

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Малышкина А.И.<sup>1,2</sup>, Сотникова Н.Ю.<sup>1</sup>, Григушкина Е.В.<sup>1</sup>, Крошкина Н.В.<sup>1</sup>, Таланова И.Е.<sup>2</sup>

## ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИСХОДА БЕРЕМЕННОСТИ У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ

<sup>1</sup>ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава РФ, 153045, Иваново, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, Иваново, Россия

*Цель: определить относительное содержание моноцитов в периферической крови, продуцирующих IL-4, IL-6, IL-10, IFN $\gamma$ , выявить новые критерии прогнозирования прерывания беременности до 22 недель гестации у женщин с угрозой прерывания в ранние сроки и привычным невынашиванием. Проведено обследование 91 женщины в сроке беременности 5-12 недель. Основную группу составили 59 женщин с привычным невынашиванием беременности и угрозой прерывания ранних сроков на момент исследования. В зависимости от исхода беременности основная группа была подразделена на 3 подгруппы: I подгруппа – 44 женщины, у которых беременность завершилась своевременными родами, II – 8 женщин, у кого произошли преждевременные роды, III – 8 женщин с прерыванием беременности в сроке до 22 недель (неразвивающаяся беременность или самопроизвольный выкидыш). Группу контроля составили 32 женщины с неосложненным течением беременности. Методом проточной цитофлуориметрии на FACSCanto II (Becton Dickinson, США) определялось относительное содержание IL-4+, IL-6+, IL-10+, IFN $\gamma$ + моноцитов. У женщин с угрожающим выкидышем ранних сроков и привычным невынашиванием процентное содержание клеток IL-4+ и IL-10+ в популяции периферических моноцитов достоверно ниже, тогда как IL-6+ клеток – выше по сравнению с группой контроля ( $p=0,0001$  во всех случаях), статистически значимых различий в процентном содержании IFN $\gamma$ + клеток не выявлено ( $p=0,076$ ). При ретроспективном анализе выявлено, что в группе женщин с прерыванием беременности до 22 недель отмечалось достоверное снижение IL-10+ моноцитов в периферической венозной крови. Прогнозирование прерывания беременности до 22 недель гестации возможно при относительном содержании IL-10+ моноцитов равном 27,0% или менее (чувствительность 87,5%, специфичность 95,2%, точность 93,1%).*

**Ключевые слова:** привычное невынашивание беременности; угроза прерывания; цитокины; моноциты.

**Для цитирования:** Малышкина А.И., Сотникова Н.Ю., Григушкина Е.В., Крошкина Н.В., Таланова И.Е. Прогнозирование исхода беременности у женщин с привычным невынашиванием. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (10): 618-622. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-10-618-622>

**Для корреспонденции:** Григушкина Елена Владимировна, аспирант каф. акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии; e-mail: [kozelnkovaelena@yandex.ru](mailto:kozelnkovaelena@yandex.ru)

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 29.03.2021

Принята к печати 05.05.2021

*Malyshkina A.I., Sotnikova N.Y., Grigushkina E.V., Kroshkina N.V., Talanova I.E.*

PREDICTION OF THE OUTCOME OF PREGNANCY IN WOMEN WITH RECURRENT MISCARRIAGE

<sup>1</sup>V.N. Gorodkov Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood, Ministry of Health of Russia, Ivanovo;

<sup>2</sup>Ivanovo State Medical Academy of Russia, Ivanovo

*To determine the relative content of monocytes in the peripheral blood producing IL-4, IL-6, IL-10, IFN $\gamma$ , to identify new criteria for predicting abortion before 22 weeks of gestation in women with the threat of early termination and recurrent miscarriage. Materials and methods. A survey of 91 women in the gestation period of 5-12 weeks was carried out. The main group consisted of 59 women with recurrent miscarriage and the threat of early termination at the time of the study. Depending on the outcome of pregnancy, the main group was subdivided into 3 subgroups: subgroup I – 44 women whose pregnancy ended in timely delivery, II – 8 women who had preterm labor, III – 8 women with termination of pregnancy up to 22 weeks (missed pregnancy or spontaneous miscarriage). The control group consisted of 32 women with uncomplicated pregnancy. The relative content of IL-4+, IL-6+, IL-10+, IFN $\gamma$ + monocytes was determined by flow cytometry on FACSCanto II (Becton Dickinson, USA). In women with threatened early miscarriage and recurrent miscarriage, the percentage of IL-4+ and IL-10+ cells in the population of peripheral monocytes is significantly lower, while IL-6+ cells are higher compared to the control group ( $p = 0.0001$  in all cases), no statistically significant differences were found in the percentage of IFN $\gamma$ + cells ( $p = 0.076$ ). A retrospective analysis revealed that in the group of women with termination of pregnancy up to 22 weeks, there was a significant decrease in IL-10+ monocytes in the peripheral venous blood. Prediction of termination of pregnancy before 22 weeks of gestation is possible with a relative content of IL-10+ monocytes equal to 27.0% or less (sensitivity 87.5%, specificity 95.2%, accuracy 93.1%).*

**Key words:** recurrent miscarriage; threat of interruption; cytokines; monocytes.

**For citation:** Malyshkina A.I., Sotnikova N.Y., Grigushkina E.V., Kroshkina N.V., Talanova I.E. Prediction of the outcome of pregnancy in women with recurrent miscarriage. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (10): 618-622 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-10-618-622>

**For correspondence:** Grigushkina Elena Vladimirovna, graduate student of the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Intensive; e-mail: [kozelnkovaelena@yandex.ru](mailto:kozelnkovaelena@yandex.ru)

**Information about authors:**

Malyshkina A.I., <https://orcid.org/0000-0002-1145-0563>;  
 Sotnikova N.Y., <https://orcid.org/0000-0002-0608-0692>;  
 Grigushkina E.V., <https://orcid.org/0000-0003-4593-3771>;  
 Kroshkina N.V., <https://orcid.org/0000-0002-0428-6945>;  
 Talanova I.E., <https://orcid.org/0000-0003-4950-8174>.

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

**Conflict of interests.** *The authors declare absence of conflict of interests.*

Received 29.03.2021  
 Accepted 05.05.2021

**Введение.** Привычное невынашивание беременности остается одной из актуальных проблем современного акушерства [1, 2]. В настоящее время в патогенезе данного осложнения беременности особое внимание уделяется иммунным процессам, а в частности врожденному иммунитету [3]. Начиная с самых ранних сроков гестации, клетки врожденного иммунитета принимают участие в регуляции процессов, способствующих поддержанию толерантности к полуаллогенному плоду, развитию нормального ангиогенеза и формированию плаценты [3-5]. Цитокины, продуцируемые клетками врожденного иммунитета, участвуют в регуляции характера иммунного ответа, обеспечивая благоприятный иммунологический фон для развития беременности. При нарушении иммунологического равновесия развиваются патологические состояния, способные привести к потере желанной беременности [3,6].

Цель данной работы – определить относительное содержание моноцитов в периферической крови, продуцирующих IL-4, IL-6, IL-10, IFN $\gamma$ , а также выявить новые критерии прогнозирования прерывания беременности до 22 нед гестации у женщин с угрозой прерывания в ранние сроки и привычным невынашиванием в анамнезе.

**Материал и методы.** На базе Ивановского НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова было проведено обследование 91 женщины в сроке беременности 5-12 недель. Основную группу составили 59 женщин с привычным невынашиванием беременности и угрозой прерывания ранних сроков на момент исследования. В зависимости от исхода беременности основная группа была подразделена на 3 подгруппы: I подгруппа – 44 женщины, у которых беременность завершилась своевременными родами, II – 8 женщин, у кого произошли преждевременные роды, III – 8 женщин с прерыванием беременности в сроке до 22 нед (неразвивающаяся беременность или самопроизвольный выкидыш). Группу контроля составили 32 женщины с неосложненным течением беременности и без привычного невынашивания в анамнезе, родившие в срок. Материалом исследования служила периферическая венозная кровь. Относительное содержание IL-4+, IL-6+, IL-10+, IFN $\gamma$ + клеток в

моноцитарном гейте определялось на проточном цитофлуориметре FACSCantoII (Becton Dickinson, США). В работе были использованы моноклональные антитела: анти-IL-10, анти-IL-4, анти-IL-6, анти-IFN $\gamma$  производства eBioscience (США). Полученные результаты обрабатывались традиционными методами статистического анализа в пакете прикладных лицензионных программ «MicrosoftOffice 2010», «Statistica 13.0», «MedCalc» С учетом нормальности распределения данные в работе были представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Различия между группами определены при помощи критериев t Стьюдента и Манна-Уитни, по критериям Колмогорова — Смирнова и Шапиро — Уилка после проверки рядов на нормальность распределения. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ . Поиск точки разделения, расчет чувствительности и специфичности проводился на основании построения кривой операционных характеристик (ROC-анализ).

**Результаты.** Анализ данных показал, что на момент обследования у женщин с угрожающим выкидышем ранних сроков и привычным невынашиванием процентное содержание клеток IL-4+ и IL-10+ в популяции периферических моноцитов было достоверно ниже, а клеток IL-6+ – выше по сравнению с группой женщин с неосложненным течением беременности ( $p = 0,0001$  во всех случаях). Статистически значимых различий в процентном содержании IFN $\gamma$ + клеток между показателями обеих групп выявлено не было ( $p = 0,076$ ) (см. таблицу).

По данным ретроспективного анализа, при оценке относительного содержания IL-10+ моноцитов в периферической крови у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием было установлено, что у пациенток, у которых беременность завершилась самопроизвольным выкидышем или неразвивающейся беременностью в сроке до 22 нед и преждевременными родами, отмечалось достоверное снижение относительного содержания данных клеток по сравнению с подгруппой женщин, у которых беременность завершилась своевременными родами ( $p = 0,0001$  и  $p = 0,006$  соответственно) (рис. 1).

**Содержание моноцитов, внутриклеточно продуцирующих IFN $\gamma$ , IL-4, IL-10, IL-6, у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности**

Показатель, %	Контрольная группа (n=32)	Основная группа (n=59)	p
IFN $\gamma$ +	51,37 $\pm$ 4,21	59,9 $\pm$ 2,06	$p = 0,076$
IL-4+	53,23 $\pm$ 2,3	30,12 $\pm$ 1,47	$p = 0,0001$
IL-6+	29,51 $\pm$ 1,5	71,69 $\pm$ 1,29	$p = 0,0001$
IL-10+	66,07 $\pm$ 1,94	27,54 $\pm$ 0,93	$p = 0,0001$

Примечание. p - уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями группы женщин со своевременными родами.

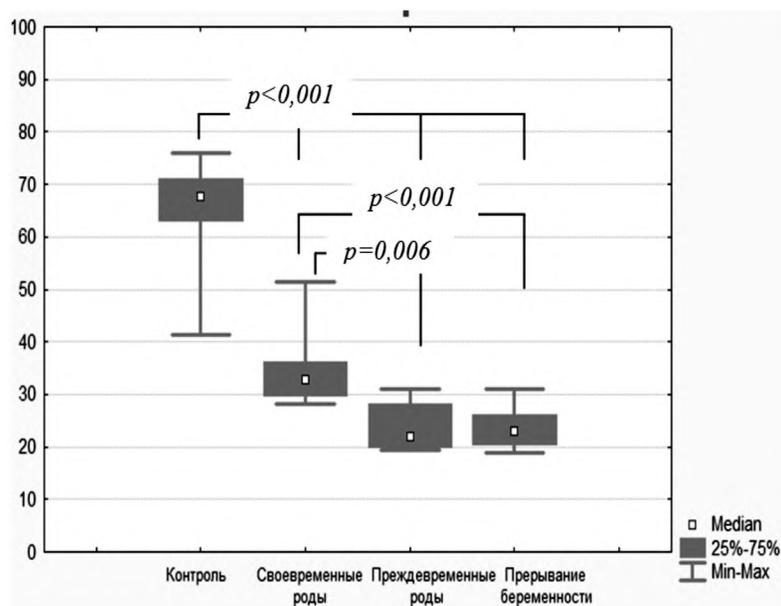


Рис. 1. Относительное содержание IL-10+ моноцитов в периферической крови у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием в зависимости от исхода беременности.

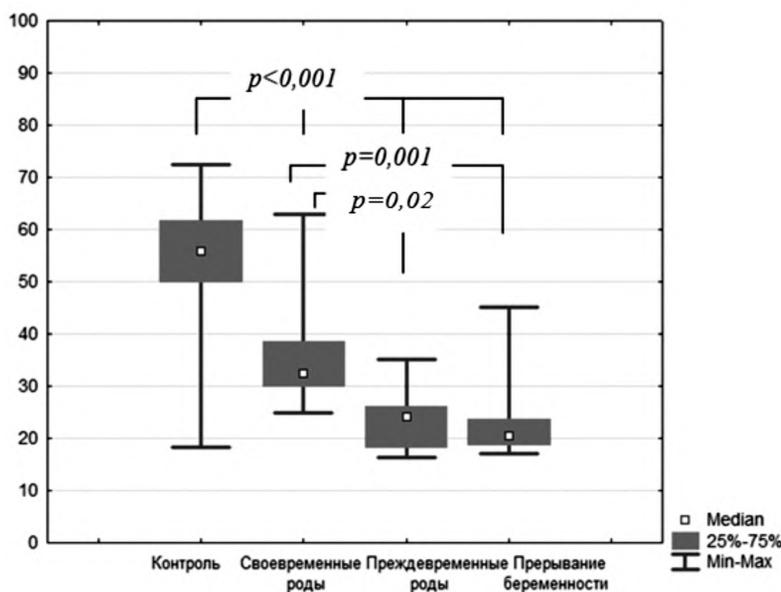


Рис. 2. Относительное содержание IL-4+ моноцитов в периферической крови у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием в зависимости от исхода беременности.

Наиболее выражено снижение относительного содержания IL-10+ моноцитов отмечалось в подгруппе женщин с прерыванием гестации до 22 нед относительно подгруппы женщин со своевременными родами. Хотя стоит отметить, что данный показатель снижался и в подгруппе женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием, завершивших беременность своевременными родами, относительно группы женщин с неосложненным течением беременности ( $p < 0,05$ ).

Аналогичные данные были получены нами при оценке относительного содержания IL-4+ моноцитов в основной группе в зависимости от исхода беременности. У женщин, завершивших беременность преждевре-

менными родами или прерыванием гестации до 22 нед, отмечалось достоверное снижение относительного содержания клеток, по сравнению с подгруппой женщин со своевременными родами ( $p = 0,001$  и  $p = 0,02$ , соответственно) (рис. 2). Однако данный показатель также снижался и в подгруппе женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием, завершивших беременность своевременными родами, по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

Статистически значимых различий в относительном содержании IFN $\gamma$ + и IL-6+ моноцитов во всех подгруппах женщин с привычным невынашиванием беременности выявлено не было ( $p > 0,05$  во всех случаях) (рис. 3, 4).

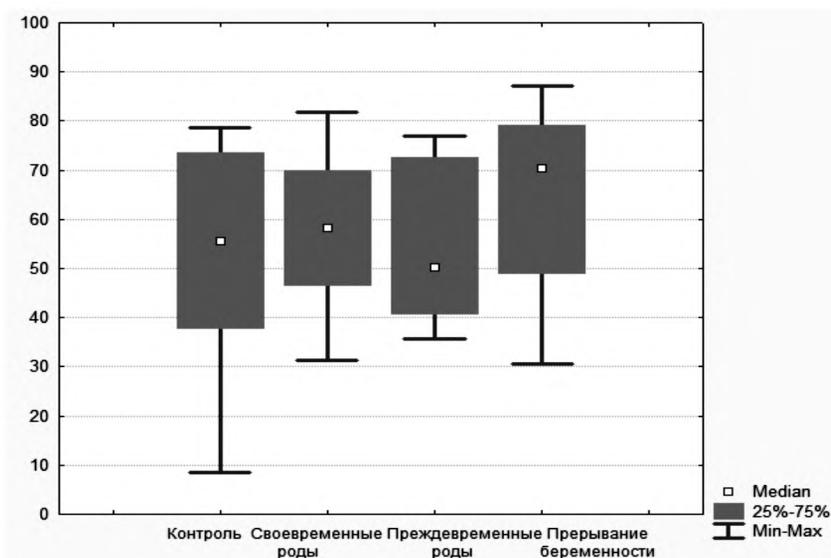


Рис. 3. Относительное содержание IFN $\gamma$ + моноцитов в периферической крови у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием в зависимости от исхода беременности.

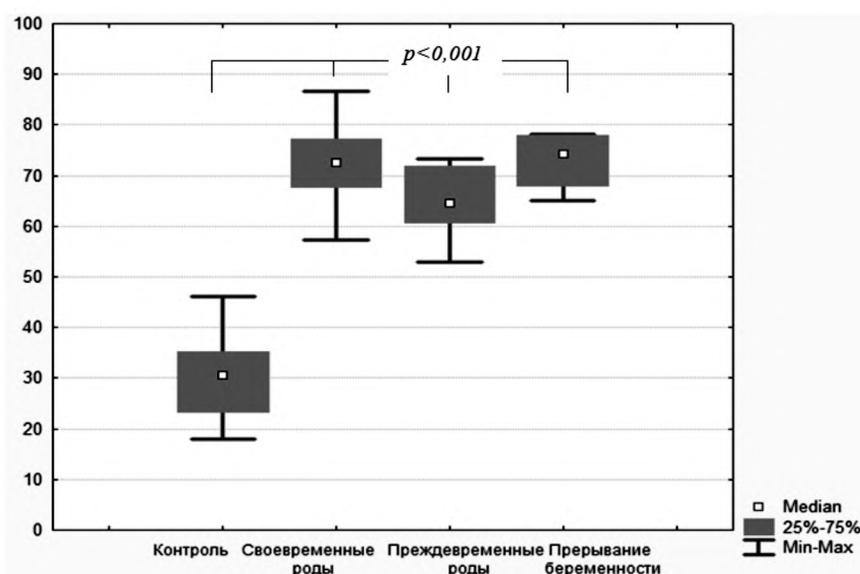


Рис. 4. Относительное содержание IL-6+ моноцитов в периферической крови у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием в зависимости от исхода беременности.

При относительном содержании IL-10+ моноцитов равном 27,0% или менее прогнозируют прерывание беременности (самопроизвольный выкидыш или неразвивающуюся беременность) до 22 недель гестации.

По результатам ROC-анализа площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,935, чувствительность способа составляет 87,5%, специфичность 95,2%, точность 93,1% (рис.5, а, б), тогда как площадь под ROC-кривой (AUC) при преждевременных родах составила 0,895. Согласно ROC-анализу данный способ более специфичен для прогнозирования прерывания беременности до 22 недель гестации. На основании этих данных был разработан «Способ прогнозирования прерывания беременности у женщин с угрозой выкидышем и привычным невынашиванием в анамнезе».

**Обсуждение.** Резюмируя все вышесказанное, у женщин с привычным невынашиванием и угрозой прерывания ранних сроков отмечалось достоверное снижение относительного содержания IL-10+ и IL-4+ моноцитов, и повышение относительного содержания IL-6+ моноцитов периферической крови по сравнению с контрольной группой. У пациенток с привычным невынашиванием и преждевременными родами достоверно снижалось относительное содержание IL-4+ моноцитов, а в группе женщин с прерыванием беременности до 22 недель гестации – снижение относительного содержания IL-10+ моноцитов. Известно, что клетки врожденного иммунитета и продуцируемые ими цитокины, играют важную роль на ранних этапах развития беременности, участвуя в процессах формирования плаценты и ангиогенеза, развитии эмбриона и иммунотолерантности материнского

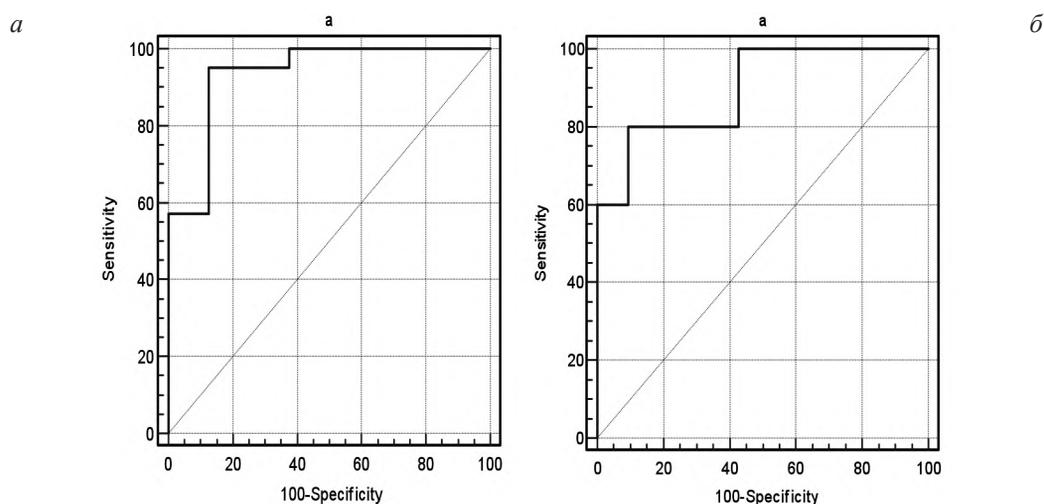


Рис. 5. ROC-анализ показателя относительного содержания IL-10+ моноцитов у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием, завершивших беременность прерыванием (самопроизвольный выкидыш или неразвивающаяся беременность) до 22 недель гестации (а) и преждевременными родами (б).

организма [4,8]. IL-10 и IL-4 – продуцирующие моноциты обладают противовоспалительными, иммуносупрессирующими свойствами, и антицитокиновыми свойствами относительно Th-1 клеток, что необходимо для успешной имплантации эмбриона и поддержки Th-2 иммунного ответа. Несмотря на то, что была обнаружена сходная динамика изменений показателей, можно предположить, что имелись иные механизмы, способные компенсировать патологические процессы при угрозе прерывания и позволяют пролонгировать беременность до определенного срока. Согласно полученным данным можно предположить, что при прерывании беременности до 22 недель наиболее быстро развивается персистирующая воспалительная реакция, нарушение ангиогенеза и развития плаценты с ранних сроков гестации. Полученные данные позволили разработать новые ранние прогностические критерии прерывания беременности до 22 недель.

**Заключение.** Использование в качестве дополнительного критерия прогнозирования прерывания беременности до 22 нед у женщин с угрожающим выкидышем и привычным невынашиванием по относительному содержанию IL-10+ моноцитов дает возможность своевременно проводить профилактические и лечебные мероприятия и снизить риск прерывания беременности.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 2, 5, 6 см. REFERENCES)

1. Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. Невынашивание беременности. Руководство для практикующих врачей. М.: МИА; 2011.
3. Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Крошклина Н.В., Воронин Д.Н. Роль клеток врожденного иммунитета в обеспечении успеха беременности на ранних сроках гестации. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2013; 62(2): 151-9.
4. Левкович М.А., Нefeldова Д.Д., Цатурян Л.Д., Бердичевская Е.М. Иммунологические аспекты проблемы невынашивания бере-

менности. *Современные проблемы науки и образования.* 2016; 3: 186.

7. Беляева М.А., Бобров С.А., Лапин С.В. Клинико-иммунологические взаимосвязи при привычном невынашивании беременности и методы их коррекции (обзор). *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова.* 2015; 7 (3):118-23.

#### REFERENCES

1. Sidelnikova V.M., Sukhikh G.T. Miscarriage. Guidance for practitioners [Nevynashivanieberemennosti. Rukovodstvo]. Moscow: MIA; 2011. (in Russian)
2. Sugiura-Ogasawara M. Recurrent pregnancy loss and obesity. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2015; 29: 489-97.
3. Sotnikova N.Yu., Antsiferova Yu.S., Kroshkina N.V., Voronin D.N. The role of innate immune cells in ensuring pregnancy success in early gestation. *Zhurnal akusherstva I zhenskikh bolezney.* 2013; 62(2):151-9. (in Russian)
4. Levkovich M.A., Nefeldova D.D., Tsaturyan L.D., Berdichevskaya Ye.M. Immunological aspects of the problem of miscarriage. *Sovremennye problemy nauki I obrazovaniya.* 2016; 3: 186. (in Russian)
5. Manoj K. Jena, Neha Nayak, Kang Chen, Nihar R. Nayak. Role of Macrophages in Pregnancy and Related Complications. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis (Warsz).* 2019; 67(5): 295-309. <https://doi.org/10.1007/s00005-019-00552-7>
6. Tsao F.Y., Wu M.Y., Chang Y.L., Wu C.T., Ho H.N. M1 macrophages decrease in the deciduae from normal pregnancies but not from spontaneous abortions or unexplained recurrent spontaneous abortions. *Journal of the Formosan Medical Association.* 2018; 117: 204-211. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2017.03.011>.
7. Belyayeva M.A., Bobrov S.A., Lapin S.V. Clinical and immunological relationships in recurrent miscarriage and methods of their correction (review). *Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo meditsinskogo universitetaim. I.I.Mechnikova.* 2015; 7 (3):118-23. (in Russian)