10.15789/1563-0625-COT-3193

ОСОБЕННОСТИ АНТИГЕННОГО ФЕНОТИПА МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОК С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Павлов О. В. [1],
Корнюшина Е. А. [1],
Сельков С. А. [1]

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

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-COT-3193

CHARACTERIZATION OF THE ANTIGENIC PHENOTYPE OF MONOCYTES IN THE PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH RECURRECNT PREGNANCY LOSS

Pavlov O. V. [a],
Kornyushina E. A. [a],
Selkov S. A. [a]

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

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-COT-3193

Резюме

Привычное невынашивание беременности представляет собой существенную клиническую проблему, которая затрагивает 1-5% популяции, при этом в более чем половине случаев причина преждевременной потери беременности остается неизвестной. Изменения морфофункциональных свойств моноцитов могут являться факторами, приводящим к различным осложнениям беременности, в частности, к невынашиванию. Однако, роль моноцитов в патогенезе привычного невынашивания недостаточно изучена. Целью исследования было определение количественных изменений в содержании и фенотипических характеристиках свободных (не связанных с тромбоцитами) моноцитов на уровне всей популяции и отдельных субпопуляций моноцитов периферической крови при привычном невынашивании беременности в сравнении с неосложненной беременностью. Исследуемые группы составили женщины в возрасте 24-42 года с диагнозом привычный выкидыш с текущей беременностью сроком 6-12 недель и женщины с неосложненной (физиологической) беременностью (7-12 недель). В общей популяции и субпопуляциях моноцитов периферической крови пациенток методами проточной цитофлориметрии определяли содержание моноцитов и уровни экспрессии поверхностных антигенов: CD11b, CD86, CD162, HLA-DR, TREM-1. Установлено, что при привычном невынашивании беременности доля свободных моноцитов понижена (74,6%) в сравнении с беременностью, протекающей без осложнений (83,4%), и это изменение происходит во всех трех субпопуляциях моноцитов: классических, промежуточных и неклассических. При этом на уровне общей популяции моноцитов наблюдалось снижение уровня экспрессии HLA-DR и повышение уровня экспрессии CD11b, обусловленные фракцией классических моноцитов, тогда как экспрессия CD162, CD86 и TREM-1 существеннно не изменялась. Субпопуляции моноцитов вносили различный вклад в изменение уровней экспрессии активационных маркеров, связанное с привычным невынашиванием, и эти изменения не всегда проявлялись на уровне всей популяции моноцитов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что привычное невынашивание беременности сопровождается уменьшением содержания свободных моноцитов в периферической крови и изменениями антигенного фенотипа моноцитов, характеризующими ослабление провоспалительных свойств и усиление адгезионных свойств этих клеток. Эти изменения могут лежать в основе патофизиологических процессов, приводящих к преждевременному прерыванию беременности ранних сроков. Определение паттернов экспрессии активационных маркеров, характерных для конкретной акушерской патологии способствует не только выявлению патофизиологических механизмов репродуктивных нарушений, но и совершенствованию методов их диагностики и выработке патогенетически обоснованных способов терапии.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-COT-3193

Ключевые слова: беременность, привычное невынашивание беременности, моноциты, субпопуляции моноцитов, маркеры активации, провоспалительный фенотип, адгезионный фенотип.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-COT-3193

Abstract

Recurrent pregnancy loss is a significant clinical problem affecting 1-5% of the population, while in more than half of the cases the cause of premature loss of pregnancy remains unknown. Changes in the morphofunctional properties of monocytes can be factors leading to various pregnancy complications, in particular, to miscarriage. However, the role of monocytes in the pathogenesis of recurrent pregnancy loss has not been sufficiently studied. The aim of the study was to determine the quantitative changes in the content and antigenic phenotype of platelet-free (not bound to platelets) monocytes at the level of the entire population and individual subpopulations of peripheral blood monocytes in recurrent miscarriage compared to uncomplicated pregnancy. The study groups included 6-12-week pregnant women aged 24-42 years diagnosed with recurrent pregnancy loss and women with uncomplicated pregnancy (7-12 weeks). Monocyte content and expression of CD11b, CD86, CD162, HLA-DR, TREM-1 were determined in the total population and subpopulations of peripheral blood monocytes using cytofluorimetric analysis. It was found that the proportion of platelet-free monocytes decreased (74.6%) compared to uncomplicated pregnancy (83.4%), with all three subpopulations of monocytes (classical, intermediate and non-classical) contributed to the decrease. Decrease in HLA-DR expression and increase in CD11b expression was observed in total PMC, caused by the fraction of classical monocytes, while the expression of CD162, CD86 and TREM-1 did not change significantly. Subpopulations of monocytes contributed differently to the changes in the expression levels of activation markers, associated with recurrent miscarriage, and these changes were not always manifested in the total monocyte population. The results obtained suggest that recurrent pregnancy loss is accompanied by a decrease in the content of free monocytes in the peripheral blood and changes in the antigenic phenotype of monocytes, characterizing a weakening of the proinflammatory properties and an increase in the adhesive properties of these cells. These changes may underlie the pathophysiological processes leading to premature termination of early pregnancy. Determination of the expression patterns ofactivation markers characteristic of a particular obstetric pathology contributes not only to the identification of pathophysiological mechanisms of reproductive disorders, but also to the improvement of methods for their diagnosis and the development of pathogenetically reasoned methods of therapy.

Keywords: pregnancy, recurrent pregnancy loss, monocytes, monocyte subsets, activation markers, proinflammatory phenotype, adhesion phenotype.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

1 **Введение**

Привычное невынашивание беременности (ПНБ) представляет собой существенную клиническую проблему, которая затрагивает 1-5% популяции, при этом примерно в 80% случаев потеря беременности происходит в срок до 12 недели беременности [1, 20]. Она может быть вызвана анатомическими, генетическими, гормональными, инфекционными факторами, а также нарушениями иммунного баланса. Несмотря на прогресс, достигнутый в изучении этого заболевания, более чем половина случаев диагностируется как идиопатический выкидыш, причина которого не установлена [5, 21]. Есть основания полагать, что значительная часть эпизодов невынашивания имеет иммунную природу. Эти предположения представляются обоснованными, особенно если принять во внимание тот факт, что при беременности иммунная система матери должна поддерживать тонкий баланс между толерантностью по отношению к плоду и созданию оптимальных условий для его развития, с одной стороны, и необходимостью поддержания гомеостаза путем защиты от потенциальных внешних и внутренних угроз, таких как инфекции и злокачественные перерождения собственных клеток. Значимость этой задачи становится особенно очевидной, если принять во внимание тот факт, что лейкоциты, циркулирующие в материнской крови, во время беременности активируются, и сама беременность рассматривается как некое «провоспалительное» состояние [22, 25]. Характерной чертой являются изменения численности и активационного статуса клеток врожденного звена иммунной системы, в частности, моноцитов [8, 23]. Механизм активации моноцитов при беременности остается невыясненным, однако есть основания полагать, что центральную роль в этом играет плацента. При циркуляции через плаценту моноциты могут вступать в непосредственный контакт с синцитиотрофобластом [16], а дистантная активация может осуществляться факторами, выделяемыми плацентой в кровоток: цитокинами, микровезикулами, экзосомами [8].

При осложнениях беременности (преэклампсия, внутриутробная задержка роста плода, спонтанный аборт), очевидно, происходят дальнейшие изменения иммунной системы, в частности, увеличение численности и повышение активационного статуса моноцитов [6, 7, 24].

Моноциты периферической крови подразделяют на три субпопуляции: основная субпопуляция классических моноцитов ($CD14^{++}CD16^{-}$) и две минорные фракции промежуточных ($CD14^{++}CD16^{+}$) и неклассических моноцитов ($CD14^{+}CD16^{++}$) [26]. Субпопуляции моноцитов различаются функционально, демонстрируют разные паттерны экспрессии поверхностных антигенных маркеров, цитокинов и хемокинов, и каждая субпопуляция может выполнять свою роль при физиологических и патологических условиях [19].

Моноциты, попадающие из системного кровотока матери в децидуальную оболочку плаценты, дифференцируются в децидуальные макрофаги или дендритные клетки. Децидуальные макрофаги вносят вклад в обеспечении толерантности иммунной системы матери к антигенам плода,

участвуя в таких ключевых гестационных процессах, как инвазия трофобласта и ремоделирование тканей и сосудов плаценты [17]. На основе фенотипических и функциональных характеристик сложилось представление о M1/M2 поляризации макрофагов. Макрофаги, относящиеся к M1 типу, секретируют провоспалительные цитокины TNFα и IL-12 и участвуют преимущественно в воспалительных реакциях, тогда как M2 макрофаги обладают иммуносупрессивными свойствами, обеспечивая апоптоз клеток и ремоделирование тканей [15].

В большинстве случаев ПНБ, в том числе, и с неясной этиологией, патологические изменения маточно-плацентарного комплекса выявляются как тромботические явления и признаки воспаления [10]. Однако, клеточно-молекулярные механизмы, лежащие в их основе, остаются невыясненными.

Выбор стратегии лечения при ПНБ зависит от выявленной причины, вызвавшей данное заболевание. Однако, такие терапевтические подходы оказываются малоэффективными в отношении тех случаев, когда причина преждевременного прерывания беременности остается неустановленной. Кроме того, диагностика привычного невынашивания затруднена у тех пациенток, в анамнезе которых нет случаев последовательных выкидышей [12]. Следовательно, существует потребность в идентификации биологических маркеров, позволяющих осуществлять раннюю диагностику заболевания, поиск новых терапевтических мишеней что, в конечном счете, должно способствовать повышению вероятности сохранения беременности и повышению рождаемости.

Ранее при исследовании антигенного фенотипа тромбоцитарно-моноцитарных комплексов мы обнаружили изменения экспрессии некоторых поверхностных маркеров моноцитов при привычном невынашивании беременности (неопубликованные данные). При этом ряд этих изменений возникали не под влиянием тромбоцитов, взаимодействующих с моноцитами, а были вызваны какими-то иными факторами, очевидно, формирующимися при этой репродуктивной патологии.

Целью данной работы было определение изменений в экспрессии поверхностных маркеров активации в общей популяции и отдельных субпопуляциях свободных моноцитов периферической крови, происходящих при привычном невынашивании беременности.

2 **Материалы и методы**

Исследуемые группы: беременные женщины с привычным невынашиванием в анамнезе и диагнозом угроза выкидыша в текущей беременности (срок беременности – 6-12 недель, n=10) и женщины с неосложненной (физиологической) беременностью в первом триместре (срок беременности – 7-12 недель, n=12). Возраст пациенток составлял от 24 до 42 лет. Согласно клиническим рекомендациям [1], привычным выкидышем считали наличие в анамнезе двух и более клинических потерь беременности в срок до 22 недель. Проведение исследования было одобрено решением

Этического комитета ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О.Отта» (протокол № 114 от 14.12.2021 г.).

Образцы периферической крови получали из локтевой вены посредством пункции иглой 21G в вакутейнер с антикоагулянтом (3,8 % цитрата натрия). Чтобы исключить посттравматическую агрегацию тромбоцитов, первые 3-5 мл крови не использовали для анализа. Лабораторные исследования начинали не позднее, чем через 20 мин после взятия крови. К 100 мкл крови добавляли меченные флуорохромами моноклональные антитела к следующим антигенам: CD45-PerCP, CD14-AlexaFluor®700, CD41a-APC, CD16-PE-Cy7™, CD86-FITC, HLA-DR-FITC, CD162-PE, CD11b-PE, TREM-1-PE (все антитела – BD Biosciences, США). В качестве изотипического контроля использовали неспецифические антитела, меченные соответствующими флуорохромами. Инкубировали 20 мин в темноте при комнатной температуре. По окончании инкубации проводили лизис эритроцитов, добавляя десятикратный объем раствора BD FACS™Lysing Solution (BD Biosciences, США). Пробы центрифугировали (300 g, 5 мин), 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 (не связанных с тромбоцитами) моноцитов выделенный регион анализировали на двумерной гистограмме с координатами CD14/CD41a. К свободным моноцитам относили события с фенотипом $CD14^{+}CD41a^{-}$. Экспрессию поверхностных антигенов определяли 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 долю свободных моноцитов ($CD14^{+}CD41a^{-}$), а также экспрессию 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.

3 **Результаты**

Общая популяция моноцитов.

В периферической крови беременных женщин с диагнозом привычное невынашивание доля свободных (не агрегированных с тромбоцитами) моноцитов составляла 74,6%, тогда как у пациенток с успешно закончившимися предыдущими беременностями, этот показатель достигал 83,4% (рис. 1А). Таким образом, количество свободных моноцитов уменьшилось примерно на 9 процентных пунктов. Образование тромбоцитарно-моноцитарных агрегатов осуществляется, в первую очередь, благодаря взаимодействию Р-селектина на поверхности активированных тромбоцитов, с молекулой PSGL-1 (CD162) экспрессируемой моноцитами. Мы не обнаружили статистически значимых различий между пациентками с физиологической беременностью и привычным невынашиванием и беременности: в обеих группах практически все моноциты (99%) имели положительную окраску на CD162 (рис. 1Б).

Повышение уровня экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-DR и костимуляторных молекул CD86 свидетельствует об активации моноцитов и ассоциируется с воспалительным ответом. В обеих исследуемых группах подавляющее большинство моноцитов имели положительную окраску на HLA-DR, однако, в группе с привычным невынашиванием наблюдалось небольшое, но статистически значимое снижение доли HLA-DR$^+$ клеток (94,4%) в сравнении с контрольной группой (98,7%) (рис. 2А). У пациенток с привычным невынашиванием также наблюдалось снижение доли CD86$^+$ моноцитов с 53,1% до 37,8%, однако это снижение не достигало статистической значимости (p=0,309) (рис. 2Б).

На поверхности моноцитов представлен TREM-1 (triggering receptor expressed on myeloid cells 1). Активация этого рецептора стимулирует продукцию цитокинов и хемокинов и вносит вклад в развитие воспалительного ответа [3]. Наше исследование показало, что экспрессия TREM-1 при привычном невынашивании существенно не изменяется: в обеих группах пациенток доля TREM-1$^+$ моноцитов составила около 80% (рис. 2В).

CD11b – активационный маркер, который опосредует адгезию моноцитов (лейкоцитов) к эндотелию сосудов [13]. Если у женщин с неосложненной беременностью доля клеток, экспрессирующих CD11b, составляла 58,4%, то при привычном выкидыше их количество возрастало до 80,8% (рис. 2Г).

Субпопуляции моноцитов.

Анализ субпопуляций показал, что в обеих исследуемых группах наибольшая доля свободных клеток содержалась во фракции промежуточных моноцитов, а наименьшее – во фракции неклассических моноцитов, и различие между этими фракциями было статистически значимым (p<0,01). Уменьшение количества свободных моноцитов у пациенток с привычным невынашиванием беременности происходило во всех трех фракциях моноцитов, однако, в неодинаковой пропорции: примерно на 11, 8 и 6 процентных пунктов соответственно в субпопуляциях классических, промежуточных и неклассических моноцитов (рис. 3А). При этом в группе с

привычным невынашиванием наблюдалось снижение экспрессии CD162 минорной субпопуляцией неклассических моноцитов (рис. 3 Б). В то же время у женщин с привычным невынашиванием во фракции классических моноцитов было отмечено снижение количества HLA-DR$^+$ клеток (95,2%) по сравнению с женщинами, имеющими неосложненную беременность (99,0%) (рис. 4А). В этой же фракции наблюдалось снижение CD86$^+$ моноцитов с 56,7% до 41,6%, однако, оно не достигало статистической значимости (рис. 4Б). В двух остальных субпопуляциях моноцитов не было обнаружено значимых изменений в экспрессии HLA-DR и CD86 в связи с привычным невынашиванием (рис. 4А,Б). Экспрессия TREM-1 в субпопуляциях промежуточных и неклассических моноцитов характеризовалась высокой вариабельностью, и ни в одной фракции было отмечено различий между исследуемыми группами пациенток (рис. 4В). Единственным маркером, чья экспрессия при привычном невынашивании усиливалась, оказался CD11b: в субпопуляции классических моноцитов доля CD11b$^+$ клеток возрастала с 66,7% (физиологическая беременность) до 86,8% (привычное невынашивание) (рис. 4Г).

4 **Обсуждение результатов**

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у женщин с диагнозом привычное невынашивание в первом триместре беременности доля свободных моноцитов в периферической крови снижается в сравнении с беременными женщинами того же срока беременности, не имеющими такого диагноза. Как мы показали ранее, это происходит из-за усиления связывания моноцитов с тромбоцитами, приводящему к увеличению количества тромбоцитарно-моноцитарных комплексов. Известно, что в норме беременность характеризуется состоянием гиперкоагуляции и активацией компонентов иммунной системы [8, 9, 11, 23]. Усиление комплексообразования отражает активацию тромбоцитов, которая наряду с изменением активационного статуса моноцитов в результате их взаимодействия с активированными тромбоцитами может представлять собой дополнительный патогенетический фактор, вызывающий нарушения физиологического течения беременности. Согласно полученным нами данным, при привычном невынашивании наибольшей способностью к взаимодействию с тромбоцитами обладают классические моноциты, а наименьшей – неклассические. Вполне вероятно, что пониженная активность неклассических моноцитов в формировании моноцитарно-тромбоцитарных агрегатов у пациенток с привычным невынашиванием обусловлена наблюдаемым небольшим, но статистически значимым снижением уровня экспрессии CD162 – основной молекулы, обеспечивающей связь с Р-селектином на поверхности тромбоцитов.

Характер экспрессии ряда поверхностных маркеров моноцитов позволяет предположить, что привычное невынашивание беременности не сопровождается активацией моноцитов по воспалительному типу, чего можно было бы ожидать. Наряду с тенденцией к снижению экспрессии

костимуляторной молекулы CD86 как на уровне всей популяции, так и в отдельных фракциях моноцитов, у пациенток с привычным невынашиванием наблюдалось снижение уровня экспрессии маркера активации HLA-DR, обусловленное субпопуляцией классических моноцитов. Ранее при исследовании антигенного фенотипа тромбоцитарно-моноцитарных агрегатов мы обнаружили, что взаимодействие моноцитов с тромбоцитами приводит к ослаблению экспрессии HLA-DR в моноцитах и у пациенток с физиологической беременностью, и у пациенток с привычным невынашиванием беременности. При этом в первой группе эти изменения происходили во всех субпопуляциях, а во второй – только в неклассических моноцитах. Эти результаты позволили нам предположить, что, в отличие от физиологической беременности, снижение экспрессии HLA-DR при привычном невынашивании происходит не только под влиянием тромбоцитов, а может быть обусловлено влиянием и других факторов. Вполне вероятно, что эти факторы имеют плацентарное происхождение. Результаты настоящего исследования подтвердили наше предположение, поскольку у пациенток с привычным невынашиванием снижение экспрессии HLA-DR наблюдалось в моноцитах, не связанных с тромбоцитами.

Экспрессия еще одного маркера активации TREM-1 также не претерпевала существенных изменений в связи с привычным невынашиванием как на уровне общей популяции, так и в отдельных субпопуляциях моноцитов. Примечательно, что в обеих группах пациенток содержание TREM-1^{+} клеток среди промежуточных и неклассических моноцитов варьирует в самых широких пределах: от практически полного отсутствия до почти стопроцентного наличия.

В отличие от антигенов, характеризующих провоспалительный фенотип, повышение уровня экспрессии молекулы CD11b при привычном невынашивании, свидетельствует о повышении адгезионных свойств моноцитов, а именно, фракции классических моноцитов. CD11b входит в состав полифункционального интегрина $\alpha_M\beta_2$ (Mac-1), который, в частности, опосредует такие функции моноцитов, как адгезия и фагоцитоз. Следствием усиления адгезионного потенциала моноцитов является повышение вероятности тромбообразования и их повреждающего действия в отношении эндотелия сосудов, что может представлять собой один из возможных патофизиологических механизмов преждевременного прерывания беременности.

Интересно, что повышение уровня экспрессия CD11b при невынашивании беременности происходило только в классической фракции свободных моноцитов, тогда как при изучении антигенного фенотипа тромбоцитарно-моноцитарных комплексов подобное изменение мы наблюдали во всех трех субпопуляциях моноцитов. Таким образом, можно заключить, что привычное невынашивание сопровождается увеличением количества классических моноцитов, экспрессирующих CD11b, а взаимодействие с тромбоцитами при образование тромбоцитарно-

моноцитарных агрегатов приводит к дальнейшему повышению и стимулирует экспрессию CD11b во фракциях промежуточных и неклассических моноцитов.

Активация моноцитов может вносить вклад в развитие патофизиологических эффектов, таких как воспаление, тромбоз, эндотелиальная дисфункция. Циркулирующие моноциты матери, попадая в эндометрий, дифференцируются в децидуальные макрофаги, которые, обладая имуномодуляторными свойствами, оказывают влияние на материнский иммунный ответ в отношении плода, а также участвуют в регуляции важнейших гестационных событий: имплантация бластоцисты, инвазия трофобласта, развитие плаценты и др. [18]. Можно представить, что аберрантно активированные моноциты дают начало децидуальным макрофагам с измененными фенотипическими и функциональными свойствами, которые оказывают негативное воздействие на репродуктивные процессы в маточно-плацентарном комплексе, тем более, что при привычном невынашивании беременности наблюдается повышенная инфильтрация моноцитов в децидуальную оболочку [14].

Полученные нами данные не указывают на приобретение провоспалительного фенотипа моноцитов у пациенток с привычным невынашиванием. Возможно, в развитии этой репродуктивной патологии какую-то роль играет обнаруженное нами ослабление воспалительных свойств моноцитов, что выражается в пониженной экспрессии HLA-DR, однако, пока теоретических обоснований этого предположения не найдено. Обнаруженная нами повышенная экспрессия CD11b может приводить к повышенной адгезии моноцитов на поверхности эндотелиальных клеток и повреждению эндотелия сосудов.

Очевидно, что следует продолжать поиск антигенных маркеров, характер изменения экспрессии которых может быть использован в клинической практике в диагностических и прогностических целях. Перспективность этого направления подтверждается недавней публикацией, авторы которой на основе иммунофенотипирования моноцитов периферической крови, разработали модель, позволяющую с достаточно высокой вероятностью прогнозировать привычное невынашивание беременности и повторные неудачи имплантации [4]. Другая группа исследователей показала, что повышенная экспрессия скавенджер-рецептора CD163 в субпопуляции альтернативно активированных (неклассических) моноцитов может служить предиктором репродуктивных потерь у женщин с угрожающим выкидышем в первом триместре беременности [2].

Мы провели сравнительный анализ результатов, полученных в данном исследовании и результатов проведенной нами ранее работы по характеристике ТМК у пациенток с другой акушерской патологией – преэклампсией. Так же, как и при привычном невынашивании, при преэклампсии мы наблюдали повышение уровня экспрессии CD11b в общей популяции моноцитов, однако в это повышение вносили вклад не только

классические, но и неклассические моноциты (неопубликованные данные). Кроме того, в отличие от привычного невынашивания преэклампсия сопровождалась усилением экспрессии маркеров провоспалительной активации моноцитов: HLA-DR и TREM-1.

Это сравнение привело нас к выводу, который требует дальнейшей проверки. Мы предполагаем, что разные акушерские патологии характеризуются определенным паттерном экспрессии антигенных маркеров, который формируется под влиянием уникального сочетания различных факторов. Так, при привычном невынашивании моноциты приобретают фенотип, который можно условно назвать «адгезионным», тогда как для преэклапмпсии характерен «воспалительно-адгезионный» фенотип. Определение таких паттернов может способствовать не только выявлению патофизиологических механизмов репродуктивных нарушений, но и совершенствованию методов их диагностики и выработке патогенетически обоснованных способов терапии.

5 **Заключение**

В периферической крови пациенток с привычным невынашиванием беременности уменьшается доля свободных моноцитов снижается в сравнении с пациентками, имеющими неосложненную беременность. Это снижение наблюдается во всех трех субпопуляциях моноцитов. Изменения поверхностного антигенного фенотипа моноцитов при привычном невынашивании заключаются в ослаблении провоспалительных и усилении адгезивных свойств этих клеток и происходят, главным образом, за счет фракции классических моноцитов.

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

Благодарности

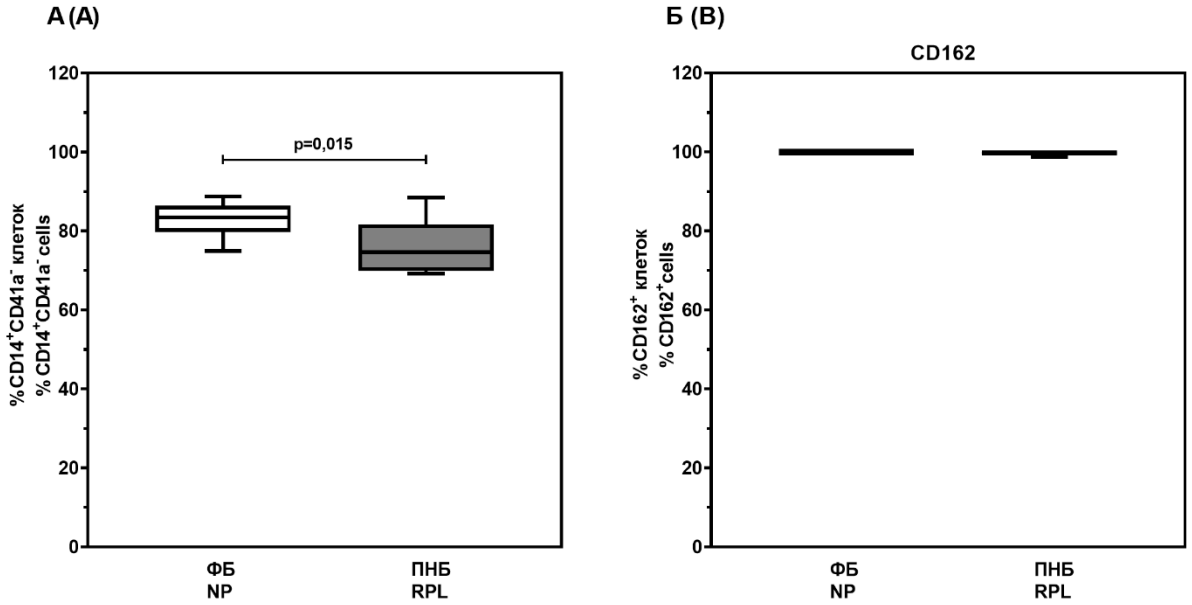
Исследование выполнено на основе темы ПНИ № 123120700026-6 «Разработка лабораторных модулей иммунологического обследования пациенток с целью прогнозирования различных форм акушерской и репродуктивной патологии».

 10.15789/1563-0625-COT-3193

РИСУНКИ

Рисунок 1. Характеристика общей популяции свободных моноцитов.

Figure 1. Characterization of total platelet-free monocyte population.



Примечание. Графики демонстрируют процентное содержание свободных моноцитов относительно всех моноцитов (А) и долю свободных моноцитов, экспрессирующих поверхностный антиген $CD162^+$ (Б) в периферической крови пациенток с физиологической беременностью и привычным невынашиванием беременности. На диаграммах показаны диапазон значений, медиана, 25-й и 75-й процентили. ФБ – физиологическая беременность, ПНБ – привычное невынашивание беременности.

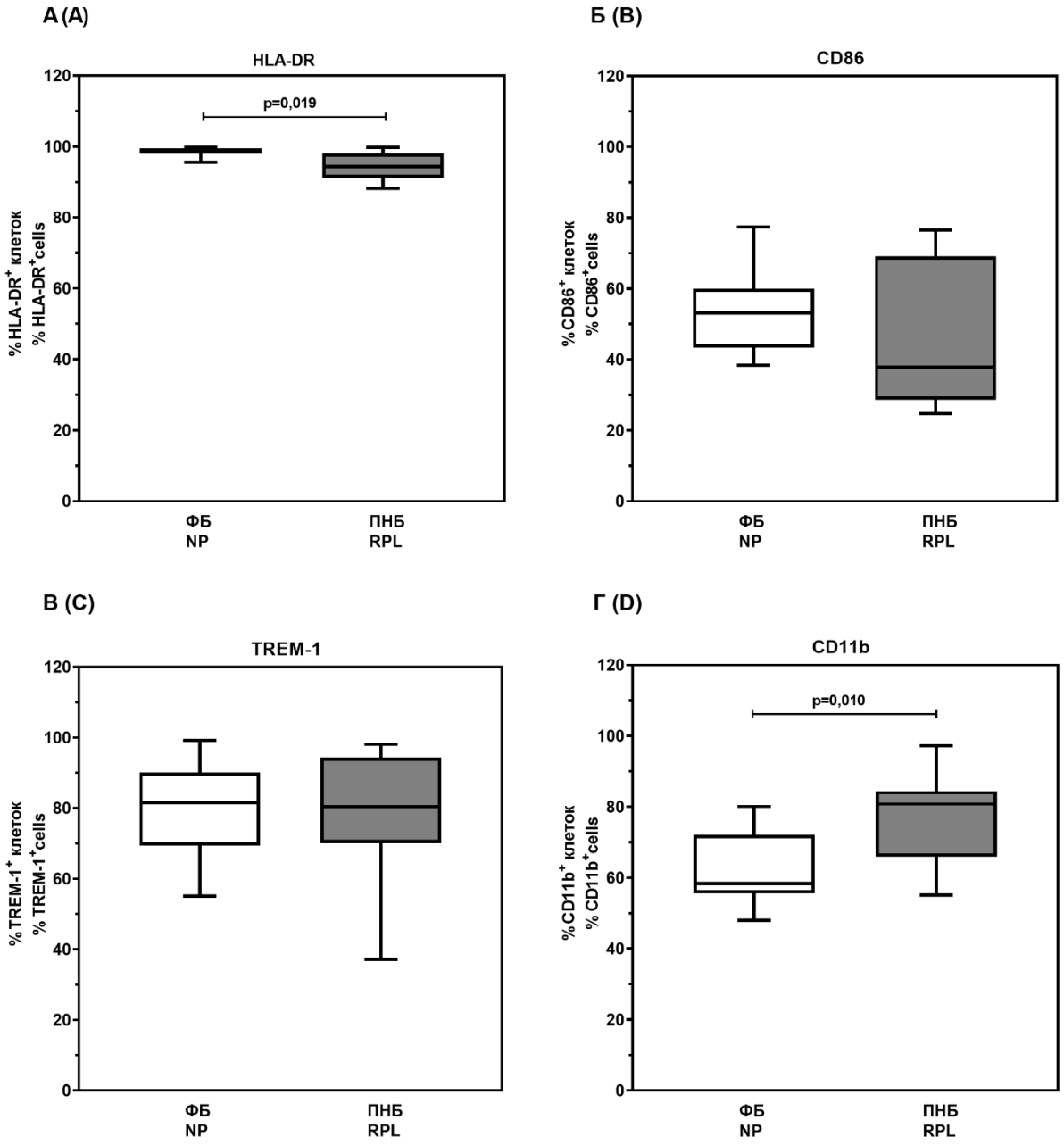
Note. Graphs demonstrate the percentage of platelet-free monocytes relative to all monocytes (A) and proportion of platelet-free monocytes expressing surface antigen CD162 (B) in the peripheral blood of the patients with normal pregnancy and recurrent pregnancy loss. Plots show range, median, 25th and 75th percentile. NP – normal pregnancy, RPL – recurrent pregnancy loss.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-COT-3193

Рисунок 2. Экспрессия маркеров активации в общей популяции свободных моноцитов.

Figure 2. Expression of activation markers in the total monocyte population.



Примечание. Представлены диаграммы, демонстрирующие долю клеток, экспрессирующих поверхностные антигены HLA-DR (А), CD86 (Б), TREM-1 (В) и CD11b (Г) в общей популяции свободных моноцитов периферической крови пациенток с физиологической беременностью и привычным невынашиванием беременности. На диаграммах показаны диапазон значений, медиана, 25-й и 75-й процентили. ФБ – физиологическая беременность, ПНБ – привычное невынашивание беременности.

Note. Diagrams demonstrate the proportion of the cells expressing surface antigens HLA-DR (A), CD86 (B), TREM-1 (C) and CD11b (D) in the total population of

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-COT-3193

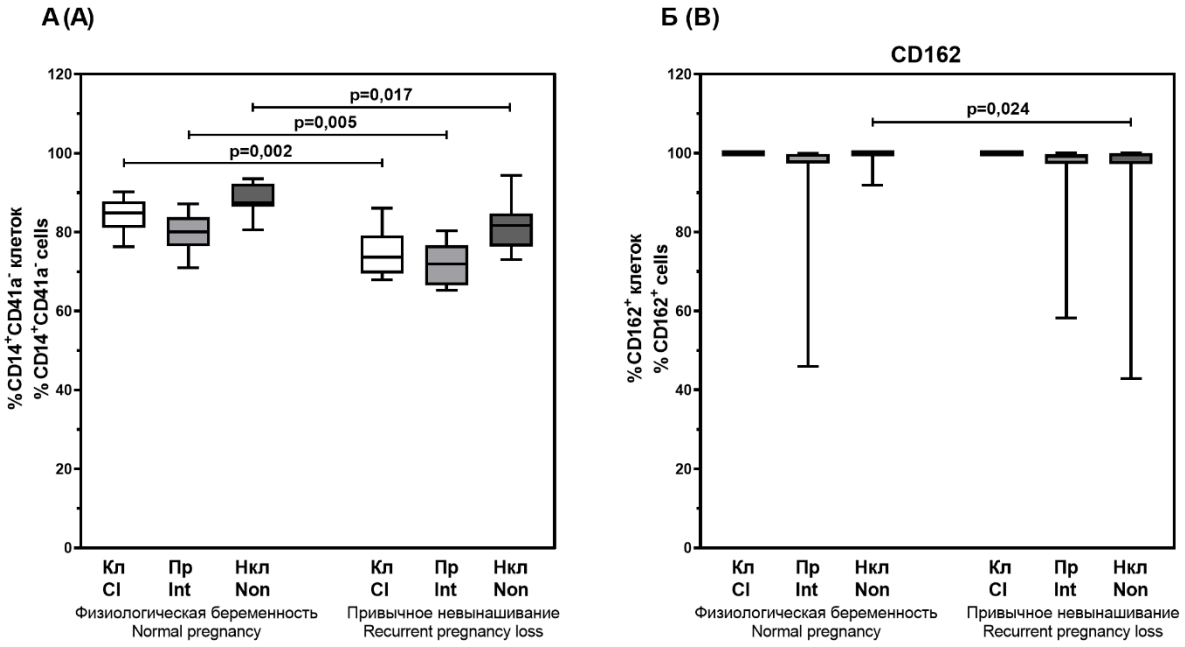
platelet-free monocytes from the peripheral blood of the patients with normal pregnancy and recurrent pregnancy loss. Plots show range, median, 25th and 75th percentile. NP – normal pregnancy, RPL – recurrent pregnancy loss.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-COT-3193

Рисунок 3. Характеристика субпопуляций свободных моноцитов.

Figure 3. Characterization of platelet-free monocyte subsets.



Примечание. Графики демонстрируют процентное содержание свободных моноцитов (А) и долю свободных моноцитов, экспрессирующих поверхностный антиген $CD162^{+}$ (Б) в субпопуляциях классических ($CD14^{++}CD16^{-}$), промежуточных ($CD14^{++}CD16^{+}$), и неклассических ($CD14^{+}CD16^{++}$) моноцитов периферической крови пациенток с физиологической беременностью и привычным невынашиванием беременности. На диаграммах показаны диапазон значений, медиана, 25-й и 75-й процентили. Кл – классические моноциты, Пр – промежуточные моноциты, Нкл – неклассические моноциты.

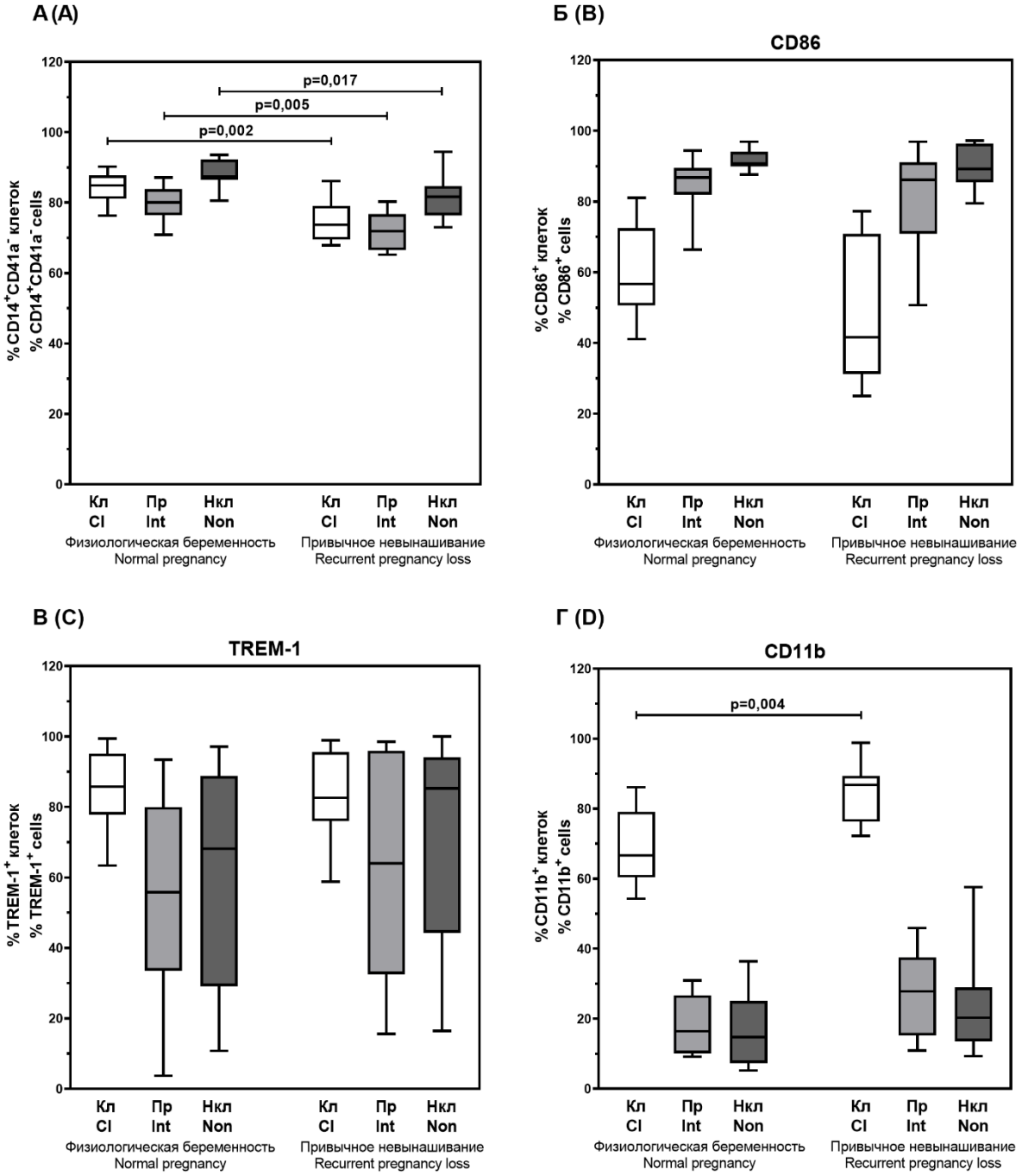
Note. Graphs demonstrate the percentage of platelet-free monocytes (A) and proportion of platelet-free monocytes expressing surface antigen CD62P (B) in the classical ($CD14^{++}CD16^{-}$), intermediate ($CD14^{++}CD16^{+}$), and non-classical ($CD14^{+}CD16^{++}$) monocyte subsets from the peripheral blood of patients with normal pregnancy and recurrent pregnancy loss. Plots show range, median, 25th and 75th percentile. Cl – classical monocytes, Int – intermediate monocytes, Non – non-classical monocytes.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-COT-3193

Рисунок 4. Экспрессия маркеров активации в субпопуляциях свободных моноцитов.

Figure 4. Expression of activation markers in monocyte subsets.



Примечание. Представлены диаграммы, демонстрирующие долю клеток, экспрессирующих поверхностные антигены HLA-DR (А), CD86 (Б), TREM-1 (В) и CD11b (Г), в субпопуляциях классических ($CD14^{++}CD16^{-}$), промежуточных ($CD14^{++}CD16^{+}$), и неклассических ($CD14^{+}CD16^{++}$) моноцитов периферической крови пациенток с физиологической беременностью и привычным невынашиванием беременности. На диаграммах показаны

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-COT-3193

диапазон значений, медиана, 25-й и 75-й процентили. Кл – классические моноциты, Пр – промежуточные моноциты, Нкл – неклассические моноциты.

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

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-COT-3193

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;
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»;
адрес: 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3;
факс: 8(812)323-75-45;
телефон: 8(812)328-98-50;
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;
fax: 8(812)323-75-45;
telephone: 8(812)328-98-50;
e-mail: ovpavlov@hotmail.com

Блок 2. Информация об авторах
Корнюшина Екатерина Амировна - кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела акушерства и перинатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия
Kornyushina Ekaterina, PhD (Medicine), Senior Research Associate, Department of Obstetrics and Perinatology, 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, главный научный сотрудник отдела 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, Chief Researcher, 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

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-COT-3193

Блок 3. Метаданные статьи

ОСОБЕННОСТИ АНТИГЕННОГО ФЕНОТИПА МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОК С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

CHARACTERIZATION OF THE ANTIGENIC PHENOTYPE OF MONOCYTES IN THE PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH RECURRECNT PREGNANCY LOSS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:
АНТИГЕННЫЙ ФЕНОТИП МОНОЦИТОВ

ANTIGENIC PHENOTYPE OF MONOCYTES

Ключевые слова: беременность, привычное невынашивание беременности, моноциты, субпопуляции моноцитов, маркеры активации, провоспалительный фенотип, адгезионный фенотип.
Keywords: pregnancy, recurrent pregnancy loss, monocytes, monocyte subsets, activation markers, proinflammatory phenotype, adhesion phenotype.

Оригинальные статьи
Количество страниц текста – 8,
Количество таблиц – 0,
Количество рисунков – 4.
19.02.2025

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

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	Клинические рекомендации. Привычный выкидыш. https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/721_1 (Электронный ресурс)	Clinical guidelines. Recurrent miscarriage.(In Russ.) Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/721_1 (Electronic source)	URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/721_1
2	Сотникова Н.Ю., Фарзалиева А.В., Борзова Н.Ю., Воронин Д.Н., Крошкина Н.В. Характеристика дифференцировки моноцитов и экспрессии CD163 у женщин с угрожающим ранним выкидышем. Иммунология, 2022, Т. 43, № 6, С. 714–721.	Sotnikova N.Yu., Farzalieva A.V., Borzova N.Yu., Voronin D.N., Kroshkina N.V. Characteristics of monocyte differentiation and CD163 expression in women with pointed early mission. Immunologiya, 2022, Vol. 43, no. 6, pp. 714–721. (in Russian)	DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-6-714-721
3	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

4	Comins-Boo A., Valdeolivas L., Perez-Pla F., Cristobal I., Subhi-Issa N., Dominguez-Soto A., Pilar-Suarez L., Gasca-Escorial P., Calvo-Urrutia M., Fernandez-Arquero M., Herraiz M. A., Corbi, A., Sanchez-Ramon, S. Immunophenotyping of peripheral blood monocytes could help identify a baseline pro-inflammatory profile in women with recurrent reproductive failure. J. Reprod. Immunol., 2022, Vol. 154, pp. 103735.		DOI: 10.1016/j.jri.2022.103735
5	Dimitriadis E., Menkhorst E., Saito S., Kutteh W. H., Brosens, J. J. Recurrent pregnancy loss. Nat. Rev. Dis. Primers, 2020, Vol. 6, no. 1, p. 98.		DOI: 10.1038/s41572-020-00228-z
6	Faas M. M., Broekema M., Moes H., van der Schaaf G., Heineman M. J., de Vos P. Altered monocyte function in experimental preeclampsia in the rat. Am. J.		DOI: 10.1016/j.ajog.2004.03.041

	Obstet. Gynecol., 2004, Vol. 191, no. 4, pp.1192-1198.		
7	Faas M. M., van Pampus M. G., Anninga Z. A., Salomons J., Westra I. M., Donker R. B., Aarnoudse J.G., de Vos P. Plasma from preeclamptic women activates endothelial cells via monocyte activation in vitro. J. Reprod. Immunol., 2010, Vol. 87, no. 1-2, pp. 28-38.		DOI: 10.1016/j.jri.2010.07.005
8	Faas M.M., de Vos P. Maternal monocytes in pregnancy and preeclampsia in humans and in rats. J. Reprod. Immunol., 2017, Vol. 119, pp. 91-97.		DOI: 10.1016/j.jri.2016.06.009
9	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
10	Grandone E., Piazza G. Thrombophilia, inflammation, and		DOI: 10.1055/s-0041-1731827

	recurrent pregnancy loss: a case-based review. Semin. Reprod. Med., 2021, Vol. 39, no. 01/02, pp. 62-68.		
11	Hellgren M. Hemostasis during normal pregnancy and puerperium. Semin. Thromb. Hemost., 2003, Vol. 29, no. 2, pp.125-130.		DOI: 10.1055/s-2003-38897
12	Jin M. Q., Huang B. Y., Lu D. Y., Huang J. Y., Ma L. Identification and verification of feature biomarkers associated with immune cells in recurrent pregnancy loss. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci., 2024, Vol. 28, no. 2, pp. 556-570.		DOI: 10.26355/eurrev_202401_35053
13	Ledingham M. A, Thomson A. J., Jordan F., Young A.,Crawford M., Norman J. E. Cell adhesion molecule expression in the cervix and myometrium during pregnancy and parturition. Obstet. Gynecol., 2001, Vol. 97, no. 2, pp. 235-242.		DOI: 10.1016/s0029-7844(00)01126-1
14	Luo Y., Zou Y. Identification of novel biomarkers and immune infiltration features of recurrent pregnancy loss by machine learning.		DOI: 10.1038/s41598-023-38046-4

	Sci. Rep. 2023, Vol. 13, no. 1, pp. 10571.		
15	Mantovani A., Biswas S.K., Galdiero M.R., Sica A., Locati M. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodeling. J. Pathol., 2013, Vol. 229, no. 2, pp. 176-185.		DOI: 10.1002/path.4133
16	Mellembakken J. R., Aukrust P., Olafsen M. K.,Ueland T., Hestdal K., Videm V. Activation of leukocytes during the uteroplacental passage in preeclampsia. Hypertension, 2002, Vol. 39, no. 1, pp. 155-160.		DOI: 10.1161/hy0102.100778
17	Nagamatsu T., Schust D.J. The immunomodulatory roles of macrophages at the maternal-fetal interface. Reprod. Sci., 2010, Vol. 17, no. 3, pp. 209-218.		DOI: 10.1177/1933719109349962
18	Ning F., Liu H., Lash G. E. The role of decidual macrophages during normal and pathological pregnancy.		DOI: 10.1111/aji.12477

	Am. J. Reprod. Immunol. 2016, Vol. 75, no. 3, pp. 298-309.		
19	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
20	Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. Fertil. Steril., 2012, Vol. 98, no. 5, pp. 1103-1111.		DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.06.048
21	Rai R., Regan L. Recurrent miscarriage. Lancet, 2006, Vol. 368, no. 9535, pp. 601-611.		DOI: 10.1016/S0140-6736(06)69204-0
22	Sacks G.P., Studena K., Sargent I.L., Redman C.W. Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis. Am. J. Obstet. Gynecol., 1998, Vol. 179, no. 1, pp. 80-86.		DOI: 10.1016/s0002-9378(98)70254-6

23	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
24	van Nieuwenhoven A. L., Moes H., Heineman M. J., Santema J., Faas M. M. Cytokine production by monocytes, NK cells, and lymphocytes is different in preeclamptic patients as compared with normal pregnant women. Hypertens. Pregnancy, 2008, Vol. 27, no. 3, pp. 207-224.		DOI: 10.1080/10641950701885006
25	Yuan M, Jordan F., McInnes I. B., Harnett M. M., Norman J. E. Leukocytes are primed in peripheral blood for activation during term and preterm labour. Mol. Hum. Reprod., 2009, Vol. 15, no. 11, pp. 713-724.		DOI: 10.1093/molehr/gap054
26	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.,		DOI: 10.1182/blood-2010-02-258558

 10.15789/1563-0625-COT-3193

	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		

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)