

УДК 618.414.8/439-007-037:604.4:615.331:577.218:577.161.2

Є.О. Пузій, Ю.О. Дубоссарська

## Значення експресії антимікробних пептидів і вмісту вітаміну 25(OH)D як прогностичних маркерів перинатальних втрат при передчасному розриві плодових оболонок до 36 тижнів вагітності

Дніпровський державний медичний університет, Україна

Ukrainian Journal Health of Woman. 2022. 6(163): 4-13; doi 10.15574/HW.2022.163.4

**For citation:** Puziy YeO, Dubossarska YuO. (2022). Significance of antimicrobial peptide expression and vitamin 25(OH)D content as prognostic markers of perinatal loss in preterm premature rupture of membranes before 36 weeks of gestation. Ukrainian Journal Health of Woman. 6(163): 4-13; doi 10.15574/HW.2022.163.4.

**Мета** — оцінити прогностичне значення рівня вітаміну 25(OH)D та експресії антимікробних пептидів ( $\beta$ -дефензинів 2) у крові матері в передбаченні перинатальних втрат при передчасному розриві плодових оболонок (ПРПО) до 36 тижнів вагітності.

**Матеріали та методи.** Проспективно обстежено 109 жінок з одноплідною вагітністю, ускладненою ПРПО в термін вагітності 23–36 тижнів, і 20 жінок групи контролю з інтактними плодовими оболонками, у яких згодом народилися доношені діти. Проведено стандартне обстеження вагітних при ПРПО, а також дослідження рівня вітаміну 25(OH)D та експресії  $\beta$ -дефензинів 2 методом імуноферментного аналізу.

**Результати.** За даними кореляційного аналізу встановлено вірогідні асоціації між частотою перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО, як із термінами гестації, так і з такими материнськими факторами: анемія середнього ступеня, рівень сироваткового вітаміну 25(OH)D та експресії  $\beta$ -дефензинів 2, низький рівень охоплення профілактичними заходами щодо неонатального респіраторного дистрес-синдрому.

**Висновки.** На основі виділених предикторів побудовано три моделі багатфакторної логістичної регресії, які дають змогу на індивідуальному рівні оцінити ймовірність перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО, з досить високими показниками діагностичної ефективності — чутливість (62,5–75,0%), специфічність (100%), точність прогнозу (97,3–98,2%).

Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження схвалений Локальним етичним комітетом зазначеної в роботі установи. На проведення досліджень отримано інформовану згоду жінок.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Ключові слова:** перинатальні наслідки, мертвонародження, передчасний розрив плодових оболонок, вітамін 25(OH)D, експресія  $\beta$ -дефензинів 2, прогностична модель.

### Significance of antimicrobial peptide expression and vitamin 25(OH)D content as prognostic markers of perinatal loss in preterm premature rupture of membranes before 36 weeks of gestation

Ye. O. Puziy, Yu. O. Dubossarska

Dnipro State Medical University, Ukraine

**Purpose** — to estimate the prognostic value of vitamin 25(OH)D levels and the expression of antimicrobial peptides ( $\beta$ -defensins 2) in maternal blood in predicting perinatal losses in preterm premature rupture of membranes (pPROM) up to 36 weeks of gestation.

**Materials and methods.** A total of 109 women with singleton pregnancies complicated by pPROM at 23 to 36 weeks' gestation and 20 women in the control group with intact membranes who subsequently gave birth to full-term infants were prospectively screened. A standard examination of pregnant women with pPROM was performed, and vitamin 25(OH)D levels and  $\beta$ -defensin 2 expression were examined by enzyme-linked immunoassay.

**Results.** Correlation analysis revealed significant associations between the incidence of perinatal loss in preterm pregnancy complicated by pPROM, both with gestational age and maternal factors such as moderate anemia, serum vitamin 25(OH)D and  $\beta$ -defensins 2 expression, low coverage of preventive measures for neonatal respiratory distress syndrome.

**Conclusions.** On the basis of the selected predictors, 3 multivariate logistic regression models were built, which allow to estimate the probability of perinatal losses in preterm pregnancy complicated by pPROM at the individual level with fairly high diagnostic efficiency — sensitivity (62.5–75.0%), specificity (100%), accuracy of the forecast (97.3–98.2%).

The research was carried out in accordance with the principles of the Helsinki Declaration. The study protocol was approved by the Local Ethics Committee of the participating institution. The informed consent of the patient was obtained for conducting the studies.

No conflict of interest was declared by the authors.

**Keywords:** perinatal outcomes, stillbirth, preterm premature rupture of membranes, vitamin 25(OH)D,  $\beta$ -defensins 2 expression, prognostic model.

## Вступ

Передчасний розрив плодових оболонок (ПРПО) ускладнює приблизно 2–3% вагітностей і викликає приблизно одну третину всіх передчасних пологів. ПРПО асоціюється з високим рівнем неонатальної смертності, короткострокової та довготривалої тяжкої неонатальної захворюваності, такої як перивентрикулярна лейкомаляція, бронхолегенева дисплазія, некротизуючий ентероколіт, ретинопатія недоношених і несприятливі наслідки розвитку нервової системи [7,8].

У разі виникнення ПРПО за відсутності клінічних ознак хоріоамніоніту [5,6] або активної пологової діяльності в жінок, які не мають протипоказань до виношування вагітності, рекомендується вичікувальна терапія, що зазвичай полягає в госпіталізації із суворим моніторингом ознак інфекції, відшарування плаценти, дистресу плода та пролапсу пуповини. На час перебування в стаціонарі вагітній призначається курс кортикостероїдів у термінах 24<sup>+0</sup>–34<sup>+6</sup> тижні вагітності для підвищення зрілості легень новонародженого та сульфат магнію як нейропротектор, щоб зменшити ризик неонатального церебрального паралічу, якщо пологи очікуються до 32 тижнів вагітності [1,5,7,8]. Антибіотики широкого спектра дії рутинно використовуються в лікуванні ПРПО для пролонгування вагітності та зниження рівня материнської та неонатальної смертності [1].

Латентний період визначається як час від ПРПО до початку пологів [4,8]. У проспективному когортному дослідженні тривалість латентного періоду становила від 12 годин до понад 14 діб [4]. Показники виживаності, виживаності без тяжкої захворюваності та раннього початку сепсису становили 93,5% (95% СІ: 91,8–94,8), 85,4% (82,4–87,9) і 3,4% (2,0–5,7), відповідно. Подовжена тривалість латентного періоду при ПРПО у термінах одноплідної вагітності 24–32 тижні не була пов'язана з виживаністю без тяжкої захворюваності або раннього початку сепсису в новонароджених [4]. В іншому дослідженні [6] тривалість латентного періоду при ПРПО в термінах 14–34 тижні вагітності при очікуваному та ретельно контрольованому веденні вагітності не асоціювалася з несприятливими неонатальними наслідками (терапія безперервним позитивним тиском у дихальних шляхах, терапія діуретиками та/або кортикостероїдами, бронхолегенева дисплазія). Невро-

логічні показники, зокрема внутрішньошлункова кровотеча та тест Bayley II у скоригованому віці 24 місяці, не були суттєво пов'язані з тривалістю латентного періоду або з гестаційним віком на момент діагностики ПРПО [6].

**Мета** дослідження — оцінити прогностичне значення рівня вітаміну 25(ОН)D та експресії антимікробних пептидів ( $\beta$ -дефензинів 2) у крові матері в передбаченні перинатальних втрат при передчасному розриві плодових оболонок до 36 тижнів вагітності.

## Матеріали та методи дослідження

Проспективне дослідження проведено серед 109 жінок з одноплідною вагітністю, ускладненою ПРПО в термін вагітності 23–36 тижнів. Вік вагітних коливався від 15 до 52 років і в середньому (Me (IQR)) становив 31 (28; 36) рік.

Обов'язковий діагностичний набір дослідження у вагітної передбачав збір анамнезу, перебігу вагітності, пологів і післяпологового періоду, клініко-лабораторні показники, у тому числі рівень вітаміну 25(ОН)D та експресії антимікробних пептидів ( $\beta$ -дефензинів 2) у сироватці крові. Рівень вітаміну 25(ОН)D досліджено методом імуноферментного аналізу (тест система «AccuBind Elisa microwheels 25-OH Vitamin D Total» (Vit D-Direct); а експресію  $\beta$ -дефензинів 2 — методом імуноферментного аналізу (тест системи «Elabscience human DEF $\beta$ 2/DEFB2» (Defensin Beta 2) «ELISA Kit»).

Медіана гестації на момент ПРПО у досліджених вагітних становила 31 (27; 34) тиждень. Тривалість латентного періоду в разі вичікувальної тактики ведення ПРПО за інформованою згодою жінки коливалася в межах 2,5–1400 годин, із медіаною — 94,3 (27,0; 260,2) години, у тому числі безводний проміжок не перевищував 48 годин у 39 (35,8%) вагітних, від 48 годин до 168 годин — у 36 (33,0%) жінок, від 168 годин — у 34 (31,2%) пацієнток. На момент розродження середній термін гестації дорівнював 32 (28; 34) тижні, з них термін 23–27 тижнів — у 20 (18,3%) жінок, 28–31 тиждень — у 27 (24,8%) жінок, 32–34 тижні — у 35 (32,1%) жінок, 35–36 тижнів — у 27 (24,8%) жінок.

Усім вагітним виконано обстеження і лікування відповідно до чинних стандартів у сфері охорони здоров'я та міжнародних керівництв [1,5,7,8]. Профілактику неонатального респіраторного дистрес-синдрому (НРДС) на 24–34-му

тижні вагітності проведено 76 (69,7%) пацієнткам, з них 55 (50,4%) жінкам — дексаметазоном, 21 (19,3%) особі — бетаметазоном у відповідних дозах 24 мг. Токоліз ніфедипіном проведено у 64 (58,7%) випадках. З метою профілактики внутрішньоутробного інфікування 107 (98,2%) вагітним призначено антибактеріальні препарати в середніх терапевтичних дозах.

Стан новонароджених оцінено за шкалою Апгар на 1 і 5-й хвилині життя; тяжкість дихальних розладів визначено за шкалою Downes і показником оксигенації крові ( $SpO_2$ ). Крім того, оцінено неврологічний стан дітей, проведено скринінгові дослідження на внутрішньоутробні інфекції та інструментальні дослідження (рентгенографію органів грудної клітки, нейросонографію, ехокардіографію), а також офтальмологічний та сурдологічний скринінг.

Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження схвалений Локальним етичним комітетом зазначеної в роботі установи. На проведення досліджень отримано інформовану згоду пацієнток.

Для порівняння рівнів вітаміну 25(OH)D та експресії антимікробних пептидів ( $\beta$ -дефензинів 2) у сироватці крові жінок сформовано контрольну групу з 20 вагітних віком 17–38 років (медіана — 27 років) з інтактними плодовими оболонками, у яких згодом народилися доношені діти.

Статистичну обробку даних проведено за допомогою ліцензійного пакету програм «Statistica v. 6.1» («Statsoft Inc.», США, № AGAR909E415822FA) і MedCalc Software, trial version 20.113 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium, <https://www.medcalc.org>, 2022) з використанням описових та аналітичних статистичних методів. Враховуючи аномальний закон розподілу значень кількісних ознак, що вивчалися за критерієм Шапіро—Уїлка, використано непараметричні характеристики та методи аналізу: медіану (Me) з інтерквартильним розмахом (IQR — 25-й; 75-й перцентилі), критерій Манна—Уїтні, непараметричний аналіз Краскела—Уолліса (H) з апостеріорним порівнянням за критерієм Данна. Порівняння відносних показників проведено за критерієм Хі-квадрат Пірсона ( $\chi^2$ ); оцінку взаємозв'язку між ознаками — за коефіцієнтами рангової кореляції Спірмена (rs). Для оцінки прогностичного потенціалу показників, що мають предикторну цінність для ризику перинатальних

втрат, проведено ROC-аналіз із розрахунком площі під ROC-кривою (AUC) з 95% довірчим інтервалом (95% CI), дискримінаційного критерію (оптимального порогу або точки розмежування (cut-off point) значень показника за індексом Йодена — Youden (J)) та операційних характеристик (чутливість — Sensitivity (Se), специфічність — Specificity (Sp)). При значенні AUC 0,9–1,0 прогностичну цінність критерію прийнято відмінною, в інтервалі 0,8–0,9 — дуже доброю, в інтервалі 0,7–0,8 — доброю, в інтервалі 0,6–0,7 — середньою, в інтервалі 0,5–0,6 — незадовільною [9]. Для побудови прогностичних моделей використано однофакторний і багатфакторний логістичний регресійний аналіз з обчисленням показників відношення шансів (OR) з 95% довірчим інтервалом (95% CI) і теоретичної ймовірності мертвонародження (P). Результати прийнято статистично значущими за  $p < 0,05$ .

## Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження рівнів вітаміну 25(OH)D та експресії антимікробних пептидів ( $\beta$ -дефензинів 2) у сироватці крові жінок із недоношеною вагітністю, ускладненою ПРПО, показало суттєве зниження ( $p < 0,001$ ) цих рівнів як відносно жінок із доношеною вагітністю, так і залежно від термінів гестації. Зокрема, середній вміст вітаміну 25(OH)D у крові вагітних із ПРПО був зниженим удвічі (25,7 (21,2; 33,2) нг/мл проти 50,4 (42,6; 61,6) нг/мл), а рівень експресії  $\beta$ -дефензинів 2 — в 1,4 раза порівняно з контрольною групою (78,1 (77,2; 89,4) пг/мл проти 105,8 (97,2; 113,7) пг/мл), (табл. 1).

Порівняльний аналіз вмісту вітаміну 25(OH)D та експресії  $\beta$ -дефензинів 2 у крові вагітних із ПРПО на різних термінах гестації показав наявність прямого взаємозв'язку між цими показниками з коефіцієнтами кореляції  $r_s = 0,220$  ( $p = 0,021$ ) і  $r_s = 0,544$  ( $p < 0,001$ ), відповідно. Найнижчий рівень експресії  $\beta$ -дефензинів 2 визначався в терміни гестації 23–27 тижнів — 58,6 (32,7; 80,3) пг/мл, що в 1,3–1,5 раза було нижчим за показники інших груп у більших термінах гестації ( $p < 0,01$ ) (табл. 1). Дефіцит вітаміну 25(OH)D ( $< 20$  нг/мл) відзначався в 10 (50,0%) вагітних із термінами гестації 23–27 тижнів, у 7 (25,9%) жінок із термінами гестації 28–31 тижнів ( $p = 0,09$  порівняно з 23–27 тижнями), у 5 (14,3%) пацієнток із термінами гестації

Таблиця 1

## Показники рівнів вітаміну 25(OH)D та експресії антимікробних пептидів (β-дефензинів 2) у пацієнток груп дослідження

Група дослідження	Вітамін 25(OH)D, нг/мл	Експресія β-дефензинів 2, пг/мл
Контрольна група (n=20)	50,4 (42,6; 61,6)	105,8 (97,2; 113,7)
Основна група (n=109)	25,7 (21,2; 33,2)*	78,1 (77,2; 89,4)*
у т.ч. за термінами гестації:		
— 23–27 тижнів (n=20)	21,0 (9,5; 30,4)	58,6 (32,7; 80,3)
— 28–31 тиждень (n=27)	24,3 (18,6; 32,3)	77,3 (72,9; 85,9)^
— 32–34 тижні (n=35)	26,2 (21,9; 32,1)	82,5 (78,1; 89,4)^
— 35–36 тижнів (n=27)	30,2 (22,3; 33,8)^	90,2 (81,5; 92,9)^

Примітки: дані наведено як Me (IQR); \* —  $p < 0,001$  — достовірні відмінності порівняно з контрольною групою; ^ —  $p < 0,05$ ; ^^ —  $p < 0,001$  — достовірні відмінності порівняно з термінами гестації 23–27 тижнів (за критерієм Манна–Уїтні або Данна).

32–34 тижні ( $p=0,004$ ), у 2 (7,4%) вагітних із термінами гестації 35–36 тижнів ( $p < 0,001$ ).

За даними кореляційного аналізу встановлено достовірні асоціації зниженого рівня експресії β-дефензинів 2 у крові майбутньої матері з ускладненим перебігом вагітності із загрозою її переривання у II триместрі ( $rs=-0,229$ ;  $p=0,017$ ), з передчасним відшаруванням нормально розташованої плаценти ( $rs=-0,194$ ;  $p=0,043$ ) і розвитком хоріоамніоніту ( $rs=-0,213$ ;  $p=0,026$ ), а також зі зниженим рівнем сироваткового вітаміну 25(OH)D ( $rs=0,385$ ;  $p < 0,001$ ).

Перебіг недоношеної вагітності, ускладнений ПРПО, обумовив високу частоту перинатальних втрат [2, 3]: мертвородження становили 73,4% (8 випадків зі 109), з яких у 4 (36,7%) випадках відмічалася антенатальна загибель плода, в інших 4 (36,7%) випадках – інтранатальна. Відповідно до методів розродження 3 (27,5%) випадки інтранатальної загибелі плода сталися під час вагінальних пологів та 1 (9,2%) випадок – при кесаревому розтині. Співвідношення мертвороджених дітей чоловічої статі до жіночої становило 5:3. У 6 (55,1%) із 8 випадків плід мав надзвичайно малу масу тіла (500–900 г, медіана – 585 г), а термін гестації не перевищував 27 тижнів (медіана на момент ПРПО – 23 тижні, на момент пологів – 24 тижні). Взаємозв'язок

мертвонародження з термінами гестації та вагою плода був зворотним помірної сили –  $rs=-0,310$  ( $p=0,001$ ) і  $rs=-0,304$  ( $p=0,001$ ). Закономірно, що останні згадані фактори сильно корелювали ( $rs=0,916$ ;  $p < 0,001$ ).

За даними патолого-анатомічного дослідження посліду, в усіх 8 (100,0%) випадках мертвородження відмічалися морфологічні ознаки плацентарної недостатності, у тому числі гострої (4 (50,0%) випадки), які були переважно зумовлені передчасним відшаруванням нормально розташованої плаценти, інфарктами змінами плацентарної тканини та ознаками гострого порушення пуповинного кровообігу [2]. В усіх випадках відзначались інфекційно-запальні ураження різних елементів і структур плаценти, оболонок і пуповини (мембраніт – 7 випадків, інтервілузит – 4, фунікуліт – 4, хоріодецидуїт і хоріоамніоніт – по 1 випадку).

Серед досліджених материнських факторів, що корелювали з мертвородженням, відзначалося передчасне відшарування нормально розташованої плаценти, яке спостерігалось у 3 (37,5%) випадках перинатальних втрат проти 8 (7,9%) випадків живонародження ( $rs=0,256$ ;  $p=0,007$ ), анемія середнього ступеня у 2 (25,0%) проти 3 (3,0%) матерів ( $rs=0,275$ ;  $p=0,004$ ), а також низький рівень охоплення профілактичними заходами щодо

Таблиця 2

## Результати порівняльного і кореляційного аналізу щодо визначення окремих предикторів перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО

Предиктор	Коефіцієнт кореляції (rs)*	Група за перинатальними наслідками		
		мертво-народження	живо-народження	відмінності між групами (p)**
Термін гестації, тижні, Me (IQR)	-0,310	24,5 (23,0; 30,0)	32 (29,0; 35,0)	0,001
Передчасне відшарування нормально розташованої плаценти, абс. (%)	0,256	3 (37,5%)	8 (7,9%)	0,007
Анемія середнього ступеня, абс. (%)	0,275	2 (25,0%)	3 (3,0%)	0,004
Наявність профілактичних заходів щодо НРДС, абс. (%)	-0,197	3 (37,5%)	73 (72,3%)	0,040
Рівень експресії β-дефензинів 2, пг/мл, Me (IQR)	-0,362	33,6 (16,8; 77,3)	82,5 (78,1; 90,2)	< 0,001
Рівень сироваткового вітаміну 25(OH)D, нг/мл, Me (IQR)	-0,306	11,9 (4,0; 18,8)	28,3 (21,7; 33,8)	0,001

Примітки: \* — наведено коефіцієнт кореляції Спірмена (rs); \*\* — рівень значущості відмінностей між групами (за критерієм Манна–Уїтні або  $\chi^2$  Пірсона).

НРДС – 3 (37,5%) проти 73 (72,3%) випадків ( $rs=-0,197$ ;  $p=0,040$ ), (табл. 2).

Важливим є встановлення достовірного кореляційного зв'язку помірної сили між зниженим рівнем експресії  $\beta$ -дефензину 2 і перинатальними втратами ( $rs=-0,362$ ;  $p<0,001$ ). Так, рівень експресії  $\beta$ -дефензину 2 у крові матерів мертворождалих коливався від 4,4 до 79 пг/мл і в середньому дорівнював 33,6 (16,8; 77,3) пг/мл, що було в 3,1 раза нижчим за показники жінок контрольної групи ( $p<0,001$ ), та в 2,5 раза меншим, ніж у випадках живонародження (82,5 (78,1; 90,2) пг/мл;  $p<0,001$ ).

Аналогічні закономірності щодо наявності достовірного зв'язку з перинатальними втра-

тами встановлено і для рівня сироваткового вітаміну 25(OH)D:  $rs=-0,306$ ;  $p<0,001$ . Медіанний рівень вітаміну 25(OH)D у крові жінок при живонародженні становив 28,3 (21,7; 33,8) нг/мл, що в 2,4 раза перевищувало показник у матерів із втратами плода – 11,9 (4,0; 18,8) нг/мл ( $p<0,001$ ).

Для уточнення прогностичної цінності виділених факторів у визначенні ймовірності перинатальних втрат у жінок із недоношеною вагітністю, ускладненою ПРПО, проведено ROC-аналіз. За його результатами підтверджено високу прогностичну значущість ранніх термінів гестації та низьких рівнів експресії  $\beta$ -дефензину 2 і вітаміну 25(OH)D у крові

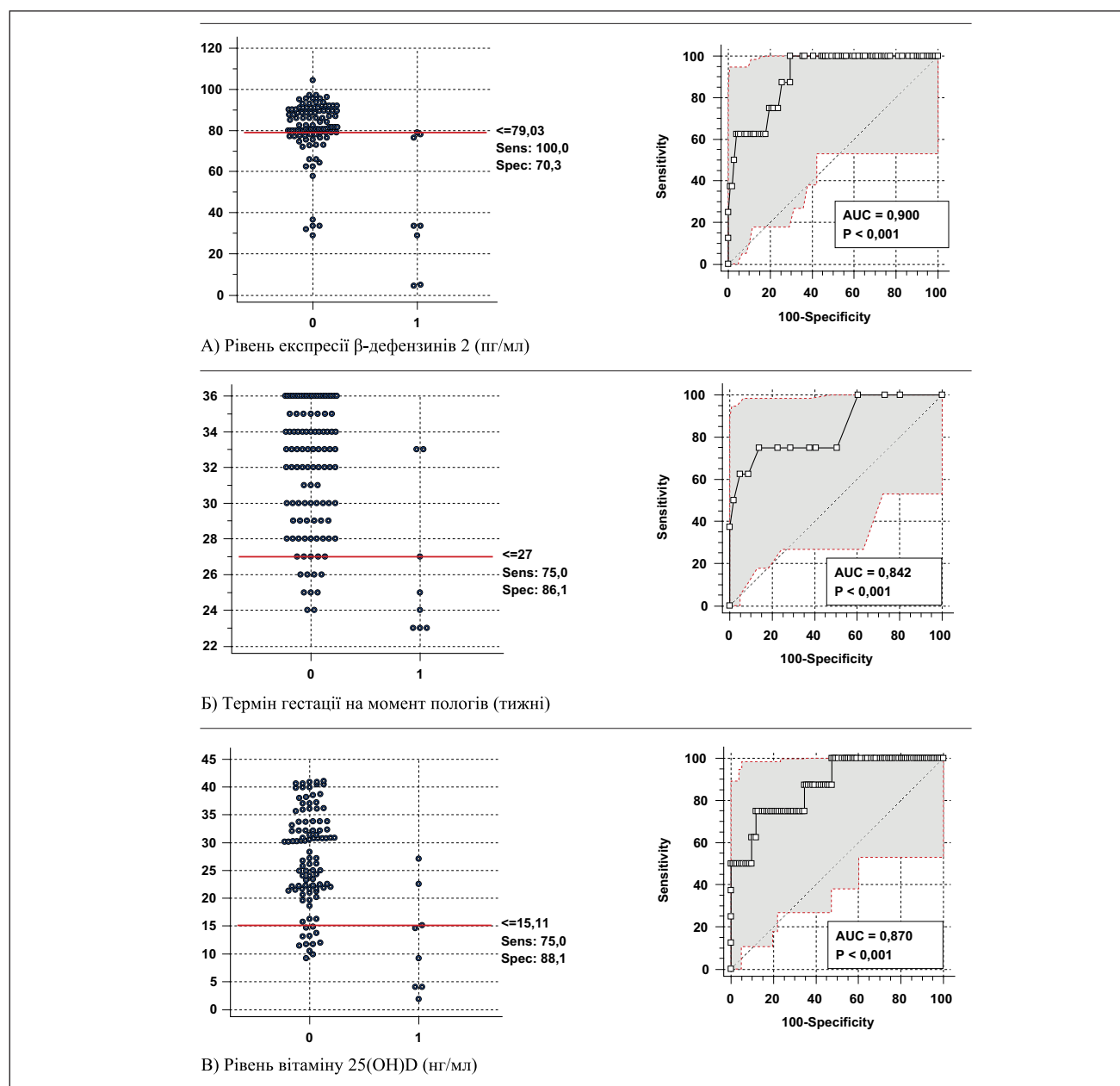


Рис. 1. Класифікація і ROC-криві показників терміну гестації на момент пологів, експресії  $\beta$ -дефензину 2 і сироваткового вітаміну 25(OH)D у крові вагітної при визначенні ймовірності перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО

Таблиця 3

**Прогностична значущість окремих материнських факторів у визначенні ймовірності перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО**

Предиктор	ROC-аналіз				Однофакторний логістичний аналіз	
	AUC (95% CI)	критерій (поріг відсікання)	Se/Sp (%)	p*	OR (95% CI)	p*
Термін гестації, тижні	0,842 (0,759–0,904)	≤27	75,0/86,1	<0,001	18,6 (3,4–103,7)	<0,001
Рівень експресії β-дефензину 2, пг/мл	0,900 (0,828–0,949)	≤79	100/70,3	<0,001	37,2 (1,9–718,1)	<0,001
Рівень сироваткового вітаміну 25(OH)D, нг/мл	0,870 (0,792–0,927)	≤15,1	75,0/88,1	<0,001	22,3 (3,9–125,5)	<0,001
Передчасне відшарування нормально розташованої плаценти	0,648 (0,551–0,737)	так	37,5/92,1	0,110	7,0 (1,4–35,3)	0,018
Анемія середнього ступеня	0,610 (0,512–0,702)	так	25,0/97,0	0,181	10,9 (1,5–79,8)	0,018
Відсутність профілактичних заходів щодо НРДС	0,674 (0,577–0,761)	так	62,5/72,3	0,065	4,3 (1,0–19,7)	0,050

Примітки: AUC (95% CI) — площа під ROC-кривою з 95% довірчим інтервалом; Se/Sp — чутливість / специфічність критерію; OR (95% CI) — відношення шансів мертвородження до живонародження; \* — рівень статистичної значущості показників.

вагітної (рис. 1, табл. 3). При цьому відмінні прогностичні характеристики мав рівень експресії β-дефензину 2 менший або рівний 79 пг/мл: площа під ROC-кривою AUC=0,900, 95% CI (0,828–0,949), чутливість (істинно позитивний результат) — 100,0%, специфічність (істинно негативний результат) — 70,3% при p<0,001. Термін гестації ≤27 тижнів і рівень сироваткового вітаміну 25(OH)D ≤15,1 нг/мл мали дуже добрий прогностичний потенціал із площею AUC=0,842, 95% CI (0,759–0,904) і AUC=0,870, 95% CI (0,792–0,927), з показниками чутливості 75,0%, специфічності — 86,1% і 88,1% (p<0,001) відповідно.

Інші показники (анемія середнього ступеня тяжкості у вагітної, передчасне відшарування плаценти і відсутність попередніх заходів щодо профілактики НРДС) мали середню прогностичну цінність (AUC у діапазоні 0,6–0,7). Водночас наявність анемії середнього ступеня тяжкості у вагітної на момент пологів і передчасне відшарування нормально розташованої плаценти були малочутливими (Se=25,0% і Se=37,5%), але високоспецифічними (Sp=97,0% і Sp=92,1%) критеріями для передбачення можливих перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО.

За результатами однофакторного логістичного регресійного аналізу визначено, що за виконання умов дискримінаційного критерію, визначеного за допомогою ROC-аналізу, ризик (шанси) мертвородження зростає: у терміні гестації до 27 тижнів — у 18,6 (95% CI: 3,4–103,7) разів, при рівні експресії β-дефензину 2 ≤79 пг/мл — у 37,2 (95% CI: 1,9–718,1) разів, при рівні сироваткового вітаміну 25(OH)D ≤15,1 нг/мл —

у 22,3 (95% CI: 3,9–125,5) разів при p<0,001 (табл. 3).

Отже, вірогідними предикторами перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО, можуть бути: термін гестації до 27 тижнів, рівень експресії β-дефензину 2 у сироватці крові вагітної ≤79 пг/мл, а вітаміну 25(OH)D — ≤15,1 нг/мл, наявність у вагітної на момент пологів анемії середнього ступеня тяжкості, передчасного відшарування нормально розташованої плаценти, а також відсутність профілактичних заходів щодо НРДС.

Для розрахунку індивідуального ризику (ймовірності) перинатальних втрат за допомогою множинного логістичного регресійного аналізу побудовано багатофакторні прогностичні моделі, що враховували вплив кількох предикторів на цей ризик. Загальне математичне рівняння логістичної регресії:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-y}}, \quad y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + \dots + a_nx_n,$$

де P — ймовірність того, що подія (перинатальні втрати) відбудеться (показник приймає значення від 0 до 1);

e<sup>y</sup> — експоненціальна функція (exp), де e — число Ейлера (e≈2,71828);

a<sub>0</sub>, a<sub>1</sub> ... a<sub>n</sub>, — коефіцієнти регресії, обчислені за методом максимальної правдоподібності; a<sub>0</sub> — вільний член, який характеризує результат, якщо всі предиктори дорівнюють 0;

x<sub>1</sub>, x<sub>1</sub>... x<sub>n</sub> — значення предикторних змінних.

При цьому ризик вважався високим, якщо розрахована ймовірність (P) перевищувала 0,5, або 50%.

На початковому етапі побудови багатофакторних прогностичних моделей проведено ко-

Таблиця 4

**Параметри багатфакторних моделей логістичної регресії для оцінки ймовірності (P) перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО**

Модель	Предиктори	Коефіцієнти регресії та їх статистична значущість за критерієм $\chi^2$ Вальда			
		$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$
1	$x_1$ — рівень експресії $\beta$ -дефензинів 2 (пг/мл); $x_2$ — анемія середньої тяжкості (1 — так, 0 — ні); $x_3$ — профілактика НРДС (1 — так, 0 — ні)	3,5766 ( $p=0,019$ )	-0,0786 ( $p<0,001$ )	3,5164 ( $p=0,024$ )	-2,5607 ( $p=0,031$ )
2	$x_1$ — рівень вітаміну 25(OH)D (нг/мл); $x_2$ — термін гестації (1 — 23–27 тиж., 2 — 28–31 тиж., 3 — 32–34 тиж., 4 — 35–36 тиж.); $x_3$ — профілактика НРДС (1 — так, 0 — ні)	11,159 ( $p=0,014$ )	-0,1536 ( $p=0,044$ )	-2,9 ( $p=0,017$ )	-7,1491 ( $p=0,013$ )
3	$x_1$ — рівень експресії $\beta$ -дефензинів 2 (пг/мл); $x_2$ — рівень вітаміну 25(OH)D (нг/мл); $x_3$ — профілактика НРДС (1 — так, 0 — ні)	5,1181 ( $p=0,017$ )	-0,0491 ( $p=0,035$ )	-0,1413 ( $p=0,076$ )	-2,7585 ( $p=0,039$ )

Примітки: AUC (95% CI) — площа під ROC-кривою з 95% довірчим інтервалом; Se/Sp — чутливість / специфічність критерію; OR (95% CI) — відношення шансів мертвонародження до живонародження; \* — рівень статистичної значущості показників.

реляційний аналіз для виявлення взаємозалежних предикторів (перевірка на колінеарність). Серед виділених предикторів високого ризику перинатальних втрат найтісніші зв'язки встановлено між терміном гестації і такими показниками, як рівень експресії  $\beta$ -дефензинів 2 ( $r_s=0,544$ ;  $p<0,001$ ), проведення профілактичних заходів щодо НРДС ( $r_s=-0,558$ ;  $p<0,001$ ), передчасне відшарування нормально розташованої плаценти ( $r_s=-0,335$ ;  $p<0,001$ ). За допомогою двофакторного логістичного регресійного аналізу встановлено, що саме низький рівень експресії  $\beta$ -дефензинів 2 у крові матері при ПРПО вірогідно підвищував ризик перинатальної загибелі плода: OR=1,06 (95% CI: 1,02–1,11);  $p=0,007$ , тоді як вплив раннього терміну пологів був статистично незначущим ( $p=0,510$ ). Навпаки, ймовірність мертвонародження вірогідно зростала при ранніх термінах гестації ( $p=0,005$ ) і відсутності превентивних заходів щодо НРДС ( $p=0,008$ ), а вплив передчасного відшарування нормально розташованої плаценти на ризик перинатальних втрат після врахування терміну вагітності не був статистично значущим ( $p=0,314$ ).

З урахуванням виявлених взаємозв'язків між виділеними предикторами, а також можливої відсутності на практиці окремих первинних даних створено декілька варіантів математичних моделей прогнозування ймовірності перинатальних втрат при недоношеній вагітності (23–36 тижнів), ускладненій ПРПО.

Модель 1 передбачала розрахунок ймовірності перинатальних втрат (P) за формулою (1) і показниками рівня експресії  $\beta$ -дефензинів 2 у крові вагітної у пг/мл ( $x_1$ ), наявності в неї анемії середнього ступеня ( $x_2$ : 1 — так, 0 — ні) та попереднього проведення профілакти-

ки НРДС дексаметазоном або бетаметазоном ( $x_3$ : 1 — так, 0 — ні). Відповідні коефіцієнти регресії  $a_0$ ,  $a_1$ ,  $a_2$ ,  $a_3$ , рівень статистичної значущості коефіцієнтів, оцінений за критерієм  $\chi^2$  Вальда, наведено в таблиці 4.

У моделі 2 для обчислення ймовірності перинатальних втрат (P) за формулою (1) використано показники рівня вітаміну 25(OH)D у крові вагітної у нг/мл ( $x_1$ ), інтервал терміну гестації ( $x_2$ : 1 — 23–27 тиж., 2 — 28–31 тиж., 3 — 32–34 тиж., 4 — 35–36 тиж.), проведення профілактичних заходів щодо НРДС ( $x_3$ : 1 — так, 0 — ні).

Параметри моделі 3: показники рівня експресії  $\beta$ -дефензинів 2 у крові вагітної у пг/мл ( $x_1$ ), вмісту вітаміну 25(OH)D у нг/мл ( $x_2$ ), а також проведення профілактичних заходів щодо НРДС ( $x_3$ : 1 — так, 0 — ні).

Якість прогнозування ймовірності перинатальних втрат (P) у жінок із недоношеною вагітністю, ускладненою ПРПО, за розробленими математичними моделями логістичної регресії оцінено за критерієм Хі-квадрат (адекватність моделі), тестом згоди Хосмера—Лемешова (узгодженість теоретичних і реальних результатів) та ROC-аналізом. За даними таблиці 5, усі моделі показали високу статистичну значущість з  $p<0,001$ , добру узгодженість теоретичних і вихідних результатів (за тестом Хосмера—Лемешова  $p>0,5$ ), відмінну прогностичну якість за результатами ROC-аналізу (AUC>0,9) без достовірної різниці між моделями ( $p>0,05$ ).

За даними ROC-аналізу і логіт-аналізу уточнено критичні рівні для підвищеного і високого ризику перинатальних втрат за пропонуваними моделями (табл. 5, рис. 2). Так, якщо при обчисленні ймовірності мертвонародження за мо-

Таблиця 5

Характеристики якості прогностичних моделей оцінки ймовірності (P) перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО

Модель	Адекватність моделі ( $\chi^2$ , p)	Тест Хосмера-Лемешова ( $\chi^2$ , p)	ROC-аналіз, логіт-аналіз			
			AUC (95% CI)*	критерій		показники ефективності для оцінки високого ризику Se / Sp / Acc (%)
				підвищеного ризику	високого ризику	
1	30,75 (p<0,001)	6,60 (p=0,580)	0,921 (0,853–0,964)	$\geq 0,065$	$\geq 0,42$	75,0 / 100,0 / 98,2
2	35,41 (p<0,001)	3,41 (p=0,906)	0,973 (0,922–0,994)	$\geq 0,045$	$\geq 0,48$	62,5 / 100,0 / 97,3
3	29,34 (p<0,001)	6,70 (p=0,569)	0,912 (0,842–0,958)	$\geq 0,10$	$\geq 0,42$	62,5 / 100,0 / 97,3

Примітки: \* — p<0,001; Se / Sp / Ac — чутливість (sensitivity) / специфічність (specificity) / точність (accuracy).

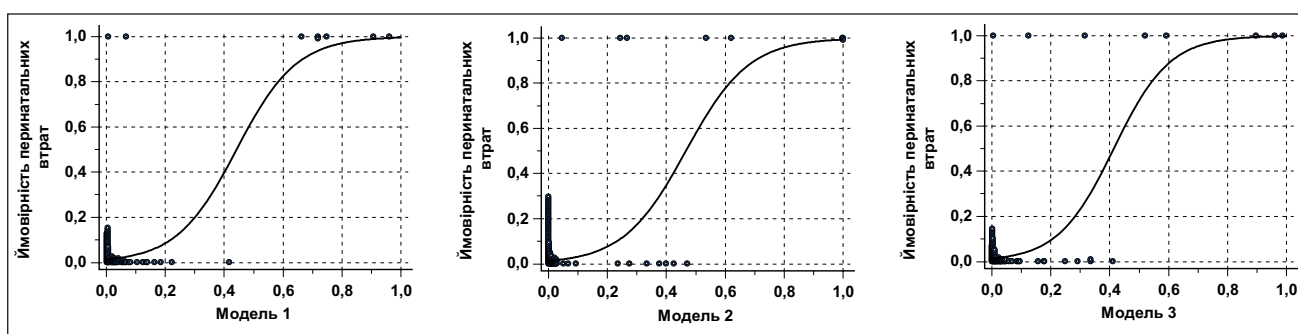


Рис. 2. Співвідношення теоретичних і прогнозованих за рівняннями логістичної регресії (моделі 1, 2, 3) ймовірностей перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО

деллю 1 результат (P) <0,065, то ризик оцінено як низький, при  $0,065 \leq P < 0,42$  — підвищений, при  $P \geq 0,42$  — високий. При цьому показники ефективності методу прогнозування високого ризику перинатальних втрат за моделлю 1 були значущими: чутливість — 75,0%, специфічність — 100,0%, точність прогнозу — 98,2%.

Показники якості прогнозування високого ризику перинатальних втрат для моделей 2 і 3 також забезпечували специфічність тесту на рівні 100,0%, чутливість — 62,5%, точність прогнозу — 97,3%.

Нижченаведені приклади показали застосування розроблених прогностичних моделей на практиці.

**Клінічний приклад 1.** Пацієнтка, вік-ом 24 роки, 3-тя вагітність, 25 тижнів, 2-гі пологи. ПРПО. В анамнезі не було випадків передчасних пологів і перинатальних втрат. На момент надходження до стаціонару: рівень експресії  $\beta$ -дефензину 2 — 33,64 пг/мл, вітаміну 25(OH)D — 1,82 нг/мл, рівень гемоглобіну — 98 г/л. Тривалість безводного проміжку — 137 годин, профілактика НРДС не проведена. Пологи — вагінальні, антенатальна загибель плода чоловічої статі масою 580 г.

Розрахунки ймовірності мертвонародження.

За моделлю 1:

$$y = 3,5766 - 0,0786 \times 33,64 + 3,5164 \times 0 - 2,5607 \times 0 \approx 0,933; P = 1 / (1 + e^{-0,933}) \approx 0,718.$$

За моделлю 2:

$$y = 11,1585 - 0,1536 \times 1,82 - 2,9 \times 1 - 7,1491 \times 0 \approx 7,979; P = 1 / (1 + e^{-7,979}) \approx 1,00.$$

За моделлю 3:

$$y = 5,1181 - 0,0491 \times 33,64 - 0,1413 \times 1,82 - 2,7585 \times 0 \approx 3,209; P = 1 / (1 + e^{-3,209}) \approx 0,961.$$

Отже, розрахунки за трьома математичними формулами показали високий ризик мертвонародження за моделлю 1 ( $P > 0,7$ ) і дуже високий ризик за моделями 2 і 3 ( $P > 0,9$ ) у вагітної.

**Клінічний приклад 2.** Пацієнтка, віком 29 років, 2-га вагітність, 23 тижні, 2-гі пологи. ПРПО. В анамнезі не було випадків передчасних пологів і перинатальних втрат. На момент надходження до стаціонару: рівень експресії  $\beta$  дефензину 2 — 28,84 пг/мл, вітаміну 25(OH)D — 4,02 нг/мл, рівень гемоглобіну — 79 г/л. Тривалість безводного проміжку — 128 годин, проведена профілактика НРДС. Пологи — вагінальні, інтранатальна загибель плода жіночої статі масою 610 г.



Розрахунки ймовірності мертвонародження.

За моделлю 1:

$$y = 3,5766 - 0,0786 \times 28,84 + 3,5164 \times 1 - 2,5607 \times 1 \approx 2,265; P = 1 / (1 + e^{-2,265}) \approx 0,906.$$

За моделлю 2:

$$y = 11,1585 - 0,1536 \times 4,02 - 2,9 \times 1 - 7,1491 \times 1 \approx 0,492; P = 1 / (1 + e^{-0,492}) \approx 0,621.$$

За моделлю 3:

$$y = 5,1181 - 0,0491 \times 28,84 - 0,1413 \times 4,02 - 2,7585 \times 1 \approx 0,375; P = 1 / (1 + e^{-0,375}) \approx 0,593.$$

Отже, розрахунки за трьома математичними формулами також показали дуже високий ризик мертвонародження за моделлю 1 ( $P > 0,9$ ) і високий ризик за моделями 2 і 3 ( $P > 0,5$ ) у вагітної.

*Клінічний приклад 3.* Пацієнтка, віком 37 років, 2-га вагітність, 25 тижнів, 2-гі пологи. ПРПО. В анамнезі не було випадків передчасних пологів і перинатальних втрат. На момент надходження до стаціонару: рівень експресії  $\beta$ -дефензинів 2 — 36,47 пг/мл, вітаміну 25(OH)D — 14,87 нг/мл, рівень гемоглобіну — 136 г/л. Тривалість безводного проміжку — 142,6 години, проведена профілактика НРДС. Передчасне відшарування нормально розташованої плаценти. Пологи — кесарів розтин. Народилася жива дитина жіночої статі, масою тіла 710 г, за шкалою Апгар — 4–5 балів, переведена до відділення для новонароджених дитячого стаціонару на 54-ту добу після народження.

Розрахунки ймовірності мертвонародження.

За моделлю 1:

$$y = 3,5766 - 0,0786 \times 36,47 + 3,5164 \times 0 - 2,5607 \times 1 \approx -1,85; P = 1 / (1 + e^{1,85}) \approx 0,136.$$

За моделлю 2:

$$y = 11,1585 - 0,1536 \times 14,87 - 2,9 \times 1 - 7,1491 \times 1 \approx -1,175; P = 1 / (1 + e^{1,175}) \approx 0,236.$$

За моделлю 3:

$$y = 5,1181 - 0,0491 \times 36,47 - 0,1413 \times 14,87 - 2,7585 \times 1 \approx -1,53; P = 1 / (1 + e^{1,53}) \approx 0,178.$$

Розрахунки показали дещо підвищений ризик мертвонародження у вагітної за всіма моделями ( $P > 0,10$ ).

*Клінічний приклад 4.* Пацієнтка, віком 39 років, 2-га вагітність, 26 тижнів, 1-ші пологи. ПРПО. На момент надходження до стаціонару: рівень експресії  $\beta$ -дефензинів 2 — 79,86 пг/мл, вітаміну 25(OH)D — 40,66 нг/мл, рівень гемоглобіну — 116 г/л. Тривалість безводного проміжку — 17,6 години, проведена профілактика НРДС. Передчасне відшарування нормально розташованої плаценти. Пологи — кесарів розтин. Народилася жива дитина чоловічої статі,

масою тіла 940 г, за шкалою Апгар — 3–4 бали, переведена до відділення для новонароджених дитячого стаціонару на 2-гу добу після народження.

Розрахунки ймовірності мертвонародження.

За моделлю 1:

$$y = 3,5766 - 0,0786 \times 79,86 + 3,5164 \times 0 - 2,5607 \times 1 \approx -5,26; P = 1 / (1 + e^{5,26}) \approx 0,005.$$

За моделлю 2:

$$y = 11,1585 - 0,1536 \times 40,66 - 2,9 \times 1 - 7,1491 \times 1 \approx -5,14; P = 1 / (1 + e^{5,14}) \approx 0,006.$$

За моделлю 3:

$$y = 5,1181 - 0,0491 \times 79,86 - 0,1413 \times 40,66 - 2,7585 \times 1 \approx -7,31; P = 1 / (1 + e^{7,31}) \approx 0,0007.$$

Розрахунки показали дуже низький ризик перинатальних втрат у вагітної за всіма моделями ( $P < 0,005$ ).

## Висновки

Перебіг недоношеної вагітності, ускладнений ПРПО, обумовлює високу частоту перинатальних втрат — мертвонародженість становила 73,4% при однаковій кількості випадків антенатальної та інтранатальної загибелі плода.

За даними кореляційного аналізу встановлено вірогідні асоціації між частотою перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО, як із термінами гестації, так і з такими материнськими факторами: анемія середнього ступеня, рівень сироваткового вітаміну 25(OH)D та експресії  $\beta$ -дефензинів 2, низький рівень охоплення профілактичними заходами щодо НРДС.

За даними ROC-аналізу і однофакторного логістичного аналізу підтверджено високу прогностичну значущість ранніх термінів гестації, низьких рівнів експресії  $\beta$ -дефензинів 2 і вітаміну 25(OH)D у крові вагітної. Вірогідні предиктори перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО: термін гестації — до 27 тижнів (OR=18,6; 95% CI: 3,4–103,7); рівень експресії  $\beta$ -дефензинів 2 у сироватці крові вагітної —  $\leq 79$  пг/мл (OR=37,2; 95% CI: 1,9–718,1); вітаміну 25(OH)D —  $\leq 15,1$  нг/мл (OR=22,3; 95% CI: 3,9–125,5); наявність у вагітної на момент пологів анемії середнього ступеня тяжкості (OR=10,9; 95% CI: 1,5–79,8); а також відсутність профілактичних заходів щодо НРДС (OR=4,3; 95% CI: 1,0–19,7).

На основі виділених предикторів побудовано три моделі багатофакторної логістичної регресії, які дають змогу на індивідуальному рівні

оцінити ймовірність перинатальних втрат при недоношеній вагітності, ускладненій ПРПО, із досить високими показниками діагностичної ефективності – чутливість (62,5–75,0%),

специфічність (100%), точність прогнозу (97,3–98,2%).

*Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.*

## References/Література

1. ACOG. (2020). Prelabor Rupture of Membranes: ACOG Practice Bulletin, Number 217. Obstetrics and gynecology. 135 (3): e80–e97. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003700>.
2. Dubossarska YuO, Puziy YeO. (2022). Histological features of the infectious and inflammatory state of the placenta in women with preterm premature rupture of membranes depending on the duration of the interval between membrane rupture and delivery and other factors. Вісник проблем біології і медицини. 3 (166):168–173. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-3-166-168-173>.
3. Dubossarska YuO, Puziy YeO. (2022). Perynatalni naslidky pry peredchasnomu rozryvi plodovykh obolonok do 36 tyzhniv vahitnosti. Ukrainskyi zhurnal Perynatolohiia i Pediatriia. 3(91): 22–28. [Дубоссарська ЮО, Пузій ЄО. (2022). Перинатальні наслідки при передчасному розриві плодових оболонок до 36 тижнів вагітності. Український журнал Перинатологія і Педіатрія. 3(91): 22–28] <https://doi.org/10.15574/PP.2022.91.22>.
4. Lorthe E, Ancel PY, Torchin H et al. (2017). Impact of Latency Duration on the Prognosis of Preterm Infants after Preterm Premature Rupture of Membranes at 24 to 32 Weeks' Gestation: A National Population-Based Cohort Study. The Journal of pediatrics. 182: 47–52.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.11.074>.
5. MOZ Ukrainy. (2005). Pro zatverdzhennia klinichnykh protokoliv z akusherskoi ta hinekolohichnoi dopomohy, klinichniy protokol Peredchasnyi rozryv plodovykh obolonok. Nakaz MOZ Ukrainy No. 782 vid 29.12.2005. [МОЗ України. (2005). Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги, клінічний протокол Передчасний розрив плодових оболонок. Наказ МОЗ України від 29.12.2005 № 782].
6. Müller H, Stähling AC, Bruns N et al. (2022). Latency duration of preterm premature rupture of membranes and neonatal outcome: a retrospective single-center experience. European journal of pediatrics. 181(2):801–811. <https://doi.org/10.1007/s00431-021-04245-2>.
7. Ronzoni S, Boucoiran I, Yudin MH et al. (2022). Guideline No. 430: Diagnosis and management of preterm prelabour rupture of membranes. Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada. 44 (11): 1193–1208.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jogc.2022.08.014>.
8. Shazly SA, Ahmed IA, Radwan AA, et al. (2020). Middle-East OBGYN Graduate Education (MOGGE) Foundation Practice Guidelines: Prelabor rupture of membranes. Practice guideline No. 01–O–19. Journal of global health. 10 (1): 010325. <https://doi.org/10.7189/jogh.10.010325>.
9. Šimundić AM. (2009). Measures of Diagnostic Accuracy: Basic Definitions. EJIFCC. 19(4): 203–11.

### Відомості про авторів:

**Пузій Євген Олександрович** — аспірант каф. акушерства, гінекології та перинатології ФПО ДДМУ, лікар акушер-гінеколог КП «Регіональний медичний центр родинного здоров'я» Дніпропетровської обласної ради. Адреса: м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. <https://orcid.org/0000-0003-2608-1892>.

**Дубоссарська Юліанна Олександрівна** — д.мед.н., проф., зав. каф. акушерства, гінекології та перинатології ФПО ДДМУ. Адреса: м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. <https://orcid.org/0000-0002-4040-227X>.

Стаття надійшла до редакції 11.10.2022 р.; прийнята до друку 10.12.2022 р.