбоцитов и моноцитов в составе этих агрегатов. Проведенное нами сравнение экспрессии некоторых поверхностных маркеров между свободными моноцитами и ТМК свидетельствует о том, что фенотипические и, вероятно, функциональные изменения моноцитов в составе ТМК, наблюдаемые при преэклампсии, могут быть обусловлены как влиянием тромбоцитов, так и другими факторами. Так свидетельствующее об активации усиление экспрессии TREM-1 и CD11b моноцитами в составе ТМК, наблюдаемое в обеих исследуемых группах пациенток, очевидно, происходит под воздействием тромбоцитов. Характер этого влияния при нормальном и патологическом развитии беременности может различаться, что видно на примере двух других маркеров активации моноцитов - HLA-DR и CD86. У пациенток с неосложненной беременностью уровни экспрессии этих молекул

в ТМК были снижены по сравнению со свободными моноцитами, тогда как у пациенток с преэклампсией различий в экспрессии HLA-DR и CD86 между моноцитами и ТМК обнаружено не было. Этот факт свидетельствует об иммуномодуляторном влиянии тромбоцитов: при нормальном течении беременности взаимодействие с тромбоцитами снижает активационный статус моноцитов. Такой эффект, выявленный в нашем исследовании, является отражением общих представлений о формировании супрессивного статуса иммунной системы при физиологической беременности. Отсутствие такого эффекта при преэклампсии обуславливает повышенный уровень активации моноцитов, что, в свою очередь, может представлять собой один из патогенетических механизмов этого заболевания. Наблюдаемое усиление экспрессии HLA-DR и CD86 моноцитами может быть вызвано провоспалительными факторами, которые продуцируются плацентой при преэклампсии [11].

Предполагается, что патофизиологические эффекты ТМК могут реализовываться тремя способами: индукция тромботических состояний, повреждение эндотелия и развитие воспаления (переключение типа иммунного ответа с Th2 на Th1). Экспрессия TREM-1 и CD11b характеризует соответственно провоспалительный и адгезионный фенотип моноцитов. По нашему мнению, индуцированное тромбоцитами повышение уровня экспрессии этих маркеров свидетельствует об усилении провоспалительных и адгезионных свойств моноцитов в составе ТМК. Можно предположить, что при преэклампсии это приводит, с одной стороны, к развитию воспалительных реакций с высвобождением провоспалительных цитокинов и хемокинов, а с другой – к повышенной адгезии моноцитов на поверхности эндотелиальных клеток с последующим повреждающим действием на эндотелий сосудов.

Повышенный уровень формирования ТМК, очевидно, является довольно общим биологическим феноменом, так как наблюдается при многих заболеваниях различного генеза. Более специфическим представляется характер экспрессии антигенных маркеров моноцитов в составе ТМК. Можно предположить, что определенное патологическое состояние, характеризуется специфическим паттерном экспрессии одной или нескольких поверхностных молекул. Выявление таких молекул стало бы заметным вкладом в диагностику того или иного заболевания, в частности, преэклампсии. Кроме того, это способствовало бы установлению патофизиологических механизмов участия моноцитов и тромбоцитарно-моноцитарных агрегатов в нарушении репродуктивных и других функций, а также выработке новых терапевтических методов их коррекции.

5 Заключение

У пациенток с преэклампсией уровень тромбоцитарно-моноцитарных комплексов в периферической крови повышен в сравнении с пациентками, имеющими неосложненную беременность. Это увеличение обусловлено субпопуляциями классических и промежуточных моноцитов. Фенотипические изменения моноцитов в составе ТМК характеризуют

активацию этих клеток и усиление их провоспалительных и адгезивных свойств. Связанные с преэклампсией изменения в экспрессии маркеров активации в разной степени затрагивают субпопуляции моноцитов.

Иммуномодуляторное влияние тромбоцитов проявляется в стимуляции экспрессии молекул TREM-1 и CD11b, характеризующих соответственно провоспалительный и адгезионный фенотип моноцитов, тогда как изменения в экспрессии других активационных маркеров CD86 и HLA-DR, очевидно, вызвано иными факторами, которые продуцируются при преэклампсии.

Формирование тромбоцитарно-моноцитарных комплексов с изменениями экспрессии поверхностных молекул как отдельных участников гетеротипических агрегатов, так и свободно циркулирующих компонентов, возможно, лежит в основе физиологических и патологических процессов, в том числе, и в механизмах репродукции.

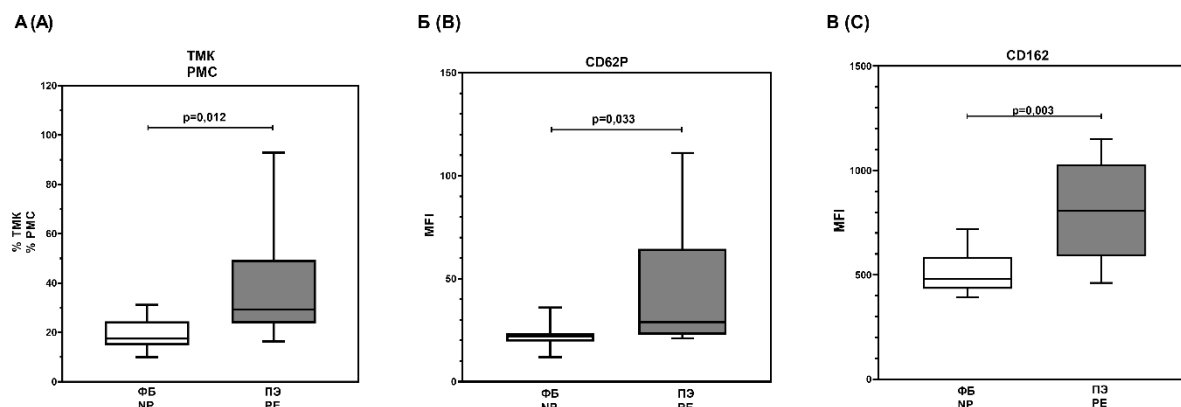
Определение специфических паттернов экспрессии поверхностных антигенных маркеров тромбоцитарно-моноцитарных комплексов может иметь диагностическое значение, а также способствовать усовершенствованию подходов к лечению преэклампсии.

Исследование выполнено на основе темы ФНИ № 122041500062-5 «Оптимизация методов предикции, профилактики и лечения «больших акушерских синдромов», а также стратегии родоразрешения у беременных из групп высокого риска, с целью улучшения акушерских и перинатальных исходов».

РИСУНКИ

Рисунок 1. Характеристика тромбоцитарно-моноцитарных комплексов в общей популяции моноцитов.

Figure 1. Characterization of platelet-monocyte complexes in total monocyte population.

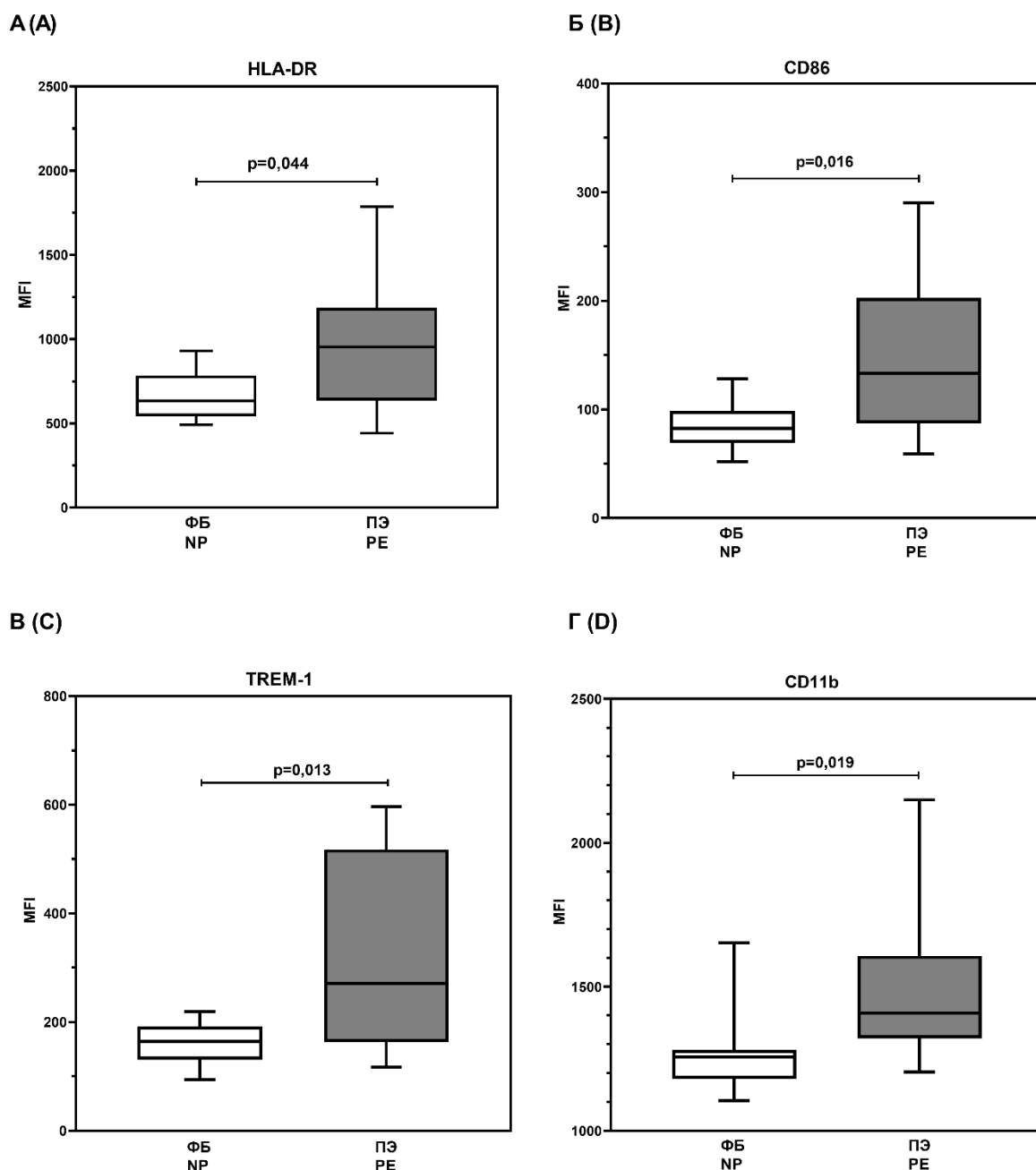


Примечание. Графики демонстрируют процентное содержание тромбоцитарно-моноцитарных комплексов относительно всех моноцитов в периферической крови (А), а также уровни экспрессии (MFI) поверхностных антигенов CD62P (Б) и CD162 (В) у пациенток с физиологической беременностью и преэклампсией. На диаграммах показаны диапазон значений, медиана, 25-й и 75-й процентиля. ФБ – физиологическая беременность, ПЭ – преэклампсия.

Note. Graphs demonstrate percentage of platelet-monocyte complexes relative to the total monocytes in the peripheral blood (A) and expression level (MFI) of surface antigens CD62P (B) and CD162 (C) in patients with normal pregnancy and preeclampsia. Plots show range, median, 25th and 75th percentile. NP – normal pregnancy, PE – preeclampsia.

Рисунок 2. Экспрессия маркеров активации тромбоцитарно-моноцитарных комплексов в общей популяции моноцитов.

Figure 2. Expression of activation markers of platelet-monocyte complexes in total monocyte population.

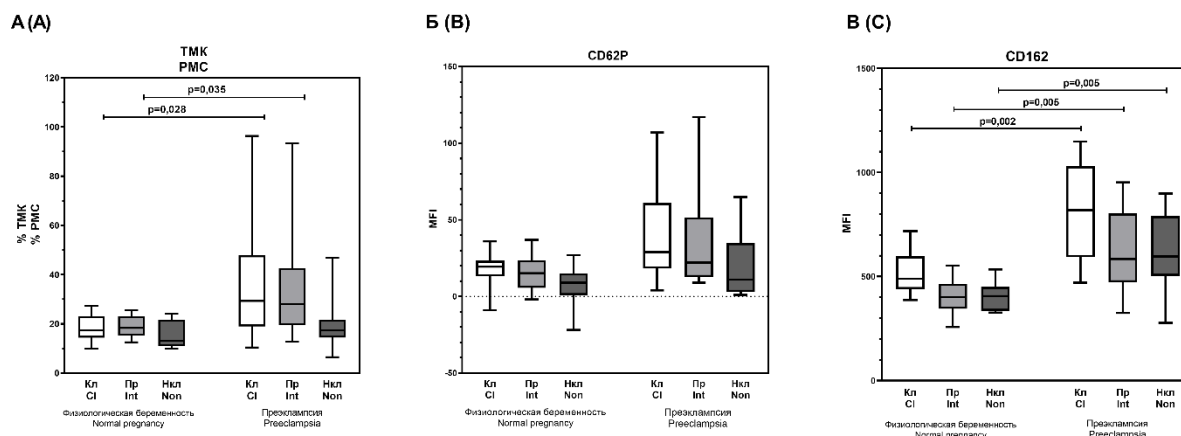


Примечание. Представлены диаграммы, демонстрирующие уровни экспрессии (MFI) поверхностных антигенов HLA-DR (А), CD86 (Б), TREM-1 (В) и CD11b (Г) в тромбоцитарно-моноцитарных комплексах периферической крови пациенток с физиологической беременностью и преэклампсией. На диаграммах показаны диапазон значений, медиана, 25-й и 75-й процентиля. ФБ – физиологическая беременность, ПЭ – преэклампсия.

Note. Diagrams demonstrate expression level (MFI) of surface antigens HLA-DR (A), CD86 (B), TREM-1 (C) and CD11b (D) in the peripheral blood of the patients with normal pregnancy and preeclampsia. Plots show range, median, 25th and 75th percentile. NP – normal pregnancy, PE – preeclampsia.

Рисунок 3. Характеристика тромбоцитарно-моноцитарных комплексов в субпопуляциях моноцитов.

Figure 3. Characterization of platelet-monocyte complexes in monocyte subsets.\

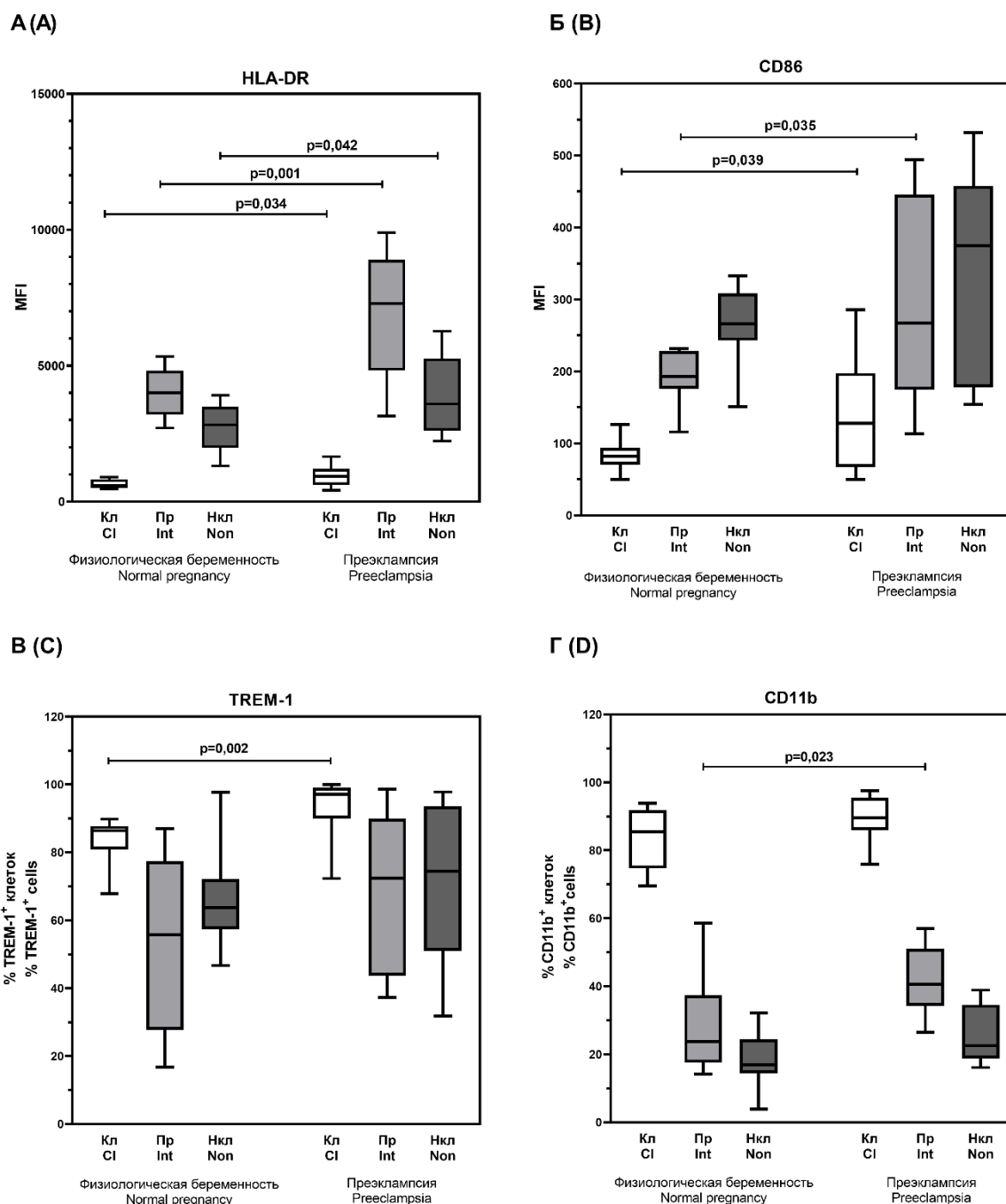


Примечание. Графики демонстрируют процентное содержание тромбоцитарно-моноцитарных комплексов (A), а также уровни экспрессии (MFI) ими поверхностных антигенов CD62P (Б) и CD162 (В) в субпопуляциях классических ($CD14^{++}CD16^{-}$), промежуточных ($CD14^{++}CD16^{+}$), и неклассических ($CD14^{+}CD16^{++}$) моноцитов у пациенток с физиологической беременностью и преэклампсией. На диаграммах показаны диапазон значений, медиана, 25-й и 75-й процентиля. Кл – классические моноциты, Пр – промежуточные моноциты, Нкл – неклассические моноциты.

Note. Graphs demonstrate percentage of platelet-monocyte complexes (A) and expression level (MFI) of surface antigens CD62P (B) and CD162 (C) in the classical ($CD14^{++}CD16^{-}$), intermediate ($CD14^{++}CD16^{+}$), and non-classical ($CD14^{+}CD16^{++}$) monocyte subsets in the patients with normal pregnancy and preeclampsia. Plots show range, median, 25th and 75th percentile. Cl – classical monocytes, Int – intermediate monocytes, Non – non-classical monocytes.

Рисунок 4. Экспрессия маркеров активации тромбоцитарно-моноцитарных комплексов в субпопуляциях моноцитов.

Figure 4. Expression of activation markers of platelet-monocyte complexes in monocyte subsets.



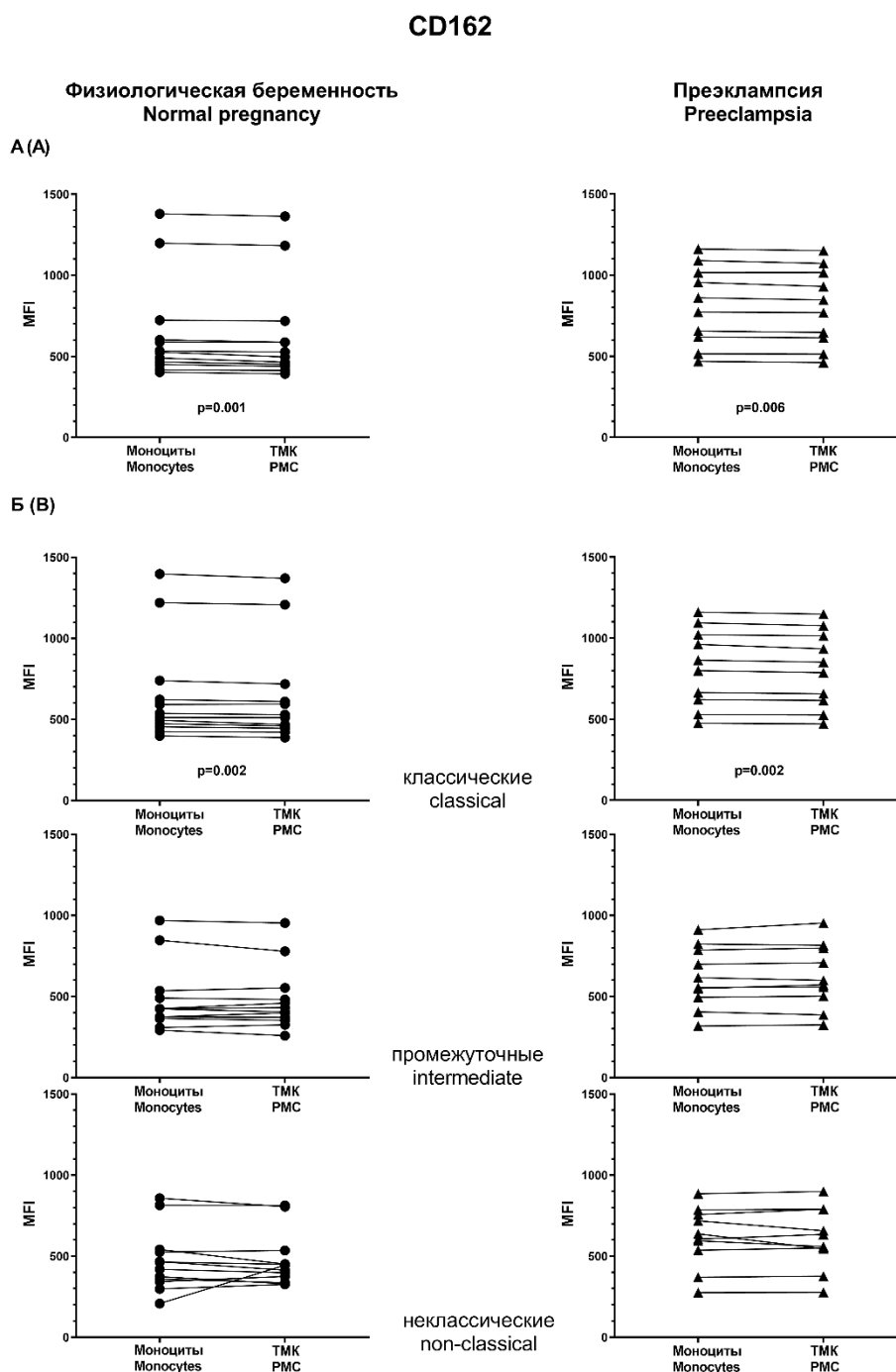
Примечание. Представлены диаграммы, демонстрирующие уровни экспрессии (MFI) поверхностных антигенов HLA-DR (А) и CD86 (Б), а также процентное содержание тромбоцитарно-моноцитарных комплексов, экспрессирующих TREM-1 (В) и CD11b (Г), в субпопуляциях классических ($CD14^{++}CD16^{-}$), промежуточных ($CD14^{++}CD16^{+}$), и неклассических ($CD14^{+}CD16^{++}$) моноцитов у пациенток с физиологической беременностью и

преэклампсией. На диаграммах показаны диапазон значений, медиана, 25-й и 75-й процентиля. Кл – классические моноциты, Пр – промежуточные моноциты, Нкл – неклассические моноциты.

Note. Diagrams demonstrate expression level (MFI) of surface antigens HLA-DR (A) and CD86 (B), and percentage of platelet-monocyte complexes expressing TREM-1 (C) or CD11b (D) positive in the classical ($CD14^{++}CD16^{-}$), intermediate ($CD14^{++}CD16^{+}$), and non-classical ($CD14^{+}CD16^{++}$) monocyte subsets in the patients with normal pregnancy and preeclampsia. Plots show range, median, 25th and 75th percentile. Cl – classical monocytes, Int – intermediate monocytes, Non – non-classical monocytes.

Рисунок 5. Экспрессия CD162 в моноцитах и тромбоцитарно-моноцитарных комплексах.

Figure 5. CD162 expression in monocytes and platelet-monocyte complexes.

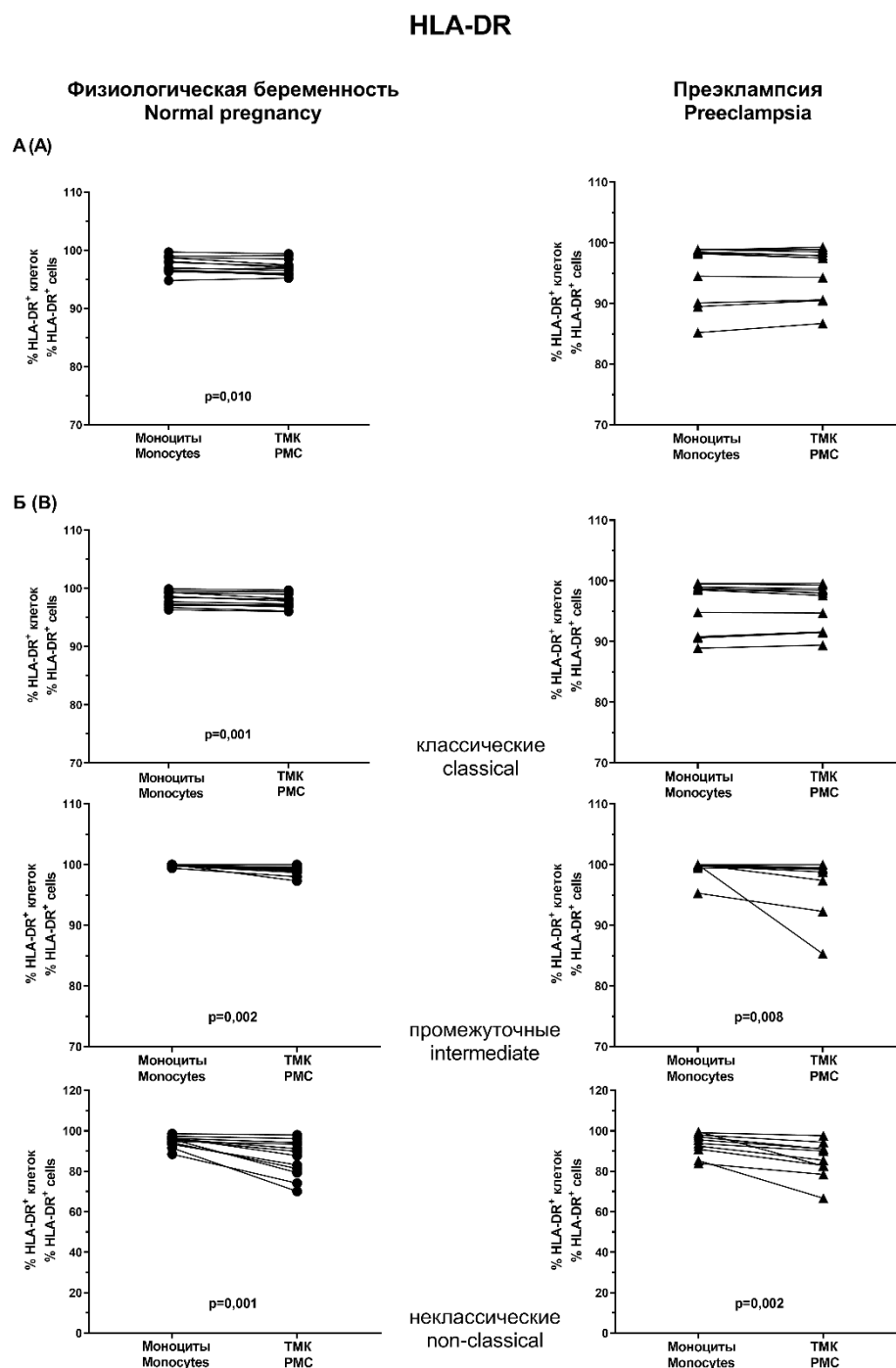


Примечание. Представлены графики попарного сравнения уровней экспрессии CD162 (MFI) на поверхности свободных моноцитов и моноцитов в составе тромбоцитарно-моноцитарных комплексов у пациенток с физиологической беременностью и преэклампсией. А – общая популяция моноцитов. Б – субпопуляции моноцитов.

Note. Graphs demonstrate pairwise comparison of CD162 expression levels (MFI) on the surface of free and platelet-associated monocytes in the patients with normal pregnancy and preeclampsia. A – total monocytes, B – monocyte subsets.

Рисунок 6. Экспрессия HLA-DR в моноцитах и тромбоцитарно-моноцитарных комплексах.

Figure 6. HLA-DR expression in monocytes and platelet-monocyte complexes.



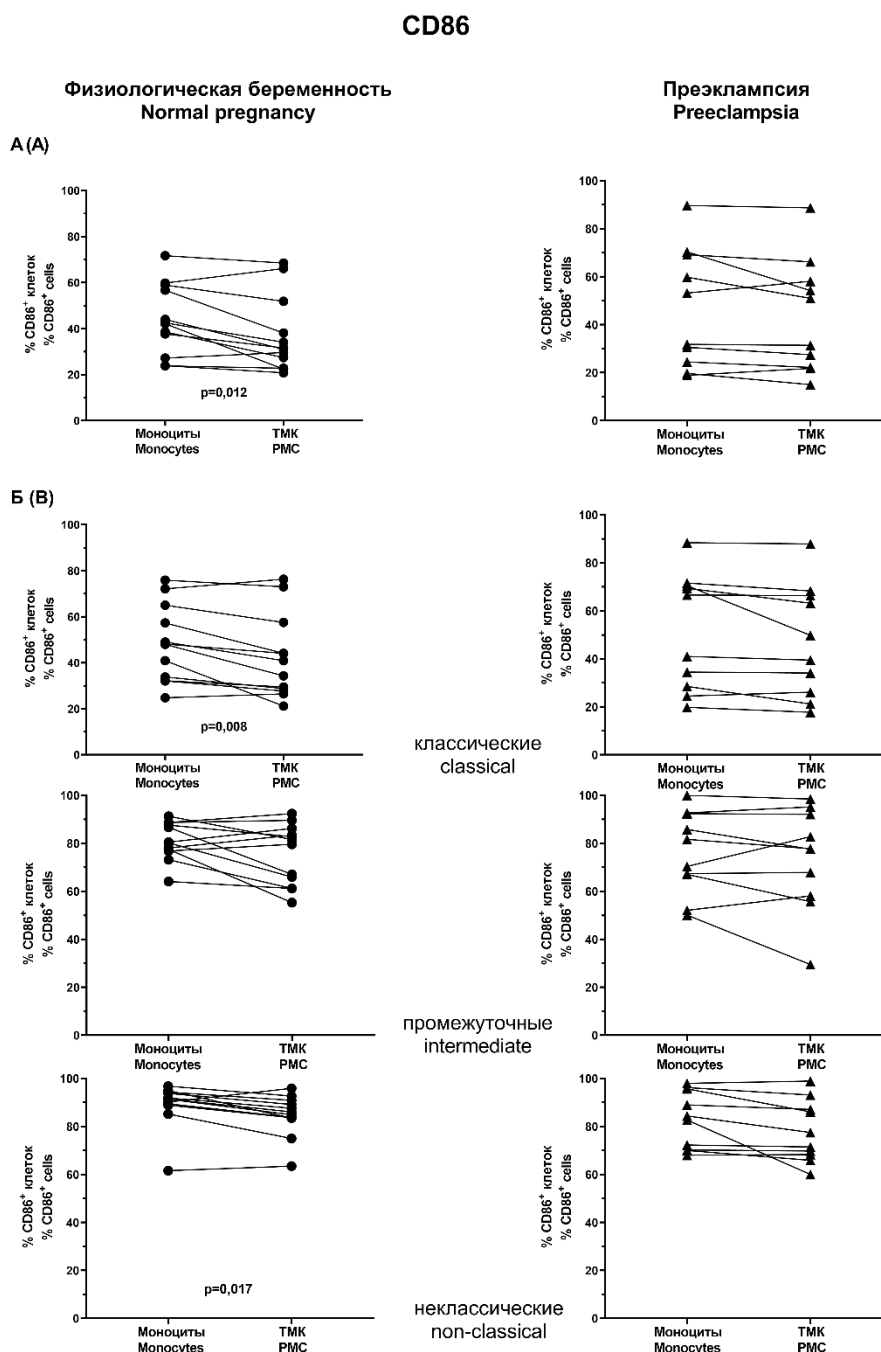
Примечание. Представлены графики попарного сравнения уровней экспрессии HLA-DR (доля HLA-DR⁺ клеток) на поверхности свободных

моноцитов и моноцитов в составе тромбоцитарно-моноцитарных комплексов у пациенток с физиологической беременностью и преэклампсией. А – общая популяция моноцитов. Б – субпопуляции моноцитов.

Note. Graphs demonstrate pairwise comparison of HLA-DR expression levels (percentage of HLA-DR⁺ cells) on the surface of free and platelet-associated monocytes in the patients with normal pregnancy and preeclampsia. A – total monocytes, B – monocyte subsets.

Рисунок 7. Экспрессия CD86 в моноцитах и тромбоцитарно-моноцитарных комплексах.

Figure 7. CD86 expression in monocytes and platelet-monocyte complexes.



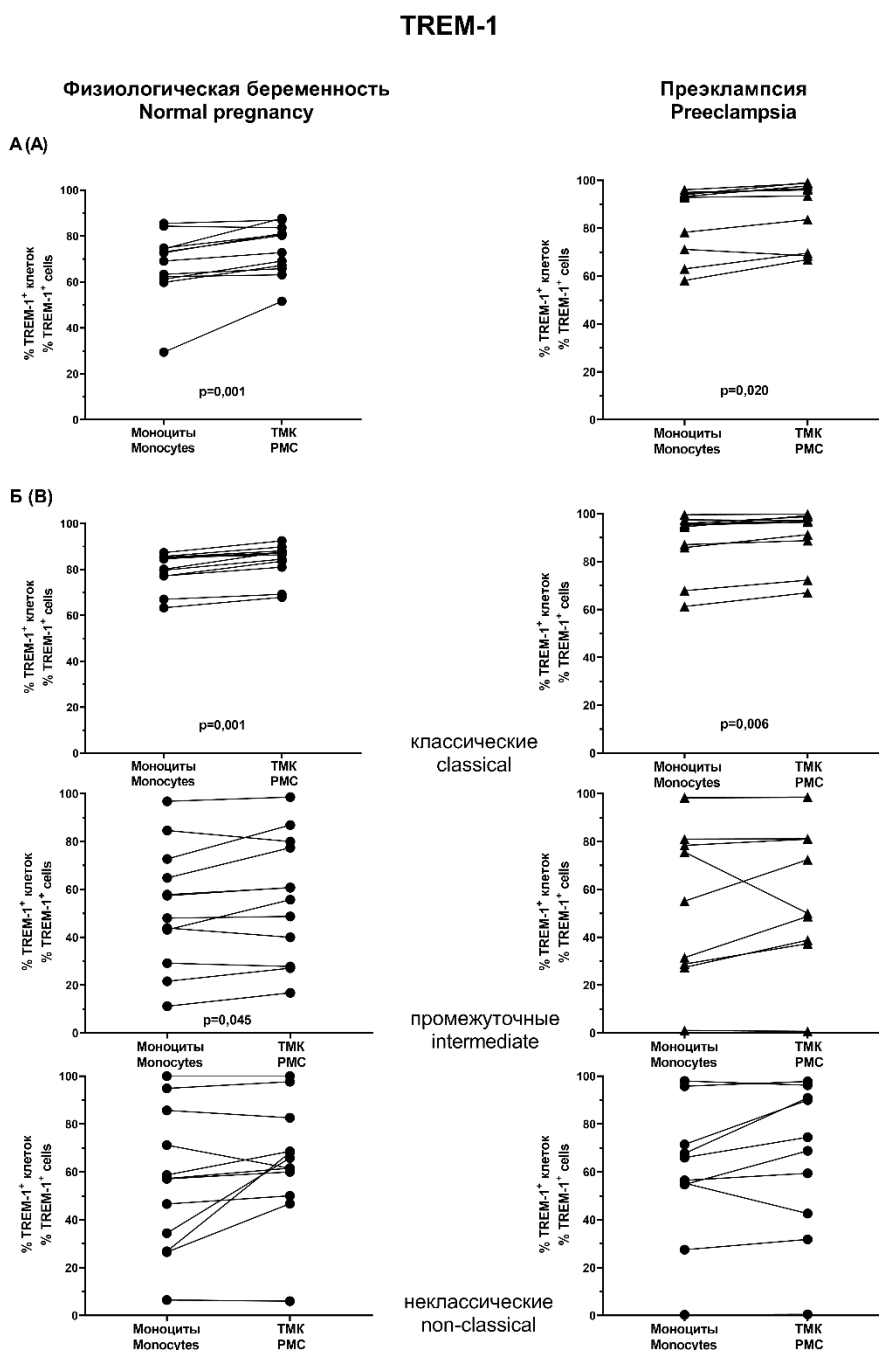
Примечание. Представлены графики попарного сравнения уровней экспрессии CD86 (доля CD86⁺ клеток) на поверхности свободных моноцитов и моноцитов в составе тромбоцитарно-моноцитарных комплексов у пациенток с физиологической беременностью и преэклампсией. А – общая популяция моноцитов. Б – субпопуляции моноцитов.

Note. Graphs demonstrate pairwise comparison of CD86 expression levels (percentage of CD86⁺ cells) on the surface of free and platelet-associated monocytes

in the patients with normal pregnancy and preeclampsia. A – total monocytes, B – monocyte subsets.

Рисунок 8. Экспрессия TREM-1 в моноцитах и тромбоцитарно-моноцитарных комплексах.

Figure 8. TREM-1 expression in monocytes and platelet-monocyte complexes.

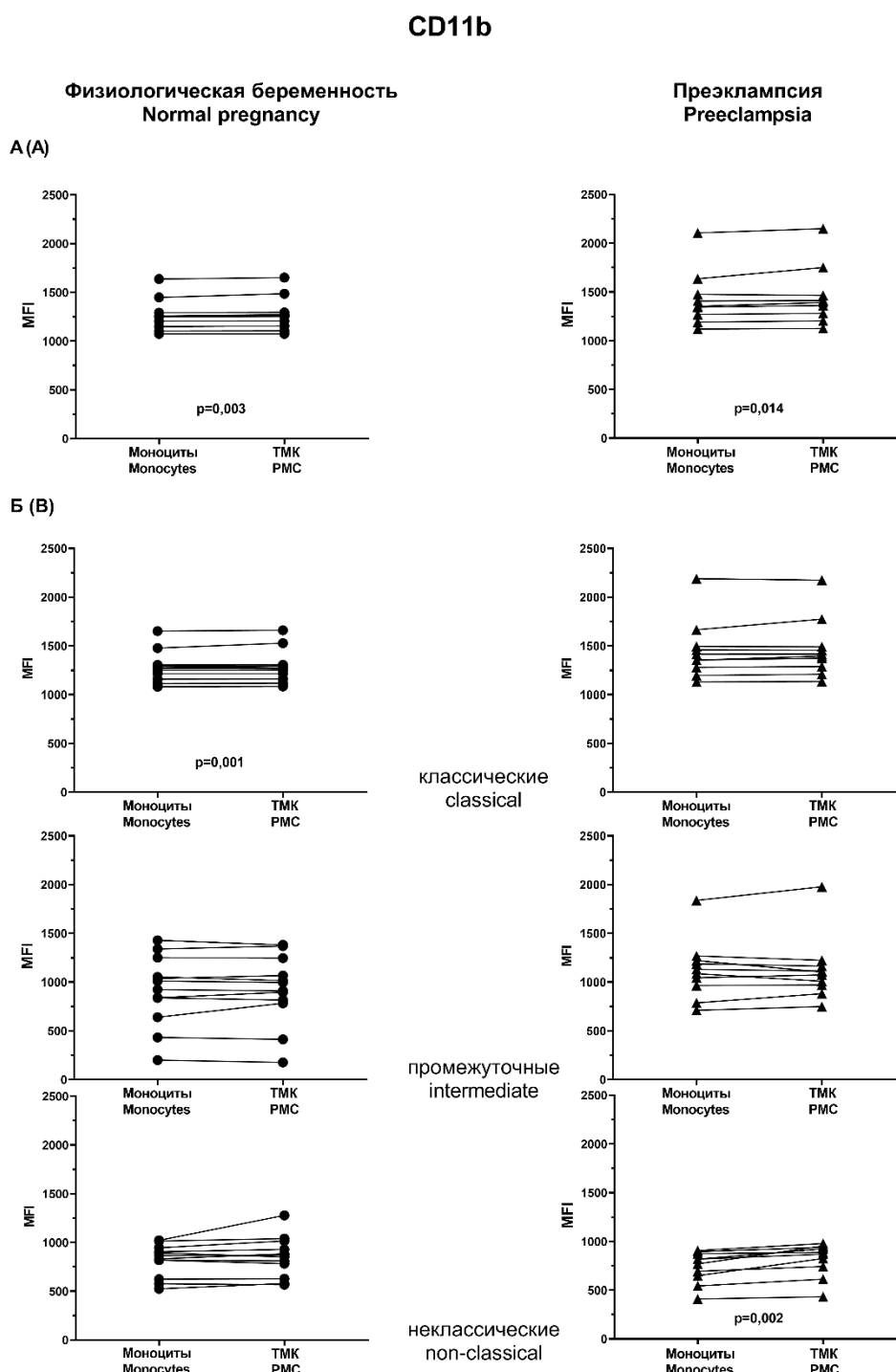


Примечание. Представлены графики попарного сравнения уровней экспрессии TREM-1 (доля TREM-1⁺ клеток) на поверхности свободных моноцитов и моноцитов в составе тромбоцитарно-моноцитарных комплексов у пациенток с физиологической беременностью и преэклампсией. А – общая популяция моноцитов. Б – субпопуляции моноцитов.

Note. Graphs demonstrate pairwise comparison of TREM-1 expression levels (percentage of TREM-1⁺ cells) on the surface of free and platelet-associated monocytes in the patients with normal pregnancy and preeclampsia. A – total monocytes, B – monocyte subsets.

Рисунок 9. Экспрессия CD11b в моноцитах и тромбоцитарно-моноцитарных комплексах.

Figure 9. CD11b expression in monocytes and platelet-monocyte complexes.



Примечание. Представлены графики попарного сравнения уровней экспрессии CD11b (MFI) на поверхности свободных моноцитов и моноцитов в составе тромбоцитарно-моноцитарных комплексов у пациенток с физиологической беременностью и преэклампсией. А – общая популяция моноцитов. Б – субпопуляции моноцитов.

Note. Graphs demonstrate pairwise comparison of CD11b expression levels (MFI) on the surface of free and platelet-associated monocytes in the patients with normal pregnancy and preeclampsia. A – total monocytes, B – monocyte subsets.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Павлов Олег Владимирович, доктор биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия;
адрес: 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3;
телефон: 8(812) 328-98-50;
факс: 8(812) 323-75-45;
e-mail: ovpavlov@hotmail.com

Pavlov Oleg, PhD, MD (Biology), Senior Research Associate, Department of Immunology and Cell Interaction, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation;
telephone: 8(812) 328-98-50;
fax: 8(812) 323-75-45;
e-mail: ovpavlov@hotmail.com

Блок 2. Информация об авторах

Чепанов Сергей Владимирович - кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия;

Chepanov Sergei, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Department of Immunology and Cell Interaction, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation;

Перетятко Илья Сергеевич - врач акушер-гинеколог родильного отделения ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия;

Peretyatko Ilya, obstetrician-gynecologist, Maternity Department, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation;

Мозговая Елена Витальевна - доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела акушерства и перинатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия;

Mozgovaya Elena, PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Department of Obstetrics and Perinatology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation;

Коган Игорь Юрьевич - доктор медицинских наук, чл.-корр. РАН, профессор, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»;

Kogan Igor, PhD, MD (Medicine), corresponding member Russian Academy of Sciences, Professor, Director, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation;

Сельков Сергей Алексеевич - доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий отделом иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Selkov Sergei, PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Head, Department of Immunology and Cell Interaction, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine; Professor, Department of Immunology, I.P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

Блок 3. Метаданные статьи

ТРОМБОЦИТАРНО-МОНОЦИТАРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ И ИХ
ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРЕЭКЛАМПСИИ
PLATELET-MONOCYTE COMPLEXES AND THEIR POTENTIAL ROLE IN
THE PATHOGENESIS OF PREECLAMPSIA

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ТРОМБОЦИТАРНО-МОНОЦИТАРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ
PLATELET-MONOCYTE COMPLEXES

Ключевые слова: беременность, преэклампсия, тромбоциты, моноциты, тромбоцитарно-моноцитарные комплексы, антигенный фенотип, иммуномодуляция.

Keywords: pregnancy, preeclampsia, platelets, monocytes, platelet-monocyte complexes, antigenic phenotype, immunomodulation.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 10,

Количество таблиц – 0,

Количество рисунков – 9.

30.12.2023

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 2. Тромбоциты как участники иммунных реакций // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21, № 1. – С. 9-20.	Serebryanaya N.B., Shanin S.N., Fomicheva E.E., Yakutseni P.P. Blood platelets as activators and regulators of inflammatory and immune reactions. Part 2. Thrombocytes as participants of immune reactions. <i>Meditinskaya Immunologiya = Medical Immunology, 2019, Vol. 21, no. 1, pp. 9-20.</i>	DOI: 10.15789/1563-0625-2019-1-9-20
2	Allen N., Barrett T.J., Guo Y., Nardi M., Ramkhelawon B., Rockman C.B., Hochman J.S., Berger J.S. Circulating monocyte-platelet aggregates are a robust	-	DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.12.029

	marker of platelet activity in cardiovascular disease. Atherosclerosis, 2019, Vol. 282, pp. 11-18.		
3	Aleva F.E., Temba G., de Mast Q., Simons S.O., de Groot P.G., Heijdra Y.F., van der Ven A. Increased platelet-monocyte interaction in stable COPD in the absence of platelet hyper-reactivity. Respiration, 2018, Vol. 95, no. 1, pp. 35-43.	-	DOI: 10.1159/000480457
4	Arts R.J., Joosten L.A., van der Meer J.W., Netea M.G. TREM-1: intracellular signaling pathways and interaction with pattern recognition receptors. J. Leukoc. Biol., 2013, Vol. 93, no. 1, pp. 209-215.	-	DOI: 10.1189/jlb.0312145
5	Ashman N., Macey M.G., Fan S.L., Azam U., Yaqoob M.M. Increased platelet-monocyte aggregates and cardiovascular disease in end-stage renal failure patients. Nephrol. Dial. Transplant., 2003, Vol. 18, no. 10, pp. 2088-2096.		DOI: 10.1093/ndt/gfg348
6	Brambilla M., Canzano P., Becchetti A., Tremoli E., Camera M. Alterations in platelets during SARS-CoV-2 infection.		DOI: 10.1080/09537104.2021.1962519

	Platelets, 2022, Vol. 33, no. 2, pp. 192-199.		
7	Brosens I., Puttemans P., Benagiano G. Placental bed research: I. The placental bed: from spiral arteries remodeling to the great obstetrical syndromes. Am. J. Obstet. Gynecol., 2019, Vol. 221, no. 2, pp. 437-456.		DOI: 10.1016/j.ajog.2019.05.044
8	Di Renzo G.C. The great obstetrical syndromes. J. Matern. Fetal Neonatal Med., 2009, Vol. 22, no. 8, pp. 633-635.		DOI: 10.1080/14767050902866804
9	Elalamy I., Chakroun T., Gerotziafas G.T., Petropoulou A., Robert F., Karroum A., Elgrably F., Samama M.M., Hatmi M. Circulating platelet-leukocyte aggregates: a marker of microvascular injury in diabetic patients. Thromb. Res., 2008, Vol. 121, no. 6, pp. 843-848.		DOI: 10.1016/j.thromres.2007.07.016
10	Faas M.M., Spaans F., De Vos P. Monocytes and macrophages in pregnancy and pre-eclampsia. Immunol., 2014, Vol. 5, pp. 298.		DOI: 10.3389/fimmu.2014.00298
11	Faas M.M., de Vos P. Maternal monocytes in pregnancy and preeclampsia in humans		DOI: 10.1016/j.jri.2016.06.009

	and in rats. J. Reprod. Immunol., 2017, Vol. 119, pp. 91-97.		
12	Forstner D., Guettler J., Gauster M. Changes in maternal platelet physiology during gestation and their interaction with trophoblasts. International Journal of Molecular Sciences, 2021, Vol. 22, no. 19, pp. e10732.		DOI: 10.3390/ijms221910732
13	Freitas L.G., Sathler-Avelar R., Vitelli-Avelar D.M., Bela S.R., Teixeira-Carvalho A., Carvalho M., Martins-Filho O.A., Dusse L.M. Preeclampsia: integrated network model of platelet biomarkers interaction as a tool to evaluate the hemostatic/immunological interface. Clin. Chim. Acta, 2014, Vol. 436, pp. 193-201.		DOI: 10.1016/j.cca.2014.05.020
14	Graff J., Harder S., Wahl O., Scheuermann E.H., Gossmann J. Anti-inflammatory effects of clopidogrel intake in renal transplant patients: effects on platelet-leukocyte interactions, platelet CD40 ligand expression, and proinflammatory biomarkers. Clin. Pharmacol. Ther., 2005, Vol. 78, no. 5, pp. 468-476.		DOI: 10.1016/j.clpt.2005.08.002

15	Harding S.A., Sommerfield A.J., Sarma J., Twomey P.J., Newby D.E., Frier B.M., Fox K.A. Increased CD40 ligand and platelet-monocyte aggregates in patients with type 1 diabetes mellitus. <i>Atherosclerosis</i> , 2004, Vol. 176, no. 2, pp. 321-325.		DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2004.05.008.
16	Haselmayer P., Grosse-Hovest L., von Landenberg P., Schild H., Radsak M.P. TREM-1 ligand expression on platelets enhances neutrophil activation. <i>Blood</i> , 2007, Vol. 110, no. 3, pp. 1029-1035.		DOI: 10.1182/blood-2007-01-069195.
17	Hellgren M. Hemostasis during normal pregnancy and puerperium. <i>Semin. Thromb. Hemost.</i> , 2003, Vol. 29, no. 2, pp.125-130.		DOI: 10.1055/s-2003-38897
18	Hottz E.D., Azevedo-Quintanilha I.G., Palhinha L., Teixeira L., Barreto E.A., Pao C.R.R., Righy C., Franco S., Souza T.M.L., Kurtz P., Bozza F.A., Bozza P.T. Platelet activation and platelet-monocyte aggregate formation trigger tissue factor expression in patients with severe COVID-19. <i>Blood</i> , 2020, Vol. 136, no. 11, pp. 1330-1341.		DOI: 10.1182/blood.2020007252

19	Hottz E.D., Medeiros-de-Moraes I.M., Vieira-de-Abreu A., de Assis E.F., Vals-de-Souza R., Castro-Faria-Neto H.C., Weyrich A.S., Zimmerman G.A., Bozza F.A., Bozza P.T. Platelet activation and apoptosis modulate monocyte inflammatory responses in dengue. J. Immunol., 2014, Vol. 193, no. 4, pp. 1864-1872.		DOI: 10.4049/jimmunol.1400091
20	Hottz E.D., Quirino-Teixeira A.C., Merij L.B., Pinheiro M.B.M., Rozini S.V., Bozza F.A., Bozza P.T. Platelet-leukocyte interactions in the pathogenesis of viral infections. Platelets, 2022, Vol. 33, no. 2, pp. 200-207.		DOI: 10.1080/09537104.2021.1952179.
21	Ishikawa T., Shimizu M., Kohara S., Takizawa S., Kitagawa Y., Takagi S. Appearance of WBC-platelet complex in acute ischemic stroke, predominantly in atherothrombotic infarction. J. Atheroscler. Thromb., 2012, Vol. 19, no. 5, pp. 494-501.		DOI: 10.5551/jat.10637
22	Kullaya V., van der Ven A., Mpagama S., Mmbaga B.T., de Groot P., Kibiki G., de Mast Q. Platelet-monocyte interaction in		DOI: 10.1016/j.tube.2018.05.002

	Mycobacterium tuberculosis infection. Tuberculosis, 2018, Vol. 111, pp. 86-93.		
23	Liang H., Duan Z., Li D., Li D., Wang Z., Ren L., Shen T., Shao Y. Higher levels of circulating monocyte-platelet aggregates are correlated with viremia and increased sCD163 levels in HIV-1 infection. Cell. Mol. Immunol., 2015, Vol. 12, no. 4, pp. 435-443.		DOI: 10.1038/cmi.2014.66
24	Loguinova M., Pinegina N., Kogan V., Vagida M., Arakelyan A., Shpektor A., Margolis L., Vasilieva E. Monocytes of different subsets in complexes with platelets in patients with myocardial infarction. Thromb. Haemost., 2018, Vol. 118, no. 11, pp. 1969-1981.		DOI: 10.1055/s-0038-1673342
25	Macey M.G., Bevan S., Alam S., Verghese L., Agrawal S., Beski S., Thuraisingham R., MacCallum P.K. Platelet activation and endogenous thrombin potential in pre-eclampsia. Thromb. Res., 2010, Vol. 125, no. 3, pp. e76-e81.		DOI: 10.1016/j.thromres.2009.09.013
26	Maclay J.D., McAllister D.A., Johnston S., Raftis J., McGuinness C., Deans A.,		DOI: 10.1136/thx.2010.157529

	Newby D.E., Mills N.L., MacNee W. Increased platelet activation in patients with stable and acute exacerbation of COPD. Thorax, 2011, Vol. 66, no. 9, pp. 769-774.		
27	Major H.D., Campbell R.A., Silver R.M., Branch D.W., Weyrich A.S. Synthesis of sFlt-1 by platelet-monocyte aggregates contributes to the pathogenesis of preeclampsia. Am. J. Obstet. Gynecol., 2014, Vol. 210, no. 6, pp. 547.e1-e7.		DOI: 10.1016/j.ajog.2014.01.024
28	Marquardt L., Anders C., Buggle F., Palm F., Hellstern P., Grau A.J. Leukocyte-platelet aggregates in acute and subacute ischemic stroke. Cerebrovasc. Dis., 2009, Vol. 28, no. 3, pp. 276-282.		DOI: 10.1159/000228710
29	Nieswandt B., Kleinschnitz C., Stoll G. Ischaemic stroke: a thrombo-inflammatory disease? J. Physiol. (Lond), 2011, Vol. 589, no. 17, pp. 4115-4123.		DOI: 10.1113/jphysiol.2011.212886
30	Nirupama R., Divyashree S., Janhavi P., Muthukumar S.P., Ravindra P.V. Preeclampsia: Pathophysiology and management. J.Gynecol. Obstet.		DOI: 10.1016/j.jogoh.2020.101975

	Hum.Reprod., 2021, Vol. 50, no. 2, pp. 101975.		
31	Ozanska A., Szymczak D., Rybka J. Pattern of human monocyte subpopulations in health and disease. Scand. J. Immunol., 2020, Vol. 92, no.1, pp. e12883.		DOI: 10.1111/sji.12883
32	Romero R. Prenatal medicine: the child is the father of the man. 1996. J. Matern. Fetal Neonatal Med., 2009, Vol. 22, no. 8, pp. 636-639.		DOI: 10.1080/14767050902784171
33	Rondina M.T., Brewster B., Grissom C.K., Zimmerman G.A., Kastendieck D.H., Harris E.S., Weyrich A.S. In vivo platelet activation in critically ill patients with primary 2009 influenza A(H1N1). Chest, 2012, Vol. 141, no. 6, pp. 1490-1495.		DOI: 10.1378/chest.11-2860
34	Sayed D., Amin N.F., Galal G.M. Monocyte-platelet aggregates and platelet micro-particles in patients with post-hepatic liver cirrhosis. Thromb. Res., 2010, Vol. 125, no. 5, pp. e228-e233.		DOI: 10.1016/j.thromres.2009.12.002
35	Schrottmaier W.C., Kral J.B., Badrnya S., Assinger A. Aspirin and P2Y ₁₂ Inhibitors		DOI: 10.1160/TH14-11-0943

	in platelet-mediated activation of neutrophils and monocytes. <i>Thromb. Haemost.</i> , 2015, Vol. 114, no. 3, pp. 478-489.		
36	Shoji T., Koyama H., Fukumoto S., Maeno T., Yokoyama H., Shinohara K., Emoto M., Shoji T., Inaba M., Nishizawa Y. Platelet-monocyte aggregates are independently associated with occurrence of carotid plaques in type 2 diabetic patients. <i>J. Atheroscler. Thromb.</i> , 2005, Vol. 12, no. 6, pp. 344-352.		DOI: 10.5551/jat.12.344
37	Su X., Zhao W. Platelet aggregation in normal pregnancy. <i>Clin. Chim. Acta</i> , 2022, Vol. 536, pp. 94-97.		DOI: 10.1016/j.cca.2022.09.016
38	Szklanna P.B., Parsons M.E., Wynne K., O'Connor H., Egan K., Allen S., Ni Ainle F., Maguire P. B. The platelet releasate is altered in human pregnancy. <i>Proteomics Clin. Appl.</i> , 2019, Vol. 13, no. 3, pp. e1800162.		DOI: 10.1002/prca.201800162
39	Tao L., Changfu W., Linyun L., Bing M., Xiaohui H. Correlations of platelet-leukocyte aggregates with P-selectin S290N and P-selectin glycoprotein ligand-		DOI: 10.1016/j.jns.2016.05.046

	1 M62I genetic polymorphisms in patients with acute ischemic stroke. J. Neurol. Sci., 2016, Vol. 367, pp. 95-100.		
40	Taus F., Salvagno G., Cane S., Fava C., Mazzaferri F., Carrara E., Petrova V., Barouni R.M., Dima F., Dalbeni A., Romano S., Poli G., Benati M., De Nitto S., Mansueto G., Iezzi M., Tacconelli E., Lippi G., Bronte V., Minuz P. Platelets promote thromboinflammation in SARS-CoV-2 pneumonia. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2020, Vol. 40, no. 12, pp. 2975-2989.		DOI: 10.1161/ATVBAHA.120.315175
41	Thomas M.R., Storey R.F. The role of platelets in inflammation. Thromb. Haemost., 2015, Vol. 114, no. 3, pp. 449-458.		DOI: 10.1160/TH14-12-1067
42	True H., Blanton M., Sureshchandra S., Messaoudi I. Monocytes and macrophages in pregnancy: The good, the bad, and the ugly. Immunological Reviews, 2022, Vol. 308, no. 1, pp. 77-92.		DOI: 10.1111/imr.13080
43	Wu Q., Ren J., Hu D., Wu X., Li G., Wang G., Gu G., Chen J., Li R., Li Y., Hong Z., Ren H., Zhao Y., Li J. Monocyte subsets		DOI: 10.3109/1354750X.2016.1160290

	and monocyte-platelet aggregates: implications in predicting septic mortality among surgical critical illness patients. Biomarkers, 2016, Vol. 21, no. 6, pp. 509-516.		
44	Yang S., Huang X., Liao J., Li Q., Chen S., Liu C., Ling L., Zhou J. Platelet-leukocyte aggregates - a predictor for acute kidney injury after cardiac surgery. Ren. Fail., 2021, Vol. 43, no. 1, pp. 1155-1162.		DOI: 10.1080/0886022X.2021.1948864
45	Zahrán A.M., El-Badawy O., Mohamad I.L., Tamer D.M., Abdel-Aziz S.M., Elsayh K.I. Platelet activation and platelet-leukocyte aggregates in type I diabetes mellitus. Clin. Appl. Thromb. Hemost., 2018, Vol. 24, no. 9_suppl, pp. 230S-239S.		DOI: 10.1177/1076029618805861
46	Zhou X., Liu X.L., Ji W.J., Liu J.X., Guo Z.Z., Ren D., Ma Y.Q., Zeng S., Xu Z.W., Li H.X., Wang P.P., Zhang Z., Li Y.M., Benefield B.C., Zawada A.M., Thorp E.B., Lee D.C., Heine G.H. The kinetics of circulating monocyte subsets and monocyte-platelet aggregates in the acute		DOI: 10.1097/MD.0000000000003466

	phase of ST-elevation myocardial infarction: associations with 2-year cardiovascular events. Medicine (Baltimore), 2016, Vol. 95, no. 18, pp. e3466.		
47	Ziegler-Heitbrock L., Ancuta P., Crowe S., Dalod M., Grau V., Hart D. N., Leenen P. J., Liu Y. J., MacPherson G., Randolph G. J., Scherberich J., Schmitz J., Shortman K., Sozzani S., Strobl H., Zembala M., Austyn J. M., Lutz M. B. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. Blood, 2010, Vol. 116, no. 16, pp. e74-e80.		DOI: 10.1182/blood-2010-02-258558