

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет
Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ЛЮБОМИРСЬКА КАТЕРИНА СЕРГІЇВНА

УДК 618.346-007.251:618.396]-037

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕДЧАСНОГО РОЗРИВУ ПЛОДОВИХ
ОБОЛОНОК ПРИ НЕДОНОШЕНІЙ ВАГІТНОСТІ**

222 «Медицина»

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ К.С. Любомирська

Науковий керівник – **Круть Юрій Якович**, доктор медичних наук, професор

Запоріжжя – 2020

АНОТАЦІЯ

Любомирська К.С. Прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (22 – Охорона здоров'я). – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Дисертація присвячена вивченню заходів, спрямованих на підвищення ефективності прогнозування та оптимізації тактики ведення передчасного розриву плодових оболонок (ПРПО) при недоношеній вагітності.

В роботі проаналізовані результати дослідження стану вродженого, адаптивного імунітету в плаценті та плодових оболонках, асоціації однонуклетидного поліморфізму генів про- та протизапальних цитокінів, концентрації гормонів фетоплацентарного комплексу, оцінки інтегральних показників рівня ендогенної інтоксикації у 80 жінок з ПРПО в терміні гестації 26-34 тижні з подальшою ініціацією передчасних пологів.

В ході дослідження пацієнти були розподілені на 2 групи: 1 (основна) група – 80 жінок з ПРПО в 26-34 тижні вагітності та 2 (контрольна) група – 50 жінок з фізіологічним перебігом вагітності та терміновими пологами без ускладнень. Середній вік обстежених жінок склав $29,60 \pm 6,30$ років. Середній термін виникнення ПРПО в основній групі дослідження становив $31,03 \pm 2,48$ тижня, тривалість безводного проміжку склала 114 години (від 9 до 313 годин).

За результатами проведеного аналізу асоціації однонуклеотидного поліморфізму генів (single nucleotide polymorphism – SNP) з виникненням ПРПО при недоношеній вагітності методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу встановлені генотипи схильності до високого ризику ускладнень та генотипи, які мають протективний ефект.

В ході проведеного аналізу результатів обстеження пацієнтів встановлено, що протективним ефектом наділені AG генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239) – RR=0,67 95 % CI 0,05-0,54; CC генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076) – RR=0,59 95 % CI 0,46-0,75; TG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872) – RR=0,49 95 % CI 0,32-0,73. В популяції України наявність CT генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076) підвищує ризик ПРПО при недоношеній вагітності в 17 разів (95 % CI 2,29-125,67), GG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872) в 12,5 разів (95 % CI 3,07-50,85) та AA генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239) в 1,74 рази (95 % CI 1,33-2,28).

При проведенні молекулярно-генетичного дослідження кожного з генотипів (GG, GA та AA) поліморфізму rs1143627 гена IL1 β не вдалось виявити статистично вірогідну асоціацію з ПРПО в термінах гестації 26-34 тижні ($\chi^2 = 0,18$, OR (GG) = 1,13; 95 % CI: 0,65–1,98; OR (GA) = 1,54; 95 % CI: 0,68–3,49; OR (AA) = 0,89; 95 % CI: 0,50–1,55 відповідно, $p > 0,05$). Тенденцію, що не набула статистичної значущості було встановлено за всіма алелями (AA, GG та AG) поліморфізму rs1800629 гена TNF α – $\chi^2 = 0,44$, OR (AA) = 0,8; 95 % CI: 0,42–1,54; OR (GG) = 1,25; 95 % CI: 0,65–2,39; та OR (AG) = 0,67; 95 % CI: 0,28–1,62 відповідно, $p > 0,05$.

В плацентах породіль з індукованими ПРПО передчасними пологами були встановлені наступні значення показників транскрипційної активності мРНК гена TLR2 – 0,79–163,44 (медіана – 31,06), разом з тим в плодових оболонках – 1,1–126,06 (медіана – 10,22). Між іншим, діапазон експресії мРНК гена TLR4 у плаценті був нижчим за TLR2 та склав відповідно 0,39–43,85 (медіана – 7,74) та на противагу вищим в плодових оболонках – 0,18–216,01 (медіана – 40,04). Аналізуючи структуру розподілу значень відносної нормалізованої експресії в залежності від терміну маніфестації ПРПО, вдалось зафіксувати у 53,53 раза більший у порівнянні з практично здоровими жінками рівень експресії TLR4 в плодових оболонках в 33–34 тижні виникнення ПРПО, у 24,77 раза – в 31–32 тижні відповідно.

На основі вивчення спектру всіх отриманих значень транскрипційної активності мРНК гена IL1 β , даний показник в плаценті становив 1,43–227,93 (mean – 25,08), у плодових оболонках – 1,23–139,24 (mean – 23,83). Разом з тим, досліджена в плаценті відносна нормалізована експресія мРНК гена IL-17A отримала менший за IL1 β розмах значень та склала 1,15–62,76 (mean – 5,69), у плодових оболонках – 1,63–130,67 (mean – 19,31).

В ході проведеного дослідження гормонів фето-плацентарного комплексу за допомогою імуноферментного аналізу в залежності від терміну виникнення ПРПО встановлено, що в основній групі дослідження найнижчі концентрації прогестерону були в терміні 26-27 тижнів та склали 25,89 нг/мл, найвищі – 67,45 нг/мл в 31-32 тижні відповідно. Аналіз концентрацій хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) показав, що в найнижчим даний показник був також в терміні 26-27 тижнів та склав 1182,8 мОд/мл. В термінах гестації 28-30 та 26-27 тижнів у вагітних основної групи виявлені найнижчі концентрації естрадіолу в сироватці крові та склали 588,31 пг/мл та 653,87 пг/мл відповідно. У всіх гестаційних підгрупах основної групи рівень досліджених гормонів був нижчим за цей показник в відповідному терміні у вагітних контрольної групи ($p \leq 0,05$).

Під час вивчення кореляційних взаємозв'язків кількісних значень гормонів між собою доведено, що у жінок основної групи встановлений статистично вірогідний сильний прямий кореляційний зв'язок ($r=0,87$, $p \leq 0,05$) між рівнем прогестерону та естрадіолу. Тобто, при збільшенні концентрації прогестерону в сироватці крові суттєво зростає рівень естрадіолу. Під час вивчення залежності зв'язків між концентрацією прогестерону та ХГЛ у жінок з ПРПО в 26-34 тижні вагітності встановлено помірну пряму кореляцію, яка також набула статистичної значущості ($r= 0,65$, $p \leq 0,05$).

З метою оцінки імуномодулюючого ефекту гормонів системи мати-плацента-плід на місцевому рівні, були досліджені кореляційні взаємозв'язки між концентрацією прогестерону, естрадіолу, ХГЛ та експресією компонентів вродженого та адаптивного імунітету в плодових оболонках та плаценті. Достовірна помірна зворотна кореляційна залежність була виявлена між

концентрацією прогестерону ($r = -0,66$, $p < 0,05$) та естрадіолу ($r = -0,57$, $p < 0,05$) в сироватці крові та транскрипційною активністю прозапального IL17 α в плодових оболонках у жінок основної групи. Встановлена статистично вірогідна пряма кореляційна залежність помірної сили між концентрацією ХГЛ та експресією вродженого імунітету TLR2 в плаценті ($r = 0,55$, $p < 0,05$) та TLR4 в плодових оболонках ($r = 0,56$, $p < 0,05$).

Аналіз гематологічних показників рівня ендогенної інтоксикації показав, що найбільш чутливими лейкоцитарними індексами у вагітних із передчасними пологами були нейтрофільно-лімфоцитарний індекс (NLR) та лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) Кальф-Каліфа, у новонароджених – ЛІІ Кальф-Каліфа та індекс зсуву нейтрофілів (ІЗН). Порівняльний аналіз рівня NLR до та після пологорозродження виявив, що даний індекс при госпіталізації перевищував норму майже в 2 рази та склав, відповідно, $6,12 \pm 2,57$, при виписці після розродження, на тлі застосування антибактеріальної терапії – $3,25 \pm 1,28$.

Для визначення діагностичної цінності рівня гематологічних показників (рівень лейкоцитів (WBC), гранулоцитів (GRAN), лімфоцитів (LYM) в периферичній крові) та індексів EI як предикторів ПРПО та ініціації передчасних пологів у терміні гестації 26-34 тижні нами проведено ROC-аналіз і встановлено середню якість цих прогностичних факторів ($p < 0,001$). Оптимальна точка відсічки (cut-off value) для прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності за критерієм максимального балансу між чутливістю і специфічністю, відповідала для $WBC > 12,3$ $\cdot 10^9$ /л, для $LYM < 19$ %, $GRAN > 76$ %, $NLR > 3,87$, ЛІІ Кальф-Каліфа $> 3,42$, ЛІІ Островського $> 2,76$.

На антенатальному етапі, за даними нашого дослідження, достовірними прогностичними критеріями реалізації інтраамніального інфікування та подальшого розвитку ПРПО та передчасних пологів можуть використовуватись дані гематологічних показників рівня ендогенної інтоксикації, інтегративного індексу анамнезу, перебігу вагітності та наявність СТ генотипу поліморфізму RLN2, GG генотипу поліморфізму IL10.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше визначено експресію компонентів вродженого та адаптивного імунітету в плаценті та плодових оболонках у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності. Вперше встановлені асоціації генів RLN2 (rs3758239), RLN2 (rs4742076), IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800896), IL10 (rs1800872) з передчасним розривом плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні. Вперше в популяції України досліджено однонуклеотидний поліморфізм генів системних прозапальних цитокінів TNF α -308G (rs1800629) та IL1 β (rs1143627), але не підтверджено їх асоціацію з ПРПО при недоношеній вагітності. Вперше в плаценті та плодових оболонках визначені експресії компонентів вродженого та адаптивного імунітету шляхом визначення відносного рівня м-РНК Toll-likereceptors – TLR2, TLR4, прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-17A, транскрипційних регуляторів диференціювання Т-лімфоцитів T-bet (Th1), RAR-related orphan receptor gamma γ t – ROR γ t (Th17) і forkheadboxP3 – Foxp3 (Treg) та досліджені їх кореляційні взаємозв'язки з концентраціями прогестерону, естрадіолу та хоріонічного гонадотропіну людини в сироватці крові вагітних з ПРПО в терміні недоношеної вагітності.

В роботі за допомогою сучасного молекулярно-генетичного методу виділені ключові імуноопосередковані ланки розвитку передчасного розриву плодових оболонок та ініціації передчасних пологів в 26-34 тижні гестації. Встановлено, що дуже високі рівні експресії компонентів прозапального адаптивного імунітету безпосередньо впливають на цитокіновий дисбаланс, змінюючи вектор направленості імунної відповіді при ремоделюванні імунологічної толерантності під час вагітності. Проведена порівняльна оцінка залежності між запальними змінами в плаценті та плодових оболонках, тривалістю безводного проміжку, реалізацією внутрішньоутробного інфікування та перинатальними наслідками недоношування вагітності, індукованого передчасним розривом плодових оболонок.

Практичний результат одержаних результатів. Отримані результати доповнили уявлення про функціональний стан вродженого та адаптивного імунітету у жінок з передчасним розривом плодових оболонок в 26-34 тижні

гестації. Встановлені нові дані про асоціацію однонуклеотидного поліморфізму генів цитокінів з передчасним розривом плодових оболонок. Розроблений алгоритм прогнозування передчасного розриву плодових при недоношеній дозволяє оптимізувати тактику ведення груп високого ризику та покращує перинатальні наслідки.

Результати наукових досліджень, викладених у дисертації, впроваджені в медичну практику КНП «Пологовий будинок №3» ЗМР м. Запоріжжя, КНП «Пологовий будинок №9» ЗМР м. Запоріжжя, КНП «Пологовий будинок №4» ЗМР м. Запоріжжя, КНП «Обласний перинатальний центр» ЗОР, КНП «Якимівська ЦРЛ» ЯСР Запорізької області, КНП «Нікопольський ЦПСМД» НМР Дніпропетровської області, КНП «Перегінська районна лікарня» РРР Івано-Франківської області, що підтверджено відповідними актами впровадження, а також у навчальний процес на кафедрі акушерства та гінекології Запорізького державного медичного університету.

***Ключові слова:** недоношена вагітність, передчасний розрив плодових оболонок, вроджений імунітет, адаптивний імунітет, однонуклеотидний поліморфізм генів.*

ABSTRACT

Lyubomirskaya K.S. Prevention of premature rupture of membranes in premature pregnancy. – Qualifying scientific work as a manuscript.

The thesis for the degree of PhD in specialty 222 «Medicine» (22 Public Health). – Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

The dissertation is devoted to the study of measures aimed at improving the efficiency of forecasting and optimizing the tactics of premature rupture of membranes (PPROM) in premature pregnancy.

The results of the study of the state of innate, adaptive immunity in the placenta and amniotic membranes, the association of single-nucleotide polymorphism of pro- and anti-inflammatory cytokine genes, the concentration of fetoplacental complex hormones, the assessment of integrated indicators of endogenous intoxication in 80 women with PPRM in term further initiation of premature birth.

During the study, patients were divided into 2 groups: 1 (main) group – 80 women with PPRM in 26-34 weeks of pregnancy and 2 (control) group – 50 women with physiological course of pregnancy and urgent delivery without complications. The mean age of the examined women was 29.60 ± 6.30 years. The mean duration of PPRM in the main group of the study was 31.03 ± 2.48 weeks, the duration of the anhydrous interval was 114 hours (from 9 to 313 hours).

According to the results of the analysis of the association of single nucleotide polymorphism (SNP) with the occurrence of PPRM in premature pregnancy by polymerase chain reaction with reverse transcription in real time, genotypes of predisposition to high risk of complications and genotypes have been identified.

In the course of the analysis of the results of the examination of patients it was found that the AG genotype of the RLN2 polymorphism (rs3758239) - RR = 0.67 95 % CI 0.05-0.54; CC genotype of RLN2 polymorphism (rs4742076) - RR = 0.59 95 % CI 0.46-0.75; TG genotype of IL10 polymorphism (rs1800872) - RR = 0.49 95 % CI 0.32-

0.73. In the population of Zaporozhye region, the presence of CT genotype polymorphism RLN2 (rs4742076) increases the risk of PPROM in premature pregnancy by 17 times (95 % SI 2.29-125.67), GG genotype polymorphism IL10 (rs1800872) by 12.5 times (95 % SI 3.07-50.85) and AA genotype of the RLN2 polymorphism (rs3758239) 1.74 times (95% SI 1.33-2.28).

No statistically significant differences were found for each genotype of the rs1143627 polymorphism (GG, GA and AA) of the IL1 β gene between the main study group and the control group ($\chi^2 = 0.18$, OR (GG) = 1.13; 95 % CI: 0.65 –1.98; OR (GA) = 1.54; 95 % CI: 0.68–3.49; OR (AA) = 0.89; 95 % CI: 0.50–1.55, respectively, $p > 0.05$). Between the main and control groups for all alleles of the rs1800629 polymorphism (AA, GG and AG) of the TNF α gene, a tendency was observed that did not acquire statistical significance - $\chi^2 = 0.44$, OR (AA) = 0.8; 95 % CI: 0.42–1.54; OR (GG) = 1.25; 95 % CI: 0.65–2.39; and OR (AG) = 0.67; 95 % CI: 0.28–1.62, respectively, $p > 0.05$.

The study of the relative normalized mRNA expression of the TLR2 gene in the placenta revealed the following values – 0.79–163.44 (median - 31.06), in fetal membranes – 1.1–126.06 (median - 10.22). The magnitude of all obtained values of relative normalized mRNA expression of the TLR4 gene was lower than TLR2 in the placenta and was 0.39–43.85 (median - 7.74) and higher in amniotic membranes - 0.18–216.01 (median - 40.04). At 33–34 weeks of PPROM, the level of TLR4 expression in fetal membranes was 53.53 times higher compared to almost healthy women with physiological course of pregnancy and childbirth, at 31–32 weeks - 24.77 times, respectively.

The range of all obtained values of relative normalized mRNA expression of the IL1 β gene in the placenta was 1.43–227.93 (mean - 25.08), in fetal membranes - 1.23–139.24 (mean - 23.83). The range of values of relative normalized mRNA expression of the IL-17A gene was smaller than that of IL1 β and in the placenta was 1.15–62.76 (mean - 5.69), in fetal membranes - 1.63–130.67 (mean - 19, 31).

In the study of hormones of the feto-placental complex using enzyme-linked immunosorbent assay depending on the time of onset of PRPO found that in the main

group of studies, the lowest concentrations of progesterone were in the period 26-27 weeks and amounted to 25.89 ng/ml, the highest - 67.45 ng/ml at 31-32 weeks, respectively. Analysis of human chorionic gonadotropin (HCG) concentrations showed that in the lowest this indicator was also in the period of 26-27 weeks and amounted to 1182.8 mIU/ml. At 28-30 and 26-27 weeks of gestation in pregnant women of the main group, the lowest serum estradiol concentrations were detected and amounted to 588.31 pg/ml and 653.87 pg/ml, respectively. In all gestational subgroups of the main group, the level of the studied hormones was lower than this figure in the corresponding period in pregnant women of the control group ($p \leq 0.05$).

During studying the correlations between the quantitative values of hormones, it was proved that in women of the main group there was a statistically significant strong direct correlation ($r = 0.87$, $p \leq 0.05$) between the level of progesterone and estradiol. That is, with increasing concentrations of progesterone in the serum significantly increases the level of estradiol. A study of the relationship between progesterone and hCG levels in women with PRPO at 26-34 weeks of gestation showed a moderate direct correlation, which also became statistically significant ($r = 0.65$, $p \leq 0.05$).

To evaluate the immunomodulatory effect of maternal-placental-fetal hormones locally, correlations between progesterone, estradiol, HCG, and expression of innate and adaptive immune components in amniotic membranes and placenta were investigated. Significant moderate inverse correlation was found between the concentration of progesterone ($r = -0.66$, $p < 0.05$) and estradiol ($r = -0.57$, $p < 0.05$) in serum and the transcriptional activity of proinflammatory $IL17\alpha$ in fetuses shells in women of the main group. A statistically significant direct correlation of moderate strength between HCG concentration and expression of innate immunity TLR2 in the placenta ($r = 0.55$, $p < 0.05$) and TLR4 in amniotic membranes ($r = 0.56$, $p < 0.05$).

Analysis of hematological parameters of endogenous intoxication showed that the most sensitive leukocyte indices in pregnant women with preterm birth were neutrophil-lymphocyte index (NLR) and leukocyte intoxication index (LII) of Calf-Caliph, in newborns. Comparative analysis of NLR levels before and after childbirth revealed that this index at hospitalization exceeded the norm by almost 2 times and was, respectively,

6.12 ± 2.57 , at discharge after delivery, against the background of antibacterial therapy – $3.25 \pm 1, 28$.

To determine the diagnostic value of the level of hematological parameters (level of leukocytes (WBC), granulocytes (GRAN), lymphocytes (LYM) in the peripheral blood) and EI indices as predictors of PPRM and initiation of preterm birth at 26-34 weeks, we performed ROC the average quality of these prognostic factors was established ($p < 0.001$). The optimal cut-off value for predicting PPRM in preterm pregnancy by the criterion of maximum balance between sensitivity and specificity, corresponded to $WBC > 12.3 \text{ 9 / 1}$, for $LYM < 19 \%$, $GRAN > 76 \%$, $NLR > 3, 87$, $LII \text{ Kalf-Khalifa} > 3.42$, $LII \text{ Ostrovsky} > 2.76$.

At the antenatal stage, according to our study, reliable prognostic criteria for intraamniotic infection and further development of PPRM and preterm birth can be used data of hematological indicators of endogenous intoxication, integrative history, pregnancy and the presence of CT genotype IL10 polymorphism RNL2 polymorphism.

Scientific novelty of the obtained results. For the first time, the expression of components of innate and adaptive immunity in the placenta and amniotic membranes in pregnant women with PPRM in preterm pregnancy was determined. For the first time, gene associations RLN2 (rs3758239), RLN2 (rs4742076), IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800896), IL10 (rs1800872) with premature rupture of membranes at gestational age of 26-34 weeks were established. For the first time, the association of systemic proinflammatory cytokine genes $TNF\alpha$ -308G (rs1800629) and IL1 β (rs1143627) with PPRM in preterm pregnancy has not been confirmed.

For the first time in the placenta and amniotic membranes, the expression of components of innate and adaptive immunity was determined by determining the relative level of mRNA Toll-like receptors – TLR2, TLR4, proinflammatory cytokines IL-1 β and IL-17A, transcriptional regulators of T-lymphocytes (T-bet), RAR-related orphan receptor gamma γt - ROR γt (Th17) and forkhead box P3 - Foxp3 (Treg) and their correlations with the concentrations of progesterone, estradiol and human chorionic gonadotropin in the serum of pregnant women with PRPO in preterm pregnancy were studied.

The paper uses a modern molecular genetic method to identify key immunocompromised links in the development of premature rupture of membranes and initiation of preterm birth at 26-34 weeks of gestation. It has been established that very high levels of expression of components of proinflammatory adaptive immunity directly affect cytokine imbalance, changing the directional vector of the immune response in the remodeling of immunological tolerance during pregnancy.

A comparative assessment of the relationship between inflammatory changes in the placenta and amniotic membranes, the duration of the anhydrous interval, the implementation of intrauterine infection and perinatal consequences of premature pregnancy induced by premature rupture of amniotic membranes. The practical result of the obtained results. The results supplemented the idea of the functional state of innate and adaptive immunity in women with premature rupture of membranes at 26-34 weeks of gestation. New data on the association of single nucleotide polymorphism of cytokine genes with premature rupture of membranes have been established. The developed algorithm for predicting premature rupture of fetuses in prematurity allows to optimize the tactics of high-risk groups and improves perinatal consequences.

The results of scientific research presented in the dissertation are introduced into medical practice of KNP "Maternity hospital №3" ZMR Zaporizhzhia, KNP "Maternity hospital №9" ZMR Zaporizhzhia, KNP "Maternity hospital №4" ZMR Zaporizhzhia Regional Perinatal Center "ZOR, Berdyansk TMO, Akimov CRH and the educational process of the Department of Obstetrics and Gynecology of the State Institution "Zaporizhzhya Medical Academy of Postgraduate Education of the Ministry of Health of Ukraine ", which is confirmed by the relevant acts of implementation.

Key words: *premature pregnancy, premature rupture of membranes, innate immunity, adaptive immunity, single nucleotide gene polymorphism.*

**ПЕРЕЛІК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ
ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Любомирська К. С. Круть Ю. Я. Роль рецепторів вродженого імунітету в патогенезі асоційованого з передчасними пологами передчасного розриву плодових оболонок. *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2019. №1(23). С.101-109. *(Здобувачем проведені клінічні спостереження, аналіз і узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка до друку)*.
2. Lyubomirskaya K. S., Kamyshnyi O. M., Krut Yu. Ya. Association between single nucleotide polymorphism of immunoregulatory genes and preterm premature rupture of membranes in preterm labour. *Патологія*. 2018. Vol. 15, №2. P. 187-193. *(Дисертантом проведені клінічні спостереження, аналіз і узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка до друку)*.
3. Любомирська К. С. Імуно-генетичні чинники розвитку передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності: акцент на прозапальну ланку імунної відповіді. *Патологія*. 2018. №3(44). С. 309-318.
4. SNPs and transcriptional activity of genes of innate and adaptive immunity at the maternal-fetal interface in woman with preterm labour, associated with preterm premature rupture of membranes / Lyubomirskaya Ekaterina S., Kamyshnyi Alexandr M., Krut Yuriy Ya. et al. *Wiadomości Lekarskie*. 2020. Vol. 73, №1. P.25-30. *(Дисертантом проведені клінічні спостереження, аналіз і узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка до друку)*.
5. Любомирська К.С. Круть Ю.Я. Дослідження вродженого та адаптивного імунного статусу вагітних в терміні гестації 26-34 тижні, ускладненого передчасним розривом плодових оболонок. «Актуальні питання акушерства, гінекології і репродуктивної медицини»: зб. матеріалів наук.-практ. конф. з міжнар. участю (м. Запоріжжя, 01 лист. 2017 р.). Запоріжжя, 2017. С. 61-62 *(Автором проведено відбір та обстеження вагітних, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку)*.
6. Любомирська К.С. Асоціація одноклеотидного поліморфізму генів

цитокінів з передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності. *«Актуальні питання сучасної медицини та фармації»* : зб. матеріалів наук.-практ. конф. з міжнар. участю (м. Запоріжжя, 31 травня 2018 року). Запоріжжя, 2018. С. 82.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, одиниць вимірювання, скорочень.....	18
ВСТУП.....	20
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ПЕРЕДЧАСНОГО РОЗРИВУ ПЛОДОВИХ ОБОЛОНОК ПРИ НЕДОНОШЕНІЙ ВАГІТНОСТІ (огляд літератури).....	26
1.1 Актуальність проблеми передчасних пологів в Україні та світі в цілому. Передчасний розрив плодових оболонок як тригер передчасних пологів.....	26
1.2 Інструментальні та біохімічні маркери прогнозування передчасних пологів та передчасного розриву плодових оболонок.....	29
1.3 Вагінальний мікробіом та його значення в патогенезі передчасних пологів.....	30
1.4 Імунологічні аспекти розвитку недоношування вагітності.....	32
1.5 Однонуклеотидний поліморфізм генів в генезі передчасного розриву плодових оболонок.....	34
РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСТЕЖЕНИХ ВАГІТНИХ	36
2.1 Загальна характеристика обстежених хворих.....	38
2.2 Методи дослідження.....	43
РОЗДІЛ 3 КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ, ПЕРИНАЛЬНІ НАСЛІДКИ, ДАНІ ВІДДАЛЕННОГО КАТАМНЕЗУ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГІВ, ІНІЦІЙОВАНИХ ПЕРЕДЧАСНИМ РОЗРИВОМ ПЛОДОВИХ ОБОЛОНОК.....	57
3.1 Перебіг вагітності та пологів у жінок досліджуваних груп.....	57
3.2 Перинатальні наслідки передчасних пологів в 26-34 тижні гестації, стан здоров'я дітей при народженні та в ранньому неонатальному періоді.....	64

3.3 Дані віддаленого катамнезу дітей, народжених від матерів з передчасними пологами та передчасним розривом плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні.....	69
--	----

РОЗДІЛ 4 СТАН ВРОДЖЕНОГО ТА АДАПТИВНОГО ІМУНІТЕТУ В ПАТОГЕНЕЗІ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГАХ, ІНІЦІЙОВАНИХ ПЕРЕДЧАСНИМ РОЗРИВОМ ПЛОДОВИХ ОБОЛОНОК.....72

4.1 Роль рецепторів вродженого імунітету в патогенезі передчасного розриву плодових оболонок та передчасних пологів.....	72
4.2 Роль рецепторів адаптивного імунітету в патогенезі передчасного розриву плодових оболонок та передчасних пологів	79
4.3 Гематологічні показники рівня ендогенної інтоксикації вагітних, породіль з передчасними пологами, асоційованими з передчасним розривом плодових оболонок та їх новонароджених.....	88

РОЗДІЛ 5 АСОЦІАЦІЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ПРО- ТА ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ІМУНОРЕГУЛЯТОРНИХ ГЕНІВ ІЗ ПЕРЕДЧАСНИМ РОЗРИВОМ ПЛОДОВИХ ОБОЛОНОК ПРИ НЕДОНОШЕНІЙ ВАГІТНОСТІ...96

5.1 Асоціація однонуклеотидного поліморфізму генів (SNP) прозапальних цитокінів IL1 β (rs1143627) та TNF α (rs1800629) з передчасним розривом плодових оболонок в термінах гестації 26-34 тижнів.....	96
5.2 Асоціація однонуклеотидного поліморфізму генів (SNP) протизапальних цитокінів IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800896), IL10 (rs1800872) та RLN2 (rs3758239), RLN2 (rs4742076) з передчасним розривом плодових оболонок в термінах гестації 26-34 тижнів.....	103

РОЗДІЛ 6 ГОРМОНАЛЬНИЙ ПРОФІЛЬ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОГО КОМПЛЕКСУ ОБСТЕЖЕНИХ ВАГІТНИХ ОСНОВНОЇ ТА КОНТРОЛЬНОЇ ГРУПИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....114

РОЗДІЛ 7 ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕДЧАСНОГО РОЗРИВУ ПЛОДОВИХ ОБОЛОНОК ПРИ НЕДОНОШЕНІЙ ВАГІТНОСТ ТА СТАТИСТИЧНА ОБРОБКА ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....127

7.1 Прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в термінах гестації 26-34 тижні за допомогою методу логістичної регресії, ROC-аналізу.....127

7.2 Прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в термінах гестації 26-34 тижні за допомогою методу послідовного аналізу А. Вальда (в модифікації Е.Г. Гублера) на базі клініко-анамнестичних даних.....137

7.3 Прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в термінах гестації 26-34 тижні за допомогою методу послідовного аналізу А. Вальда (в модифікації Е.Г. Гублера) на базі молекулярно-генетичного дослідження.....146

РОЗДІЛ 8 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....156

ВИСНОВКИ.....171

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....173

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....174

ДОДАТОК А Акти впровадження.....198

ДОДАТОК Б Перелік наукових праць, опублікованих за темою дисертації.....206

ДОДАТОК В Відомості по апробацію результатів дисертації.....208

ДОДАТОК Г Бланк «Розрахунок ризику передчасного розриву плодових оболонок плодових оболонок при недоношеній вагітності за адаптованими клінічними критеріями».....209

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ,
ОДИНИЦЬ ВИМІРЮВАННЯ, СКОРОЧЕНЬ**

АГ – артеріальна гіпертензія

АІ – адаптивний імунітет

БПП – біофізичний профіль плода

ВІ – вроджений імунітет

ВХНК – варикозна хвороба нижніх кінцівок

ВШК – внутрішньо-шлуночкові крововиливи

ГХ – гіпертонічна хвороба

ГЕ – гіпоксично-ішемічна енцефалопатія

Е₂ – естрадіол

ЕГП – екстрагенітальна патологія

ЕІ – ендогенна інтоксикація

ЗПСШ – захворювання, які передаються статевим шляхом

ЗТ-ПЛР-РЧ – полімеразно-ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу

ІВ – імунна відповідь

ІЗН – індекс зсуву нейтрофілів

ІФА – імуноферментний аналіз

КТГ – кардіотокографія

ЛІ – лейкоцитарні індекси

ЛШ – лейкоцитарний індекс інтоксикації

НЕК – некротизуючий ентероколіт

ПВК – перивентрикулярні крововиливи

ПЛР – полімеразно-ланцюгова реакція

ПМППК – порушення матково-плацентарно-плодового кровоплину

ПП – передчасні пологи

Прг – прогестерон

ПРПО – передчасний розрив плодових оболонок

СЕК – субепендимальні крововиливи

УЗД – ультразвукове дослідження

ХГЧ – хоріонічний гонадотропін людини

ALC – absolute lymphocyte count – абсолютна кількість лімфоцитів

ANC – absolute neutrophil count – абсолютна кількість гранулоцитів

IL – інтерлейкін

mRNA – matrix ribonucleic acid

NLR – neutrophil to lymphocyteratio (індекс співвідношення нейтрофілів до лімфоцитів)

PCR – polymerase chain reaction

RLN2 – relaxin (релаксин)

SNP – single nucleotide polymorphism

TLR – toll like receptors

TNF α – tumor necrosis factor (фактор некрозу пухлини)

WBC – whitebloodcells – загальна кількість лейкоцитів

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. На сьогодні в Україні кількість нормальних пологів становить у середньому 32,6 % їх загальної кількості. Частота реєстрації передчасних пологів у різних регіонах країни коливається від 3 до 12 %. Передчасні пологи (ПП) займають особливе місце у структурі невиношування вагітності (НВ), тому що є однією з основних причин перинатальної захворюваності та смертності новонароджених (75 % випадків припадає на передчасно народжених дітей) [200-202; 188-189; 198].

З метою використання генетичної бази персоналізованої медицини уважного ставлення дослідників останнім часом вимагає питання пошуку маркерів генів цитокінів з фенотипами захворювань різної етіології. Проблема фрагментарно висвітлювалась у дослідженнях в контексті з'ясування особливостей імунної відповіді та генетичних мутацій у вагітних з передчасним розривом плодових оболонок (ПРПО), як фактором ініціації ПП [168; 208]. Проте більшість досліджень є суперечливими, що демонструє важливість стандартизації методів дослідження та репродуктивних технологій, а також потребує додаткової оцінки отриманих результатів [171-172]. Крім того, значна частина виявлених у літературі невідповідностей, може бути пов'язана з відмінностями в генетичному фоні, впливу навколишнього середовища, параметрів, які розрізняються серед окремих популяцій – культурологічних, соціально-економічних та середовищних чинників, що визначаються стилем життя загалом та стилем харчування, зокрема.

Відкриття явища однонуклеотидного поліморфізму генів (single nucleotide polymorphism – SNP) та секвенування геному людини стало зорею вивчення впливу генетичного коду на кількісні зміни експресії та подальше біологічне функціонування білків [57; 109; 111]. Більшість SNP генів цитокінів знаходяться в регуляторних ділянках гену та безпосередньо впливають на їх транскрипційну активність і концентрацію цитокіну в крові.

Проблема прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності не є цілком вирішеною, адже досліджувані раніше поліморфізми сигнальних молекул

нечисленні, тому наукова робота в цьому напрямі може забезпечити перспективи для встановлення генетичних предикторів ризику недоношування, заглибити представлення про імунну ланку патогенезу та розробити генетичну платформу персоналізованої медицини [64; 116; 52; 162-165].

Високий рівень перинатальної захворюваності та смертності, асоційованої з ПРПО, обумовлює актуальність проведення систематизованого аналізу різних підходів до менеджменту цього ускладнення залежно від термінів вагітності, визначення прогностичних критеріїв стану плода з урахуванням перинатальних наслідків, гнійно-септичних ускладнень матері, а також розробки оптимальної тактики ведення вагітності, терміну і методу розродження.

Таким чином, узагальнення наведених даних свідчить про необхідність удосконалення прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності та оптимізації тактики ведення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана на кафедрі акушерства та гінекології Запорізького державного медичного університету в рамках кафедральної теми «Діагностика, лікування та профілактика коморбідної патології внутрішніх органів в умовах промислового регіону» (№ державної реєстрації 0115U001765). Автор є співвиконавцем роботи.

Мета дослідження: покращення перинатальних наслідків невиношування вагітності за допомогою прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в термінах вагітності 26-34 тижні гестації.

Завдання дослідження.

1. Провести аналіз перебігу вагітності, пологів, перинатальних наслідків у жінок із передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності та даних віддаленого катамнезу дітей, народжених в терміні гестації 26-34 тижні від матерів з передчасним розривом плодових оболонок.

2. Встановити фактори ризику, які впливають на передчасний розрив плодових оболонок та розвиток інфекційних ускладнень у вагітних в 26-34 тижні гестації.

3. Визначити експресію компонентів вродженого та адаптивного імунітету шляхом визначення відносного рівня м-РНК Toll-like receptors – TLR2, TLR4, прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-17A, транскрипційних регуляторів диференціювання Т-лімфоцитів T-bet (Th1), RAR-related orphan receptor gamma γ t – ROR γ t (Th17) і forkhead box P3 – Foxp3 (Treg) в плаценті та плодових оболонках при передчасному розриві плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні та виявити кореляцію з гематологічними показниками рівня ендогенної інтоксикації.

4. Дослідити асоціацію однонуклеотидного поліморфізму генів RLN2 (rs3758239), RLN2 (rs4742076), IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800896), IL10 (rs1800872), TNF α -308G (rs1800629) та IL1 β (rs1143627) з передчасним розривом плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні.

5. Дослідити гормональний профіль фето-плацентарного комплексу у вагітних з передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності шляхом визначення концентрацій прогестерону, естрадіолу, хоріонічного гонадотропіну людини в сироватці крові

6. Визначити терміни розродження при передчасному розриві плодових оболонок в 26-34 тижні гестації з урахуванням тривалості безводного проміжку та імунної відповіді на місцевому рівні.

Об'єкт дослідження: перебіг вагітності та пологів у жінок із передчасним розривом плодових оболонок у терміні гестації 26-34 тижні.

Предмет дослідження: стан вродженого та адаптивного імунітету, асоціація однонуклеотидного поліморфізму генів про- та протизапальних цитокінів, гематологічні індекси ендогенної інтоксикації, гормональний статус, стан новонароджених у жінок із передчасним розривом плодових оболонок та тривалим безводним проміжком у терміні гестації 26-34 тижнів.

Методи дослідження: загально-клінічне обстеження, біохімічні, клінічні – для оцінки перебігу вагітності; імуноферментні – для дослідження гормонального профілю фетоплацентарного комплексу (прогестерон, естрадіол, хоріонічний гонадотропін людини); інструментальні – для оцінки стану плода (ультразвукове дослідження з пульсовим доплерівським зображенням, кардіотокографія з

визначенням короткої варіабельності ритму – STV); молекулярно-генетичні (метод полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ЗТ-ПЛР-РЧ) – для визначення експресії компонентів вродженого та адаптивного імунітету в плаценті та плодових оболонок та асоціації однонуклеотидного поліморфізму генів про- та протизапальних цитокінів; морфологічні – для оцінки змін плаценти та плодових оболонок у породіль з ПРПО в терміні гестації 26-34 тижні; статистичні – для визначення достовірності отриманих результатів.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше визначено експресію компонентів вродженого та адаптивного імунітету в плаценті та плодових оболонках у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності. Вперше встановлені асоціації генів RLN2 (rs3758239), RLN2 (rs4742076), IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800896), IL10 (rs1800872) з передчасним розривом плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні. Вперше не підтверджено асоціацію генів системних прозапальних цитокінів TNF α -308G (rs1800629) та IL1 β (rs1143627) з ПРПО при недоношеній вагітності. Вперше в плаценті та плодових оболонках визначені експресії компонентів вродженого та адаптивного імунітету шляхом визначення відносного рівня м-РНК Toll-like receptors – TLR2, TLR4, прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-17A, транскрипційних регуляторів диференціювання Т-лімфоцитів Tbet (Th1), RAR-related orphan receptor gamma γ t – ROR γ t (Th17) і forkhead box P3 – Foxp3 (Treg) та досліджені їх кореляційні взаємозв'язки з концентраціями прогестерону, естрадіолу та хоріонічного гонадотропіну людини в сироватці крові вагітних з ПРПО в терміні недоношеної вагітності.

В роботі за допомогою сучасного молекулярно-генетичного методу виділені ключові імуноопосередковані ланки розвитку передчасного розриву плодових оболонок та ініціації передчасних пологів в 26-34 тижні гестації. Встановлено, що дуже високі рівні експресії компонентів прозапального адаптивного імунітету безпосередньо впливають на цитокіновий дисбаланс, змінюючи вектор направленості імунної відповіді при ремоделюванні імунологічної толерантності під час вагітності. Проведена порівняльна оцінка залежності між запальними

змінами в плаценті та плодових оболонках, тривалістю безводного проміжку, реалізацією внутрішньоутробного інфікування та перинатальними наслідками недоношування вагітності, індукованого передчасним розривом плодових оболонок.

Практичний результат одержаних результатів. Отримані результати доповнили уявлення про функціональний стан вродженого та адаптивного імунітету у жінок з передчасним розривом плодових оболонок в 26-34 тижні гестації. Встановлені нові дані про асоціацію одонуклеотидного поліморфізму генів цитокінів з передчасним розривом плодових оболонок. Розроблений алгоритм прогнозування передчасного розриву плодових при недоношеній дозволяє оптимізувати тактику ведення груп високого ризику та покращує перинатальні наслідки.

Результати наукових досліджень, викладених у дисертації, впроваджені в медичну практику КНП «Пологовий будинок №3» ЗМР м. Запоріжжя, КНП «Пологовий будинок №9» ЗМР м. Запоріжжя, КНП «Пологовий будинок №4» ЗМР м. Запоріжжя, КНП «Обласний перинатальний центр» ЗОР, Бердянське ТМО, Акимівську ЦРЛ та навчальний процес кафедри акушерства та гінекології ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України», що підтверджено відповідними актами впровадження.

Особистий внесок здобувача. Автором роботи сумісно з науковим керівником обрано тему, визначено мету та напрямки проведення дослідження. Дисертантом здійснено аналіз вітчизняної та зарубіжної літератури за останні десять років з висвітленням даної проблеми, проведений інформаційно-патентний пошук, який дозволив визначити та обґрунтувати актуальність теми та створити дизайн дослідження. Самостійно організовано та проведено комплекс клініко-лабораторних досліджень, починаючи з етапу первинного обстеження жінок. Лабораторні дослідження проводилися за безпосередньою участю здобувача. Здобувачем самостійно проведена статистична обробка результатів дослідження, науковий аналіз отриманих даних, сформульовані висновки, практичні рекомендації, відібрані і підготовлені дані для наукових публікацій. Дисертант є

співавтором щодо впровадження способів удосконалення прогнозування перинатальних ускладнень при багатоплідній вагітності. Автором особисто написані і літературно оформлені усі розділи дисертаційної роботи. Здобувачем не були використані результати та ідеї співавторів публікацій, конфлікту інтересів немає.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи були представлені і обговорені на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання акушерства, гінекології і репродуктивної медицини» (Запоріжжя, 2017), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини та фармації» (Запоріжжя, 2018).

Публікації. За темою дисертаційної роботи опубліковано 6 наукових праць, з них 3 статті – в журналах, що включені до переліку наукових фахових видань України, 2 з яких включені до міжнародних науко-метричних баз Web of Science та Scopus, 1 стаття – у міжнародному періодичному виданні, що включено до міжнародної науко-метричної бази Scopus, 2 тез в матеріалах наукових конференцій.

Обсяг та структура дисертації. Дисертація викладена на 209 сторінці друкованого тексту, складається із анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, п'яти розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаної літератури, що містить 209 джерел (з них 70 кирилицею, 139 латиницею) та додатків. Робота ілюстрована 34 таблицями та 55 рисунком.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ПЕРЕДЧАСНОГО РОЗРИВУ ПЛОДОВИХ ОБОЛОНОК ПРИ НЕДОНОШЕНІЙ ВАГІТНОСТІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Актуальність проблеми передчасних пологів в Україні та світі в цілому. Передчасний розрив плодових оболонок як тригер передчасних пологів

На сьогодні в Україні кількість нормальних пологів становить у середньому 32,6 % їх загальної кількості. Частота реєстрації передчасних пологів у різних регіонах країни коливається від 3 до 12 % [143; 155; 159; 169; 173]. У структурі невиношування вагітності (НВ) передчасні пологи (ПП) займають особливе місце, тому що є однією з головних причин перинатальної захворюваності та смертності передчасно народжених дітей [179; 187; 65]

В сучасному акушерстві та перинатології проблема НВ залишається однією з найбільш складних, незважаючи на існуючий та досягнутий в останні десятиліття прогрес [147; 153-154; 175-176; 178]. НВ – це реакція системи мати-плацента-плід на декомпенсоване неблагополуччя у стані здоров'я вагітної чи плода, що може бути пов'язане багатьма тригерними факторами, такими як перенесені інфекційні захворювання, ендокринна дизрегуляція або інші фактори внутрішньої чи зовнішньої природи, котрі клінічно проявляються самовільним перериванням вагітності у різні терміни від зачаття до 37 тижнів вагітності [184; 198; 207; 209].

Діти, які народжуються передчасно з масою менше 1500 г в порівнянні з дітьми з масою більше 2500 г, мають у 20 разів вищий ризик ранньої неонатальної смертності, а якщо виживають, в 10 разів частіше мають неврологічні і соматичні захворювання, що надає проблемі недоношування вагітності особливе медичне і соціальне значення [179; 65; 205; 187]. Всупереч впровадженню сучасних перинатальних технологій та успіхи в розвитку неонатології, в теперішній час

залежно від економічної та географічної ситуації частота ПП складає в середньому 4–12 % та, нажаль немає тенденції до зниження [180; 186; 189; 200]. Тому пошук нових маркерів прогнозування передчасних пологів заслуговує на особливу увагу серед наукового співтовариства.

Глобальний альянс з превентивної політики ПП, який було проведено в 2012 році за участю майже 50 організацій, постановив, що мінімум кожна десята дитина у світі (11,1 %) народжується раніше строку термінових пологів. Тому, з метою стабілізації ситуації з ПП, варто перш за все встановлювати основні механізми та причини виникнення данного ускладнення, а потім вже впливати на них. [10; 20; 36; 69; 79; 81].

Наявні погляди щодо розподілу ПП за тригерним механізмом можна класифікувати на три великі групи: ідіопатичні передчасні пологи, індуковані передчасним розривом плодових оболонок та елективні за медичними показаннями, найбільш частими з яких є тяжка прееклампсія та дистрес плода під час вагітності з термінальними порушеннями матково-плацентарно-плодової гемодинаміки [43; 53; 58-59; 61; 103; 110; 112; 115].

Уважного ставлення останнім часом вимагає дослідження інфекційного генезу ПП, адже майже 40 % всіх ПП обумовлені саме наявністю мікробних агентів, а дуже ранні ПП мають інфекційну етіологію в 80 % випадків відповідно [123-124; 126; 127]. Наявність персистуючої вірусно-бактерійної інфекції в ендометрії, імунні порушення та супутні ендокринопатії ведуть до порушення розвитку плода [3; 9; 26-27; 30-31]. Але парадокс індивідуальних особливостей формування імунної відповіді полягає в тому, що однакові інфекційні збудники в одних випадках викликають важкі гнійно-септичні ураження матері і плода, а в інших не мають впливу на перебіг вагітності та перинатальні наслідки [130; 133].

Група причин невідомої етіології в структурі репродуктивних втрат складає від 7 до 50 %. Кожна друга жінка має поєднання тих або інших факторів. Зростання числа вагітних старшого репродуктивного віку, поширення інфекцій, які передаються статевим шляхом, ранній початок статевого життя, складні

соціально-економічні умови, роблять проблему НВ однією з найбільш актуальних в сучасному акушерстві та неонатології [2; 21; 28; 71; 113].

Існуюча концепція розвитку медичної галузі XXI століття – «4P MEDICINE» (predictive, personalized, preventive and participatory approach to medicine) – це профілактична, персоналізована, попереджуюча медицина, що передбачає участь кожного пацієнта та розуміння особистої відповідальності щодо підтримки психічного і фізичного благополуччя, як базових характеристик якості життя [38]. Ключовою парадигмою цієї концепції є зміна пріоритету охорони здоров'я – від реагуючої тактики до попереджуваної [38].

Передчасний розрив плодових оболонок (ПРПО) є переважаючою причиною індукції передчасної пологової діяльності, частка якого становить від 34 до 56 % в структурі усіх ПП [144; 148; 164-165]. Розвиток сучасних перинатальних технологій та успіхи неонатальної служби у виходжуванні новонароджених з екстремально низькою масою при народженні, обумовлюють необхідність перегляду деяких стратегій акушерського менеджменту на користь інтересів плода [162-163; 190; 194]. Наразі серед дослідників відсутній єдиний консенсус щодо термінів пологорозродження вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності та профілактики інфекційних ускладнень. Актуальною є оптимізація перинатальної охорони глибоко недоношеного плода за допомогою достеменно оцінки його функціонального стану [205; 65].

Згідно з поглядами багатьох дослідників, на поліпшення перинатальних наслідків впливає тактика пролонгації недоношеної вагітності на фоні тривалого безводного проміжку. Разом із тим, високий ризик розвитку хоріоамніоніту та сепсису, які можуть призвести до смерті жінки, примушує обачно обґрунтовувати подальше пролонгування вагітності на фоні ПРПО. Іншим контраверсійним питанням є співвідношення ризику інфекційних ускладнень з ризиком недоношеності внаслідок розродження при виборі раціональної тактики ведення вагітності у разі продовження вагітності [186; 188; 189; 200].

Прийнято вважати, що морфоструктурні зміни в децидуальній тканині та плодових оболонках з наявністю інволютивно-дистрофічних та запальних змін є

субстратом реалізації внутрішньоутробної інфекції плода [196; 78; 116; 128; 102]. У той же час, залишаються нез'ясованими особливості транскрипційної активності генів вродженого та адаптивного імунітету в плаценті та оболонках у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності, тому дослідження в цьому напрямі дозволить виявити ключові ланки трансформації імунної відповіді на місцевому рівні.

1.2 Інструментальні та біохімічні маркери прогнозування передчасних пологів

В сучасних умовах без стратифікації індивідуального ризику недоношування та забезпечення продуктивної взаємодії та спадкоємності між трьома рівнями надання акушерсько-гінекологічної допомоги неможливо зробити редукцію відсотка негативних перинатальних наслідків недоношеності [173; 180; 178]. Загальновідомими та достеменними чинниками ризику ПП є: укорочення шийки матки [11; 14; 16-18; 23; 25; 55; 83; 101] за даними трансвагінального ультразвукового дослідження (УЗД – цервікометрії) та наявність ПП в анамнезі [156; 185].

Дослідження вагітних на фетальний фібронектин (fFN) у цервікальному секреті в поєднанні з вимірюванням довжини шийки матки дозволяє прогнозувати наявність або відсутність загрози ПП впродовж наступних двох тижнів [1; 44; 46; 74]. Фетальний фібронектин (fFN) – ізоформа глікопротеїну позаклітинного хоріодецидуального матриксу [88; 90; 97; 120]. На індукцію запалення та відторгнення плодових оболонок в найближчі 7 днів може вказувати збільшення концентрації fFN понад 50 нг/мл в цервіко-вагінальному секреті в терміні гестації 22-34 тижні, що робить цей неінвазивний маркер одним із значущих предикторів ПП з жінок з симптомами загрози або без них [97; 120].

Материнськими децидуальними клітинами також виділяється інший індикатор ушкодження хоріо-децидуальної оболонки та біохімічний маркер для прогнозування ПП – IGFBP1 (протеїн 1, що зв'язує інсуліноподібний фактор росту, Insulin – like growth factor – binding protein1), який можна визначити в

цервікальному секреті за допомогою імунохроматографічного експрес-тесту ActimTMPartus [6; 60; 131]. Підвищення концентрації IGFBP1 більше 10 мкг/л в секреті шийки матки вказує на збільшення ризику виникнення передчасної пологової діяльності в 10 разів [73; 75; 91; 95].

Ще одним малодослідженим неінвазивним маркером ПП залишається релаксин-2 (RLN2), який синтезується децидуальною оболонкою, плацентою та плодом та підвищується у пацієток з передчасними пологами через передчасного розриву навколоплідних оболонок [39; 72; 76]. Секреція первинних культур стромальних і залізистих епітеліальних клітин ендометрія вказує на те, що ендометрій є джерелом релаксину-2, де він діє як паракрінний фактор, що стимулює вироблення ендометрієм декількох факторів, таких як пролактин, IGFBP-1 і VEGF [93; 100; 107]. Ефекти релаксину-2 в матці включають збільшення ваги поряд зі стимуляцією ендометріального ангиогенезу і цитокінімістять лімфоцитів. Релаксин також допомагає підтримувати вміст колагену ендометрія і цілісність матриксу, врівноважуючи рівні MMPs і їх інгібітора TIMP-1 [96; 106].

1.3 Вагінальний мікробіом та його значення в патогенезі передчасних пологів

Загальновідомо, що мікробіомпологових шляхів можливо умовно поділити на резидентну та факультативну флору. [130; 133-135]. Мікробну безпеку для розвитку фізіологічної вагітності забезпечує достатній пул лактобактерій в мікробному пейзажі. [3; 9; 49; 92].

Деталізація мікробного статусу піхви дозволяє наблизитись до встановлення нових закономірностей етіопатогенезу ПП, та ПРПО в тому числі [26-27; 30-31]. Беззаперечним є факт, що запуску передчасної пологової діяльності можуть сприяти порушення імунологічних механізмів в системі мати-плацента-плід з подальшим дисбалансом у видовому складі мікрофлорипологових шляхів [37; 63].

Goncalves et al. в залежності від поширення інфекції вертикальною трансмісією виділяє чотири стадії мікробної інвазії: бактеріальний вагіноз; децидуальна інфекція (децидуїт, ендометрит), інтраамніальне інфікування та генералізоване антенатальне інфекційне ураження плода [47; 134]. Варто зазначити, що застосування сучасних медикаментозних препаратів з метою елімінації вірусно-бактеріальних агентів є вискоєфективним при лікуванні класичних інфекцій у вагітних, але малоефективним в присутності умовно-патогенної флори [47; 63]. Ще однією важливою проблемою сьогодення є необґрунтоване призначення в рутинній практиці антибактеріальних препаратів з профілактичною метою, що в майбутньому впливає на ятрогенне формування селективної антибіотикорезистентності до інфекційних агентів. [123; 124; 135].

Згідно з поглядами деяких науковців для реалізації хронічної інфекції генітального тракту, вагінальний дисбіоз слід класифікувати як *locus minoris resistentia* [63]. Крім того, існує гіпотеза, що адгезії та форсованому розповсюдженню умовно-патогенної мікрофлори у жінок із вагінальним дисбіозом сприяють порушення ендокринної регуляції функцій слизової оболонки, незавершений фагоцитоз та зниження захисних властивостей вагінального секрету [3; 9].

Е.Ф. Кіра розробив критерії оцінки стану мікрофлори піхви та в залежності від кількісного балансу лактобактерій, співвідношення лейкоцитів, моноцитів, макрофагів та епітеліальних клітин виділив 4 типи вагінального інфікування відповідно до основних нозологічних форм: 1) нормоценоз при наявності поодиноких лейкоцитів і «чистими» клітинами епітелію, домінуванням лактобактерій, відсутністю грам негативних бактерій; 2) проміжний тип при наявності грампозитивних коків, грамнегативних паличок та зниженій кількості лактобактерій; 3) бактеріальний вагіноз в присутності «ключових клітин», повній відсутності лактобактерій, рясній коковій флорі, незавершеності фагоцитозу; 4) запальний тип (вагініт) в присутності вираженого фагоцитозу, значної кількості епітеліальних клітин, лейкоцитів, макрофагів.

1.4 Імунологічні аспекти розвитку невиношування вагітності

Все більше дослідників підтверджують важливість скоординованої роботи вродженого та адаптивного імунітету в генезисі невиношування, що останніми роками стало одним з найактуальніших і перспективніших напрямків розвитку імунології репродукції [151; 165; 167]. До кінця невивченими до теперішнього часу залишаються більшість чинників вродженої імунної відповіді, які мають безперечне значення в пізні терміни гестаційного процесу. Саме тому для сучасного акушерства має глобальне значення розробка прогностичних моделей недоношування вагітності в пізні терміни та передчасної пологової діяльності на тлі ПРПО за допомогою уточнення механізмів імунної відповіді [209].

Низка авторів вважають, що одним з важливих факторів передчасного переривання вагітності та недоношування є зміни імунологічної толерантності у відповідь на антигени плода батьківського походження [29]. Медіаторами та дзеркалом каскаду імунологічних реакцій є цитокіни, а зміни концентрацій та експресії яких дають змогу патогенетично обґрунтувати вектор імунної відповіді на реагування материнського організму на фетальні антигени.

Продукуючі цитокіни імунні та запальні клітини присутні в децидуальній тканині плаценти та на всьому просторі материнсько-фетального інтерфейсу. Наявні погляди щодо механізму імунологічно зумовленого недоношування вагітності можна тлумачити як порушення в Th1 типі імунної відповіді і важливу роль фактора некроза пухлини в імплементації цього шляху [29; 34]. Квінтесенція гіпотези полягає в тому, що локальна реакція клітинного імунітету на плід може виступати мішенню та кульмінацією переривання вагітності [42; 89; 121]. До блоку розвитку ембріона жінок зі звичним невиношуванням також понукають антигени трофобласта, які шляхом активації макрофагів і лімфоцитів, призводять до запуску відповіді клітинного імунітету регульованого цитокінами Th1 клітин, а саме – TNF, IL-1 α і IL-1 β . Переважна більшість здорових вагітних з фізіологічним перебігом перинатального періоду мають Th2 вектор направленості імунної відповіді на антигени трофобласта, в порівнянні з жінками із звичним недоношуванням, у яких спостерігається Th1 тип [125].

Toll like рецептори (TLR), які експресуються дендритними клітинами, макрофагами та клітинами епітелію є розпізнавальними рецепторами вродженої імунної відповіді [67; 68; 99]. Активація специфічних рецепторів TLR внаслідок сигналів від мікробної контамінації призводить до продукції цитокінів. Саме тому, однією з причин відкриття маткового зіву є локальне збільшення синтезу прозапальних цитокінів у шийці матки та індукція синтезу протеаз [158; 181; 183; 204]. Разом з тим, збільшення активності протеаз може змінювати структуру плодових оболонок, що сприяє порушенню їх цілісності та індукує їх передчасний розрив [64; 67]. Водночас, гіперпродукція прозапального цитокінового профілю в децидуальній тканині та міометрії провокує збільшення синтезу простагландинів і розвиток початку передчасної пологової діяльності [140].

Вивчення концентрації цитокінів в цервіко-вагінальному секреті є простим і неінвазивним методом дослідження ступеня реактивності змін імунологічної відповіді на місцевому рівні [7; 8; 13; 48; 50; 54]. Циліндричний епітелій, який вистіляє цервікальний канал, служить першим бар'єром на шляху проникнення мікроорганізмів в тканини. Що стосується компонентів вродженого імунітету, то вони знаходяться в організмі матері ще до початку впливу інфекційного агента, крім того, їх додатковий синтез швидко індукується при безпосередній дії патогенів [99; 165; 167]. До синдрому втрати плоду також може бути причетна активація макрофагів та НК- клітин, останні в свою чергу беруть безпосередню участь в лізисі трофобласта. Але варто зазначити, що цитокіновий каскад на місцевому рівні провокується не лише інфекційним агентом, але й іншими ендогенними причинами, такими як гіпоксія та гормональні порушення [35; 137].

Дослідники багатьох країн прийшли до висновку, що саме поєднане збільшення вмісту в крові та пологових шляхах вагітної $TNF\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-8$, є ознакою високої ймовірності розвитку ПРПО і переривання вагітності в терміни гестації 22–34 тижні [48; 50; 54]. Підвищення рівня цього цитокінового профілю свідчить про посилення антигенної стимуляції лімфоїдних клітинних елементів, ендотеліоцитів, фібробластів різних органів і тканин в системі мати–плацента–

плід, а також формує адаптивні пристосувальні реакції в терміни гестації 22–34 тижні та вказує на розвиток синдрому системної запальної відповіді [121; 125].

1.5 Однонуклеотидний поліморфізм генів в генезі передчасного розриву плодових оболонок

Пошук точок синергізму фундаментальної і прикладної молекулярної генетики позначив позитивні тенденції в підходах до своєчасної діагностики патологічних процесів, створення прогностичних моделей та обґрунтування критеріїв ефективності лікування захворювання

З метою розробки персональної генетичної платформи велику увагу приділяють пошуку асоціації поліморфних маркерів генів цитокінів з фенотипами захворювань поліетіологічного спектру. Останніми роками також з'явилися роботи, які вивчали імунний статус та генетичний мутаційний потенціал у вагітних з передчасним розривом плодових оболонок, як одним з провідних факторів ініціації ПП. Але більшість досліджень, на жаль, на сьогодні є суперечливими, що демонструє важливість стандартизації методів, а також потребує строгої оцінки отриманих результатів. Значна частина невідповідностей виявлених у літературних джерелах, може бути обґрунтована відмінностями впливу навколишньої середовища, генетичному фоні та параметрах, які розрізняються в популяціях – соціально-економічних чинниках розвитку країни в цілому, стилем харчування та темпом життя зокрема.

Секвенування геному людини та відкриття однонуклеотидного поліморфізму генів (single nucleotide polymorphism – SNP) розпачало нову епоху з'ясування впливу генетичного коду на кількісні зміни відносної нормалізованої експресії м-РНК та подальше біологічне функціонування білків [57]. На експресію цитокіну в тканині і його концентрацію в крові безпосередньо впливають більшість SNP генів цитокінів, які знаходяться в регуляторних ділянках гену [4].

Наявні погляди багатьох дослідників щодо цього питання підтверджують вплив поліморфізму генів на виникнення гестаційних та перинатальних ускладнень, в тому числі і звичного невиношування вагітності та передчасних

пологів [51; 77; 87; 109; 111]. Але водночас варто зазначити, що поліморфізм генів інших факторів може не приймати безпосередньо участі в генезисі звичного невиношування, але опосередковано детермінувати схильність до формування даної патології. В зв'язку з чим, необхідність ПЛР-дослідження та визначення необхідного об'єму скринінгу точкових мутацій генів у жінок при недоношеній вагітності залишається дискутабельним.

Враховуючи, що проблема прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності не є цілком вирішеною, зокрема досліджувані на різних популяціях поліморфізми генів про та протизапальних цитокінів нечисленні, саме тому з метою заглиблення уявлення про імуннопатогенез та встановлення генетичних предикторів ризику недоношування науково-практичні перспективи для наукової роботи в цьому напрямі є важливими та глобальними [57].

Високий рівень перинатальної захворюваності та смертності, асоційованої з ПРПО, обумовлює актуальність проведення систематизованого аналізу різних підходів до менеджменту цього ускладнення залежно від термінів вагітності, визначення прогностичних критеріїв стану плода з урахуванням перинатальних наслідків, гнійно-септичних ускладнень матері, а також розробки раціональної тактики ведення вагітності, вибору терміну і методу розродження.

Попри те, що невиношування вагітності знаходиться в центрі уваги сучасної науки про репродукцію людини, існує багато контраверсій. Проблема ПП є однією з провідних в області охорони здоров'я матері і дитини, має первинне значення для формування здорового покоління людей з раннього періоду їх життя. Таким чином, узагальнення наведених даних свідчить про необхідність удосконалення прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності та оптимізації її менеджменту.

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСТЕЖЕНИХ ВАГІТНИХ

Нами було проведено дослідження з дотриманням принципів біоетики та забезпеченням прав та свобод пацієнтів, що передбачені Гельсінською декларацією Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2000 рр), Міжнародної конференції з гармонізації (ICH) та дотримання стандартів належної клінічної практики (GCP), Конвенцією Ради Європи щодо захисту прав та гідності людини у зв'язку із використанням досягнень біології та медицини і наказом МОЗ України №281 від 01.11.2000р. Протокол дослідження та форми первинної документації затверджено Комісією з медичної етики при Запорізькому державному медичному університеті протокол № 9 від 7 грудня 2016 року. Всі процедури, включаючи збір персональної інформації проводились лише після отримання інформованої згоди.

Роботу виконано на клінічній базі кафедри акушерства та гінекології Запорізького державного медичного університеті – відділенні патології вагітних та екстрагенітальної патології та пологовому відділенні КУ «Обласний перинатальний центр» ЗОР (м. Запоріжжя) та на базі Відділу молекулярно-генетичних досліджень Навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету.

Проведено комплексні клініко-біохімічні, лабораторні, імунологічні та інструментальні дослідження, що включало аналіз експресії компонентів вродженого та адаптивного імунітету в плаценті та плодових оболонках, асоціації одонуклеотидного поліморфізму генів про- та протизапальних цитокінів з передчасними пологами, індукованими ПРПО, концентрації гормонів фетоплацентарного комплексу, оцінки інтегральних показників рівня ендогенної інтоксикації вагітних, породіль та новонароджених, вивчення даних віддаленого

катамнезу дітей, із подальшою розробкою критеріїв прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності та оптимізацією тактики ведення.

Дизайн дослідження – відкрите, когортне, контрольоване спостереження вагітних жінок з ПРПО в терміні гестації 26-34 тижні (Рис. 2.1).

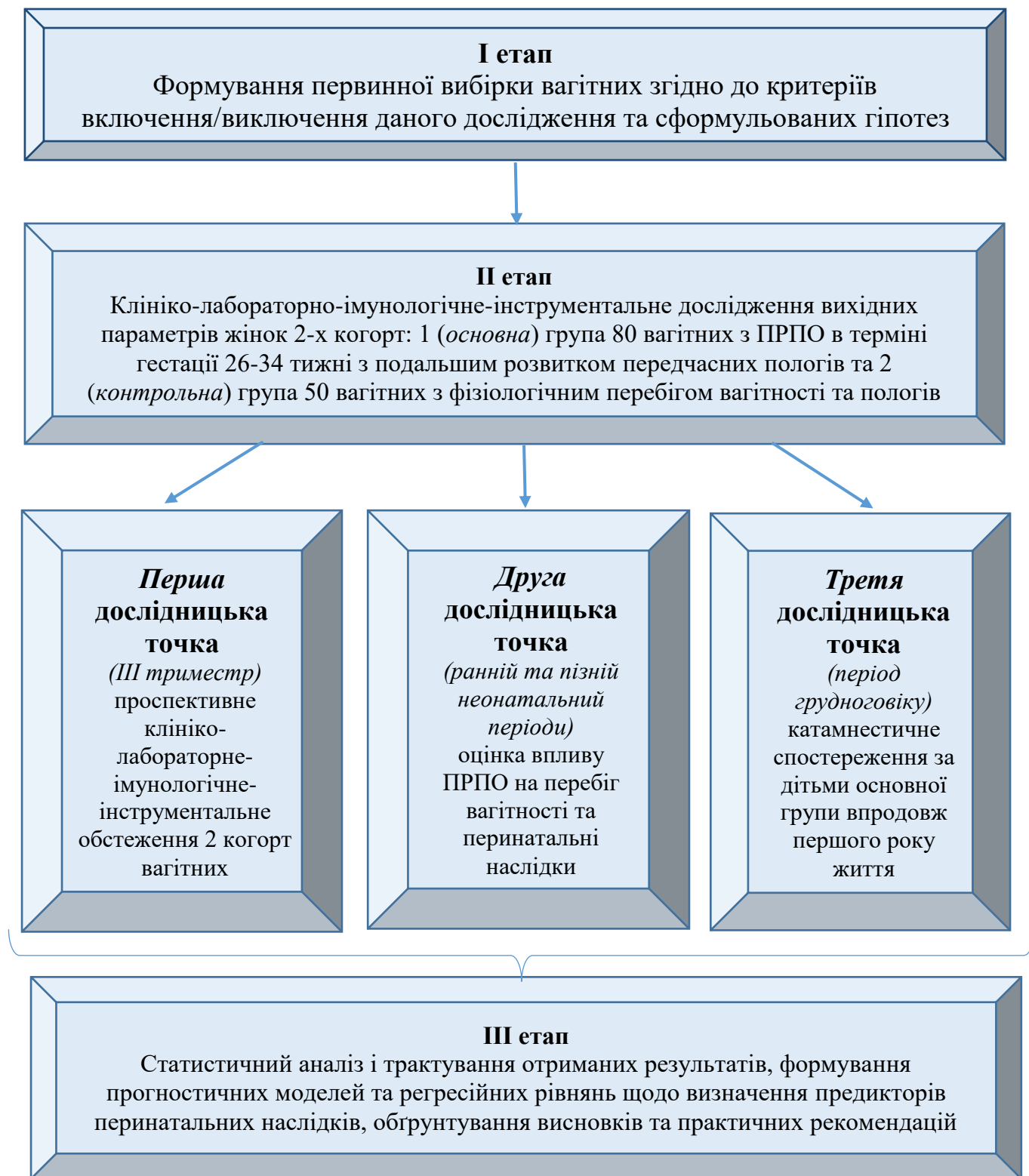


Рисунок 2.1 – Дизайн дослідження.

Всі обстежені пацієнти були розділені на 2 групи: 1 (основна) група – 80 вагітних з ПРПО в терміні гестації 26-34 тижні з подальшою ініціацією передчасних пологів та 2 (контрольна) група – 50 вагітних з фізіологічним перебігом вагітності та пологів

Критерії залучення у дослідження:

1. Підписана добровільна інформована згода на участь пацієнта в дослідженні.
2. Підтвердження ПРПО в терміні гестації 26-34 тижні мікроскопією з виявленням кристалізації амніотичної рідини або за допомогою тесту Actim™ Prom.
3. Госпіталізація в перші 24 години з моменту маніфестації ПРПО.
4. Відсутність супутньої екстрагенітальної патології в стадії декомпенсації.

Критерії виключення з дослідження:

1. Відмова пацієнта від участі в дослідженні.
2. Відсутність лабораторно підтвердженого ПРПО.
3. Наявність супутньої екстрагенітальної патології в стадії декомпенсації.
4. Термін вагітності при маніфестації ПРПО менше 26 тижнів та більше 34 тижнів.

2.1 Загальна характеристика обстежених хворих

Середній вік усіх обстежених вагітних склав $31,50 \pm 4,95$ років. Вагітні основної групи були дещо старше, середній вік яких склав $29,60 \pm 6,30$ років, в групі контролю – $27,90 \pm 5,08$ років відповідно. Аналіз розподілу за віком в групах демонструє вірогідну перевагу частки вагітних пізнього репродуктивного віку в основній групі та перевагу частки жінок фертильного віку в контрольній групі, що підтверджує гіпотезу наявності більшого відсотка ускладнень перебігу вагітності

у вагітних пізнього фертильного віку. Розподіл вагітних за віком представлено у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Розподіл вагітних за віком

	Основна група n=80		Контрольна група n=50	
	Абс.	%	Абс.	%
18-20	8	10,00	3	6,00
21-29	28	35,00	28	56,00
30-35	33	41,25	14	28,00
36-42	11	13,75	5	10,00

В таблиці 2.2 представлений соціальний склад обстежених вагітних. У структурі приналежності до соціального складу в основній групі переважали домогосподарки – 43,75 %, в групі контролю службовці – 54 %; а також жінки, які займаються приватним підприємництвом – 10 %. Звертає на себе увагу, що в основній групі частка вагітних, які були мешканцями сільської місцевості була достовірно вищою за цей показник в контрольній групі та склала 45 %, в групі контролю 26 % відповідно (Рис. 2.2). На показник передчасних пологів міг вплинути не лише економічний розвиток села в цілому, а й рівень надання амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги сільському населенню.

Таблиця 2.2 – Соціальний склад обстежених жінок

	Основна група n=80		Контрольна група n=50	
	Абс.	%	Абс.	%
Робітниці	16	20	5	10
Домогосподарки	35	43,75	18	36
Службовці	29	36,25	27	54

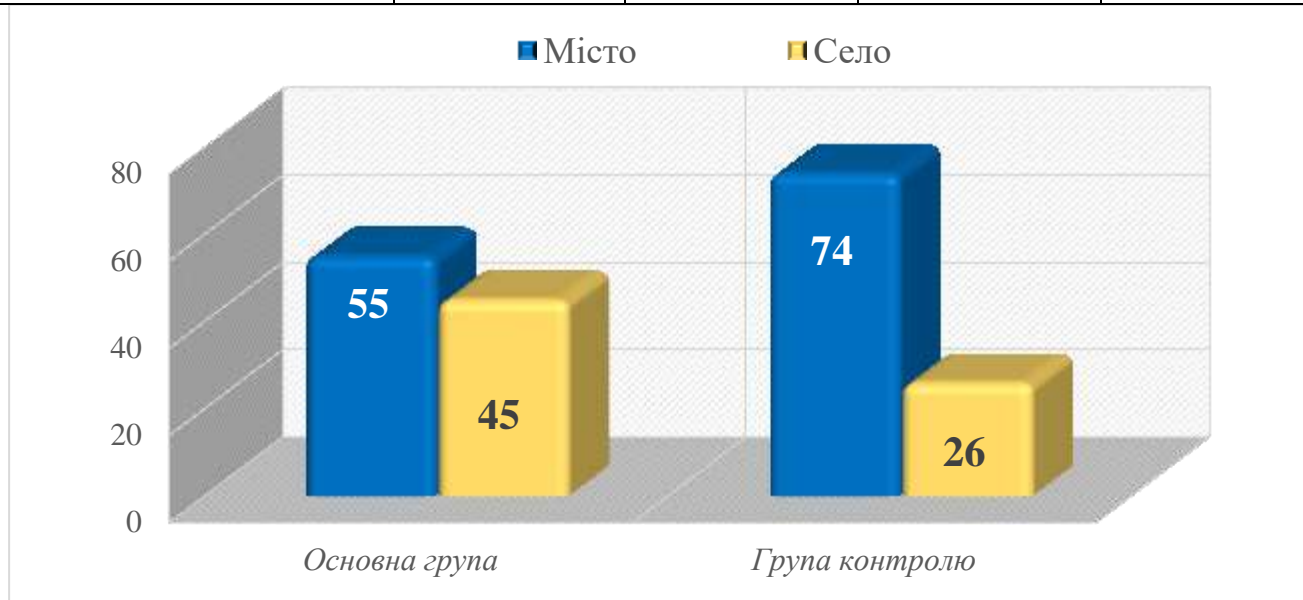


Рисунок 2.2 – Розподіл обстежених жінок по групам в залежності від місця проживання (%).

Серед всіх обстежуваних жінок був високий відсоток повторнонароджуючих (52 %). Частота мимовільних викиднів в анамнезі склала 10% в групі контролю та вдвічі вища в основній групі дослідження – 22,5 %. Артифіційними абортами попередні вагітності завершилися в 10% пацієнок в контрольній та 8,75 % в основній групі. Важливо зазначити, що кожна 6 жінка (16,25 %) з основної групи в анамнезі вже мала передчасні пологи або сама була

народжена передчасно, що вказує на особисту схильність до виникнення даного ускладнення.

Аналіз гінекологічного анамнезу вагітних основної групи підтвердив наявність гінекології патології у 53,75 % жінок, в групі контролю у 44 % відповідно. Серед гінекологічних захворювань частіше зустрічались наступні: ектопія шийки матки, хронічні запальні процеси додатків матки (СООФ), кісти яєчників, міома матки, порушення менструального циклу (ПОМЦ), дисплазія шийки матки (CIN). Майже половина обстежених жінок в кожній групі, хоч і з незначною перевагою в основній групі мали хвороби жіночих статевих органів, що свідчить про несприятливий фон розвитку як фізіологічної, так і патологічної вагітності. Відсоткове співвідношення гінекологічних захворювань по групах дослідження представлено на рис. 2.3.

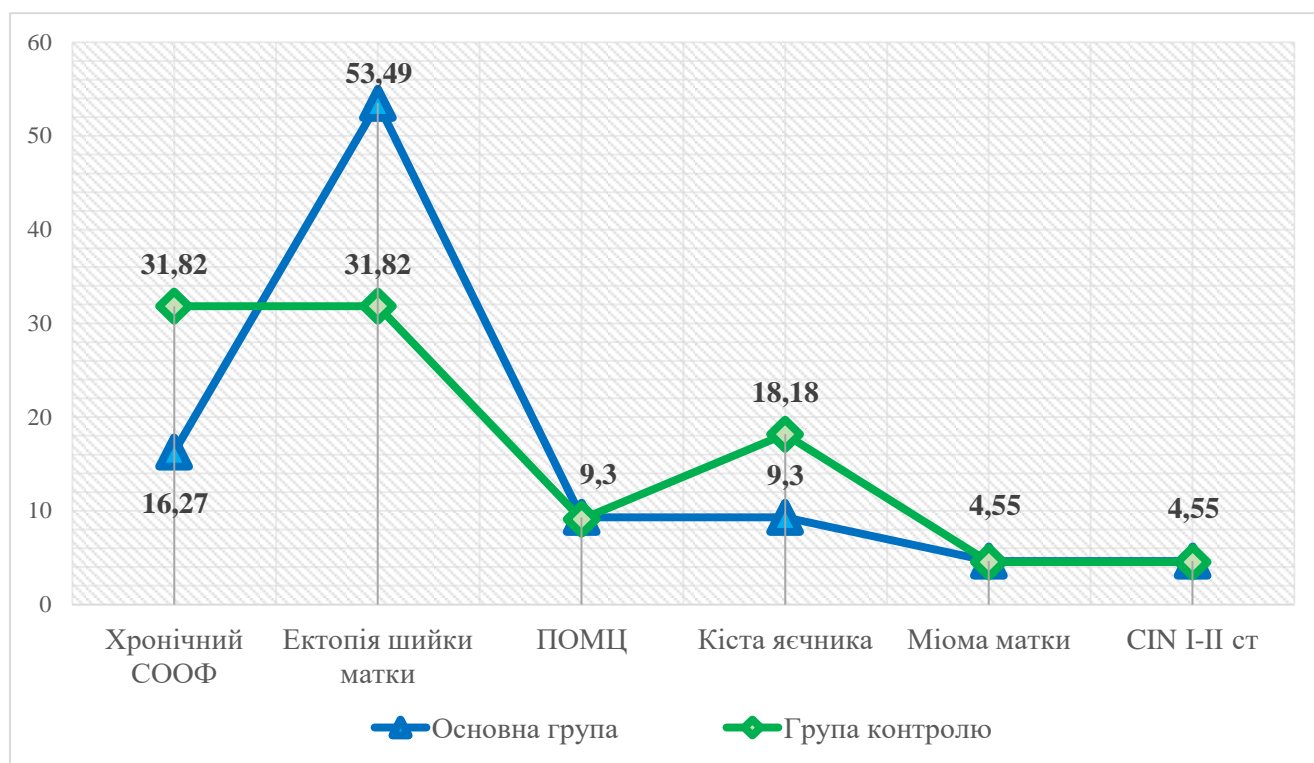


Рисунок 2.3 – Гінекологічна патологія серед обстежених жінок (%).

При вивченні структури екстрагенітальної патології (ЕГП), незважаючи на молодий репродуктивний вік ($29,6 \pm 6,3$ років), відмічено високу частоту хронічних соматичних захворювань в основній групі, яка була виявлена у 42,5 % жінок. В

контрольній групі ЕГП була виявлена у 26 % вагітних. Пацієнтки частіше в анамнезі мали захворювання сечовидільної системи (хронічний пієлонефрит, цистит), органів шлунково-кишкового тракту (ШКТ, хронічний гастродуоденіт), ЛОР-органів (тонзиліт, гайморит, отит, епіглотит), варикозну хворобу нижніх кінцівок, пролапс мітрального клапану (ПМК), міопію, патологію щитоподібної залози, цукровий діабет, lues, хронічну артеріальну гіпертензію. В групі передчасних пологів ініційованих передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності в структурі ЕГП лідирували запальні захворювання ЛОР органів, нирок, що підтверджує гіпотезу про суттєвий вплив хронічних осередків інфекції та низького індексу здоров'я жінки на патогенез передчасних пологів. На рис. 2.4 представлено відсотковий спектр екстрагенітальних захворювань обстежених пацієнток обох досліджуваних груп.

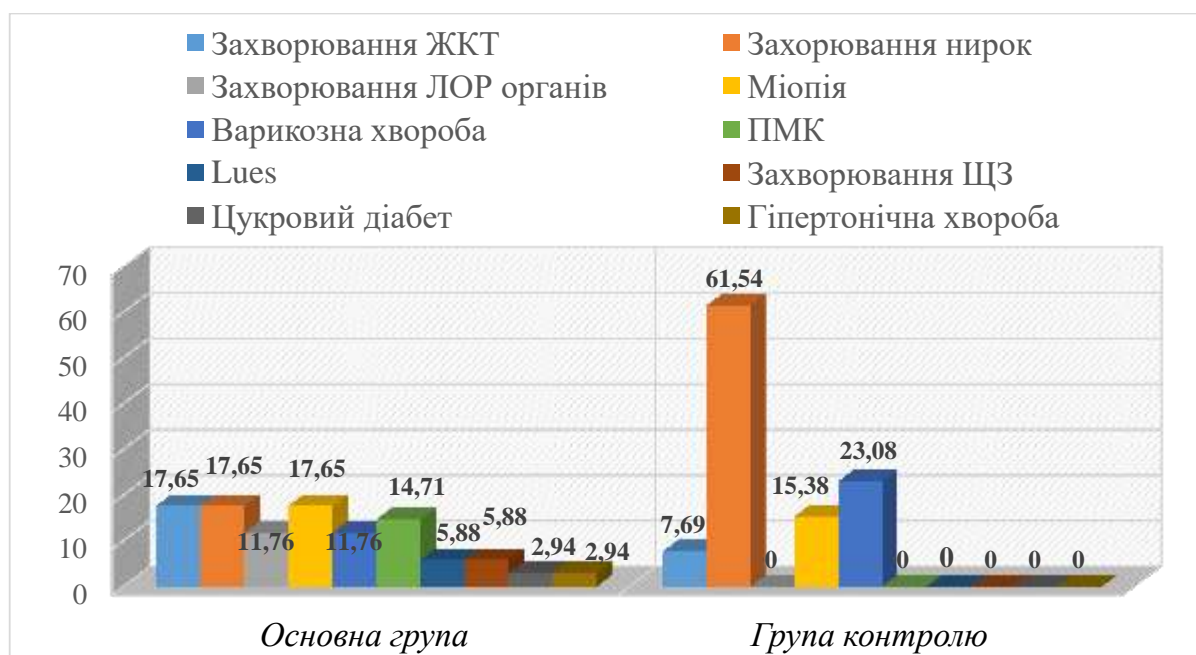


Рисунок 2.4 – Екстрагенітальна патологія в досліджуваних групах (%).

Аналізуючи терміни гестації, в яких виник передчасний розрив плодових оболонок (ПРПО), відмічено, що в основній групі дослідження перевагу склали 31-34 тижні вагітності – 68 % разом, 26-27 тижнів – у 12 % пацієнток, 28-30 – 20 % відповідно (Рис.2.5). В контрольній групі середній гестаційний термін пологів склав $39,02 \pm 1,06$ тижні.

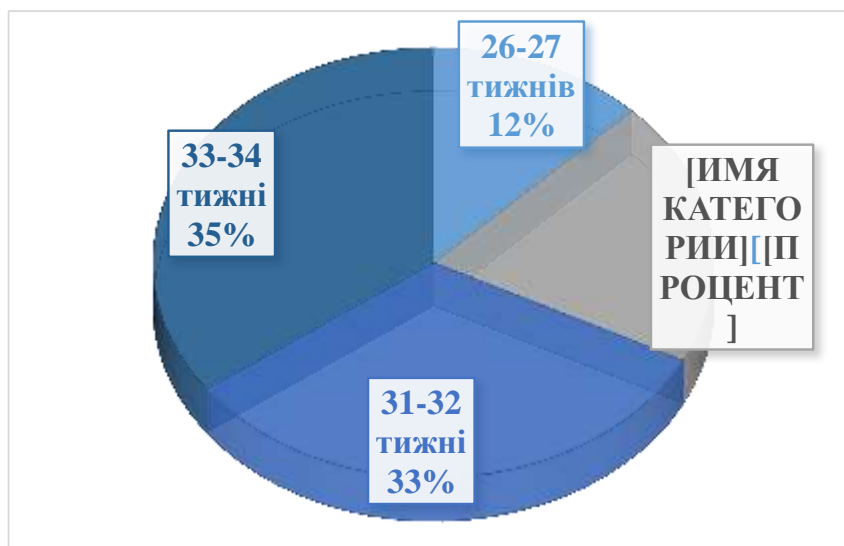


Рисунок 2.5 – Розподіл вагітних за терміном маніфестації ПРПО (%).

2.2 Методи дослідження

2.2.1 Загально-клінічні дослідження

Для встановлення особливостей стану фетоплацентарного комплексу в жінок з ПРПО при недоношеній вагітності, дослідження стану вродженого та адаптивного імунітету в плаценті та плодових оболонках, розробки діагностичних критеріїв для розродження, розробки принципів ведення вагітності та пологів з урахуванням індивідуального ризику ускладнень, поліпшення перинатальних наслідків проведено роботу в наступних напрямках. При обстеженні вагітних ретельно аналізували дані анамнезу, з акцентом на можливі тригерні фактори, показники рівня ендогенної інтоксикації, терміни госпіталізації в стаціонар, проводили акушерський огляд, лабораторне, інструментальне обстеження, вивчали перебіг попередніх вагітностей та аналізували медичну документацію: протоколи УЗД, доплерометрії, КТГ, обмінні карти (форма № 113/о), історії пологів (форма № 096/о), карти розвитку новонароджених (форма № 097/о).

Загально-клінічне обстеження пацієнтів, спостереження під час вагітності, тактика ведення вагітних з передчасним розривом плодових оболонок та передчасних пологів регламентовані наказами МОЗ України №417 від 15.07.2011 «Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні»,

№782 від 29.12.2005 «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги» та №624 від «Про внесення змін до наказу МОЗ України від 15 грудня 2003 року №582 «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги», наказу МОЗ від 31.12.2004 року №676 «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги» [191-193].

Під час госпіталізації в стаціонар усім вагітних основної групи фіксували гестаційний термін, визначали час розриву плодових оболонок, деталізовано проводили аналіз акушерського та сімейного анамнезу, проводили діагностику наявності пологової діяльності, огляд шийки матки у дзеркалах, підтвердження ПРПО, ультразвукове дослідження з фетометрією, визначенням обсягу амніотичної рідини, доплерометрією матково-плацентарно-плодового кровоплину, бактеріоскопічне та бактеріологічне дослідження піхвових виділень. При відсутності регулярної пологової діяльності та наявності показань до очікувальної тактики внутрішнє акушерське дослідження ведення вагітної не проводилось.

Діагностика (підтвердження) передчасного розриву плодових оболонок

✓ *Огляд шийки матки в дзеркалах* – візуально встановлюється вилиття амніотичної рідини із каналу шийки матки.

У сумнівних випадках при наявності труднощів у встановленні діагнозу диференціальну діагностику передчасного вилиття навколоплідних вод проводять з підвищеною секрецією вагінальних та цервікальних залоз перед пологами з використанням одного або комбінації нижченаведених тестів:

✓ *«Тест папороті»* – феномен арборизації у вигляді утворення візерунку листа папороті [9]. Ватним тампоном здійснювали забір біологічного матеріалу з ділянки зовнішнього вічка цервікального каналу, потім тонким шаром наносять на чисте предметне скло, після чого препарат висушують на повітрі експозицією 5-7 хвилин [9]. Препарат проглядають під мікроскопом при незначному збільшенні. Виявлення арборизації у вигляді листка папороті або деревовидної

структури є підтвердженням діагнозу передчасного вилиття навколоплідних вод [9].

✓ *Визначення рН за допомогою тест-смужки AmnioTest^{mm}* – принцип методики заснован на тому, що навколоплідні води зазвичай мають лужну реакцію (рН 7,0-7,5), а піхвовий вміст в нормі – кислу (рН 4,0-4,4). Стерильним тес-тампоном забирають біологічний матеріал з поверхностної ділянки цервікального каналу або заднього склепіння піхви, а потім наносять на тест-смужку. Забарвлення смужки у синій колір (рН 7,0) або синьо-зелений (рН 6,5) свідчить про наявність в досліджуваному матеріалі навколоплідних вод. Хибнопозитивні результати можливі при попаданні крові, сечі або антисептиків та дисбіозі піхви [16].

✓ *Імунохроматографічний експрес-тест Actim^{mm} Prom* – використовується у сумнівних випадках для визначення в цервікальному секреті фосфорильованого протеїну;1, що зв'язує інсуліноподібний фактор росту (IGFBP1 – Insulin – like growth factor – binding protein1) [161]. Фосфорильований протеїн-1, що зв'язує інсуліноподібний фактор росту секретується децидуальними клітинами вагітної та є маркером порушення цілісності амніо-децидуальної оболонки. Для проведення тесту Actimtm Prom за допомогою стерильного вагінального дзеркала дакроновим тампоном відбирають зразок цервікального секрету, який потім екстрагують буферним розчином. Наявність фIGFBP1 в розчині можна виявити за допомогою тестової смужки [161].

Порогове значення в тесті Actim Prom встановлено таким чином, що найнижча концентрація фIGFBP1, що виявляється, в екстрагованій пробі складає 10 мкг/л (калібрується по очищеному хроматографією фIGFBP1 з децидуального екстракту (=13,6). Ця концентрація розцінюється як слабкопозитивний результат. Якщо зразок містить більше 30 мкг/л фIGFBP1, то результат вважають явно позитивним. Якщо в зразку забезпечена відсутність крові, то позитивний результат означає, що плідна оболонка починає відділятися від децидуальної оболонки, і тому в цервікальному секреті з'явився фIGFBP1. Якщо в тестовій зоні

з'являються 2 тест-смужки, результат вважають позитивним. Якщо з'являється 1 тест-смужка – результат негативний [161].

Ведення вагітних із передчасним розривом плодових оболонок

В залежності від терміну гестації під час маніфестації передчасного розриву плодових оболонок, екстрагенітальної патології, акушерської ситуації, акушерсько-гінекологічного анамнезу обиралась персональна тактика ведення. Деталізована інформація про стан вагітної та антенатальний моніторинг плода, переваги та можливі небезпеки кожної із стратегій подальшого ведення вагітності були надані кожній пацієнтці та її родині з отриманням письмової згоди з обраною тактикою ведення.

Чинний наказ МОЗ України №782 від 29 грудня 2005 року «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги» [192] регламентує надання акушерської допомоги вагітним з передчасним розривом плодових оболонок. Згідно до якого вичікувальна тактика може обиратись в наступних випадках: при відсутності ускладнень після вилиття навколоплідних вод (передчасне відшарування нормально розташованої плаценти, випадіння петель пуповини або інших показань для ургентного розродження); при задовільному антенатальному моніторингу стану плода, при відсутності клініко-лабораторних ознак хоріоамніоніту (підвищення температури тіла $\geq 38^{\circ}\text{C}$, серцебиття плода ≥ 170 уд./хв); у вагітних з низьким ризиком перинатальних ускладнень.

У разі вибору вичікувальної стратегії в відділенні патології вагітності та екстрагенітальної патології Обласного перинатального центру всім пацієнтам основної групи був надан наступний алгоритм спостереження: термометрія та пульсометрія 2 рази на добу, загальний аналіз крові на гематологічному аналізаторі з автоматизованим визначенням кількості лейкоцитів, гранулоцитів та нейтрофілів у периферичній крові не рідше ніж 1 раз на 3 доби, бактеріологічне дослідження під час госпіталізації для виявлення видового складу мікрофлори

пологових шляхів, бактеріоскопічне дослідження виділень із піхви 1 раз на 3 доби, спостереження за станом плода: аускультация двічі на добу, кардіотокографія (КТГ) не рідше 1 разу на добу з аналізом короткої варіабельності серцевого ритму (STV), ультразвукове та доплерометричне дослідження в динаміці. Всі вагітні були попереджені про необхідність самостійного проведення актографії та у разі зміни рухової активності плода (повільних або занадто бурхливих) звертання до чергового лікаря.

З метою превенції респіраторного дистрес-синдрому плода усім вагітним проводився курс внутрішньом'язевого введення препаратів глюкокортикоїдного ряду, а саме Дексаметазону по 6 мг кожні 12 годин (на курс 24 мг) або Бетаметазону по 12 мг кожні 12 години (на курс 24 мг).

Профілактичне введення напівсинтетичних пеніцилінів (Амоксицилін по 500 мг тричі на добу перорально) або цефалоспоринів III генерації (Цефтріаксон 1,0 двічі на добу в/м) у середніх терапевтичних дозах проводилось з моменту госпіталізації протягом 7-10 діб за відсутності ознак інфекції у матері. Збільшення рівня лейкоцитів, індексів ендогенної інтоксикації, ознаки дистресу плода після проведеного курсу антибактеріальної терапії розцінювались як клінічний прояв хоріоамніоніту та консультативно вирішувалось питання про проведення індукції пологів.

У периферичній крові визначали кількість загальну кількість лейкоцитів, лімфоцитів, гранулоцитів на автоматичному *гематологічному аналізаторі Swelab Alfa* («Boule Medical AB», Sweden).

З метою вивчення функціонального стану фетоплацентарного комплексу та внутрішньоутробного стану плода з 28 тижнів вагітності проведено *кардіотокографічне (КТГ) дослідження* в динаміці на фетальному кардіомоніторі «Sonicaid® Team» (Oxford Medical, United Kingdom) з оцінкою короткої варіабельності ритму (Short-term Variability – STV). Це математичний показник різниці між середнім пульсовим інтервалом, що зареєстрований протягом попереднього та наступного проміжка, рівного 1/16 хвилини, вираховується в автоматичному режимі за умови дотримання критеріїв протоколу Доуза/Редмана

(наявність мінімум одного ворухіння плода або трьох акцелерацій, наявність епізодів високої варіабельності, відсутність ознак синусоїдального ритму, децелерацій та помилок в записі).STV корелює з рН крові плода та допомагає визначити наявність метаболічної ацидемії. У нормі STV повинен становити більше 4 мсек, показники 3,5-4,0 мсек – свідчить про ацидемію, порушення кровоплину, органічні зміни в плаценті, показник STV від 3,0 до 3,49 – ацидоз, від 2,5 до 2,99 – вказує про метаболічну гіпоксію плода, і менше 2,5 – загроза антенатальної загибелі плода. Якщо при проведенні фетального кардіомоніторингу показник STV відзначався ≤ 4 мсек вагітні були направлені на УЗД з доплерометрією матково-плацентарної-плодової гемодинаміки для вирішення подальшої тактики ведення.

2.2.2 Ультразвукова діагностика та дослідження матково-плацентарної-плодової гемодинаміки

Ультразвукове дослідження здійснювали з метою антенатального моніторингу стану плода та виявлення ознак дистресу плода на апараті MyLab 40 (Esaote, Італія).

Ультразвукова фетометрія здійснювалась за загальноприйнятою методикою, за допомогою визначення розмірів голівки, окружності живота та довжини стегна. Основними завданнями фетометрії є уточнення терміну вагітності при недостатній кількості клінічних даних, визначення відповідності антенатального росту плода ймовірному гестаційному терміну за допомогою перцентильних таблиць Nadlock та скринінг пренатальних аномалій розвитку. При невідповідності одного або декількох показників фетометрії гестаційному терміну проводиться розширений протокол фетометрії та розрахунок фетометричних індексів (співвідношення біпаріетального розміру до довжини стегна, довжини стегна до окружності живота, лобно-потиличного розміру до біпаріетального, окружності голівки до окружності живота).

При проведенні ультразвукового дослідження разом з фетометрією непрямим методом виконувалась амніометрія – вимірювались вільні від плоду лінійні розміри кишень навколоплідної рідини з подальшим підрахунком індексу амніотичної рідини (IAP) за методикою J. P. Phelan у модифікації М. Н. Lyndon.

Наступним важливим етапом антенатального моніторингу було доплерометричне дослідження матково-плацентарного-плодового кровоплину (МППК). Провідним механізмом відхилень розвитку плода від норми при різних ускладненнях вагітності є універсальні та однотипні гемодинамічні порушення в системі мати – плацента – плід.

Загальновідома методика доплерометрії МППК передбачає визначення напрямку та швидкості кровоплину в судинах матері та плода, обчислення індексів судинного супротиву (ICV) та обґрунтування отриманих результатів на фінальному етапі. Вимірювання ICV здійснювалось в артерії пуповини (АП), середній мозговій артерії (СМА), ductus venosus та маткових артеріях. Для оцінювання кривих швидкостей кровоплину використовують такі ICV: максимальна швидкість кровотоку (V_{max}), мінімальна швидкість кровотоку (V_{min}), систоло-діастолічне співвідношення (S/D), пульсаційний індекс (PI), індекс резистентності (RI).

Для визначення порушень кровообігу використовували класифікацію, запропоновану А. Н. Стрижаковим, а для визначення порушень гемодинаміки плода – класифікацію, запропоновану В. С. Демидовим.

2.2.3 Імуноферментні методи дослідження

Для діагностики стану ФПК важливим є визначення гормональної функції плаценти шляхом дослідження вмісту в сироватці крові вагітних гормонів, оскільки їх порушення лежать в основі багатьох ускладнень вагітності. Дослідження гормонального профілю фетоплацентарного комплексу (ФПК) проводилось на базі Навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету.

Для кількісного визначення в сироватці людини β -хоріонічного гонадотропіну людини (hCG) використовували набір hCGMonobind № 5025-300 (США), естрадіолу – u-E2 Monobind № 4925-300 (США), прогестерону – Progesterone Test System Monobind № 4825-300 (США) та імуноферментний аналізатор Sirio S (Італія).

2.2.4 Молекулярно-генетичні методи дослідження

Молекулярно-генетичне дослідження здійснювалось на базі Відділу молекулярно-генетичних досліджень Навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету.

Для генотипування та визначення асоціацій з ПРПО при недоношеній вагітності однонуклетидного поліморфізму генів прозапальних системних цитокінів IL1 β (rs1143627) та TNF α (rs1800629), протизапального цитокіну IL10 (rs1800896, rs1800872), IL4 (rs2243250), RLN2 (rs4742076, rs 3758239) були використані зразки тотальної ДНК людини, що виділялася з цільної крові згідно інструкції виробника за допомогою комплекту реагентів «ДНК-експрес-кровь-плюс» («Литех», РФ). Генотипування за допомогою TaqMan проб проводилося на ампліфікаторі CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США). Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) для TaqMan генотипування проводили згідно інструкції Applied Biosystems, США.

Для аналізу транскрипційної активності генів протизапальних *TLR2* (NM_001318787.1) та *TLR4* (NM_138554.4), прозапальних *IL1 β* (NM_000576.2) та *IL17A* (NM_002190.2), forkhead box P3 (*FOXP3*) – маркер активності Т-регуляторних клітин Treg (NM_014009.3), *T-box21 (Tbet)* – регулятор диференціювання Т-лімфоцитів (маркер активності Т-хелперів 1 типу Th1) (NM_013351.1), RAR-related orphan receptor gamma – *RORC (ROR γ t)* – маркер активності Т-хелперів 17 типу Th17 (NM_005060.3) використовували також метод ПЛР зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ЗТПЛР-РЧ) і набір реактивів Luminaris HiGreen Fluorescein qPCR MasterMix (Thermo Scientific,

США). Об'єкт дослідження – плацента та плодові оболонки, фіксовані в 10% нейтральному забуференому формаліні. Тотальну РНК виділяли з використанням набору «NucleoZOL» (Macherey-Nagel, ФРН). Для цього попередньо відмиті від формаліну шматочки плаценти та плодових оболонок гомогенізували (100 мг тканини/1 мл «NucleoZOL»).

Фінальна реакційна суміш для ампліфікації включала 10 мкл MasterMix (до складу якого входять Hot Start Taq ДНК-полімераза, урацил-ДНК-глікозидаза UDG, буфер з нуклеотидами і інтеркалюючий флюоресцентний барвник SYBR Green I), по 0,6 мкл прямого і зворотного специфічних праймерів, 1 мкл матриці (кДНК). Реакційну суміш доводили до загального об'єму 20 мкл додаванням деіонізованої H₂O. Специфічні пари праймерів (5'-3') для аналізу досліджуваних і референсного генів були підібрані за допомогою програмного забезпечення PrimerBlast (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast) та виготовлені фірмами Metabion (Німеччина) і ThermoScientific (США) (див. табл. 2.3).

Усі реакції ампліфікації виконували на індивідуальних зразках у 3 повторах. Визначення мРНК досліджуваних генів виконали з розрахунком відносної нормалізованої кількості кДНК досліджуваних генів, коли дані контрольної групи брали як «1», а результати досліджуваної групи визначали відносно показників контрольної. Нормалізацію відносної кількості кДНК виконали за методом $\Delta\Delta C_t$ із референс-геном гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогенази (GAPDH). Статистичний аналіз даних ПЛР проводили за допомогою програмного забезпечення CFX Manager™ (Bio-Rad, США).

Таблиця 2.3 - Специфічні праймери використані в ЗТ-ПЛР в режимі реального часу

Ген	Нуклеотидна послідовність праймера	T _{пл} , °C	Довжина продукту ПЛР, п. н.	Екзон-екзонний стик
<i>FOXP3</i>	F = TCTGCACCTTCCCAAATCCC R= AAAGGGTGCTGTCCTTCCTG	59.96 59.89	48	730/731
<i>T-box21 (Tbet)</i>	F = CCGTGACTGCCTACCAGAAT R = TTCAGCTGAGTAATCTCGGCA	59.46 59.18	40	1138/1139
<i>RORC (RORγt)</i>	F =AAGAAGACCCACACCTCACAA R= AGACGACTTGTCCCCACAGA	59.16 60.47	63	178/179
<i>TLR2</i>	F = TTCTCTCAGGTGACTGCTCG R = TGCAACACCAAACACTGGGA	59.12 60.32	46	72/73
<i>TLR4</i>	F = TGC GTGAGACCAGAAAGCTG R = TAGGAACCACCTCCACGCAG	60.6 61.54	46	391/392
<i>IL1β</i>	F = CCACCTCCAGGGACAGGATA R = AGAACACCACTTGTTGCTCCA	60.03 60.06	41	553/554
<i>IL17A</i>	F = TACAACCGATCCACCTCACC R = CCTCAT TGCGGTGGAGATTC	59.1 58.7	43	275/276
<i>GAPDH</i>	F = CTCTGCTCCTCCTGTTTCGAC R=CGATGTGGCTCGGCTGG	59.83 60.58	63	165/166

Примітка. F — прямий праймер; R — зворотний праймер; T_{пл} — температура плавлення.

2.2.5 Патоморфологічне дослідження послідів

Гістологічне дослідження проводилося на базі центрального відділення комунальної установи «Запорізьке обласне патологоанатомічне бюро».

Забарвлення препаратів виконували гематоксилин-еозином за методикою Ван-Гізону з попередньою фіксацією 10 % забуференим розчином нейтрального формаліну. Гістологічний висновок формулювали у відповідності до Міжнародної гістологічної класифікації [196].

2.2.6 Методи статистичної обробки даних

Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакету програм «Statistica 13.0». (StatSoft Software № JPZ8041382130ARCN10-J) за загальноприйнятою методикою [197]. Основні отримані дані наведені у вигляді: кількості спостережень (n), середньої арифметичної величини (M), стандартної помилки середньої ($\pm m$), відносних величин (абс., %), рівня статистичної значущості (p). Відмінності вважали статистично значимими при $p < 0,05$. Нормальність розподілу кількісних ознак оцінювали за допомогою критеріїв Шапіро-Уїлка та Колмогорова-Смірнова [197]. Достовірність відмінностей між двома незалежними вибірками досліджували з використанням методів непараметричної статистики за методом Манна-Уїтні. Для оцінки взаємозв'язків між якісними показниками використовували критерій χ^2 Пірсона [171-172].

За допомогою ROC-аналізу визначено точки розмежування значень обраних чинників, які забезпечують його максимальну прогностичну цінність за показниками чутливості і специфічності [197]. Дані ROC аналізу представляли як середнє значення площі під ROC-кривою (AUC – Area Under Curve), побудованою за показниками чутливості (ЧТ) і специфічності (СП), і межі 95 % довірчого інтервалу (95 % ДІ). З метою оцінки внеску клініко-анамнестичних, лабораторних та молекулярно-генетичних чинників у вірогідність розвитку ПРПО при недоношеній вагітності розраховували відносний ризик та відношення шансів (ВР – RR, ВШ – OR) з визначенням 95 % довірчого інтервалу (ДІ – СІ). Якщо значення RR та OR [СІ 95 %] від 0 до 1, то це відповідає зниженню ризику; при показниках RR та OR [СІ 95 %] рівних 1 – відсутність ефекту; при RR та OR [СІ 95 %] вищих за 1 – підвищений ризик [197].

Для прийняття рішення щодо віднесення пацієток до групи ризику ПРПО використано метод послідовного оцінювання з граничними межами LR+ та LR-. Концепція коефіцієнта правдоподібності (LR) допомагає надати інтерпретацію тесту: це співвідношення ймовірності того, що даний результат тесту буде знайдений у пацієнта, який має захворювання, у порівнянні з імовірністю того, що результат тесту виявиться у пацієнта, який не має захворювання. Позитивне відношення правдоподібності (LR+) – це відношення ймовірності отримання позитивного результату тесту у пацієнта з захворюванням, до цієї ймовірності у пацієнта, який не має цього захворювання (тобто відношення істинно позитивного до хибно позитивного). Негативний коефіцієнт правдоподібності (LR-) – це відношення ймовірності отримання негативного результату тесту у пацієнта з хворобою, до цієї ймовірності у пацієнта, який не має цього захворювання (тобто відношення хибно негативних показників до істинно негативних показників).

$$LR+ = \frac{Se}{1 - Sp} \quad LR- = \frac{1 - Se}{Sp} \quad (2.1)$$

При вивченні факторів ризику ПРПО при недоношеній вагітності використовували метод множинної логістичної регресії. За допомогою рівнянь логістичної регресії визначено, які з предикторів впливають на наслідки, та, використовуючи їх значення, виконана оцінка ймовірності того чи іншого наслідку.

Для виявлення та оцінки взаємозв'язків між кількісними показниками проводили кореляційний аналіз з визначенням непараметричного лінійного коефіцієнта кореляції Спірмена (r-Spearman) з довірчим інтервалом 95 %. *Кореляційний зв'язок* - взаємозв'язок, коли середньому значенню однієї ознаки, відповідає кілька значень іншої взаємопов'язаної з ним ознаки (середньому зростанню статистичної сукупності відповідає кілька значень маси одиниць спостережень). *Коефіцієнт кореляції* (R_{xy}) одним числом визначає наявність зв'язку, його напрямок та силу залежності ознак між собою, в цьому і полягає перевага коефіцієнта кореляції перед таблицями і графіками [197].

Сила кореляційного зв'язку – взаємозв'язок між ознаками або ступінь залежності однієї ознаки від іншої. *Сила кореляційної зв'язку* знаходиться в межах від 0 до ± 1 і її рівень оцінюється за спеціальною приведеною шкалою: 0 – немає зв'язку; 0,1-0,29 – слабка залежність; 0,3 - 0,69 – середня залежність; 0,7-0,99 – сильна залежність; 1,00 – повна залежність.

Прямий кореляційний зв'язок позначається знаком (+). При *прямому* кореляційному зв'язку, зі зміною значення однієї ознаки в тому ж напрямку змінюються значення іншої ознаки, яка була взаємопов'язана з нею.

Зворотній кореляційний зв'язок позначається знаком (-). При *зворотному* кореляційному зв'язку зі зміною значення однієї ознаки в зворотному напрямку змінюються значення іншої ознаки, яка була взаємопов'язана з нею.

Метод рангів (Спірмена) відноситься до непараметричних критеріїв оцінки взаємозв'язку між досліджуваними ознаками. Він найчастіше використовується для орієнтовної оцінки зв'язку між ознаками. Він ґрунтується на ранжуванні досліджуваних ознак.

Формула розрахунку коефіцієнта рангової кореляції:

$$\rho_{xy} = 1 - \frac{6\sum d^2}{n(n^2 - 1)}, \text{ де:} \quad (2.2)$$

X и Y – явища, між якими визначається зв'язок;

ρ – коефіцієнт рангової кореляції;

d^2 – різниця рангів в квадраті;

n – кількість досліджуваних пар.

Для оцінки достовірності коефіцієнта рангової кореляції визначимо середню помилку:

$$m_{\rho} = \sqrt{\frac{1 - \rho_{xy}^2}{n - 2}}, \text{ при } n < 30 \quad (2.3)$$

$$m_{\rho} = \frac{1 - \rho_{xy}^2}{\sqrt{n}}, \text{ при } n > 30, \quad (2.4)$$

де: m_{ρ} – середня помилка коефіцієнту рангової кореляції;

ρ – коефіцієнт рангової кореляції в квадраті;

n – кількість досліджуваних пар.

Визначаємо критерій достовірності (критерій Стьюдента – t):

$$t = \frac{\rho_{xy}}{m_{\rho}}, \quad (2.5)$$

де: t – критерій достовірності (критерій Стьюдента);

ρ – коефіцієнт рангової кореляції;

m_{ρ} – помилка коефіцієнта рангової кореляції.

РОЗДІЛ 3

КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ, ПЕРИНАЛЬНІ НАСЛІДКИ, ДАНІ ВІДДАЛЕННОГО КАТАМНЕЗУ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГІВ, ІНІЦІЙОВАНИХ ПЕРЕДЧАСНИМ РОЗРИВОМ ПЛОДОВИХ ОБОЛОНОК

3.1 Перебіг вагітності та пологів у жінок досліджуваних груп

Аналізуючи вплив істміко-цервікальної недостатності, безсимптомної бактеріурії та дисбіозу піхви на генезис розвитку передчасних пологів на тлі ПРПО були отримані наступні дані. Істміко-цервікальна недостатність (ІЦН) була виявлена у 22,5 % вагітних основної групи, що потребувало встановлення акушерського песарію, але незважаючи на вжиті заходи в вигляді застосування розвантажувального песарію та гестагенної підтримки місцево (Утрожестан 200-400 мг або Лютеїна 100-200 мг per vaginum) ПРПО та подальшого розвитку передчасних пологів уникнути не вдалось. Отримані результати цього дослідження вказують на дещо перебільшений внесок ІЦН та дефіцит ендogenous прогестерону в концепцію розвитку передчасних пологів, ініційованих ПРПО. Це також підтверджується майже стабільно високим показником передчасних пологів (5-18 %) серед усіх країн світу, не дивлячись на існуючий прогрес в наукових дослідженнях щодо пошуку тригерних факторів, предикторів ризику розвитку передчасних пологів та широкого застосування гестагенів та розвантажувального песарію серед вагітних стратифікованих груп нібито високого ризику.

Бактеріологічне дослідження сечі попри обов'язковість скринінгу під час вагітності згідно наказу МОЗ №417 від 15.07.2011 «Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні» проводилось лише у 48,75 % вагітних, з яких у 87,18 % етіологічно значимої флори виділити не вдалось. Серед бактеріальних інфектів (у 12,82 % вагітних), які вдалось виявити лідирували *Proteus vulgaris*, *E.coli* та *Kl. pneumoniae*. Отже, коротка шийка матки та безсимптомна бактеріурія як фактори ризику передчасних пологів виявлені лише у 22,5 % та 12,82 % відповідно, що вказує на необхідність подальших досліджень

в цьому напрямі для розширення скринінгу та стратифікації груп ризику невиношування.

На тлі існуючої парадигми про значення порушеної вагінальної екосистеми в генезисі невиношування наступним обґрунтованим завданням дослідження були оцінка біоценозупологових шляхів та виявлення найбільш значимих інфекційних агентів в розвитку ПРПО та ініціації передчасних пологів в термінах гестації 26-34 тижні. У 56,25 % жінок основної групи було проведено бактеріологічне дослідження піхви з визначенням чутливості до антибіотиків, серед яких у 31,43 % вагітних етіологічно значимої флори виявлено не вдалось. У 68,57 % обстежених пацієнток у мікробіомі піхви були виявлені значимі титри представників умовно-патогенної та патогенної флори. Структура мікробного пейзажу в відсотковому співвідношенні представлена на рис. 3.1.

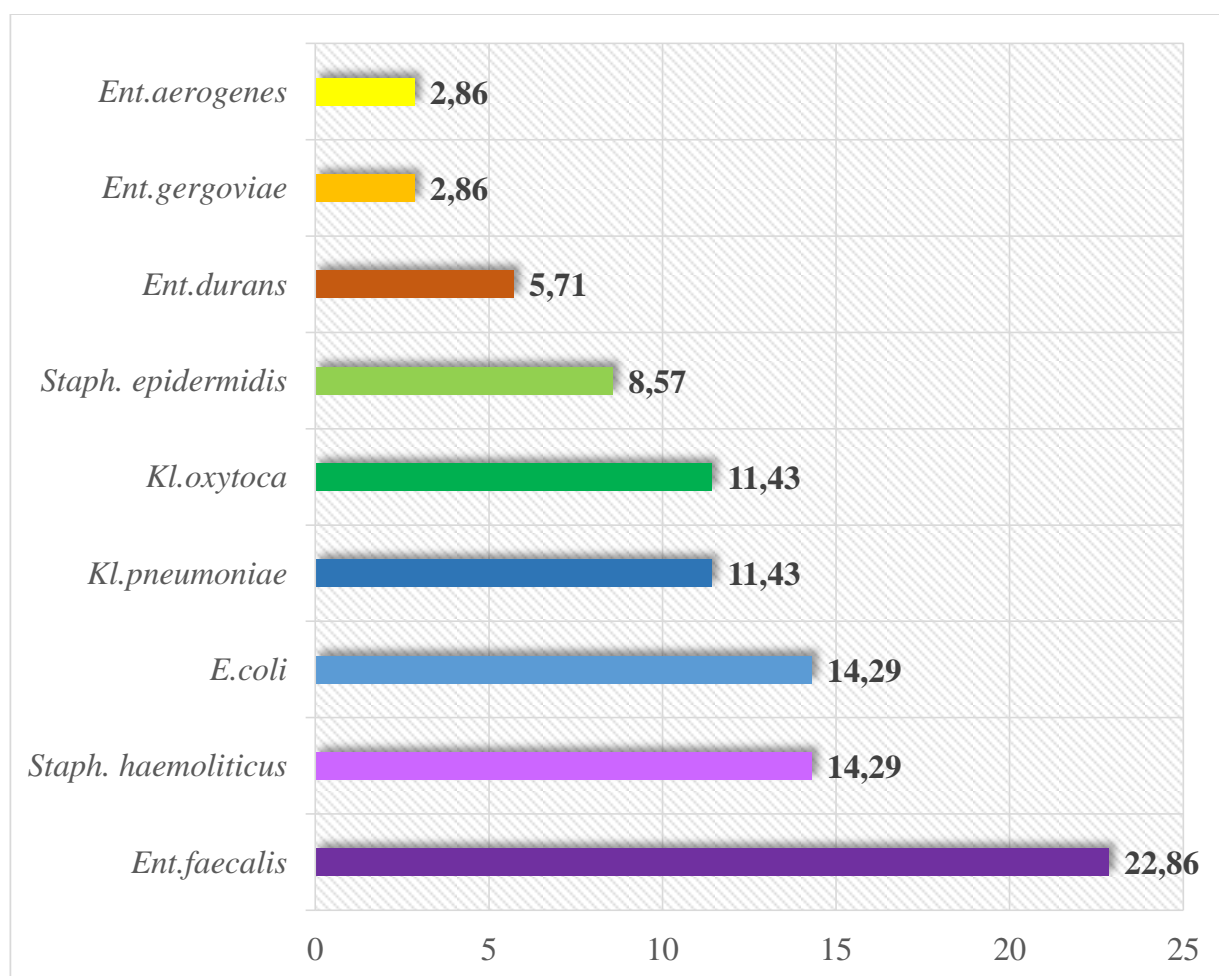


Рисунок 3.1 – Результати бактеріологічного дослідження мікробіому піхви у вагітних основної групи (%).

Слід підкреслити, що у 31,03 % контингенту обстежених жінок основної групи проведене бактеріоскопічне дослідження мазків з піхви дозволило визначити ознаки кольпіту. Враховуючи, що процес інтраамніального інфікування плодових оболонок був уже запущений, застосування антибактеріальної терапії не вплинуло на зниження частки передчасних пологів загалом, проте шляхом нормалізації біоценозу піхви вдалось досягнути суттєвого зниження відсотка інфекційно-запальних ускладнень в післяпологовому періоді жінок з ПРПО при недоношеній вагітності.

На основі порушень мікробіоценозу статевих шляхів у вагітних із ПРПО при недоношеній вагітності і контрольній групі були встановлені такі типи біоценозу згідно класифікації Е.Ф. Кіри (табл. 3.1). В основній групі було відмічено тенденцію, що набула статистичної значущості в показниках нормоценозу піхви, неспецифічного вагініту та бактеріального вагінозу в порівнянні в групою контролю.

Таблиця 3.1 - Тип біоценозу піхви згідно класифікації Е.Ф. Кіри

Тип біоценозу	Основна група n=35		Контрольна група n=25	
	Абс.	%	Абс.	%
<i>Нормоценоз</i>	7*	20	13	52
<i>Проміжний тип</i>	21	60	12	48
<i>Неспецифічний вагініт</i>	5*	14,29	-	-
<i>Бактеріальний вагіноз</i>	2*	5,71	-	-

Примітка. Статистично вірогідна різниця ($p \leq 0,05$) в порівнянні с групою контролю.

Тривалість безводного проміжку в залежності від терміну маніфестації (рис. 3.2) була вищою в підгрупах з ПРПО в 26-27 тижнів та 28-30 тижні вагітності та склала відповідно 134,3 години (L 39 – Н 261 годин) та 159,25 годин (L 8 – Н 620 годин). Зі збільшенням терміну виникнення ПРПО при недоношеній вагітності зменшувалась тривалість безводного проміжку, так в підгрупі з ПРПО в 31-32 тижні вона склала – 124,48 години (L 6 – Н 637 годин) та в підгрупі з ПРПО в 33-34 тижні – 70,52 годин (L 6 – Н 313 годин) відповідно.

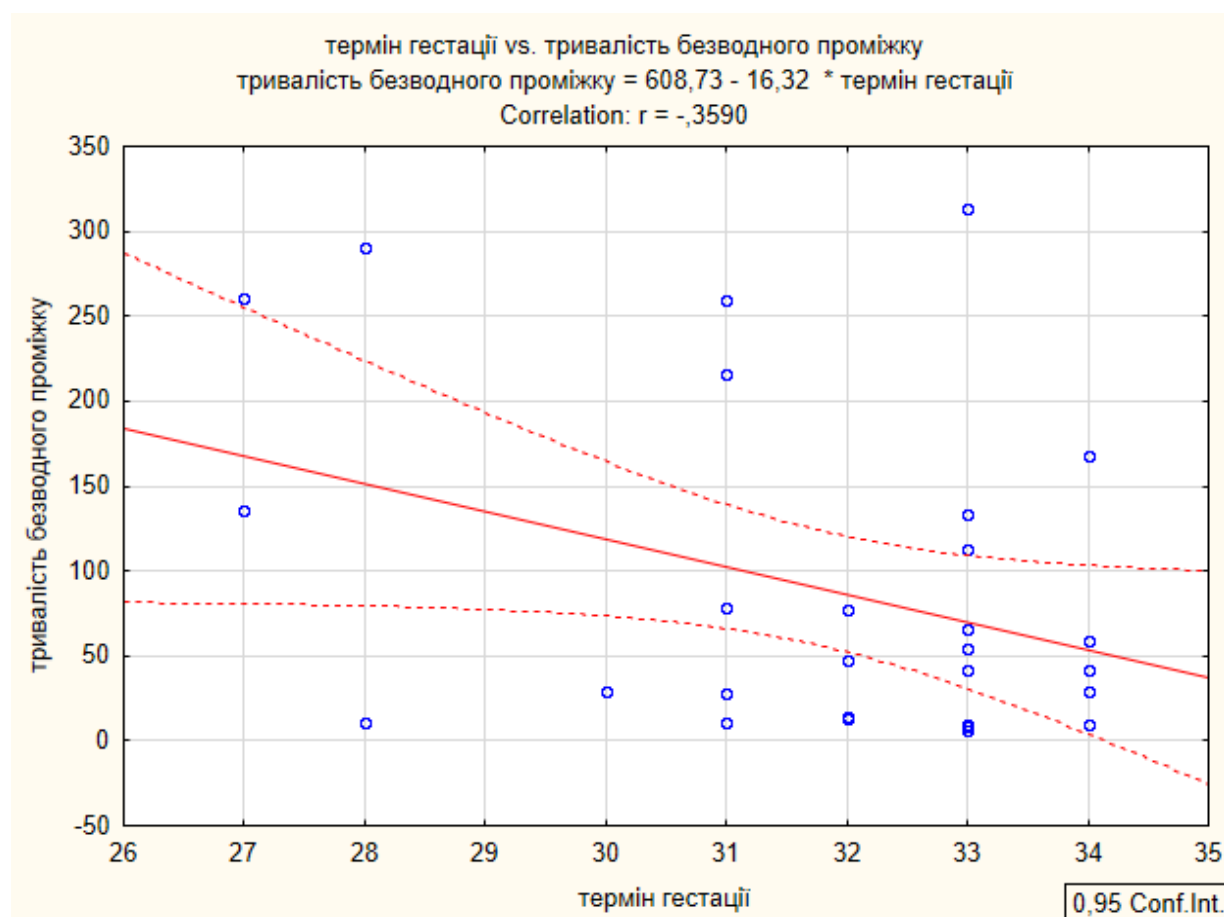


Рисунок 3.2 - Тривалість безводного проміжку (години) в залежності від терміну виникнення ПРПО при недоношеній вагітності.

Стан фетоплацентарного комплексу вагітних основної та контрольної груп дослідження оцінювали інструментальними методами за допомогою кардіотокографії (КТГ) з визначенням в динаміці показника короткої варіабельності серцевого ритму (STV), УЗД з доплерометрією матково-

плацентарно-плодового кровоплину (МППК) та дослідженням гормонального профілю ФПК (див. розділ 6).

Середня оцінка аналізу STV у плодів в терміні гестації 26-34 тижні з ПРПО склала $8,25 \pm 2,80$ мс, що відповідало критерію задовільного стану плода, в контрольній групі при фізіологічному перебігу вагітності – $8,44 \pm 3,32$ мс, отже статистично значущих відмінностей в показнику короткої варіабельності серцевого ритму плода між групами досліджуваних вагітних не було виявлено.

Аналізуючи отримані дані ультразвукового дослідження з фетометрією, визначенням індексу амніотичної рідини спостерігались відхилення у 36,25 % вагітних основної групи. У 27,58 % було виявлено маловоддя, агідрамніон, у 10,34 % затримку роста плода II-III ступенів, у 13,79 % структурні зміни плаценти, ознаки матково-плацентарної інфекції.

При проведенні доплерометрії матково-плацентарно-плодової гемодинаміки у 28,75 % пацієток основної групи були діагностовані різні ступені порушень. Відсотковий склад ступенів порушень МППК представлений на рис. 3.3. Слід зазначити, що діагностований у 8,7 % вагітних основної групи дослідження термінальний ступень порушень МППК разом з короткою варіабельністю серцевого ритму плода нижче 3,5 мс дозволив виявити ознаки дистресу плода під час вагітності, що було показанням для пологорозродження шляхом операції кесаревого розтину III категорії ургентності.

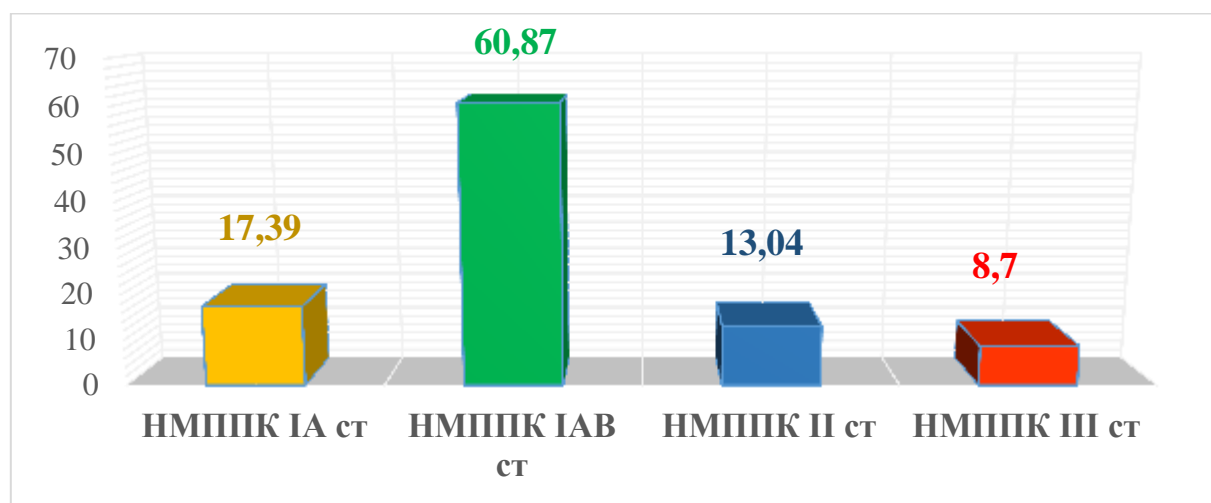


Рисунок 3.3 - Ступені порушення матково-плацентарно-плодової гемодинаміки у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності (%).

Переважає більшість (90 %) роділь основної групи та 100 % контрольної групи були пологорозроджені через природні пологові шляхи (табл. 3.2). Ускладнення в пологах спостерігались у 12,5 % пацієток основної групи, серед яких: у 2,5 % в I періоді пологів – дистрес плода, у 10 % в III періоді пологів – дефект посліду та часткове інтимне прикріплення плаценти, що потребувало виконання ручного обстеження порожнини матки та операції ручного відділення плаценти та виділення посліду. 10 % жінок з ПРПО в терміні 26-34 тижні гестації були пологорозроджені шляхом операції кесаревого розтину, структура показань до якого показана на рис. 3.4.

Таблиця 3.2 - Методи пологорозродження жінок досліджуваних груп

	Основна група n=80		Група контролю n=50	
	Абс.	%	Абс.	%
Partus per vias naturales	72	90	50	100
Пологи шляхом кесаревого розтину	8	10*	-	-

Примітка. * – вірогідна різниця між основною та контрольною групами, $p \leq 0,05$.

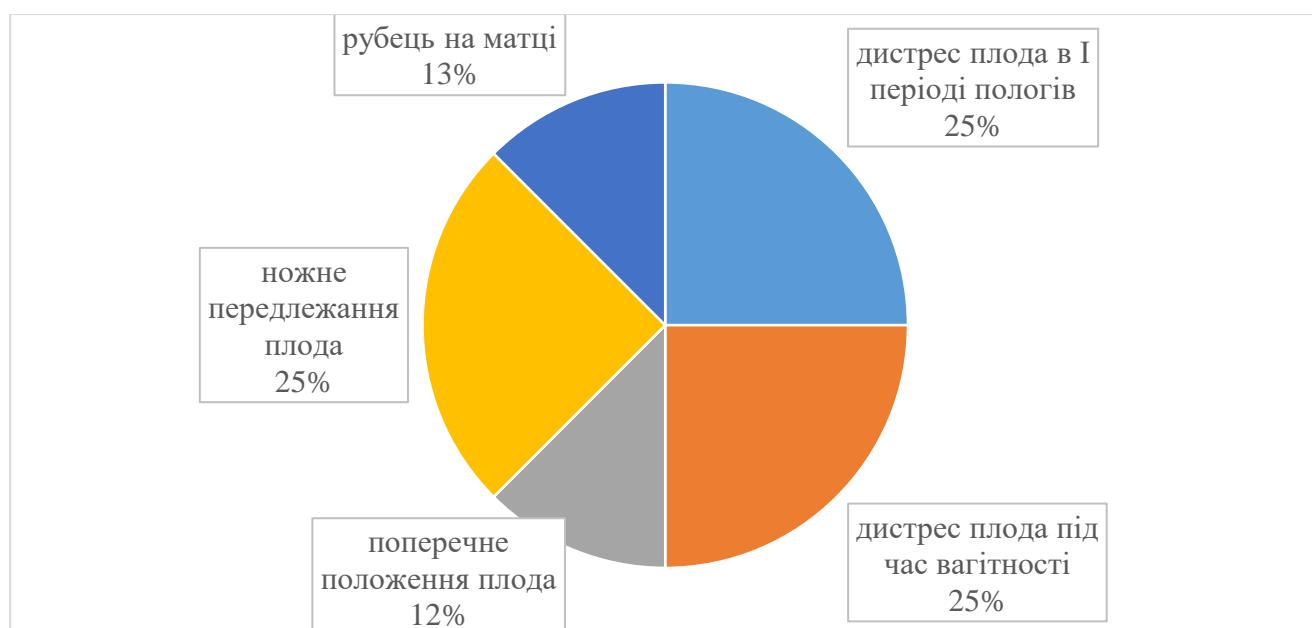


Рисунок 3.4 - Структура показань до кесаревого розтину серед пацієток основної групи (%)

З метою ретроспективної оцінки наслідків передчасних пологів в терміні 26-34 тижні на тканинному рівні наступною дослідницькою точкою дослідження було патогістологічне дослідження (ПГД) послідів (рис. 3.5). Аналіз отриманих заключень ПГД ілюструє дуже високу відсоткову частку виражених запальних змін у вигляді базального та паріетального децидуїту (73,75 %), гнійного хоріоамніодецидуїту (41,25 %), віллузиту, фунікуліту (6,25 %), що підтверджує генералізацію інфікування фето-плацентарного комплексу на тлі ПРПО при недоношеній вагітності. Серед послідів у породіль контрольної групи спостерігались лише інволютивні фізіологічні зміни, запальні зміни на місцевому рівні не були виявлені.

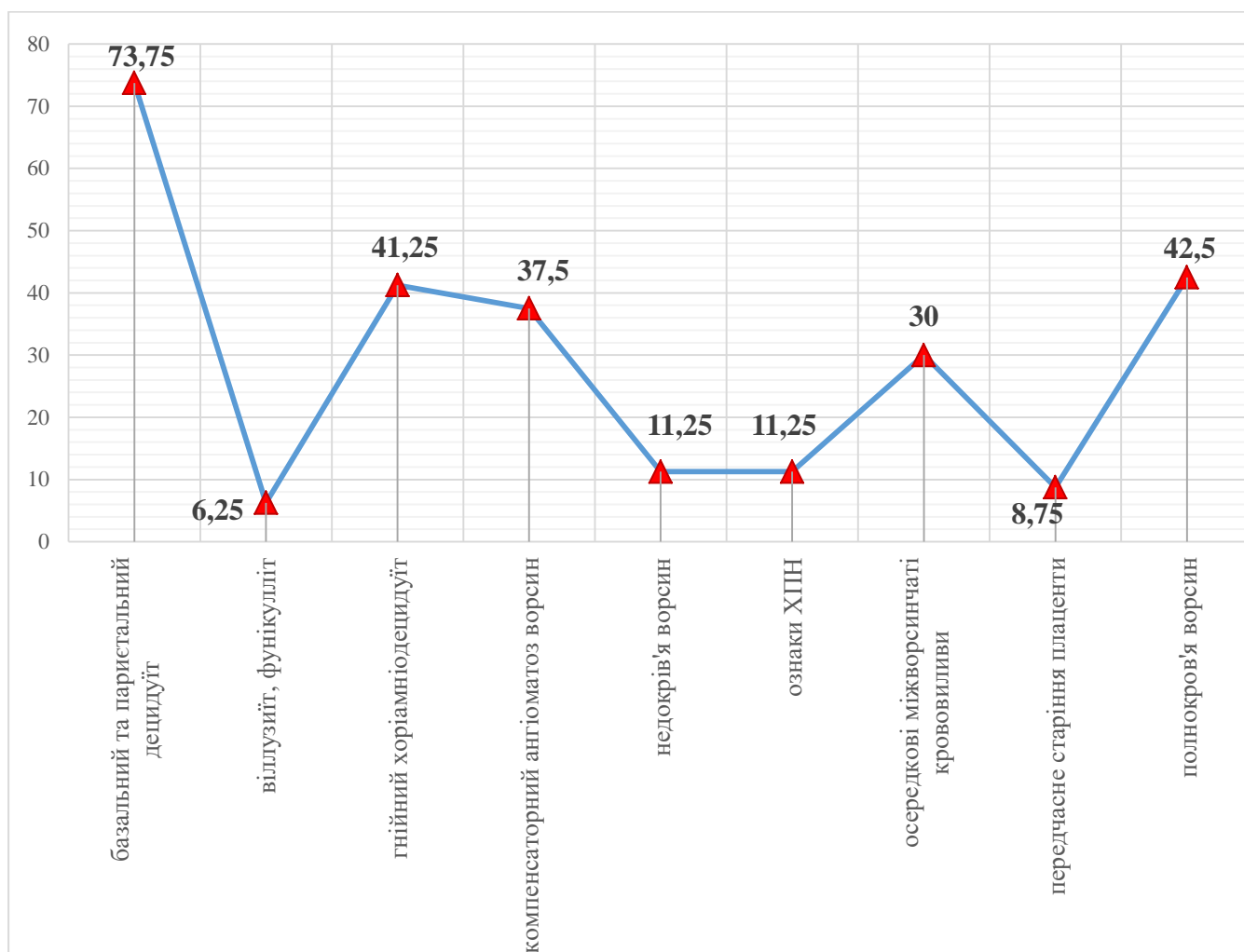


Рисунок 3.5 - Заклучення патогістологічного дослідження послідів породіль з ПРПО та передчасними пологами в термінах 26-34 тижні (%).

3.2 Перинатальні наслідки передчасних пологів в 26-34 тижні гестації, стан здоров'я дітей при народженні та в ранньому неонатальному періоді

Згідно даним таблиці 3.3, у жінок основної групи в задовільному стані (7 – 10 балів за шкалою Апгар) народився 31 малюк, з них 26 дітей від пологів per vias naturales (83,87 %) та 5 дітей, які народилися шляхом операції кесаревого розтину (16,13 %). У досліджуваній контрольній групі, враховуючи фізіологічний перебіг вагітності та пологів, відсоток малюків, які мали 7 – 10 балів за шкалою Апгар був вірогідно більшим за основну групу та склав 96 %. Більшість дітей, народжених передчасно в 26-34 тижні гестації на першій хвилині мали оцінку за шкалою Апгар від 5 до 6 балів (46,15 %) та на п'ятій хвилині 15,38 % відповідно.

Таблиця 3.3 - Оцінка стану новонароджених за шкалою Апгар на 1 та 5 хвилині життя

Оцінка за шкалою Апгар, бали	Основна група n=78		Група контролю n=50	
	Абс.	%	Абс.	%
<i>На 1^{шій} хвилині життя</i>				
1-2	1	1,28*	-	-
3-4	10	12,82*	-	-
5-6	36	46,15*	2	4
7-10	31	39,74*	48	96
<i>На 5^{шій} хвилині життя</i>				
1-2	-	-	-	-
3-4	1	1,28*	-	-
5-6	12	15,38*	-	-
7-10	65	83,33*	50	100

Примітка. * – вірогідна різниця між основною та контрольною групами, $p \leq 0,05$.

Отже, вичікувальна тактика ведення з проведенням облігатної превентивної профілактики РДС синдрому, курсом антибактеріальної терапії пеніцилінами або цефалоспоринами III генерації, ретельним спостереженням за станом матері та плода, моніторингом рівня індексів ендогенної інтоксикації є оптимальною для ПРПО при недоношеній вагітності. Вичікувальна тактика дає можливість дозріти легеням плода, що впливає на зниження показників асфіксії при народженні, перинатальну захворюваність та смертність.

На підставі антропометричних вимірювань новонароджених, результати яких представлені в таблиці 3.4, виявлена статистично значима різниця в групах дослідження ($p < 0,05$). Розподіл новонароджених в залежності від маси при народженні показує табл. 3.5. Детальний статистичний аналіз маси новонароджених основної групи демонструє рис. 3.6 та рис. 3.7. В основній групі не було дітей з затримкою росту плода та вагою менше 10 перцентилію.

Таблиця 3.4 - Антропометрія новонароджених в досліджуваних групах

Показник	Основна група n=80	Група контролю n=50
Маса при народженні, гр	1791,88±508,50	3298,80±370,70
Зріст при народженні, см	42,68±4,69	52,4±2,06

Примітка. * – вірогідна різниця між основною та контрольною групами, $p \leq 0,05$.

Таблиця 3.5 - Розподіл новонароджених в залежності від маси при народженні

Маса, гр	Основна група n=80		Група контролю n=50	
	Абс.	%	Абс.	%
500-999	6	7,50*	-	-
1000-1499	15	18,75*	-	-
1500-2499	52	65*	-	-
≥2500	7	8,75*	50	100

Примітка. * – вірогідна різниця між основною та контрольною групами, $p \leq 0,05$.

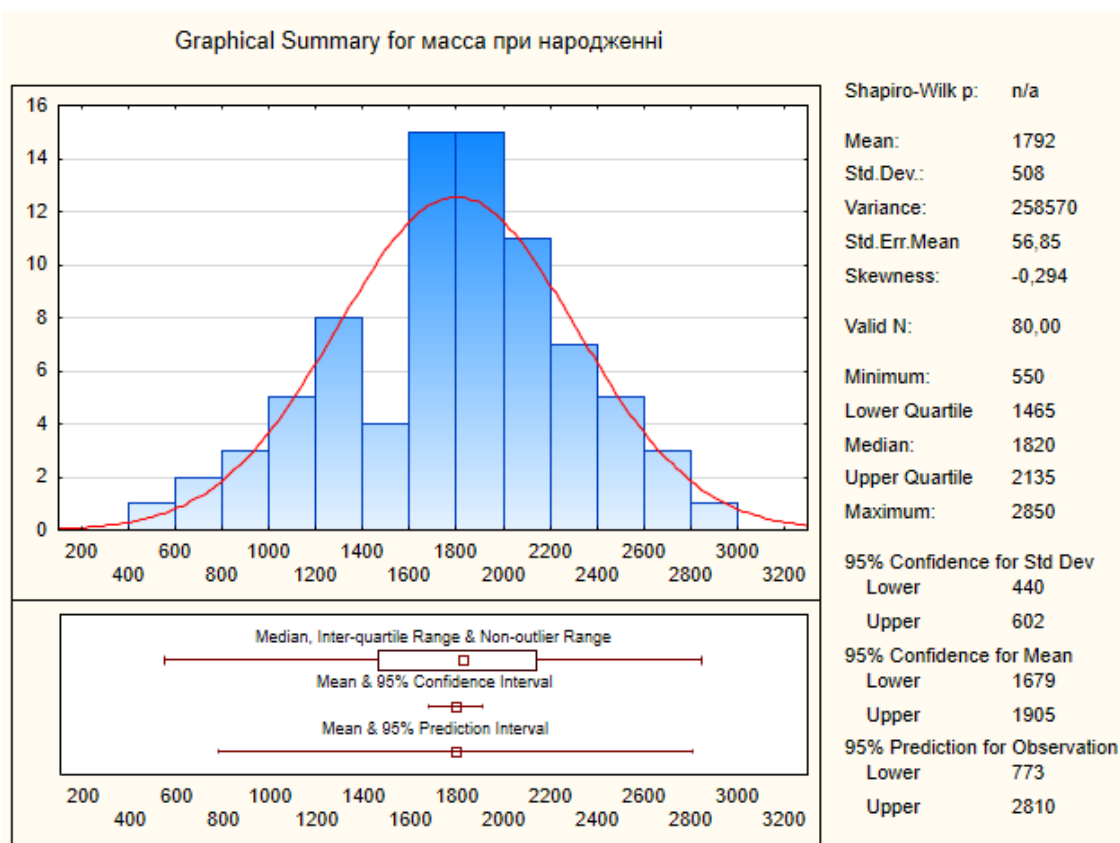


Рисунок 3.6 - Маса новонароджених основної групи.

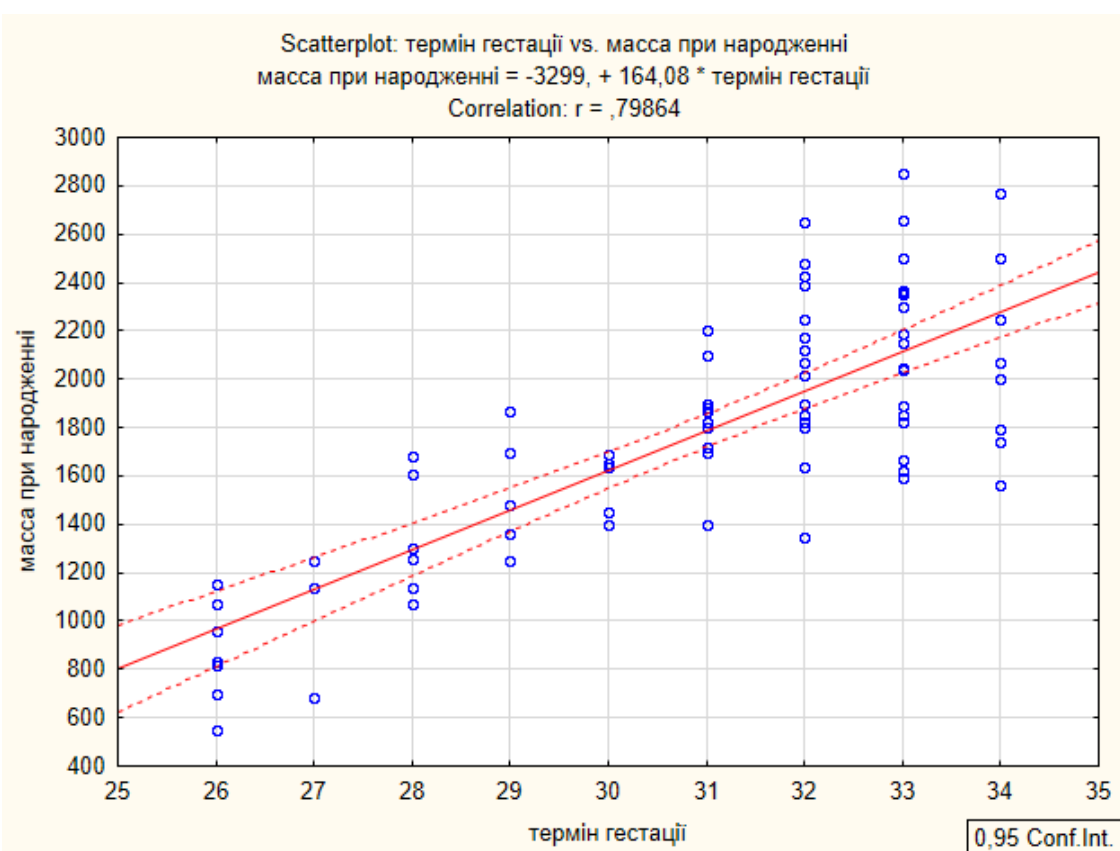


Рисунок 3.7 - Залежність маси при народженні від терміну гестації.

В основній групі народилось більше хлопчиків (46), що відповідає 57,5 % всіх новонароджених цієї групи та 34 дівчинки (42,5 %). В групі контролю: 22 хлопчики – 44 % та 28 дівчат, що склало 56 % від загальної кількості дітей цієї групи.

Проводячи аналіз перинатальної смертності в основній групі, було відмічено, що антенатальна загибель плода виникла у 2 вагітних в термінах 26 тижнів гестації, що склало 2,5 %, рання неонатальна смертність також у 2,5 % відповідно в 27 та 31 тиждень. Таким чином, рівень перинатальної смертності склав 25 %.

Нижче на рис. 3.8 представлено відсоткову структуру перинатальної захворюваності передчасно народжених дітей основної групи, де лідируючими були дихальні розлади (68,75 %), бронхо-легеневу дисплазію (БЛД) (16,25 %) в зв'язку з незрілістю легеневої тканини, гіпоксично-ішемічна енцефалопатія (ГІЕ) (80 %) з синдромом пригнічення, неонатальна жовтяниця (71,25 %). Слід звернути увагу на вплив довготривалого безводного проміжку та передчасних пологів на показники інфекційної захворюваності у вигляді внутрішньоутробної пневмонії (17,5 %) та менінгіту (3,75 %). Внутрішлюночкові (ВШК), перивентрикулярні (ПВК) та субепендімальні (СЕК) крововиливи як наслідки недоношеності мали місце у по 13,75 % відповідно.

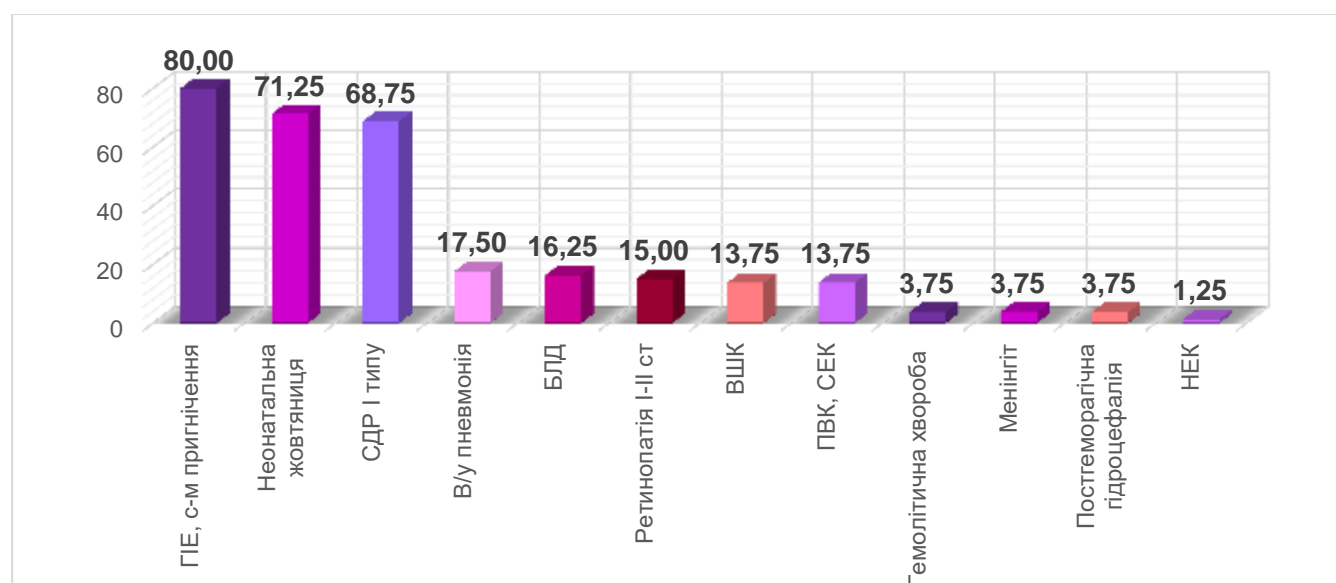


Рисунок 3.8 – Структура перинатальної захворюваності дітей, народжених в 26-34 тижні вагітності на тлі довготривалого безводного проміжку.

Наступним напрямком аналізу перинатальних наслідків ПРПО при недоношеній вагітності для передчасно народжених дітей було зіставити результати бактеріологічного дослідження піхви матері під час маніфестації ПРПО з результатами бактеріологічного дослідження калу (рис. 3.9) та зіву (рис. 3.10) новонароджених.

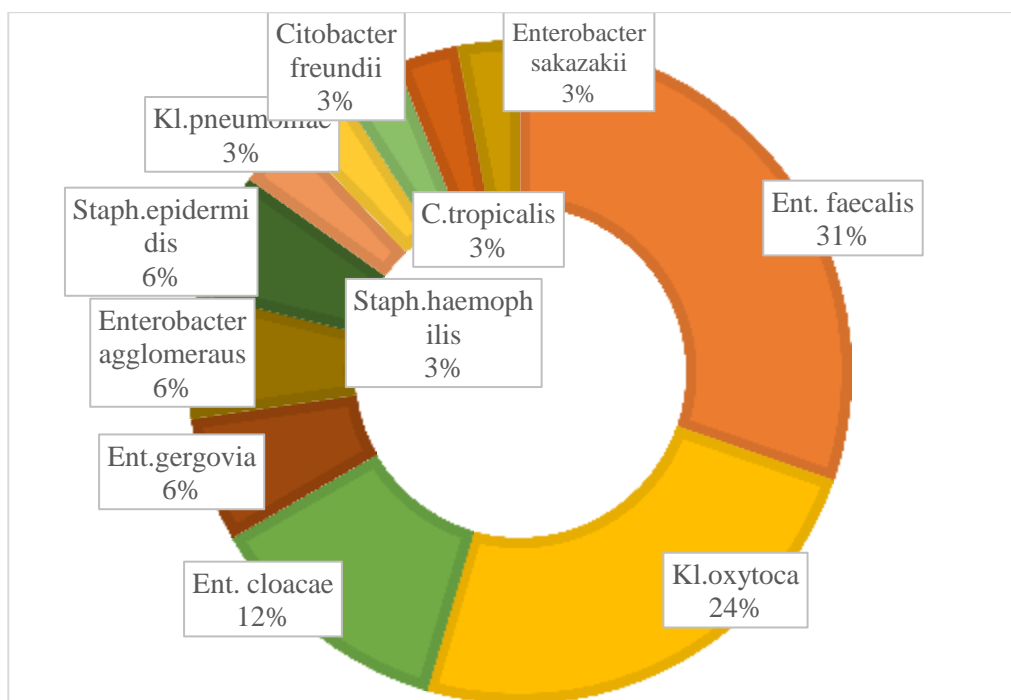


Рисунок 3.9 - Результати бактеріологічного дослідження калу новонароджених.

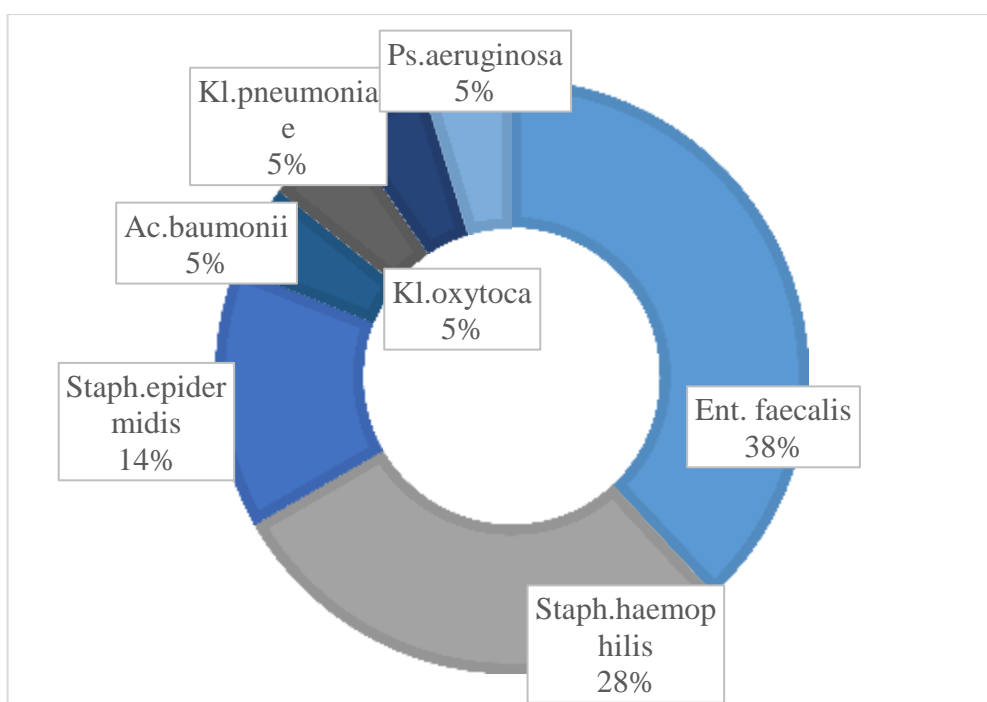


Рисунок 3.10 - Результати бактеріологічного дослідження зіву новонароджених.

Незважаючи на однакову методику бактеріологічного дослідження мікробний пейзаж матері та дитини суттєво відрізнявся, зі збільшенням видового складу мікроорганізмів у дітей в калі та зіві, що є маркером реалізації внутрішньоутробної інфекції на фоні ПРПО та довготривалого безводного проміжку.

3.3 Дані віддаленого катамнезу дітей, народжених від матерів з передчасними пологами та передчасним розривом плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні

Згідно статистики Міністерства охорони здоров'я України смертність дітей, яка обумовлена генералізованими внутрішньоутробними інфекціями, складає 18-20 %. Знаменська Т.К. в 2017 звітувала, що в Україні за 2016 рік перинатальні інфекції в структурі неонатальної смертності в акушерських стаціонарах, займали третє місце та склали – 11,38 % відповідно.

TORCH інфекції вимагають уважного ставлення не тільки неонатологів, але й акушер-гінекологів, які займаються спостереженням вагітності. Унікальність цих інфекцій визначається не лише закономірностями їх клінічного перебігу, спроможністю до довгого персистування, але й модуляцією прозапальної імунної відповіді з формуванням вторинного імунодефіцитного стану [Знаменська Т.К., 2017]. Збільшення питомої ваги TORCH інфекції серед інших перинатальних обумовлюється тяжкістю клінічної маніфестації захворювання, складністю діагностики та превентивних заходів.

Організм плода та новонародженого реагує на інфекцію з тенденцією переважання неспецифічних змін над специфічними, браком зрілого противірусного імунітету та генералізованим характером запалення. За навними поглядпами багатьох дослідників, чим менший гестаційний вік при народженні, тим значущою буде альтерація тканин разом із потенційною можливістю формування у дитини пренатальних вад розвитку. Водночас, частка інфікування найбільш значними внутрішньоутробними мікробними агентами серед жінок дітородного віку перевищує 60 %.

Враховуючи єдність біологічної системи мати-плацента-плід в реалізації внутрішньоутробного інфікування, слід відокремити материнську, плацентарну та фетальну стадії розвитку. Етапи розповсюдження патологічного процесу з уrogenітального тракту до тканин плоду виокремлюється черговістю включення в процес захисно-приспосовних систем. При цьому децидульна (материнська) стадія віддзеркалює початкову фазу інфекційної агресії, формально обмеженої пологовими шляхами вагітної жінки [116]. Характерною особливістю стадії інфікування матково-плацентарного інтерфейсу є латентний перебіг уrogenітальних інфекцій, який залежить від ефективності місцевих імуноклітинних реакцій, що також буде продемонстровано в нашому дослідженні розділі №4.

Тому наступним завданням цього дослідження було – катamnестичне спостереження за дітьми основної групи впродовж перших місяців та першого року життя, встановлення частоти та важкості перинатальної захворюваності.

Катamnестичне спостереження нажалі не вдалось провести в повному обсязі. Адже за даними кабінету катamnезу Запорізької обласної дитячої лікарні лише 30 % дітей грудного віку спостерігались у педіатрів та суміжних спеціалістів (офтальмолога, невролога, нейрохірурга, сурдолога та ін), з них лише 25 % отримували регулярне спостереження (рис. 3.11).

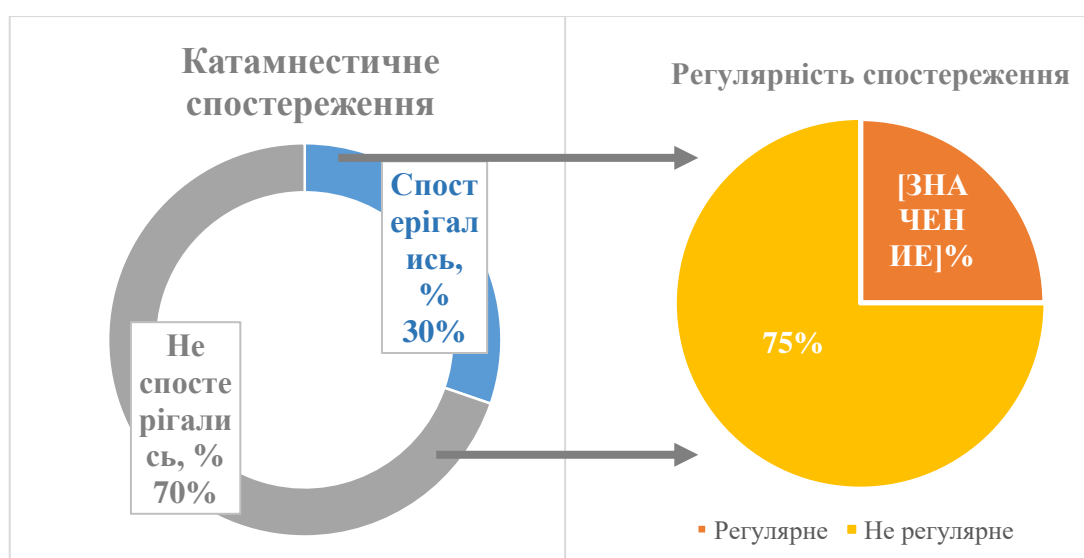


Рисунок 3.11 - Особливості катamnестичного обліку дітей основної групи дослідження.

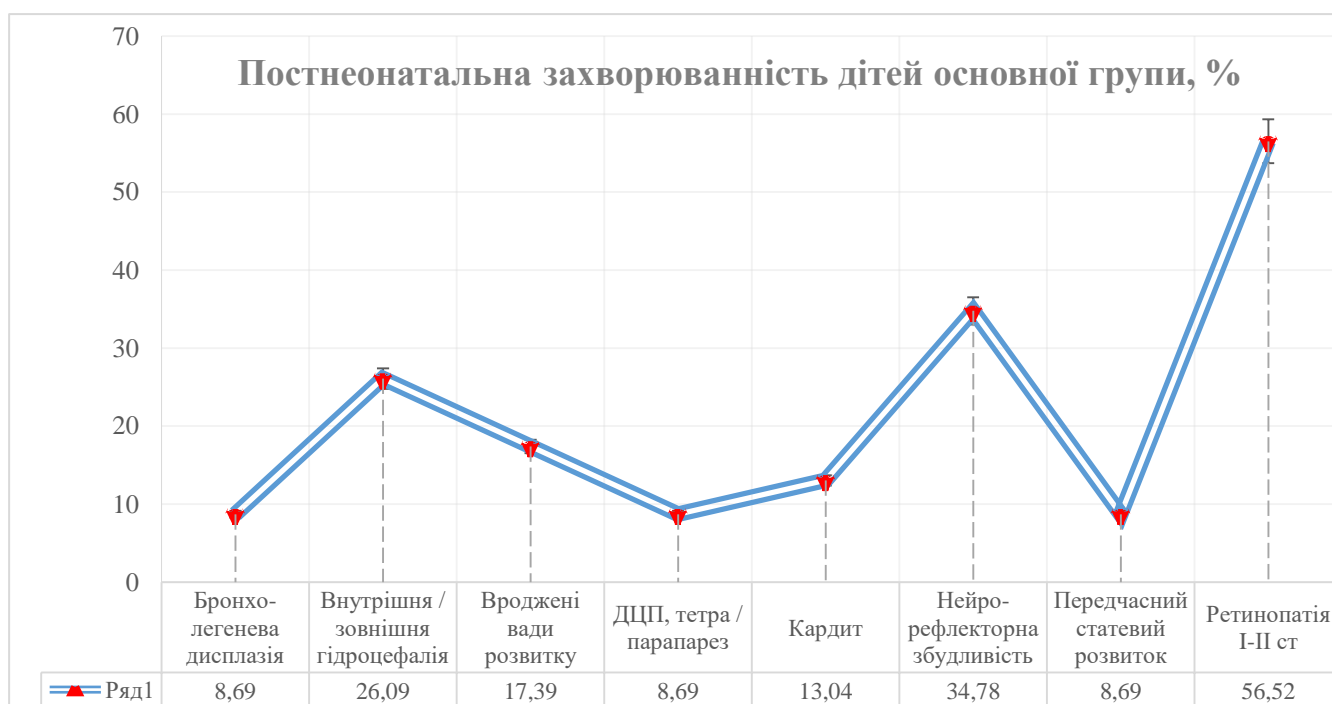


Рисунок 3.12 - Дані ближнього (6-12 місяців) та віддаленого (12-18 місяців) катамнезу дітей основної групи дослідження.

Спектр виявленої захворюваності та її відсоткові дані демонструє рис. 3.12. Найбільш частими захворюваннями були – ретинопатія I-II ступеня, нейрорефлекторна збудливість, внутрішньо-зовнішня гідроцефалія та кардит. Але для повноцінної оцінки наслідків передчасних пологів та ефективності антенатального та постанатального догляду в ближньому та віддаленому катамнезі необхідно залучення до ретельного динамічного спостереження лікарів педіатрів.

Результати даного розділу опубліковано в наукових працях:

1. Любомирська К. С. Круть Ю.Я. Роль рецепторів вродженого імунітету в патогенезі асоційованого з передчасними пологами передчасного розриву плодових оболонок. *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2019. №1(23). С.101-109.

РОЗДІЛ 4

СТАН ВРОДЖЕНОГО ТА АДАПТИВНОГО ІМУНІТЕТУ В ПАТОГЕНЕЗІ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГАХ, ІНІЦІЙОВАНИХ ПЕРЕДЧАСНИМ РОЗРИВОМ ПЛОДОВИХ ОБОЛОНОК

4.1 Роль рецепторів вродженого імунітету в патогенезі передчасного розриву плодових оболонок та передчасних пологів

Для виникнення патологічного субстрату порушення регуляції є підґрунтям для запускання різних гестаційних ускладнень. При цьому від патогенетичної структури захворювання залежить характер саногенетичних процесів, а саме яким чином та які органи охоплені патологічним процесом. Однак розуміючи, що для вивчення імуної ланки патогенезу передчасних пологів внаслідок ПРПО дослідження концентрації клітин вродженого та адаптивного імунітету в периферичній крові недостатньо, нам вдалось інтегрувати результати рівнів відносної нормалізованої кількості мРНК генів про- та протизапальної імуної відповіді в децидуальних транскриптах плаценти та амніотичних оболонок

Маючи за мету удосконалення превентивних заходів на тлі своєчасного прогнозування недошування вагітності, особливу увагу потребує оцінка відголосу організму на інфекційний процес. Одним з неінвазивних та найбільш доступних методів визначення резонування імуної системи на інфекційного агента є підрахунок індексів лейкоцитарних інтоксикації (ЛІ) [32; 24; 119]. Але, здійснений інформаційний пошук серед наукових досліджень останніх років свідчить про недостатнє висвітлення вірогідності ЛІ при прогнозуванні передчасних пологів, що робить доцільним вивчення їх діагностичних можливостей при даному ускладненні гестації.

Таким чином, для з'ясування імунологічних аспектів недоношування вагітності важливим напрямом сучасних досліджень є обґрунтування ролі вродженої та адаптивної ланок імунітету при передчасних пологах внаслідок передчасного розриву плодових оболонок.

В плацентах породіль з індукованими ПРПО передчасними пологами були встановлені наступні значення показників транскрипційної активності мРНК гена TLR2– 0,79–163,44 (медіана – 31,06), разом з тим в плодових оболонках – 1,1–126,06 (медіана – 10,22). Між іншим, діапазон експресії мРНК гена TLR4 у плаценті був нижчим за TLR2 та склав відповідно 0,39–43,85 (медіана – 7,74) та на противагу вищим в плодових оболонках – 0,18–216,01 (медіана – 40,04). Аналізуючи структуру розподілу значень відносної нормалізованої експресії в залежності від терміну маніфестації ПРПО, вдалось зафіксувати у 53,53 раза більший у порівнянні з практично здоровими жінками рівень експресії TLR4 в плодових оболонках в 33–34 тижні виникнення ПРПО, у 24,77 раза – в 31–32 тижні відповідно.

Коливання діапазонів значень нижчих від медіани (0,79-23,86), які відображали помірно виражене зростання у порівнянні з групою в цілому, спостерігалися у 19 зразках тканини плаценти, що становило 70,37 % спостережень. Значення рівня експресії вищі від медіани (35,06-163,44), які демонстрували найбільші відхилення від контролю, спостерігалися у 29,63 % усіх досліджуваних зразків тканини плаценти. В тканині плодових оболонок найбільші відхилення від контролю були виявлені у 11,11 % зразків (експресія вище медіани 27,46-126,06). Таким чином, збільшення відносної нормалізованої експресії (окрім пограничних значень) TLR2 виявлені у 96,3 % випадків усієї вибірки, з переважанням значних відхилень ($p < 0,001$).

При аналізі експресії гена TLR2 в залежності від терміну маніфестації ПРПО встановлено, що її мінімальні значення 3,27 (2,32-5,49) спостерігались в плодових оболонках в терміні гестації 26-30 тижнів, тимчасом як максимальне значення – 46,31 (0,79-163,44) в плацентарній тканині також в 26-30 тижнів (табл. 4.1). В плодових оболонках ми визначили в 15,61 разів вищу в порівнянні з групою контролю експресію м-РНК TLR2 в 33-34 тижні вагітності та 5,99 разів в 31-32 тижні відповідно. Така широка амплітуда коливань свідчить про те, що у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності рівень запальних процесів у тканині варіює у широких межах. Але варто відзначити, що незалежно від терміну

виникнення ПРПО при недоношеній вагітності середній рівень мРНК TLR2 був вищим в плаценті, а експресія TLR4 навпаки була вірогідно вищою в плодових оболонках ($p < 0,05$).

Особливості транскрипційної активності генів TLR2 та TLR4 на місцевому рівні представлені на рис. 4.1, рис. 4.2, рис. 4.3 та рис. 4.4.

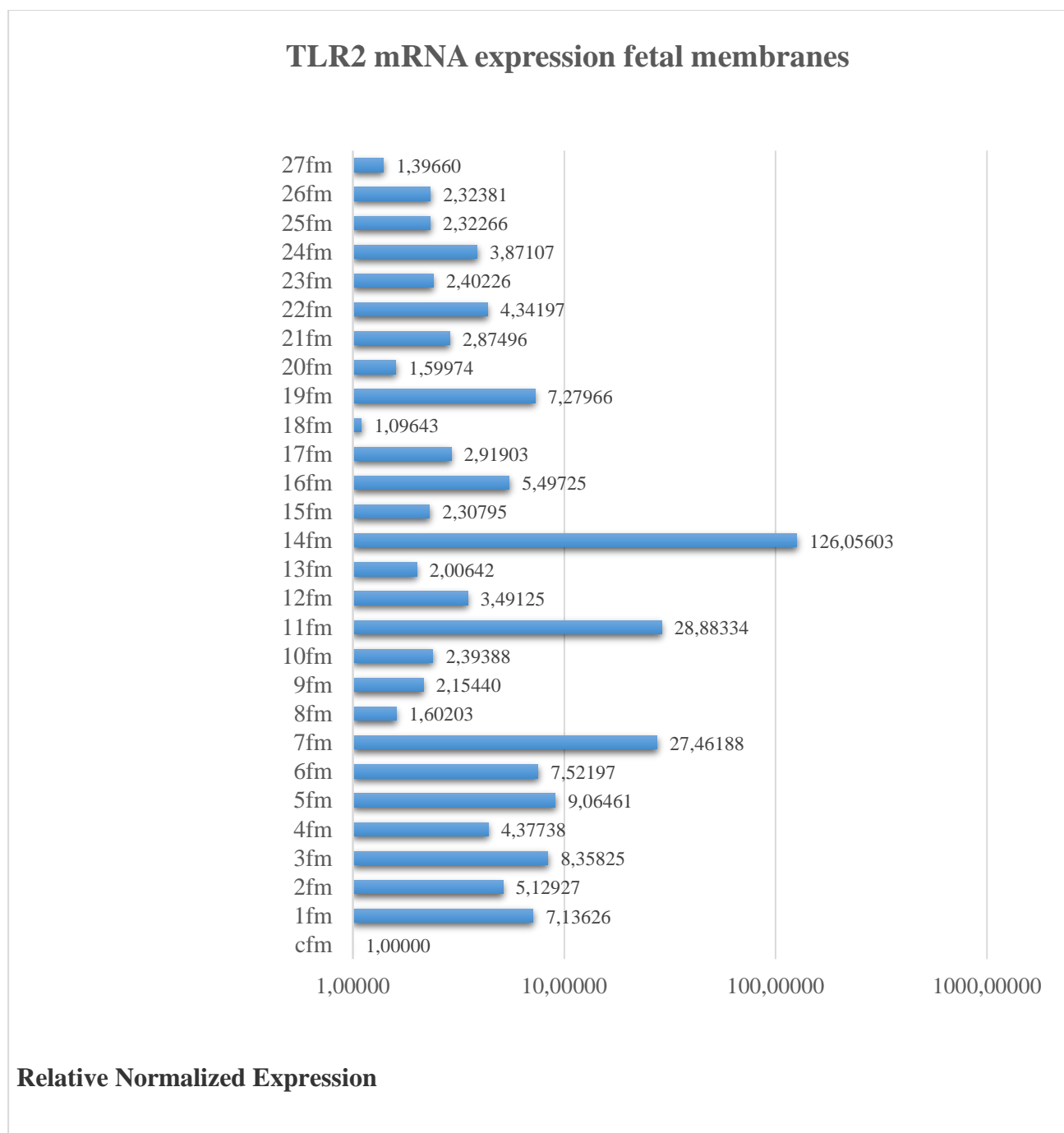


Рисунок 4.1 - Відносна нормалізована експресія mRNA TLR2 в плодових оболонках у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності (fold-change, нормалізація за методом $\Delta\Delta C_t$ з референс-геном GAPDH).

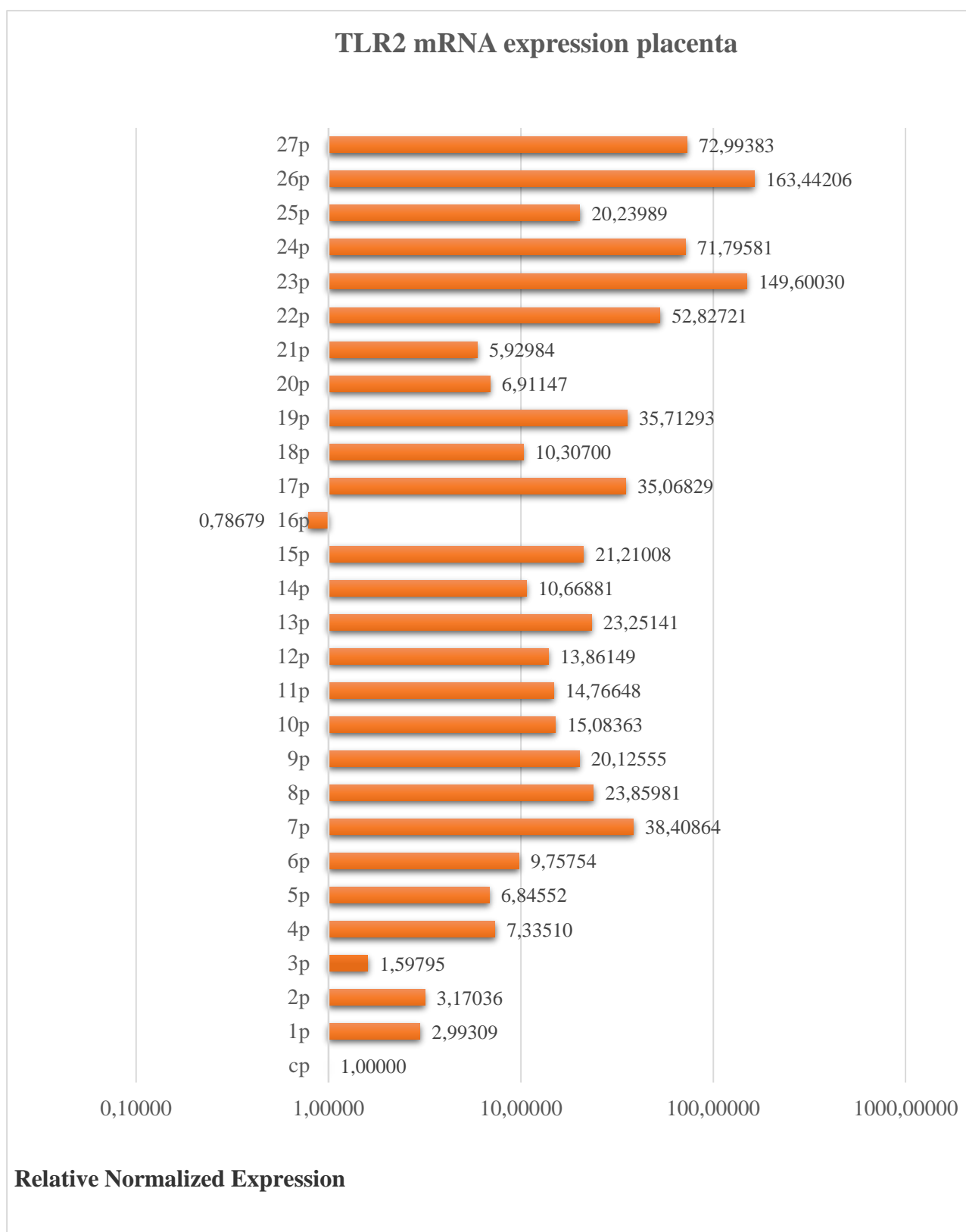


Рисунок 4.2 - Відносна нормалізована експресія mRNA TLR2 в плаценті у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності (fold-change, нормалізація за методом $\Delta\Delta C_t$ з референс-геном GAPDH)

Таблиця 4.1 - Транскрипційний профіль генів вродженого імунітету в клітинах плаценти та плодових оболонках в залежності від терміну виникнення передчасного розриву плодових оболонок (Mean (L-H))

Локалізація	26-34 тижні N=27	26-30 тижнів n=4	31-32 тижні n=10	33-34 тижні n=13
<i>TLR2</i> плацента	31,06 (0,79-163,44)	46,31 (0,79-163,44)	37,74 (6,91-149,60)	21,22 (1,59-52,83)
<i>TLR2</i> плодові оболонки	10,22 (1,1-126,06)*	3,27 (2,32-5,49)*	5,99 (1,1-28,88)*	15,61 (1,39-126,06)*
<i>TLR4</i> плацента	7,74 (0,39-43,85)	11,09 (1,82-26,43)	3,08 (0,40-6,30)	10,00 (0,39-43,85)
<i>TLR4</i> плодові оболонки	40,04 (0,18-216,01)*	34,38 (0,69-133,4)*	24,77 (0,53-152,97)*	53,53 (0,18-216,01)*

Примітка. * – статистично значущі відмінності $p < 0,05$ (Mann-Whitney U test) в порівнянні з рівнем експресії досліджуваного TLR в плаценті.

Розмах всіх отриманих значень відносної нормалізованої експресії мРНК (табл. 4.1) гена *TLR4* був нижчим ніж *TLR2* в плаценті становив 0,39-43,85 (медіана – 7,74) та вищим в плодових оболонках – 0,18-216,01 (медіана – 40,04). Значення, пограничні з даними контрольної групи, ($>1 < 1,15$) реєструвалися у чотирьох зразках тканини плаценти та тринадцяти зразках плодових оболонок, що загалом становило 33,33 %. Коливання діапазонів значень вищих від медіани, які відображали дуже виражене зростання у порівнянні з групою в цілому, спостерігалися у 8 зразках плодових оболонок, що становило 29,63 % спостережень. В тканині плаценти найбільші відхилення від контролю були виявлені у 16,67 % зразків (експресія вище медіани 9,58-43,85).

Механізми протизапальної медіації через активацію *TLR2* та *TLR4* можуть бути причиною розвитку ПРПО в 26-34 тижні гестації та розглядаються як можливі індуктори прогресування захворювання. При аналізі експресії гена *TLR4* нами були визначені певні особливості у вигляді суттєвого зростання показника в плодових оболонках в порівнянні з плацентарною тканиною. В 33-34 тижні виникнення ПРПО рівень експресії *TLR4* в плодових оболонках був в 53,53 разів

більше в порівнянні зі практично здоровими жінками з фізіологічним перебігом вагітності та пологів, в 31-32 тижні – 24,77 разів відповідно.

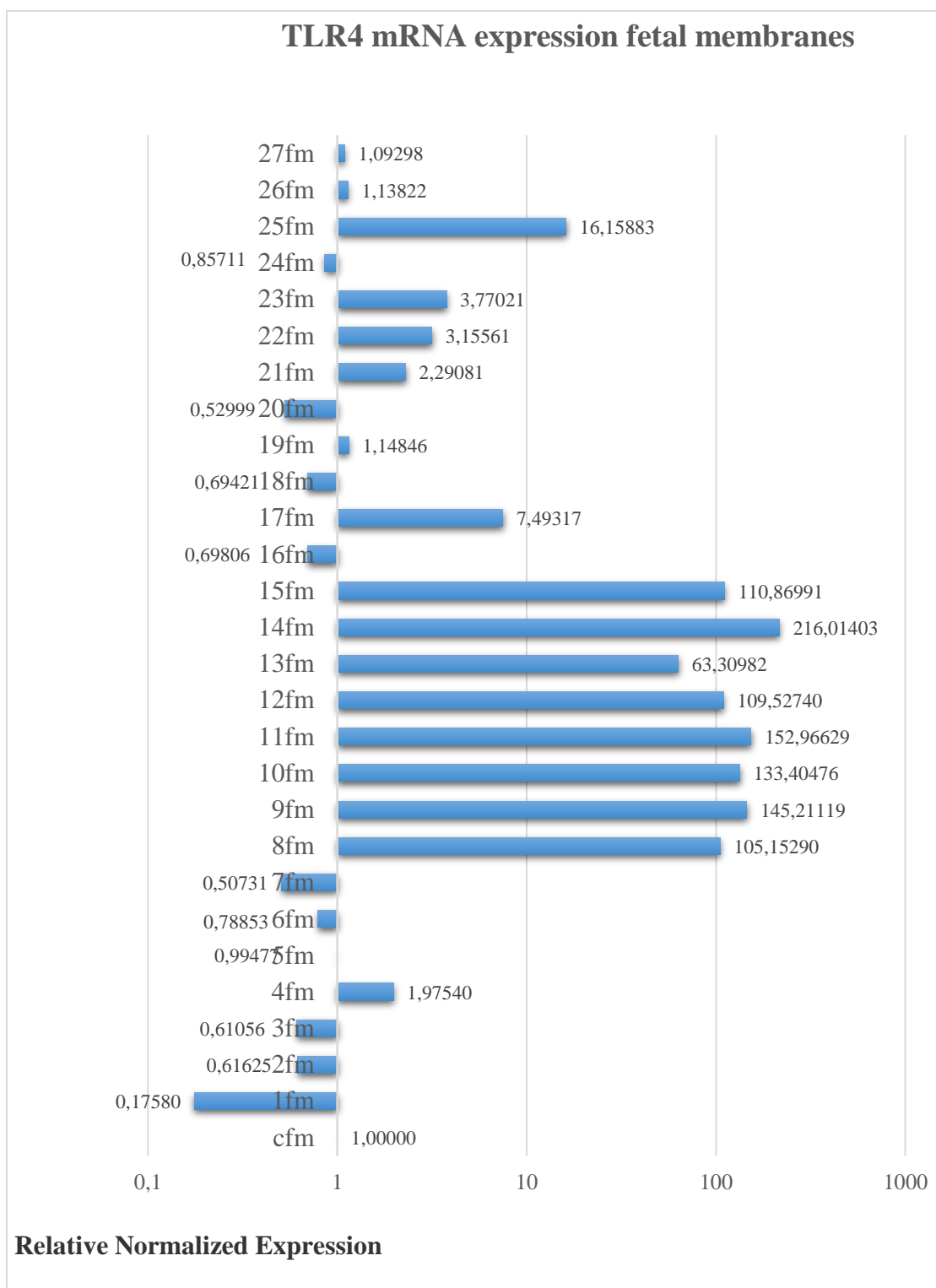


Рисунок 4.3 - Відносна нормалізована експресія mRNA TLR4 в плодових оболонках у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності (fold-change, нормалізація за методом $\Delta\Delta C_t$ з референс-геном GAPDH).

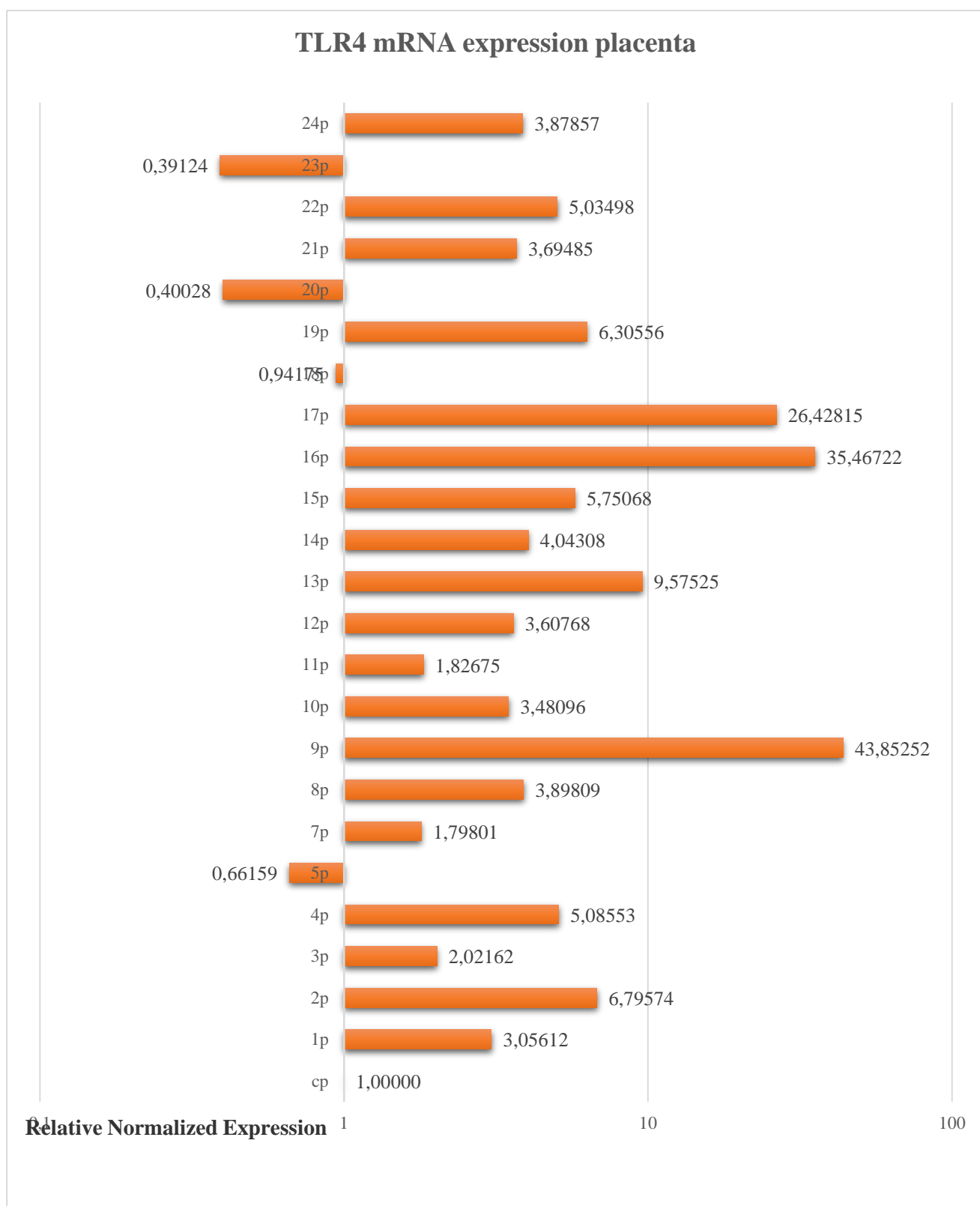


Рисунок 4.4 - Відносна нормалізована експресія mRNA TLR4 в плаценті у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності (fold-change, нормалізація за методом $\Delta\Delta Ct$ з референс-геном GAPDH).

4.2 Роль рецепторів адаптивного імунітету в патогенезі передчасного розриву плодових оболонок та передчасних пологів

Для виділення ключових імуноопосередкованих ланок розвитку ПРПО при недоношеній вагітності наступною дослідницькою точкою було визначення експресії компонентів адаптивного імунітету, а саме визначення відносного рівня м-РНК прозапальних цитокінів IL1 β та IL17A на місцевому рівні окремо в плаценті та плодових оболонках. Експресія системного прозапального цитокіну IL1 β в плаценті та плодових оболонках представлена на рис. 4.5 та рис. 4.6.

Про напруженість та гіперактивність прозапальної імунної відповіді на місцевому рівні при ПРПО при недоношеній вагітності свідчить дуже високий рівень експресії IL1 β з порівняннi з групою контролю. Резюмуючи отримані дані по активності IL1 β , відносна нормалізована кількість мРНК даного гена в плаценті у вагітних з ПРПО по відношенню до контролю склала 25,08 \pm 50,1, в плодових оболонках – 23,83 \pm 29,71.

Подібна тенденція високої експресії спостерігалась по іншому цитокіну IL17A. Рис. 4.7 та рис. 4.8 демонструють у скільки разів в порівняннi з групою здорових вагітних була більшою активність дослідженого гена прозапальної ланки імунної відповіді в плодових оболонках та меншій мірі в плаценті. Кількість мРНК гена IL17A в плаценті у вагітних з ПРПО по відношенню до контролю склала 5,69 \pm 11,27, в плодових оболонках – 19,31 \pm 25,47.

В проведеному нами дослідженні було встановлено, що у жінок з ПРПО та передчасними пологами в 26-34 тижні гестації відмічається виражене підвищення транскрипційної активності IL1 β та IL-17A у тканині плаценти та плодових оболонок. Рівень відносної нормалізованої експресії мРНК гена IL1 β в плаценті був в діапазоні 1,43-227,93 (медіана – 25,08), в плодових оболонках – 1,23-139,24 (медіана – 23,83) [171-172]. У 82,14 % спостережень зразків плаценти спостерігались коливання значень нижчих від медіани (1,42-23,1), тобто помірно виражене зростання у порівняннi з групою в цілому експресії прозапальних IL1 β та IL-17A. У 17,86 % усіх досліджуваних зразках тканини плаценти

спостерігалися найвищі від медіани та контролю значення рівня експресії (37,68-227,93) [171-172]. В плодових оболонках вдалось зафіксувати найбільші відхилення від контролю у 32,14 % зразків (експресія вище медіани 28,82-139,24). Таким чином, в нашому дослідженні в 96,43 % випадків усієї вибірки було зафіксовано достеменне збільшення (окрім пограничних значень) відносної нормалізованої експресії IL1 β на місцевому рівні у жінок з ПРПО в терміні 26-34 тижні [171-172].

В плаценті діапазон всіх отриманих значень відносної нормалізованої експресії мРНК гена IL-17A був меншим ніж IL1 β та становив 1,15-62,76 (медіана – 5,69), разом з тим в плодових оболонках – 1,63-130,67 (медіана – 19,31). Пограничні з даними контрольної групи значення ($>1 <1,15$) реєструвалися у трьох зразках тканини плаценти та одному зразку плодових оболонок, що становило 6,89 %. У 31,03 % зразків плодових оболонок спостерігались значення експресії вищі від медіани, які відображали дуже виражене зростання у порівнянні з групою в цілому. У 13,79 % зразків тканині плаценти були виявлені найбільші відхилення від контролю (експресія вище медіани 5,73-62,76).

Причиною розвитку ПРПО в терміні недоношеної вагітності та можливим індуктором прогресування захворювання є прозапальна медіація через активацію IL-1 β та IL-17A. При аналізі експресії гена IL17A нами були визначені певні особливості у вигляді суттєвого зростання показника в плодових оболонках в порівнянні з плацентарною тканиною. В 28-30 тижнів виникнення ПРПО рівень експресії IL17A в плодових оболонках був в 24,55 разів більше в порівнянні зі практично здоровими жінками з фізіологічним перебігом вагітності та пологів, в 31-32 тижні – 22,87 разів відповідно.

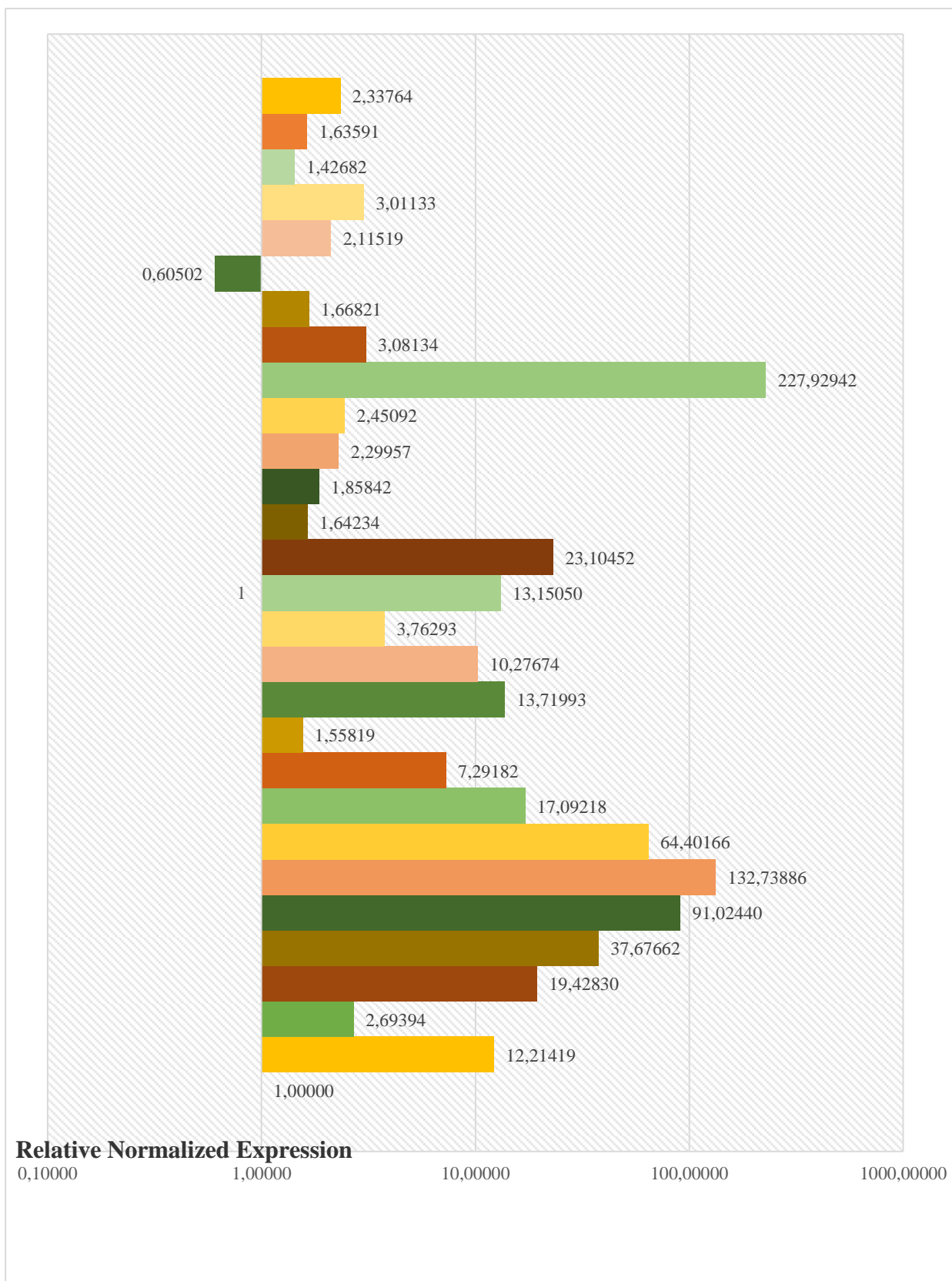


Рисунок 4.5 - Експресія mRNA прозапального цитокіну IL 1 β в плаценті у вагітних з передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності(нормалізація за методом $\Delta\Delta C_t$ з референс-геном GAPDH).

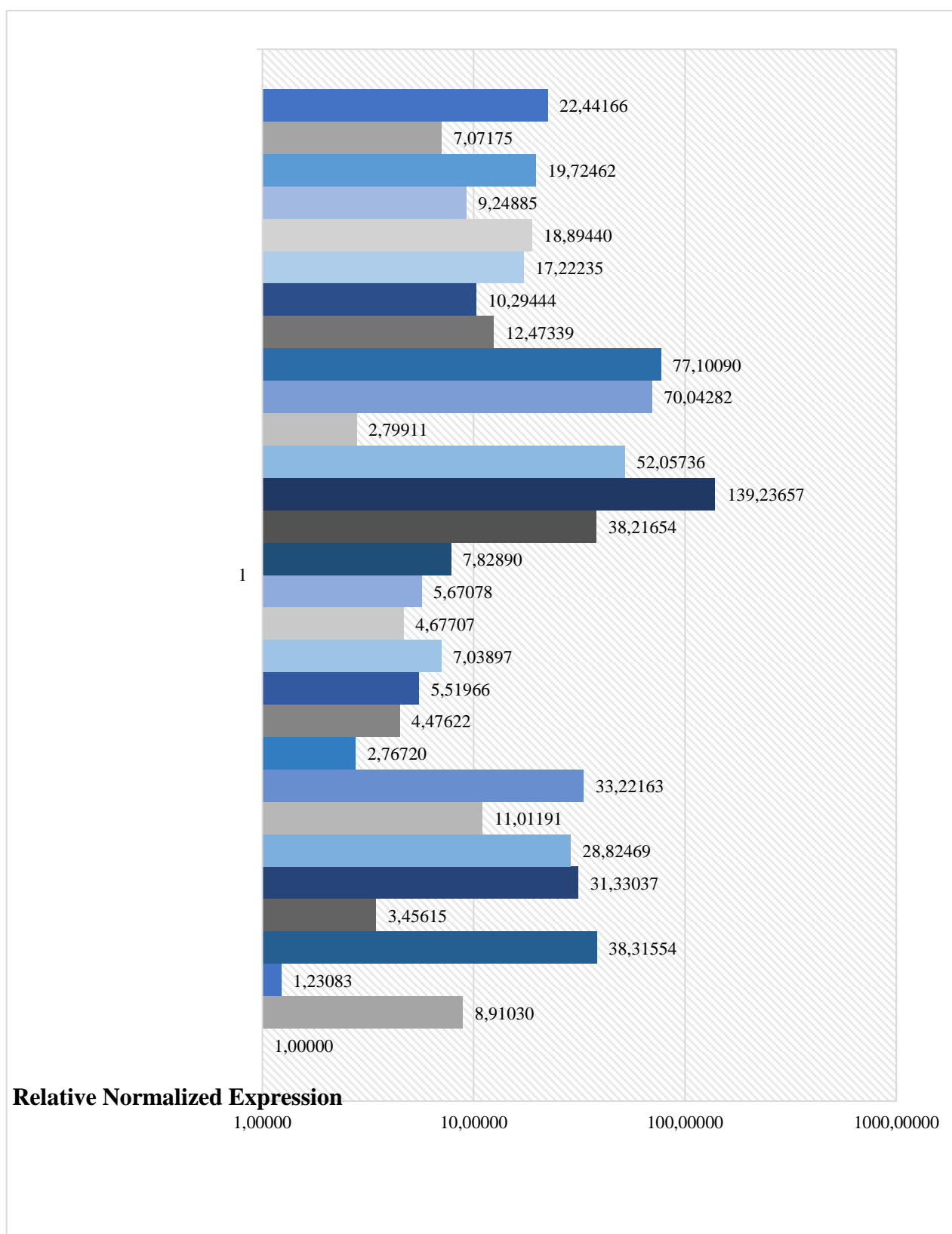


Рисунок 4.6 - Експресія mRNA прозапального цитокіну IL 1 β в плодових оболонках у вагітних з передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності

(нормалізація за методом $\Delta\Delta C_t$ з референс-геном GAPDH)

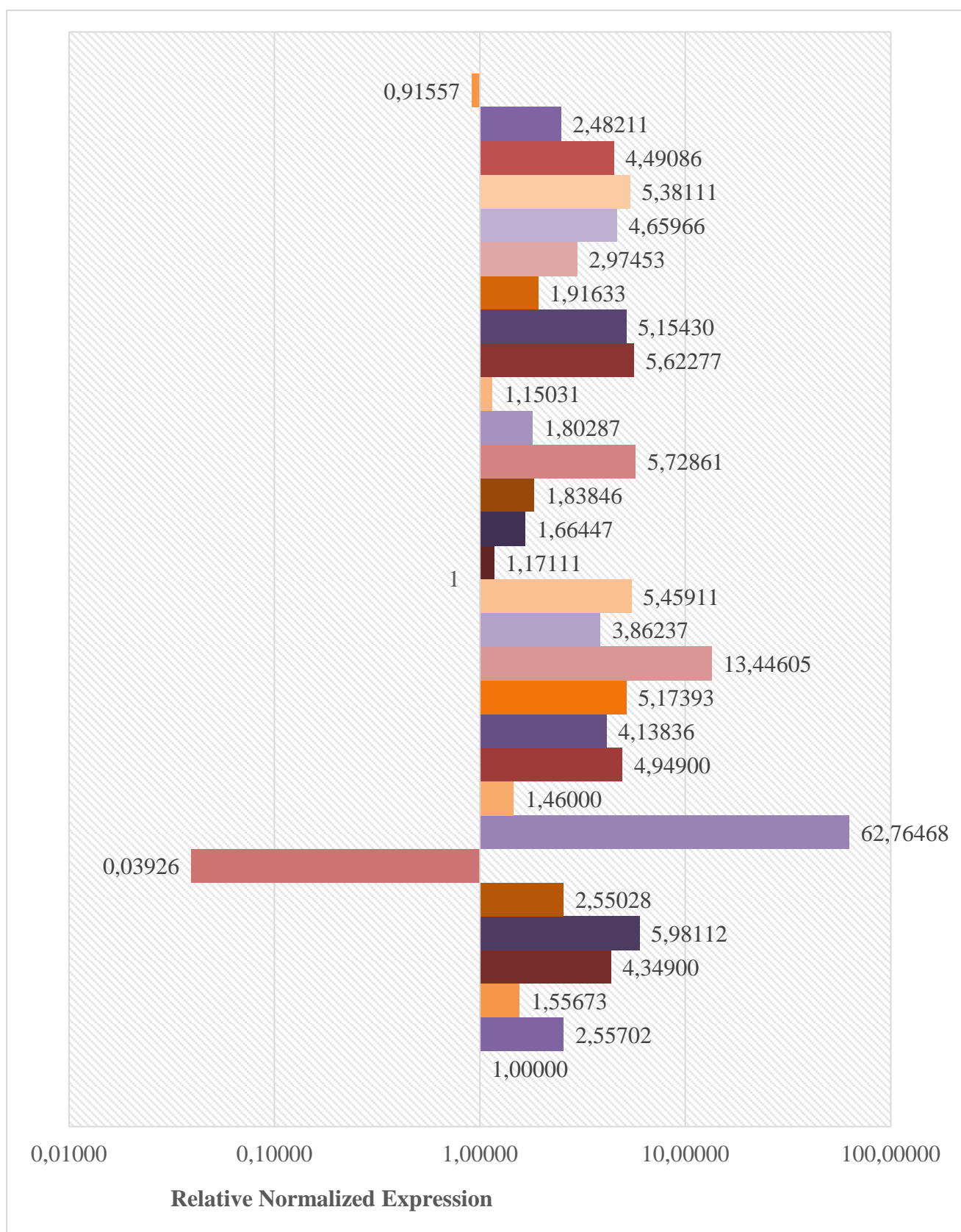


Рисунок 4.7 - Експресія mRNA прозапального цитокіну IL17Aв плаценті у вагітних з передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності (нормалізація за методом $\Delta\Delta C_t$ з референс-геном GAPDH)

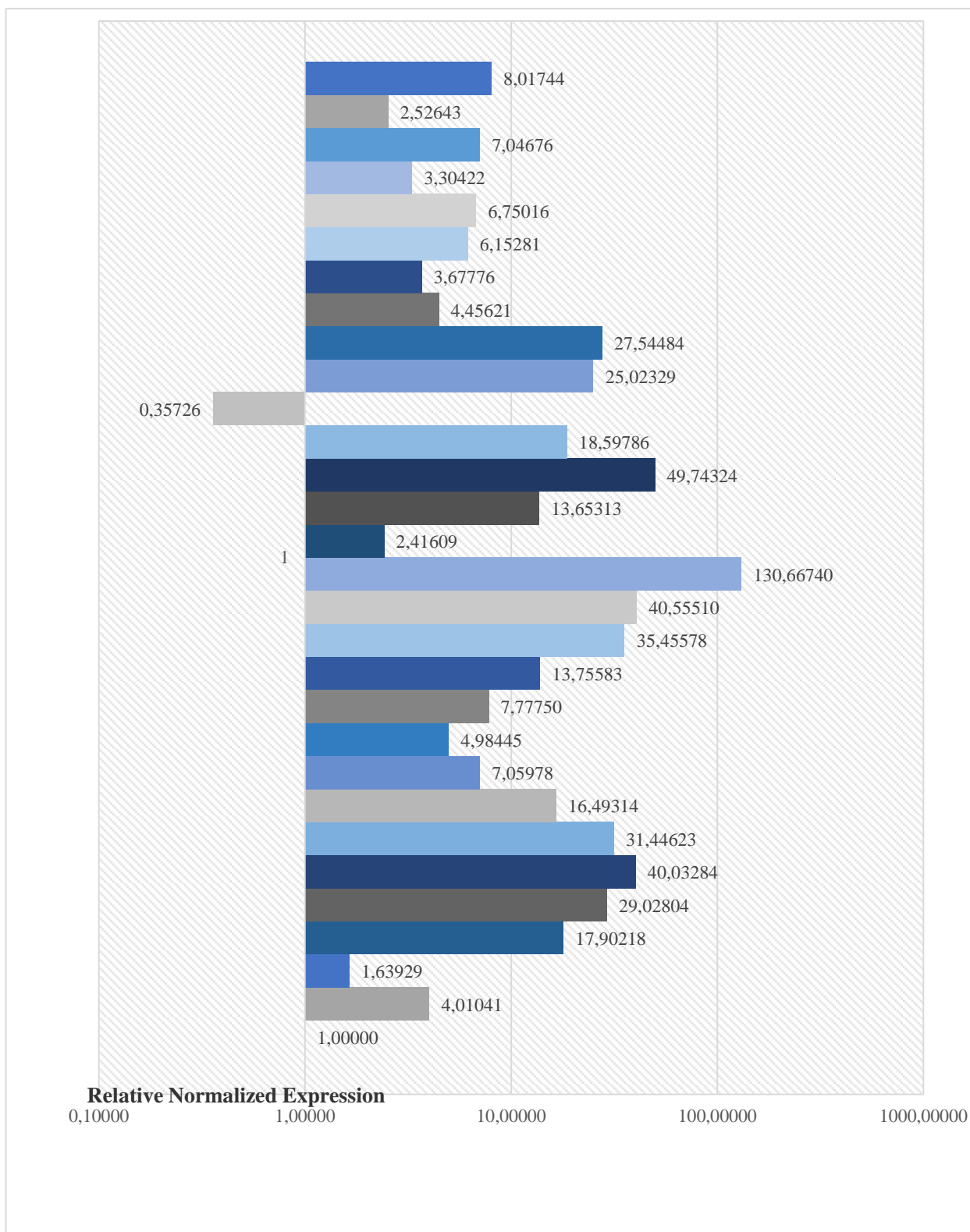
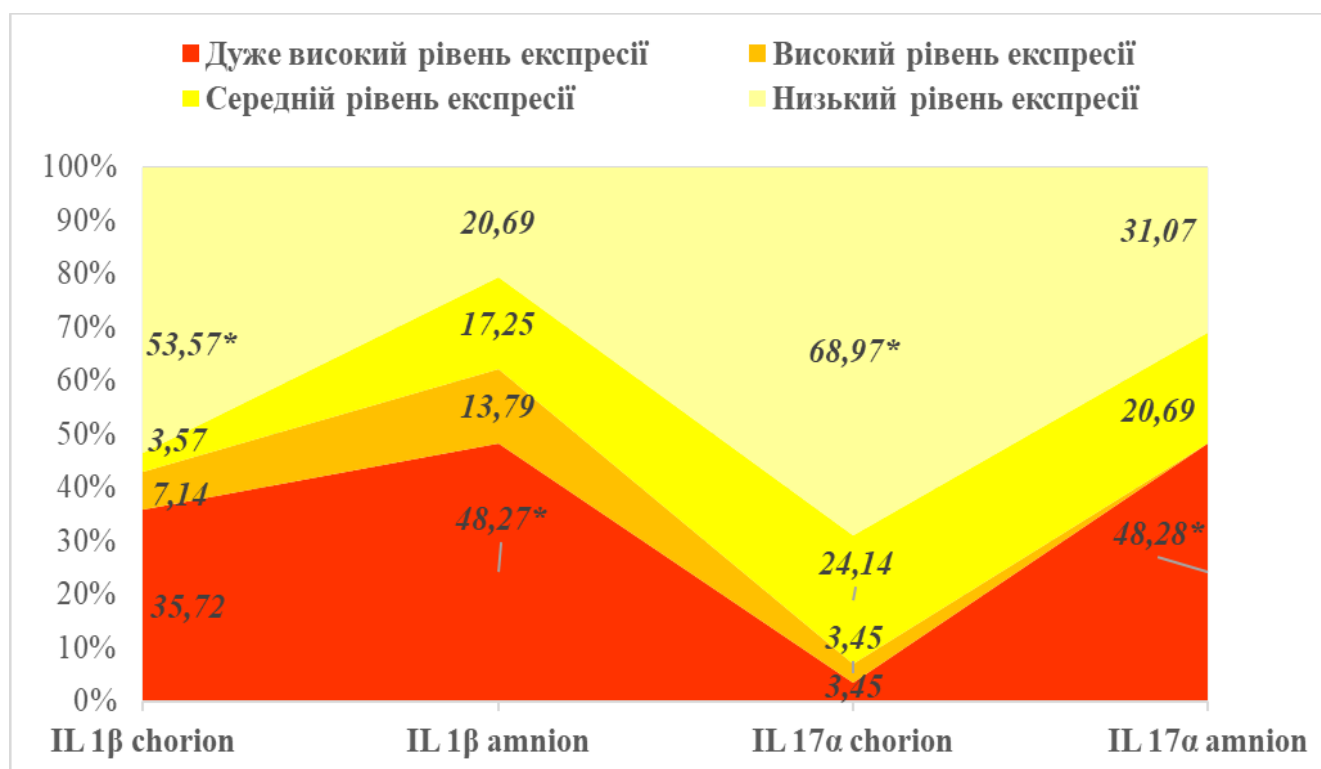


Рисунок 4.8 - Експресія mRNA прозапального цитокіну IL17A в плодкових оболонках у вагітних з передчасним розривом плодкових оболонок при недоношеній вагітності (нормалізація за методом $\Delta\Delta C_t$ з референс-геном GAPDH).

Абсолютний рівень експресії м-РНК генів імунної відповіді був різним, що сприяло необхідності визначенню середньостатистичного транскрипційного профілю по кількості м-РНК в біологічному матеріалі. Усі гени можуть бути умовно поділені на 4 групи: з дуже високим рівнем експресії, високим, середнім та низьким рівнем. Обговорюючи постульовані на рис. 4.9 відсотки вагітних з певним рівнем активності зазначених генів, слід зазначити, що частка вагітних з дуже високим рівнем експресії (48,27 %, $p < 0,05$) прозапальних цитокінів IL1 β та IL17A була саме в плодових оболонках. Аналогічні тенденції (рис. 4.10) спостерігались по транскрипційним регуляторів диференціювання Т-лімфоцитів T-bet (Th1), RAR-related orphan receptor gamma γ – ROR γ t (Th17) і forkhead box P3 – Foxp3 (Treg). Це відображає патогенез запальних та деструктивних реакцій в плодових оболонках у жінок з ПРПО при недоношеній вагітності.



Примітка. * – статистично значимі відмінності $p < 0,05$ в порівнянні з дуже низьким рівнем експресії; ** – статистично значимі відмінності $p < 0,05$ в порівнянні з дуже високим рівнем експресії.

Рисунок 4.9 - Особливості експресії м-РНК прозапальних цитокінів в клітинах плаценти та плодових оболонках(% вагітних).

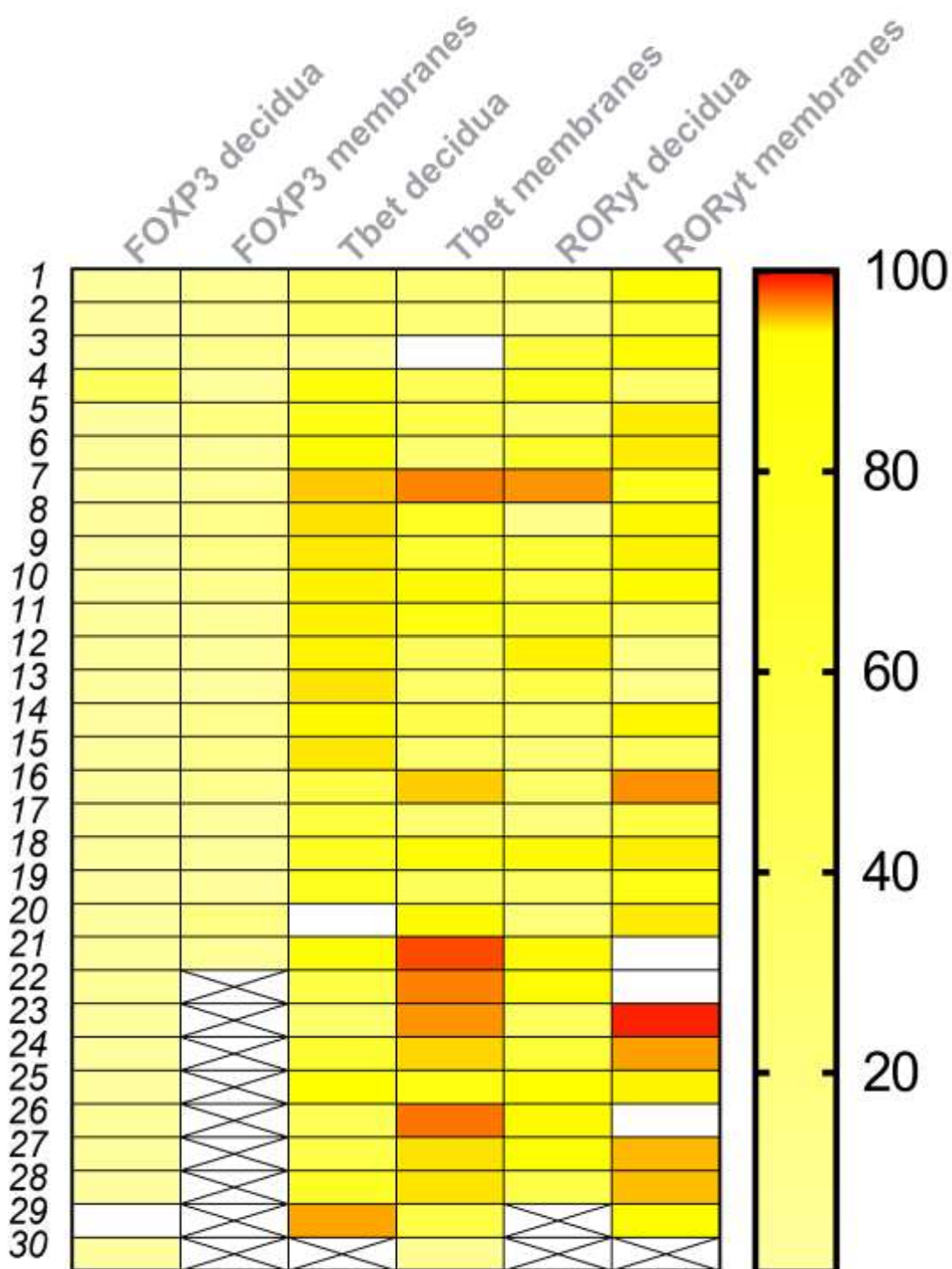


Рисунок 4.10 - Heat map plot рівнів експресії транскрипційних регуляторів диференціювання Т-лімфоцитів T-bet (Th1), RAR-related orphan receptor gamma γ t – ROR γ t (Th17) і forkhead box P3 – Foxp3 (Treg) в плаценті та плодових оболонках.

При аналізі експресії гена $IL1\beta$ в залежності від терміну маніфестації ПРПО встановлено, що її мінімальні значення 2,32 (1,42-3,76) спостерігались в плаценті в терміні гестації 26-27 тижнів, тимчасом як максимальне значення – 65,67 (1,86-227,93) в 28-30 тижнів також в плацентарній тканині. В плодових оболонках ми визначили в 46,41 разів вищу в порівнянні з групою контролю експресію м-РНК $IL1\beta$ в 28-30 тижнів вагітності та 22,74 разів в 33-34 тижні відповідно. Така широка амплітуда коливань свідчить про те, що у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності рівень запальних процесів у тканині варіює у широких межах. В табл.4.2.2 показано середньостатистичний рівень транскрипції цитокінів $IL1\beta$ та $IL17A$ на місцевому рівні в залежності від гестаційного терміну виникнення ПРПО.

Таблиця 4.2 - Транскрипційний профіль генів прозапальної імунної відповіді в клітинах плаценти та плодових оболонках в залежності від терміну виникнення передчасного розриву плодових оболонок (Me (L-H))

Цитокін/ локалізація	26-27 тижнів	28-30 тижнів	31-32 тижні	33-34 тижні
$IL1\beta$ плацента	2,32 (1,42-3,76)	65,67 (1,86-227,93)**	7,05 (0,61-13,72)	14,86 (2,12-37,68)
$IL1\beta$ плодові оболонки	9,11 (2,79-19,72)*	46,41 (1,23-139,24)	12,42 (2,77-38,22)	22,74 (3,46-52,06)*
$IL17A$ плацента	3,88 (1,80-5,38)	10,08 (0,04-62,77)	4,49 (0,92-13,45)	3,45 (1,17-5,98)
$IL17A$ плодові оболонки	12,82 (0,36-40,56)*	24,55 (1,64-49,74)*	22,87 (3,68-130,67)*	11,95 (2,53-29,03)*

Примітка. * – статистично значимі відмінності $p < 0,05$ в порівнянні з рівнем експресії досліджуваного цитокіну в плаценті; ** – статистично значимі відмінності $p < 0,05$ в порівнянні з рівнем експресії досліджуваного цитокіну в плодових оболонках.

На думку Hirata T. та Wira C.R. Т-хелпери включають в себе три субпопуляції Т клітин: Th1, Th2 і Th17, останні з яких можуть відігравати

важливу роль у захисті від деяких позаклітинних патогенів [29; 34; 42; 89; 121; 125]. Наявні погляди щодо цього питання ведуть до перегляду механізмів, що лежать в основі ролі Th1/Th2 в імунній відповіді. IL-17 продукують як Т-хелпери 17 типу, так і група вроджених ILC3 (3 innatelymphoidcells), обидві популяції яких експресують ROR γ T (RAR-relatedorphanreceptorgamma), транскрипційний активність профілю якого також висвітлена в нашому дослідженні [171].

Отримані результати відносної нормалізованої експресії генів IL-1 β та IL-17A виявилися досить неочікуваними. Серед мікробних паттернів, що здатні активувати рецептори вродженого імунітету і як наслідок рецептори адаптивної імунної відповіді в репродуктивних шляхах (ендометрії зокрема) жінки можна виділити ряд умовно патогенних та облігатних мікроорганізмів, які містять антигенні конфігурації у вигляді пептидоглікану, ліпопротеїдів, гліколіпідів та химозану грибів. Разом з тим, умовно патогенні збудники не підлягають обов'язковій медикаментозній елімінації. Проте, не виключено, що власне цей факт, за допомогою до кінця не зрозумілих механізмів і підтримує розвиток ПРПО при недоношеній вагітності.

Слід звернути увагу на те, що чим вищим був транскрипційний профіль прозапальних цитокінів в плодових оболонках, тим раніше зніціювалась спонтанна пологова діяльність та передчасні пологи. Водночас, низький та середній рівень активності зазначених генів як в плаценті, так і плодових оболонках, сприяв пролонгуванню вагітності, вчасному проведенню профілактики синдрому дихальних розладів новонародженого та превентивної антибактеріальної терапії подальших ускладнень ПРПО при недоношеній вагітності.

4.3 Гематологічні показники рівня ендогенної інтоксикації вагітних, породіль з передчасними пологами, асоційованими з передчасним розривом плодових оболонок та їх новонароджених

Є науково обгрунтовані підстави вважати, що внаслідок активації катаболічних процесів і зниження процесів природної детоксикації одним з

провідних факторів порушення гомеостатичного балансу в організмі є ендогенна інтоксикація (ЕІ) [172]. Вищевказані розлади конкретизуються змістом середніх молекулярних пептидів, адже кров є «дзеркалом» гомеостазу. З опублікованих раніше досліджень видно, що в даних діагностичних цілях можуть бути використані так звані лейкоцитарні індекси (ЛІ) [172]. Дані інтегральні показники лейкограмми дозволяють оцінити тяжкість запального процесу, механізми і ступінь компенсації резистентності організму, в тому числі при передчасних пологах, ініційованих ПРПО. Враховуючи, що методи ПЛР-ЗТ на жаль не впроваджені на сьогодні широко в клінічну практику, задля апробації отриманих даних про напруженість вродженого імунітету за допомогою рутинного аналізу периферичної крові на гематологічному аналізаторі були визначені та розраховані індекси ЕІ в динаміці у жінок з передчасними пологами на тлі ПРПО та їх новонароджених [172].

Гематологічні показники рівня ЕІ у жінок та новонароджених з ПРПО при недоношеній вагітності та формули розрахунку індексів лейкоцитарної інтоксикації представлені у табл. 4.3 та 4.4

У новонароджених (табл. 4.4) спостерігалась тенденція, що набула статистичної значущості – рівень лейкоцитів при народженні був в 1,5 рази вищим за цей показник при виписці або переводі новонародженого.

Таблиця 4.3 - Гематологічні показники рівня ЕІ у жінок з ПРПО при недоношеній вагітності (М ± m)

Показник / індекс, ум.од.	при госпіталізації	при виписці	норма
WBC, 10⁹/л	14,53±4,9 *#	9,45±2,96	3,5-10,0
ANC, кл/мм³	11976,92±4308,25 *#	7270,83±2405,7	1200-8000
ALC, кл/мм³	2057,69±553,65 *	2258,33±488,05	500-5000
NLR	6,12±2,57 *#	3,25±1,28	0,78-3,53
ЛІ Кальф-Каліфа Я.Я.	3,29±3,07 *#	1,99±1,41	≤ 1
ЛІ Островського В.К.	3,83±2,6 #	2,85±1,22	1,0-1,6
ІЗН	0,21±0,09	0,17±0,05	< 0,3

Примітка. **WBC** (white blood cells) – загальна кількість лейкоцитів; **ANC** (absolute neutrophil

count) – абсолютна кількість гранулоцитів; **ALC** (absolute lymphocyte count) – абсолютна кількість лімфоцитів; **NLR** (neutrophil-to-lymphocyte ratio) – індекс співвідношення нейтрофілів до лімфоцитів; **ЛП** (лейкоцитарний індекс інтоксикації) **Кальф-Каліфа Я.Я.** = $(4\text{мієл}+3\text{ю}+2\text{пя}+с) / (\text{пл}+1) / (\text{мон}+\text{лімф}) (\text{еоз}+1)$; **ЛПОстровського В.К.** = $(\text{мієл}+\text{пл}+\text{юн}+\text{пя}+с) / (\text{лімф}+\text{мон}+\text{еоз}+\text{баз})$; **ІЗН** (індекс зсуву нейтрофілів) = $(\text{мон}+\text{юн}+\text{пя}) / с$.; * – статистично значущі відмінності $p < 0,05$ в порівнянні з рівнем ендogenous інтоксикації при виписці; # – статистично значущі відмінності $p < 0,05$ в порівнянні з нормою.

Таблиця 4.4 - Гематологічні показники рівня ЕІ у новонароджених від породіль з ПРПО при недоношеній вагітності ($M \pm m$)

Індекс, ум.од.	1 доба життя	при виписці / переводі	норма
WBC, $10^9/\text{л}$	15,51±11,11 *#	10,93±3,71	3,5-10,0
NLR	2,47±1,15	1,32±0,86	0,78-3,53
ЛП Кальф-Каліфа Я.Я.	1,94±1,48 *	0,43±0,42	≤ 1
ЛП Островського В.К.	2,24±0,76	1,03±0,58	1,0-1,6
ІЗН	0,72±0,52 *#	0,17±0,13	< 0,3

Примітка. * – статистично значущі відмінності $p < 0,05$ в порівнянні з рівнем ендogenous інтоксикації при виписці; # – статистично значущі відмінності $p < 0,05$ в порівнянні з нормою.

Основні етапи розвитку ЕІ при передчасних пологах індукованих ПРПО та роль клітинного імунітету можуть цілком об'єктивно характеризувати лейкоцити та їх співвідношення. Загальна кількість лейкоцитів у вагітних при маніфестації ПРПО (табл. 4.3) була вірогідно вище норми і склала $14,53 \pm 4,9$, а при виписці зі стаціонару $9,45 \pm 2,96$ на фоні застосування антибактеріальної терапії [175]. Аналізуючи тривалість безводного проміжку до моменту ініціації передчасної пологової діяльності та його залежність від рівня загальної кількості WBC в периферичній крові вагітних, спостерігалась тенденція збільшення даного показника при зменшенні тривалості безводного проміжку (рис. 4.11). Тобто рівень $WBC \geq 10 \cdot 10^9/\text{л}$ є предиктором швидкого розвитку передчасних пологів на тлі ПРПО в термінах гестації 26-34 тижні.

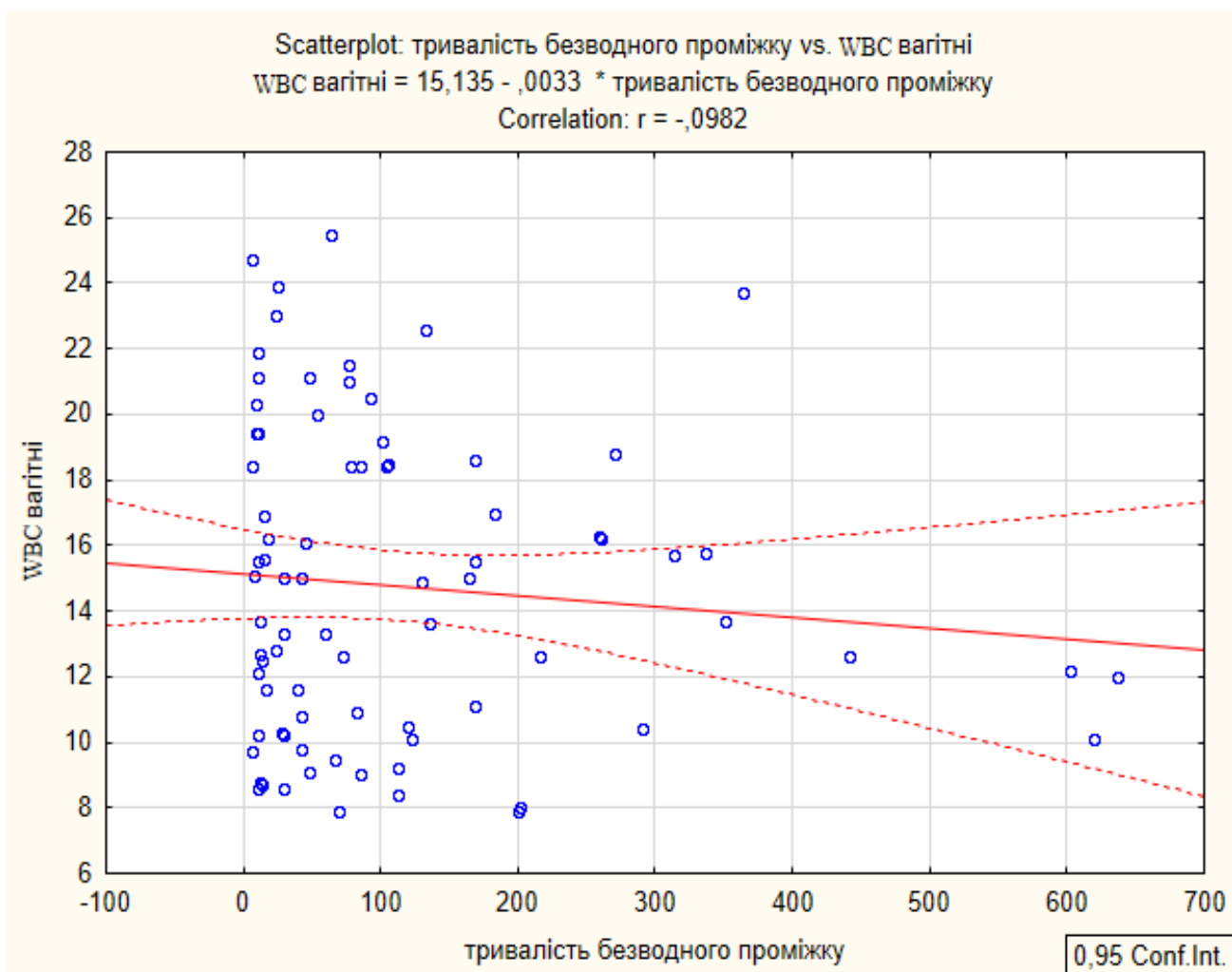


Рисунок 4.11 - Показник рівня WBC ($\cdot 10^9/\text{л}$) в периферичній крові вагітних в залежності тривалості безводного проміжку (години).

Подібна тенденція спостерігалась також в показниках WBC у новонароджених в залежності від тривалості безводного проміжку (рис. 4.12). Значне збільшення за норму кількісного рівня лейкоцитів в периферичній крові новонароджених ретроспективно поєднувалось зі зменшенням безводного проміжку у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності.

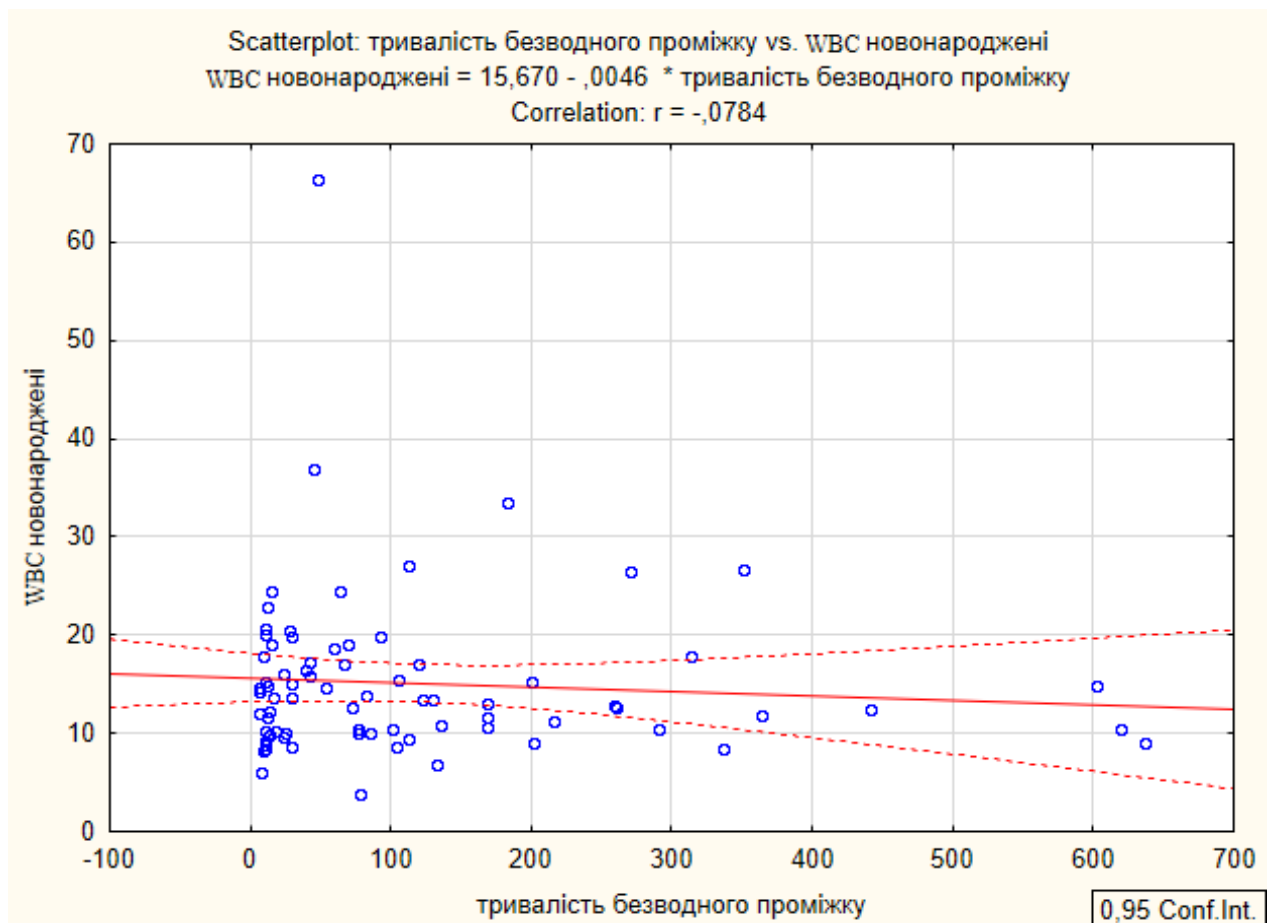


Рисунок 4.12 - Показник рівня WBC ($\cdot 10^9/\text{л}$) в периферичній крові новонароджених в залежності тривалості безводного проміжку (години).

За даними нашого дослідження у вагітних з передчасними пологами чутливими лейкоцитарними індексами оцінки ступеня розвитку ендогенної інтоксикації були NLR та ЛПІ Кальф-Каліфа Я.Я., у новонароджених – ЛПІ Кальф-Каліфа та ІЗН [172]. На думку Jung I., предиктивними маркерами хоріоамніоніту у вагітних з ПРПО до 36 тижнів є С-реактивний білок, загальний рівень лейкоцитів, нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення та DNI (delta neutrophil index) [119; 24]. Але на жаль можливості гематологічного аналізатора, який був використаний в даному дослідженні, обмежені в аспекті визначення дельта-нейтрофільного індексу.

С-реактивний білок як індикатор системного запалення та білок гострої фази запалення досліджувався у всіх передчасно-народжених новонароджених. Але в цьому дослідженні не показав себе як предиктивний маркер запалення, лише у 15 % новонароджених основної групи мав суттєве кількісне збільшення до

18,50±11,29 мг/л, в усіх інших новонароджених основної групи даний показник був негативним.

У вагітних основної групи при розрахунку NLR (рис. 4.13) відмічено достеменно перевищення норми в 2 рази при госпіталізації та склав відповідно 6,12±2,57, при виписці після пологорозродження та водночас 3,25±1,28 на тлі застосування антибактеріальної терапії. Разом з тим, даний показник виявився неінформативними у передчасно народжених дітей та був в референтних межах норми при народженні (2,47±1,15) та при виписці (1,32±0,86) зі стаціонару.

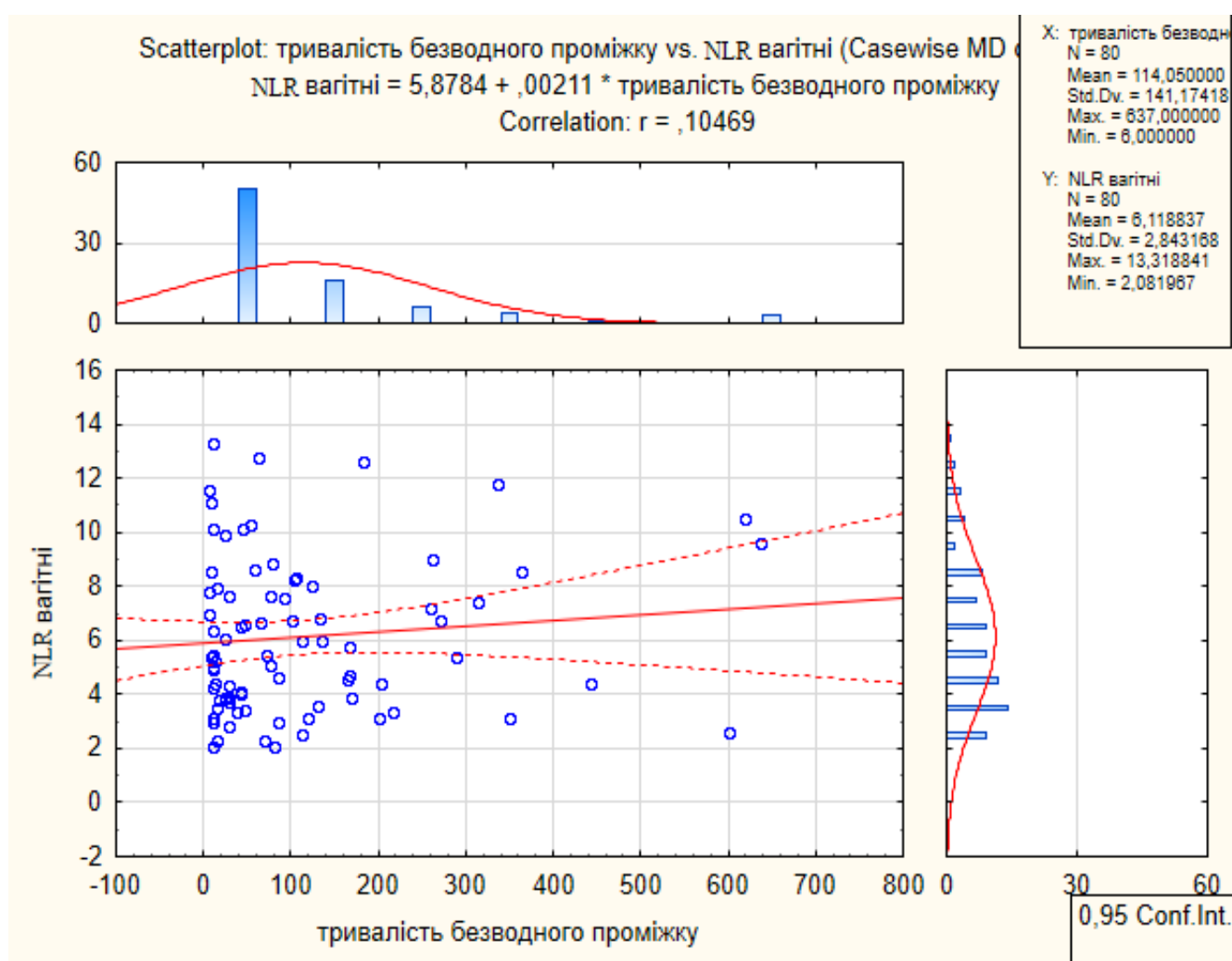


Рисунок 4.13 - Показник рівня NLR вагітних в залежності тривалості безводного проміжку (години).

Матеріали здійсненого обстеження та розрахунку показників рівня ЕІ показали, що як для вагітних, породіль, так і для новонароджених був інформативним та показовим ЛШ Кальф-Каліфа. Точніше, на бактеріальний компонент запалення вказує перевищення даного показника над норму в 3 рази ($3,29 \pm 3,07$) у вагітних під час маніфестації ПРПО в терміні гестації 26-34 тижні та після пологорозродження – $1,99 \pm 1,41$. На фоні застосування комплексної антибактеріальної терапії у новонароджених спостерігалась тенденція зниження ЛШ Кальф-Каліфа – з $1,94 \pm 1,48$ при народженні до $0,43 \pm 0,42$ при виписці або переводі зі стаціонару.

Отже, резюмуючи отримані в даному розділі результати, можна зробити висновок, що основними маркерами ступеню вираженості ендогенної інтоксикації при ПРПО та подальшим розвитком ПП в терміні гестації 26-34 тижні у вагітних виступають – ЛШ Кальф-Каліфа, загальна кількість лейкоцитів та нефтрофільно-лімфоцитарне співвідношення. У вагітних з груп високого ризику даного ускладнення оцінка інтегральних показників рівня інтоксикації дозволяє прогнозувати виникнення ПРПО, вчасно впровадити превентивні заходи, оптимізувати подальше лікування та оцінити його ефективність.

Результати даного розділу опубліковано в наукових працях:

1. Любомирська К.С. Круть Ю. Я. Роль рецепторів вродженого імунітету в патогенезі асоційованого з передчасними пологами передчасного розриву плодових оболонок. *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2019. №1(23). С.101-109. (Здобувачем проведені клінічні спостереження, аналіз і узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка до друку).
2. SNPs and transcriptional activity of genes of innate and adaptive immunity at the maternal-fetal interface in woman with preterm labour, associated with preterm premature rupture of membranes / Lyubomirskaya Ekaterina S., Kamyshnyi Alexandr M., Krut Yuriy Ya. et al. *Wiadomości Lekarskie*. 2020. Vol. 73, №1.

- P.25-30. *(Дисертантом проведені клінічні спостереження, аналіз і узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка до друку).*
3. Любомирська К.С. Круть Ю.Я. Дослідження вродженого та адаптивного імунного статусу вагітних в терміні гестації 26-34 тижні, ускладненого передчасним розривом плодових оболонок. *«Актуальні питання акушерства, гінекології і репродуктивної медицини»* : зб. матеріалів наук.-практ. конф. з міжнар. участю (м. Запоріжжя, 01 лист. 2017 р.). Запоріжжя, 2017. С. 61-62 *(Автором проведено відбір та обстеження вагітних, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*

РОЗДІЛ 5
АСОЦІАЦІЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ПРО- ТА
ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ІМУНОРЕГУЛЯТОРНИХ ГЕНІВ ІЗ ПЕРЕДЧАСНИМ
РОЗРИВОМ ПЛОДОВИХ ОБОЛОНОК ПРИ НЕДОНОШЕНІЙ
ВАГІТНОСТІ

5.1 Асоціація однонуклеотидного поліморфізму генів (SNP) прозапальних цитокінів IL1 β (rs1143627) та TNF α (rs1800629) з ПРПО в термінах гестації 26-34 тижнів

У 24 % випадків основної групи дослідження за результатами генотипування поліморфізму rs1143627 гену IL1 β були встановлені гомозиготи GG, гетерозиготи GA – у 21 (42 %) та гомозиготи AA у 17 (34 %) випадках відповідно. У вагітних контрольної групи при дослідженні поліморфізму гену IL1 β (rs1143627) гомозиготи GG визначені у 13 (26 %), AA у 21 (42 %) та гетерозиготи GA – у 16 (32 %) випадків, що представлено графічно на рис.1 та рис.2. Репертуар алелей поліморфізму гену TNF α rs1800629 у вагітних основної групи був наступним: гомозиготи AA – 5 (10 %), гетерозиготи AG – у 12 (24 %), гомозиготи GG – у 33 (66 %) випадках. У вагітних контрольної групи при дослідженні гену TNF α поліморфізму rs1800629 гомозиготи GG встановлені у 29 (58 %), гомозиготи AA у 5 (10 %) випадків, гетерозиготи AG – у 16 (32 %) відповідно (рис. 5.1 та рис. 5.2).

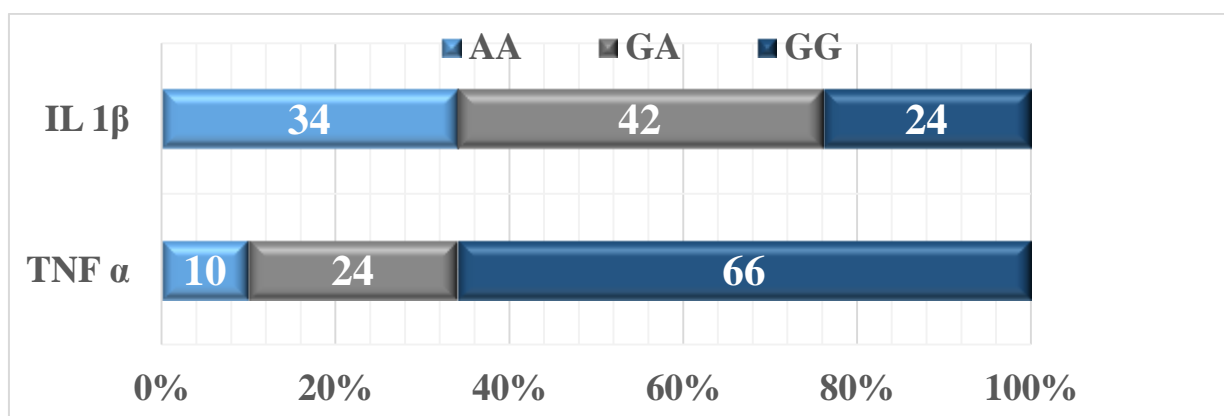


Рисунок 5.1 - Розподіл генотипів при передчасному розриві плодових оболонок при недоношеній вагітності (%).

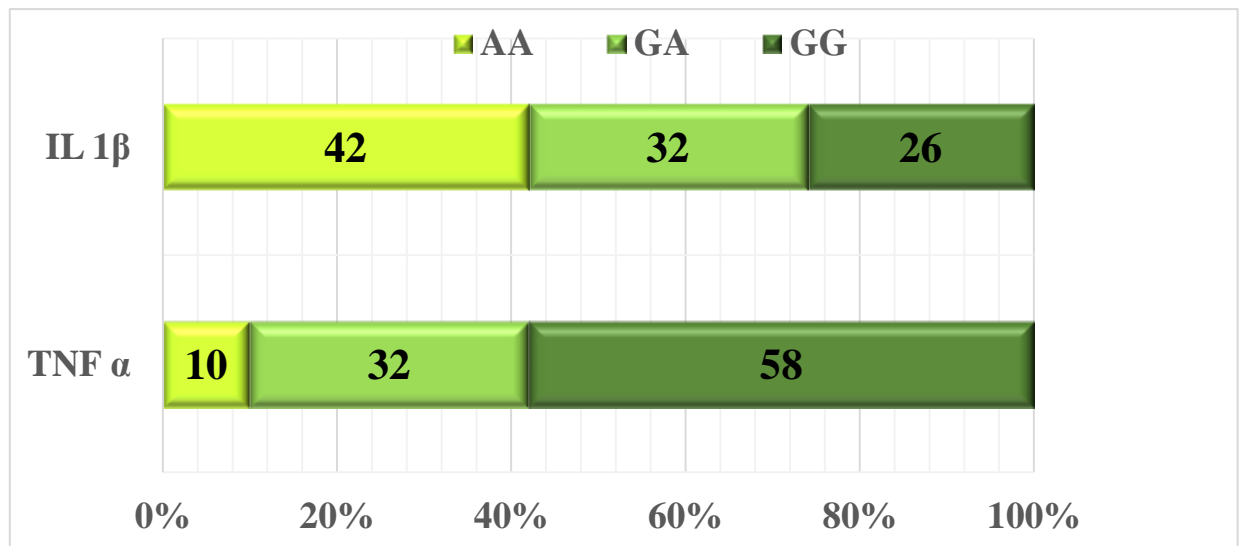


Рисунок 5.2 - Розподіл генотипів імунорегуляторних генів в групі контролю (%).

При аналізі розподілу генотипів прозапальних цитокінів TNFα (rs1800629) та IL1β (rs1143627) нашого дослідження в залежності від терміну виникнення ПРПО, виявлено що в 26-27 тижнів гестації у вагітних з ПРПО лідируючими несприятливими генотипами по 75 % були GA IL1β та GG гену TNFα (рис. 5.3). В терміні маніфестації ПРПО 28-30 тижні репертуар лідируючих несприятливих генотипів був тим самим GA IL1β (58,3 %) та GG гену TNFα (66,6 %). GG генотип IL1β (rs1143627) та GG генотип TNFα (rs1800629) виявилися несприятливими у вагітних в 31-32 тижні – 44,4 % та 66,7 % відповідно. Гомозиготи AA гену IL1β та GG гену TNFα були лідируючими генотипами в 33-34 тижні вагітності, частка яких склала по 58,3 % відповідно.

Нам не вдалось виявити статистично значимі відмінності по кожній з алелей поліморфізму rs1143627 (GG, GA та AA) гену IL1β між основною групою дослідження та групою контролю ($\chi^2 = 0,18$, OR(GG)= 1,13; 95 % CI: 0,65-1,98; OR(GA)= 1,54; 95 % CI: 0,68-3,49; та OR(AA)= 0,89; 95 % CI: 0,50-1,55 відповідно, $p > 0,05$).

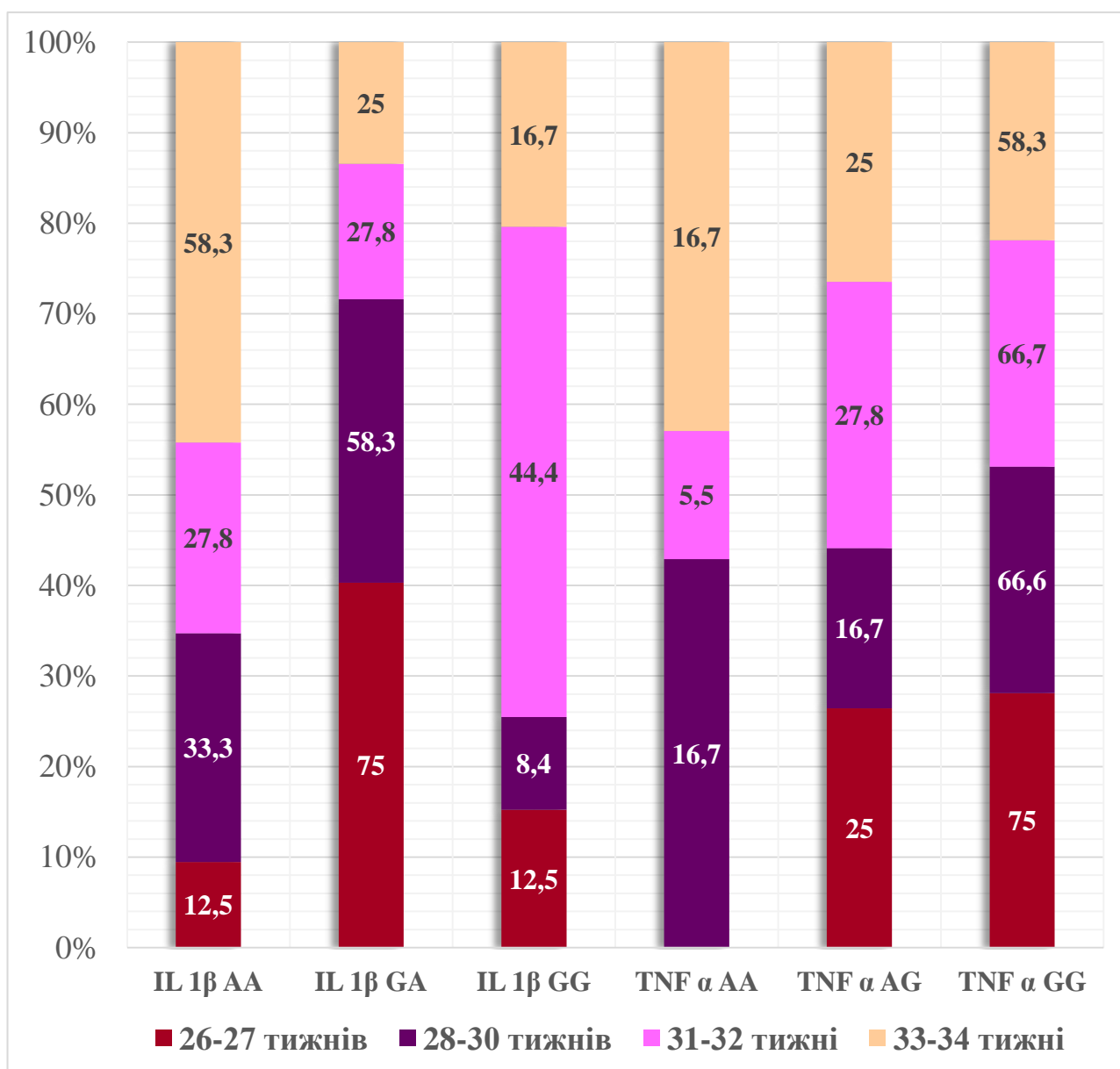


Рисунок 5.3 - Розподіл генотипів (%) в залежності від терміну маніфестації ПРПО.

Отримано статистично недостовірні дані між основною та групою контролю в тому числі по всім алелям поліморфізму rs1800629 (AA, GG та AG) гену TNFα – $\chi^2 = 0,44$, OR(AA)= 0,8; 95 % CI: 0,42-1,54; OR(GG)= 1,25; 95 % CI: 0,65-2,39; та OR(AG)= 0,67; 95 % CI: 0,28-1,62 відповідно, $p > 0,05$.

Отримані дані мультиплікативної моделі успадкування представлені в табл. 5.1.

Таблиця 5.1 - Асоціація поліморфізму генів цитокінів з ПРПО та передчасними пологами в Запорізькій популяції

SNPs	Алель/ Генотип	Public location	OR	95 % CI	χ^2	P
<i>IL1β</i> rs1143627	AlleleG	112836810	1,13	0,65-1,98	0,18	0,67
	Genotype GA		1,54	0,68-3,49		
	AlleleA		0,89	0,51-1,55		
<i>TNFα</i> rs1800629	AlleleA	31575254	0,8	0,42-1,54	0,44	0,51
	Genotype AG		0,67	0,28-1,62		
	AlleleG		1,25	0,65-2,39		

Розробка та впровадження останніх наукових досягнень у сфері генетики та молекулярної медицини дозволяють використовувати новітні методи діагностики і ведення жінок в акушерській практиці. Сучасною наукою доведено також значення спадковості та генетичної схильності до розвитку акушерської патології. Крім традиційного дослідження інфекційних агентів надзвичайно перспективними є дослідження факторів генетичної схильності до розвитку захворювання і транскрипційних профілів маркерів запалення. Отримані в нашій роботі дані ми порівняли з результатами інших вчених.

Необхідно відразу зауважити, що кількість досліджень по поліморфізму генів по відношенню до ПРПО та передчасних пологів останніми роками істотно зросла. Крім того, результати досліджень одного і того SNP визначаються дизайном дослідження, вибір груп пацієнтів суттєво відрізняється в різних популяціях та етнічних групах, а вираження цих мутацій залежить від комбінації культурологічних, соціально-економічних та семантичних факторів, які визначаються в цілому стилем життя та харчування зокрема.

Передчасні пологи будучи глобальною проблемою потребує глобальних рішень. Останні дослідження геному починають розкривати інформацію для розуміння причин передчасних пологів. Для того, щоб повністю оцінити та зрозуміти патогенез розвитку ПРПО та передчасних пологів, важливі подальші дослідження з використанням методів секвенування високої пропускну здатності та секвенування цілого геному. Тому завдання полягає у визначенні жінок з високим ступенем ризику задля надання персоналізованої медичної допомоги та зменшення відсотка передчасних пологів, як наслідок зниження перинатальної захворюваності та смертності.

З метою встановлення закономірностей патогенезу та прогнозування ризику розвитку ПРПО при недоношеній вагітності, розподілу груп високого ризику виникла необхідність вивчення мутацій генів IL1 β (rs1143627) та TNF α (rs1800629) у популяції України для визначення їх ролі в патогенезі ПРПО та передчасних пологів. В Україні вивчення такої комбінації генів у даній патології на початку цього дослідження не проводилося.

Дослідженню цитокінового профілю в цервікальному слизі та периферичній крові у жінок з передчасними пологами на теренах України були присвячені роботи Мандрикової А.С. [173], Федішин Т.В [207], Гарбузюк В.В. [145]. Зальновідомо, що системний прозапальний цитокін TNF α є центральним регулятором імунної відповіді, активує лейкоцити та індукує продукцію інших прозапальних цитокінів IL1 β , таким чином запускає прозапальні імунні реакції. Пусковим фактором запальних деструктивних реакцій в плаценті, що призводять до ішемії її ділянок також може бути високий рівень TNF α . Є підстави вважати, що збільшення концентрації прозапальних цитокінів в середовищі, що оточує ембріон, може призводити до порушення проникності гемато-енцефалічного бар'єру і появи неврологічної захворюваності в ранньому періоді новонародженості [205].

Sata F. зі співавторами довели зв'язок поліморфізму прозапальних цитокінів IL1 β та IL1 α з передчасними пологами на Японській популяції [87]. Пізніше у дослідженні, проведеному Jones H.M., Holzman C. на великій репрезентативній

вибірці жінок США (n=3019 за 6 років спостереження) поліморфізм гену IL1 β був контраверсійно представлений як неасоційований з передчасними пологами [51]. Хоча і на меншій вибірці жінок Данії підвищений ризик ППІ та SNPIL1 β та TNF α був продемонстрований Hollegaard M.V., Grove J. [76; 77]. Всупереч дослідженню Hollegaard M.V. нам не вдалось знайти асоціацію поліморфізму IL1 β (rs1143627) з виникненням ПРПО при недоношеній вагітності на популяції Запорізького регіону.

Moura E. з колегами показали, що поліморфізми TNF α , інтерферону γ та IL6 асоційовані з передчасними пологами [48]. З іншого боку, Bitner A., DeviS.G. в своїх дослідженнях на популяції жінок Польщі та Індії відповідно не знайшли асоціації TNF α з передчасними пологами ініційованими ПРПО [13]. Ми також оцінили внесок TNF α (rs1800629) до генетичної схильності вагітних до передчасних пологів. Нам не довелось довести зв'язок TNF α (rs1800629) з високим ступенем ризику ПРПО при недоношеній вагітності в Запорізькій області.

Ресурс GeneMania допомагає визначити, як гени – кандидати взаємодіють з іншими генами, що робить можливим будувати генні мережі. Кожна генна мережа взаємодії має відповідне посилання на публікації наукометричних журналів світу. На рис. 5.4 продемонстровано, що до складу генної мережі активації прозапальної імунної відповіді на ліпополісахарид та інші молекули бактеріального походження входять досліджувані нами гени IL1RN, IL1R1, IL1R2 та IL17A, NFKB1A, SQSTM1. При цьому найбільш тісні функціональні зв'язки спостерігалися між генами TNF α , IL1 β , NFKB1A та IL1R1.

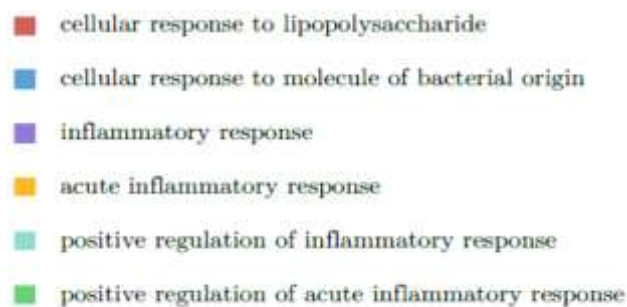
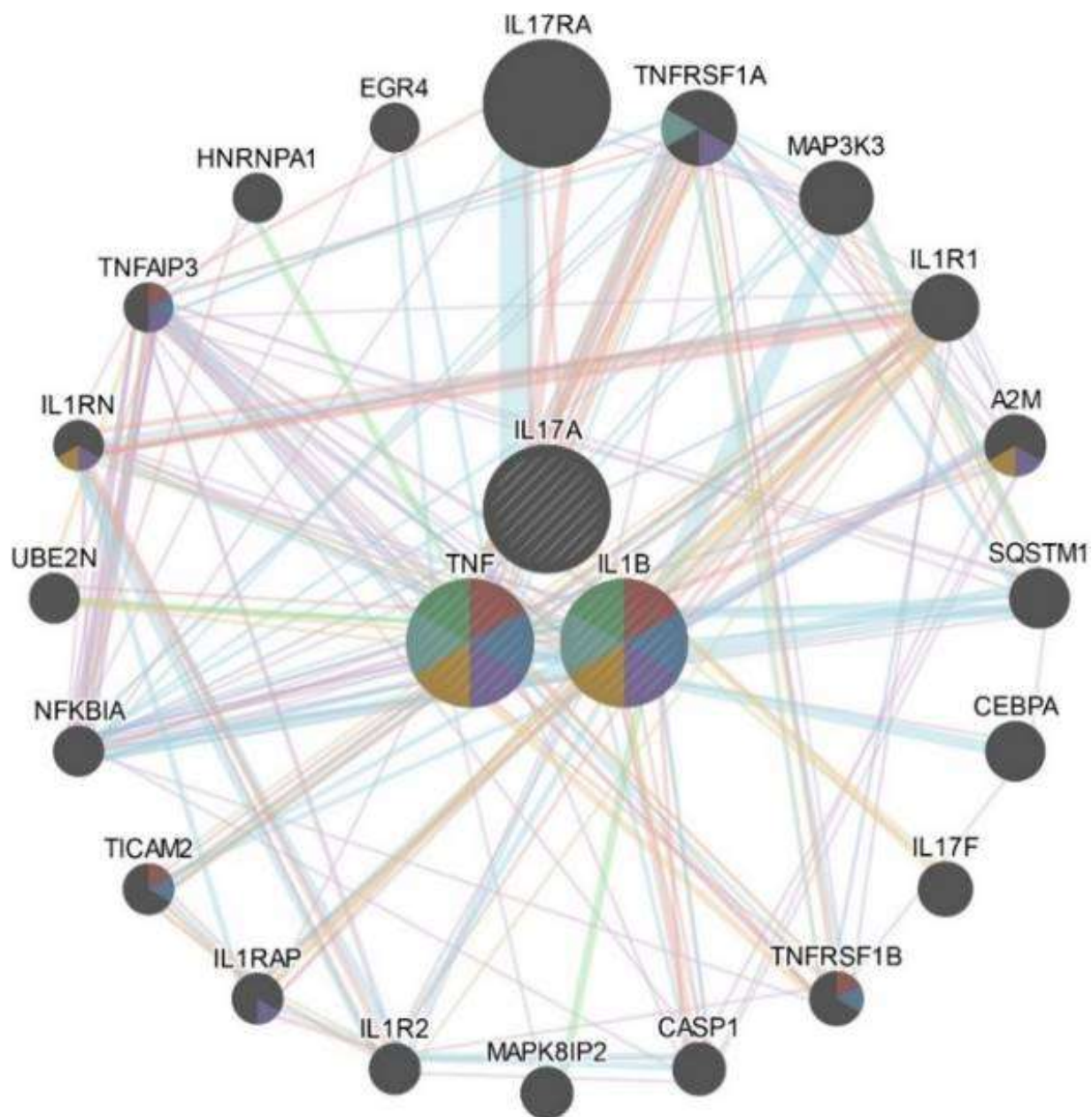


Рисунок 5.4 - Генна мережа взаємодії прозапальних цитокінів IL17A, IL1 β та TNF α

Продовження рис.5.4



Підсумовуючи дані досліджуваного репертуару генів SNP, включених до нашого дослідження, ми не отримали достовірну різницю по маркерах $IL1\beta$ (rs1143627) та $TNF\alpha$ (rs1800629) як асоційованих з високим ризиком ПРПО та передчасних пологів в 26-34 тижні гестації. Отже, В популяції Запорізького регіону відсутня достовірна клінічна асоціація між генами $IL1\beta$ (rs1143627) та $TNF\alpha$ (rs1800629) та високим ризиком розвитку передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності.

5.2 Асоціація однонуклеотидного поліморфізму генів (SNP) протизапальних цитокінів IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800896), IL10 (rs1800872) та RLN2 (rs3758239), RLN2 (rs4742076) з ПРПО в термінах гестації 26-34 тижнів

У 74 % вагітних основної групи були виявлені гомозиготи *TT* за результатами генотипування поліморфізму rs1800896 гену IL10, на противагу гетерозиготи *TC* – у 2 (4 %) та гомозиготи *CC* у 11 (22 %) випадках відповідно.

Дослідження закономірностей поліморфізму гену IL4 (rs2243250) у пацієток основної групи показало наступну структуру розподілу генотипів: гомозиготи *TT* у 2 (4 %) та *CC* у 37 (74 %) випадків, гетерозиготи *CT* – у 22 % відповідно.

Гомозиготи *GG* поліморфізму гену IL10 (rs1800872) були встановлені у 25 (50 %) вагітних з ПРПО та передчасними пологами 26-34 тижнів, гомозиготи *TT* визначені у 7 (14 %) випадках та гетерозиготи *TG* – у 18 (36 %) відповідно.

В зв'язку з отриманим відхиленням від рівняння Харді-Вайнберга (HWE) для випадків та контролів, мультиплікативна модель успадкування генів не може використовуватись для виявлення генетичних предикторів ризику ПП, індукованих передчасним відходження навколоплідних вод. Можливими чинниками отриманих закономірностей є гетерогенність обстежених вагітних, що знижує частоту гетерозиготних генотипів та збільшує частоту гомозиготних. Розподіл генотипів в залежності від гестаційного терміну маніфестації ПРПО представлено на рис. 5.7.

При генотипуванні поліморфізму RLN2 (rs4742076) звернуло на себе увагу, що по жодній з алелей (*TT*, *CT* та *CC*) гену не було виявлено відхилення від HWE ($\chi^2 = 23,35$, OR(*CT*)= 25,24; 95 % CI: 3,20-198,96; OR(*TT*)= 9,77; 95 % CI: 0,51-186,53 та OR(*CC*)= 0,03; 95 % CI: 0,00-0,22 відповідно, $p > 0,05$). По всім алелям (*AA*, *GG* та *AG*) поліморфізму гену RLN2 (rs3758239) спостерігалась відсутність відхилення від HWE – $\chi^2 = 21,12$, OR(*AG*)= 0,11; 95 % CI: 0,03-1,52, OR(*AA*)= 13,35; 95% CI: 3,66-48,62 та OR(*GG*)= 0,08; 95 % CI: 0,00-1,52; відповідно, $p > 0,05$,

що свідчить про достовірність отриманих прогностичних маркерів. Отримані дані представлені в рис. 5.5 та 5.6.

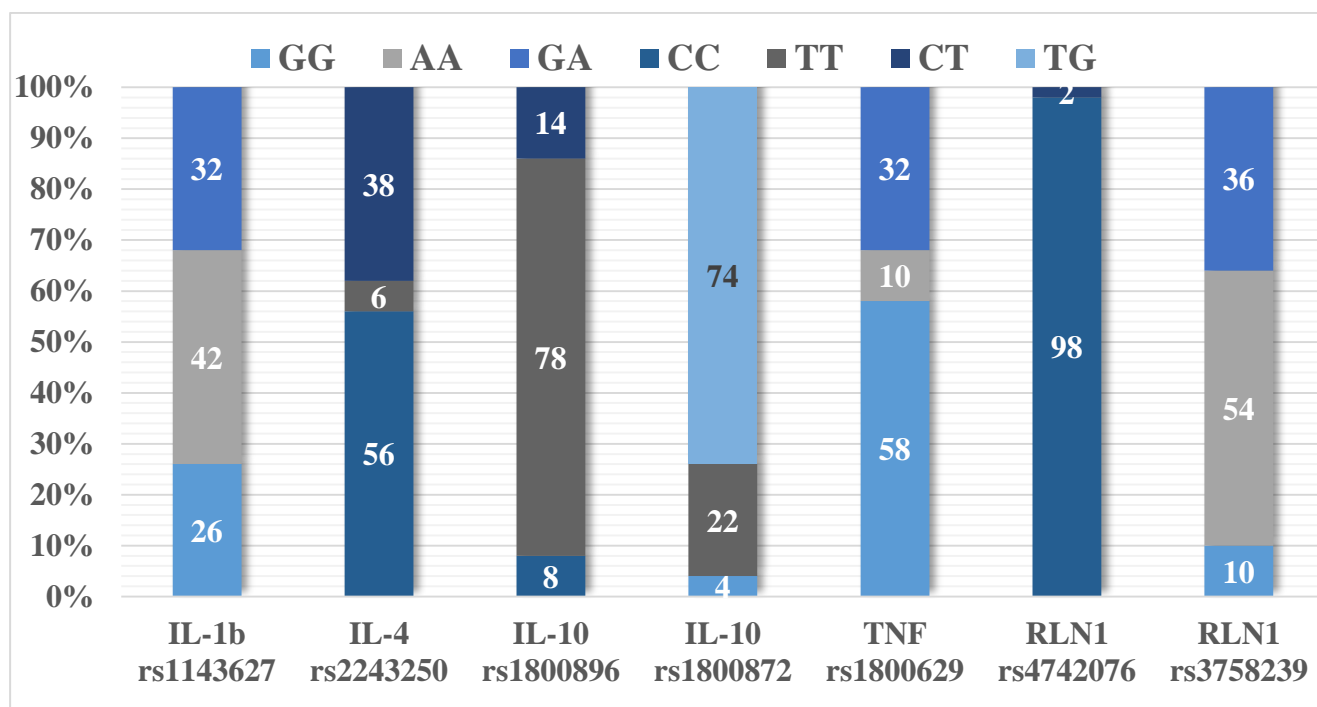


Рисунок 5.5 - Розподіл генотипів при передчасному розриві плодових оболонок при недоношеній вагітності (%).

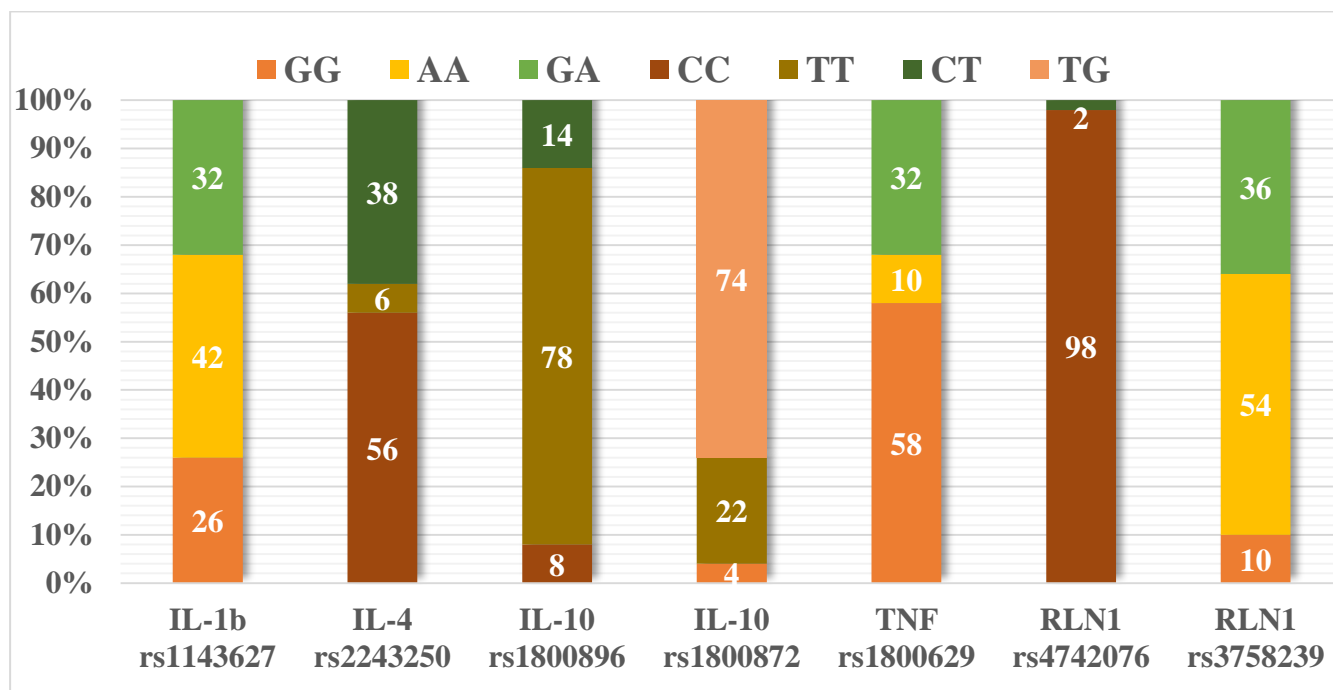


Рисунок 5.6 - Розподіл генотипів імунорегуляторних генів в групі контролю (%).

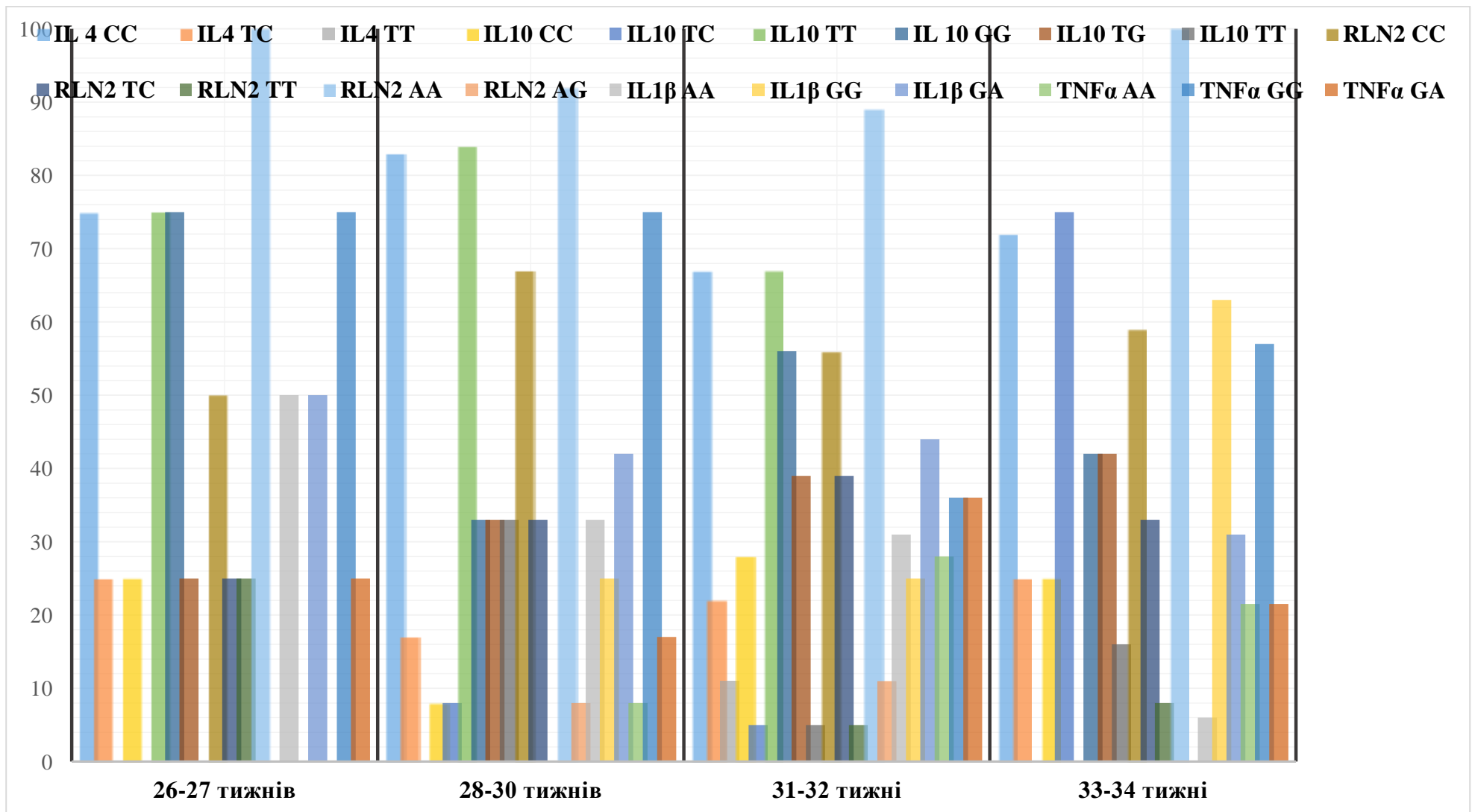


Рисунок 5.7 - Розподіл алелей/ генотипів IL4 rs2243250, IL10 rs1800896, IL10 rs1800872, RLN2 rs4742076, RLN2 rs3758239 в залежності від терміну маніфестації ПРПО (%).

Аналіз мультиплікативної моделі успадкування показав, що відносна частота досліджуваних поліморфних варіантів генів IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800896 та rs1800872) та RLN2 (rs4742076 та rs3758239) істотно відрізнялась між досліджуваними групами (табл. 5.2).

Сприятливий CC поліморфний варіант гену IL4 (rs2243250) проти TT був домінантним у досліджуваній популяції (у 18,5 раз більше серед вагітних з ПРПО ($p < 0,05$), у 9,33 раз більше серед фізіологічних термінових пологів ($p < 0,05$), T-алель гену IL10 (rs2243250) домінував над TC поліморфним варіантом (у 18,5 раз більше серед вагітних з передчасними пологами ($p < 0,05$), у 5,5 разів більше серед фізіологічних пологів ($p < 0,05$), GG генотип гену IL10 (rs1800872) проти TT (у 3,57 разів більше серед вагітних з передчасними пологами ($p < 0,05$), у 18,5 більше разів серед фізіологічних пологів ($p < 0,05$).

Ген RLN2 (rs4742076) та його сприятливий CC поліморфний варіант проти CT був домінантним у досліджуваній популяції (у 1,71 раз більше серед вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності ($p < 0,05$), у 49 раз більше серед контрольної групи ($p < 0,05$), C-алель проти T-алелі (у 7,25 разів більше серед вагітних з ПРПО). Слід відмітити, що TT генотип був відсутнім в групі контролю.

Що стосується частоти поліморфних варіантів гену RLN2 (rs3758239), сприятливий AA варіант проти AG варіанту зустрічався у 15,7 разів більше серед вагітних з передчасними пологами ($p < 0,05$), у 1,5 разів більше серед фізіологічних термінових пологів ($p < 0,05$), A-алель превалювала над G-алелю (у 47 разів більше серед хворих ($p < 0,05$), у 5,4 разів більше серед групи контролю ($p < 0,05$).

Таблиця 5.2 - Асоціація поліморфізму генів цитокінів з високим ризиком ПРПО та передчасними пологами в Запорізькій популяції

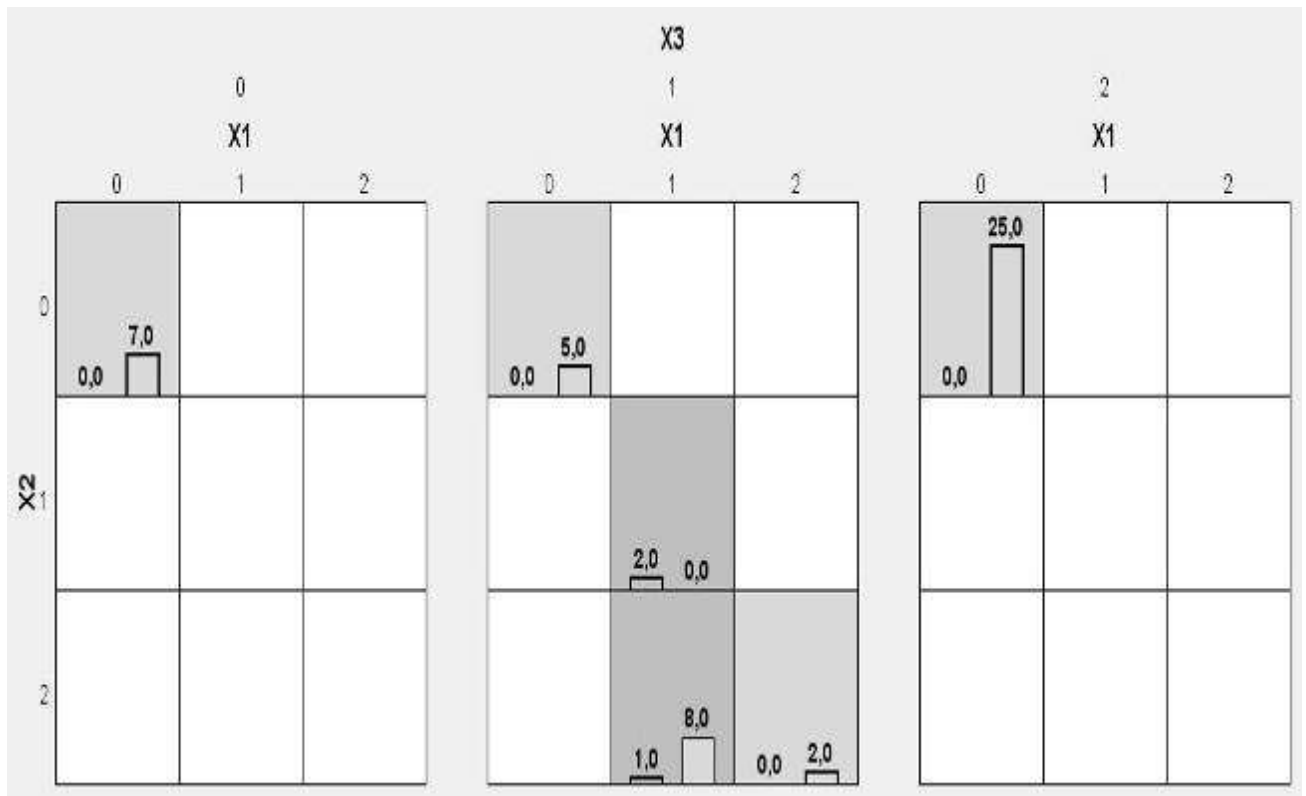
SNPs	Allel / Genotype	Public location	OR	95 % CI	χ^2	p-value
IL4 <i>rs2243250</i>	Genotype CC	132673462	2,24	0,96-5,2	19,58	6×10^{-5} *
	Genotype CT		4,42	1,15-16,97		
	Genotype TT		0,07	0,01-0,31		
IL10 <i>rs1800896</i>	Genotype CC	206773552	3,24	0,96-11	6,1	0,05 *
	Genotype CT		0,26	0,05-1,3		
	Genotype TT		0,8	0,32-2,02		
IL10 <i>rs1800872</i>	Genotype TT	206773062	0,58	0,2-1,64	27,05	1×10^{-6} *
	Genotype TG		0,2	0,08-0,47		
	Genotype GG		24,0	5,25-109,65		
RLN2 <i>rs4742076</i>	Allel C	5309831	0,03	0,00-0,23	25,46	5×10^{-7} *
	Allel T		33,0	4,37-249,1		
RLN2 <i>rs3758239</i>	Allel A	5306824	12,57	3,68-42,98	23,86	1×10^{-6} *
	Allel G		0,08	0,02-0,27		

Примітка. * - достовірна різниця відмінностей, $p < 0,05$.

Таблиця 5.3 - Найкращі MDR моделі SNP генів цитокінів, асоційовані з високим ризиком ПРПО при недоношеній вагітності в популяції Запорізького регіону

Модель SNPs	Збалансова на точність	Коефіцієнт перехресно ї перевірки	Чутливіст ь	Специфічніс ть	χ^2	p- value
IL4 rs224325 0	0,7589	9/10	1,0	0,8298	11,315 3	0,000 8
IL4 rs224325 0 + IL10 rs180089 6	0,9232	10/10	1,0	0,8468	11,117 2	0,000 8
IL4 rs224325 0 + IL10 rs180089 6 + IL10 rs180087 2	0,9149	10/10	1,0	0,8298	11,315 3	0,000 8

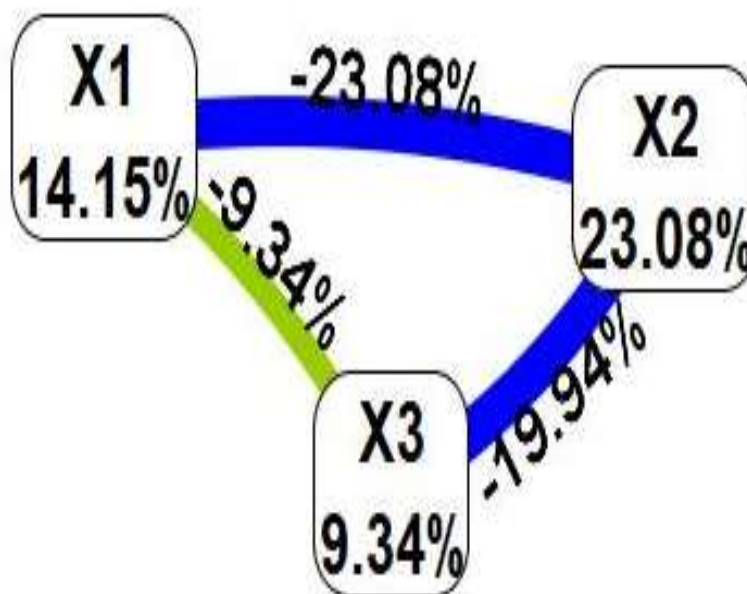
Найкращі моделі ген-генної взаємодії, беручи до уваги збалансовану точність, найвищий коефіцієнт перехресної взаємодії, найвищу чутливість та специфічність представлені в таблиці 5.3. Комбінації найкращих MDR моделей, асоційованих з високим та низьким ризиком ПРПО при недоношеній вагітності представлені на рис. 5.8 та 5.10 – поліморфні варіанти генів найкращих MDR моделей при термінових фізіологічних пологах.



Примітка. IL4 (rs 2243250) 0, 1, 2 – поліморфні варіанти гену IL4 CC (0), TC (1), TT (2); IL10 (rs1800896) 0, 1, 2 – поліморфні варіанти гену TT (0), TC (1), CC (2); IL10 (rs1800872) 0, 1, 2 – поліморфні варіанти гену TT (0), TG (1), GG (2).

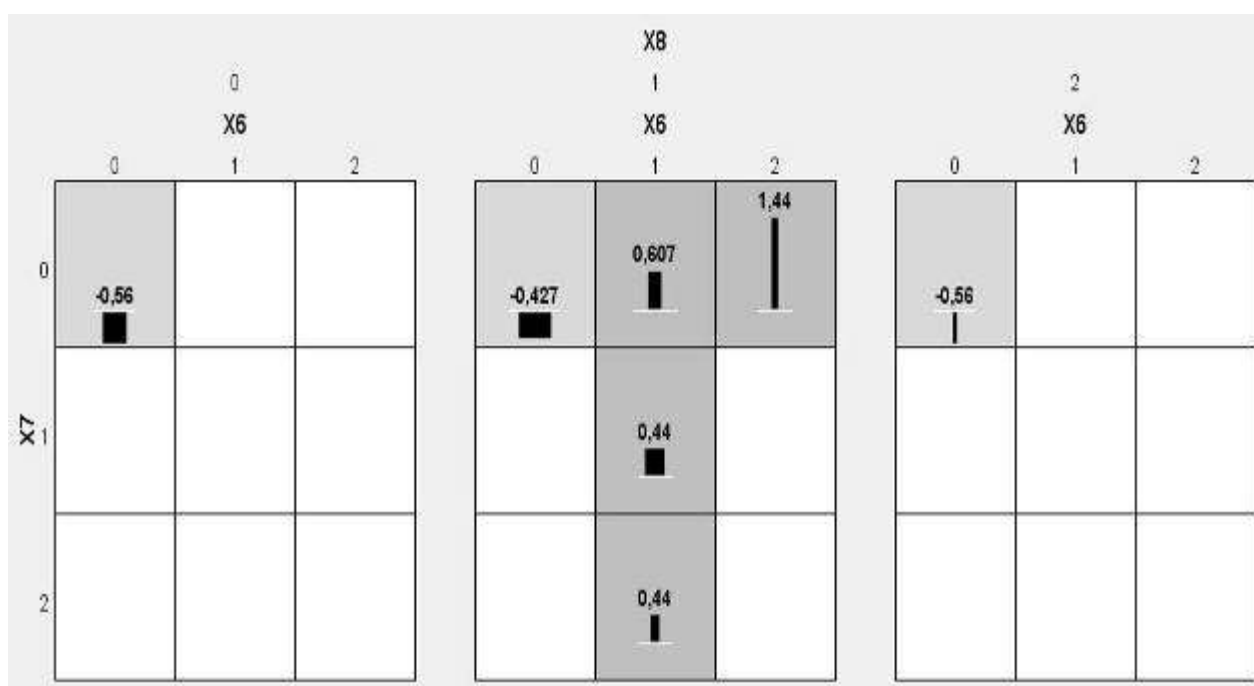
Рисунок 5.8 - Комбінація поліморфних варіантів генів X1 (IL4 rs 2243250), X2 (IL10 rs1800896), X3 (IL10 rs1800872), асоційованих з високим (темно-сіра клітинка) та низьким (світло сіра клітинка) ризиком розвитку ПРПО та передчасних пологів в популяції Запорізького регіону.

Циркулярна діаграма кластерного аналізу отриманих результатів ген-генної взаємодії з використанням методу MDR представлена на рис. 5.9. Характер міжлокусної взаємодії між генами був достатньо високим на рівні «незалежних ефектів» впливу (IL4-IL10 rs1800896 = -23.08 %, IL10 rs1800896 – IL10 rs1800872 = -19.94%, IL10 rs1800872-IL-4 = -19.34 %). Частка ентропії досліджуваного поліморфізму кожного гену була 14.15 % для гену IL4, 23.08 % для гену IL10 rs1800896 та 9,34 % для гену IL10 rs1800872, що вказує на високе значення всіх присутніх генів та їх суттєвий вплив на розвиток ПРПО при недоношеній вагітності.



Примітка. синій колір – виражена антагоністична взаємодія; зелений колір – помірно виражена антагоністична взаємодія.

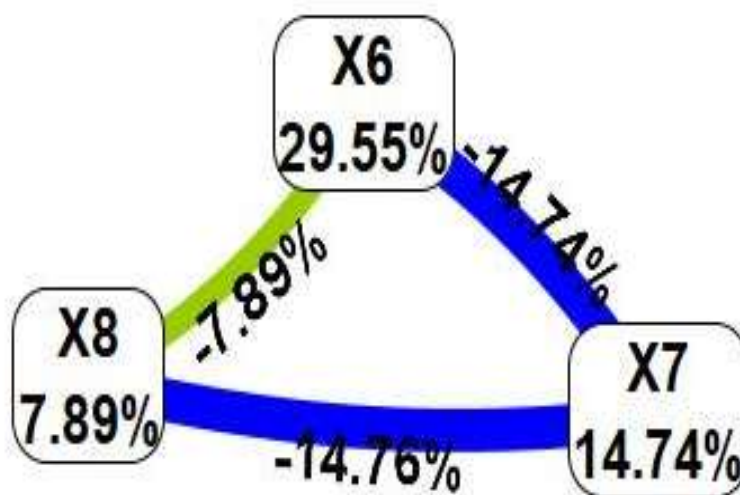
Рисунок 5.9 - Кластерний аналіз ген-генної взаємодії X1 (IL4 rs 2243250), X2 (IL10 rs1800896), X3 (IL10 rs1800872) у вагітних з ПРПО та передчасними пологами(циркулярна дендрограма Fruchterman-Rheingold).



Примітка. IL4 (rs 2243250) 0, 1, 2 – поліморфні варіанти гену IL4 CC (0), TC (1), TT (2); IL10 (rs1800896) 0, 1, 2 – поліморфні варіанти гену IL10 TT (0), TC (1), CC (2); IL10 (rs1800872) 0, 1, 2 – поліморфні варіанти гену IL10 TT (0), TG (1), GG (2).

Рисунок 5.10 - Комбінація поліморфних варіантів генів X6 (IL4 rs 2243250), X7 (IL10 rs1800896), X8 (IL10 rs1800872), асоційованих з терміновими фізіологічними пологами в Запорізькій популяції.

У контрольній групі з доношеною вагітності та терміновими фізіологічними пологами відсоток ентропії досліджуваного поліморфізму кожного гена, базуючись на результатах кластерного аналізу, є високим і становить для гена IL4 – 29,55 %, гену IL10 rs1800896 – 14,74 %, гену IL10 rs1800872 – 7,89 % (рис. 5.11), при наявності незалежного, але статистично значущого ефекту впливу на розвиток ПРПО та передчасних пологів в обстеженій Запорізькій популяції. Характер міжлокусної взаємодії між генами був на рівні «антагоністичні ефекти» впливу (IL4-IL10 rs1800896 = -14,74 %, IL10 rs1800896 – IL10 rs1800872 = -14,76 %, IL10 rs1800872-IL-4 = -7,89 %).



Примітка. синій колір – виражена антагоністична взаємодія; зелений колір – помірною антагоністична взаємодія.

Рисунок 5.11 - Кластерний аналіз ген-генної взаємодії

X6 (IL4 rs 2243250), X7 (IL10 rs1800896), X8 (IL10 rs1800872) у жінок з фізіологічними терміновими пологами (циркулярна дендрограма Fruchterman-Rheingold).

Отримані в нашій роботі дані ми порівняли з результатами інших вчених, аналіз та обговорення яких представлено в розділі №8. Необхідно відразу зауважити, що кількість досліджень по поліморфізму генів по відношенню до ПРПО та передчасних пологів останніми роками істотно зростає. Крім того, результати досліджень одного і того SNP визначаються дизайном дослідження,

вибір груп пацієнтів суттєво відрізняється в різних популяціях та етнічних групах, а вираження цих мутацій залежить від комбінації культурологічних, соціально-економічних та семантичних факторів, які визначаються в цілому стилем життя та харчування зокрема.

Передчасні пологи будучи глобальною проблемою потребує глобальних рішень. Останні дослідження геному починають розкривати інформацію для розуміння причин передчасних пологів. Для того, щоб науково обґрунтувати аспекти патогенезу розвитку ПРПО та передчасних пологів, важливі подальші дослідження з використанням методів секвенування високої пропускнуої здатності та секвенування цілого геному. Враховуючи те, що основною метою сучасного акушерства є зниження захворюваності та смертності передчасно народжених новонароджених, задля надання персоналізованої медичної допомоги та зменшення відсотка передчасних пологів важливо класифікувати вагітних жінок з високим та низким ступенем ризику недоношування.

Програма багатофакторного зменшення розмірності (MDR) допомогла нам створити моделі ген-генної взаємодії з найвищим коефіцієнтом перехресної перевірки та встановити комплексний «незалежний» ефект поліморфного варіанту генів IL4 rs2243250, IL10 rs1800896 та rs1800872 для розвитку ПРПО та передчасних пологів в Українській популяції. Класифікаційна здатність створених моделей, з огляду на високий ступінь щільності (90 % або 100 %), підтвердила ймовірність використання трикомпонентної моделі, що включає три вищезазначені гени, які підвищують ризик ПРПО при недоношеній вагітності зі збалансованою точністю 91,49 % та специфічністю 82,98 % відповідно.

Підсумовуючи дані досліджуваного репертуару генів SNP, включених до нашого дослідження, ми отримали достовірну різницю у всіх маркерах, про що свідчать дані MDR, χ^2 , $p < 0,05$ та показник відношення шансів. Наявність цих алелей може порушувати баланс між про- та протизапальними цитокінами, змінити запальні реакції, збільшуючи ризик розвитку ПРПО та передчасних пологів.

Узагальнюючи отримані дані, варто підкреслити, що комбінація IL4 rs2243250, IL10 rs1800896 та rs1800872 підтверджує роль функціональних поліморфізмів імунорегуляторних генів у розвитку ПРПО та передчасних пологів.

В популяції України наявна достовірна клінічна асоціація між генами rs4742076 та rs3758239 гена RLN2 та ПРПО в терміні гестації 26-34 тижні. Отже, для прогнозування відходження навклоплідних вод при недоношеній вагітності в терміні 26-34 тижні можна використовувати генотипування rs4742076 і rs3758239 гену RLN2, що сприятиме впровадженню персоналізованої медицини, вчасним превентивним заходам та зменшенню кількості передчасних пологів.

Результати даного розділу опубліковано в наукових працях:

1. Lyubomirskaya K. S., Kamyshnyi O. M., Krut Yu. Ya. Association between single nucleotide polymorphism of immunoregulatory genes and preterm premature rupture of membranes in preterm labour. *Патологія*. 2018. Вип. 15, №2. Р. 187-193. (Дисертантом проведені клінічні спостереження, аналіз і узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка до друку).
2. Любомирська К. С. Імуно-генетичні чинники розвитку передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності: акцент на прозапальну ланку імунної відповіді. *Патологія*. 2018. №3(44). С. 309-318.

РОЗДІЛ 6

ГОРМОНАЛЬНИЙ ПРОФІЛЬ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОГО КОМПЛЕКСУ ОБСТЕЖЕНИХ ВАГІТНИХ ОСНОВНОЇ ТА КОНТРОЛЬНОЇ ГРУПИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для фізіологічного перебігу вагітності необхідна адаптація материнської іммуноендокринної системи. Загальний репертуар рецепторів як для цитокінів, так і для нейротрансмітерів, нейропептидів, гормонів і інших типів регуляторів формує загальну комунікаційну мову, що становить континуум крос-регуляторних впливів між цими системами. Функції нагляду за ініціацією і регуляцією реакцій вродженого і адаптивного імунітету не замкнуті межами самої імунної системи і можуть визначатися також участю нервової та ендокринної системами [151; 165; 167; 137-138].

Згідно з поглядами багатьох дослідників світу цілий ланцюг взаємопов'язаних патогенетичних факторів бере участь в реалізації синдрому невиношування вагітності, до яких відносяться: плацентарна дисфункція, гіперактивність прозапальної ланки імунної відповіді та місцевий інфекційно-запальний процес як наслідок, вроджені чи набуті дефекти системи гемостазу, істміко-цервікальна недостатність, нейроендокринні порушення з гестагенною недостатністю [43; 53; 58; 61; 103; 110; 112; 115].

Останніми роками лавиноподібним потоком з'явилися дослідження, присвячені лікуванню загрози передчасних пологів [141; 142; 146; 174] шляхом перорального або інтравагінального застосування гестагенів, оскільки вони пригнічують скоротливу активність міометрія, перешкоджають передчасному вкороченню шийки матки, але профілактують лише передчасні пологи внаслідок дефіциту ендогенного прогестерону [35; 136].

Для оцінки гормонального профілю фетоплацентраного комплексу (ФПК) вагітних з ПРПО в терміні гестації 26-34 тижні, який визначали методом імуноферментного аналізу, проведено визначення рівня гормонів фето-плацентарного комплексу у крові 70 вагітних з ПРПО в терміні вагітності 26-34

тижні гестації, а також у 20 вагітних з доношеною вагітністю, які мали фізіологічний перебіг вагітності та пологів. Всі вагітні були досліджені в III триместрі під час госпіталізації в акушерський стаціонар. Концентрації досліджуваних гормонів ФПК в сироватці крові основної групи та групи контролю показані в табл. 6.1.

Таблиця 6.1 - Гормональний профіль ФПК вагітних досліджуваних груп

	Основна група(n=70)	Група контролю(n=20)
Прогестерон, нг/мл	48,81±43,36*	60,68±47,20
Естрадіол, пг/мл	897,15±855,21	1163,75±1003,63
Хоріонічний гонадотропін людини, МОд/мл	1479,34±734,74 *	1379,94±640,32

Примітка. * - статистична вірогідність значима ($p \leq 0,05$).

Прийнято вважати, що у механізмах благополучного настання, перебігу, збереження і завершення вагітності основна роль відводиться ряду гормонів, серед яких основним протектором вагітності є прогестерон [86; 117-118]. Загальновідомими є множинні напрямки функціональної дії прогестерону на прегестаційному та гестаційному етапах, а саме: секреторна трансформація ендометрію та підготовка його до імплантації, децидуалізація ендометрію та повноцінна інвазія трофобласту, вплив на біосинтез релаксину, експресію рецепторів до окситоцину, блокування транспорту іонів кальцію в цитоплазму міоцитів, що сприяє зниженню тонуусу матки та проходженню електричного імпульсу маткового скорочення [136; 139]. Однак особливий інтерес заслуговує відкритий нещодавно протективний імуно-модулюючий механізм прогестерон-індукованого блокуючого фактору (PIBF), синтезуючись в умовах достатньої концентрації прогестерону та перешкоджає відторгненню плодового яйця, яке

будучи алотрансплантатом містить батьківські антигени чужорідні для матері [85].

Аналізуючи концентрації прогестерону в основній групі дослідження (Рис. 6.1, Рис. 6.2) в залежності від терміну виникнення ПРПО, слід зазначити, що найнижчим даний показник був в терміні 26-27 тижнів та склав 25,89 нг/мл, найвищим 67,45 нг/мл в 31-32 тижні. Відмічено, що в контрольній групі рівень прогестерону в сироватці крові знаходився в референтних межах норми для досліджуваних термінів гестації 26-34 тижні згідно інструкції набору для імуноферментного аналізу Progesterone Test System Monobind № 4825-300 (США).

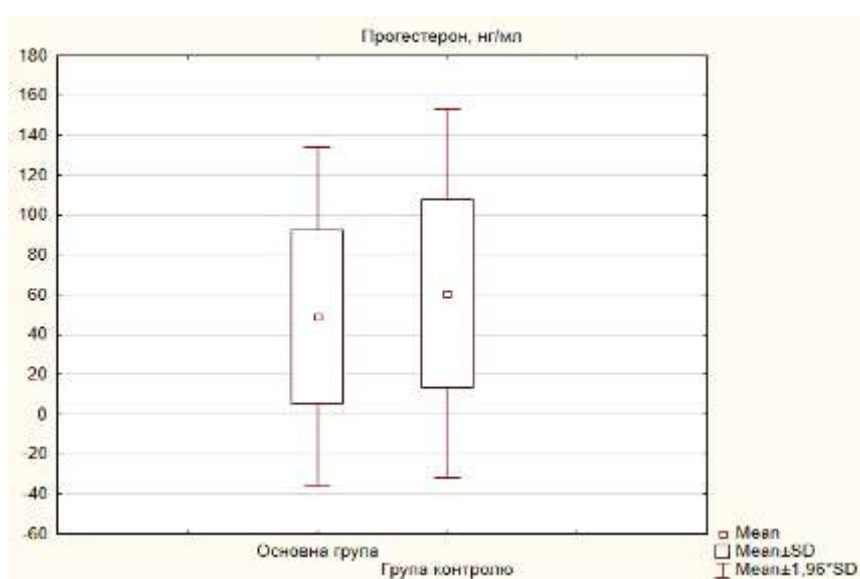


Рисунок 6.1 - Рівень прогестерону (нг/мл) у вагітних досліджуваних груп.

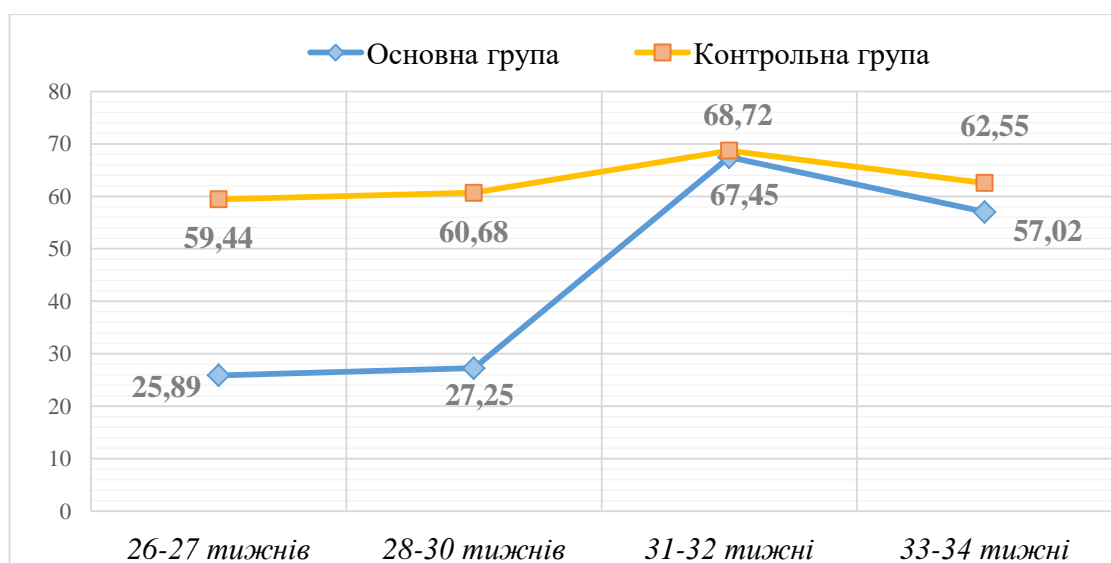


Рисунок 6.2 - Рівень прогестерону (нг/мл) у вагітних в залежності від терміну маніфестації ПРПО в основній групі в порівнянні з групою контролю.

За даними Schumacher A. (2019) та ін. хоріонічний гонадотропін людини (ХГЛ) відіграє провідну регуляторну роль в реалізації імунологічної толерантності матері під час фізіологічного перебігу вагітності [104-105]. ХГЛ—це молекула з безліччю імунологічних властивостей. Цей гормон не тільки регулює місцеву кількість імунних клітин, але також змушує ці клітини прийняти унікальний фенотип з метою підтримки та захисту плода [42; 104].

Robertson S.A. [98] та його колеги надали нові уявлення про функціональність децидуальних клітин Treg. Автори запропонували роль децидуальних клітин Treg у запобіганні надмірних запальних реакцій, викликаних місцевими ефекторними Т-клітинами, підтримуючу функцію для інших лейкоцитів та негемопоетичних клітин у процесі імплантації та безпосередню участь децидуальних клітин Treg у адаптації судин фето-материнського інтерфейсу [56; 66; 98; 102; 128]. ХГЛ впливає на популяцію NK, Treg та В-клітин матки, три основні популяції клітин для збереження вагітності, що демонструє роль цього ембріонального сигналу як вирішального імунного регулятора в процесі вагітності [104].

Для кількісного визначення в сироватці людини β -хоріонічного гонадотропіну людини (hCG) використовували набір hCG Monobind № 5025-300 (США). При дослідженні концентрації ХГЛ встановлено, що в основній групі дослідження найнижчим даний показник був в терміні 26-27 тижнів та склав 1182,8 мОд/мл відповідно (Рис. 6.3). У всіх гестаційних підгрупах основної групи рівень ХГЛ був нижчим за цей показник в відповідному терміні вагітності контрольної групи ($p \leq 0,05$).

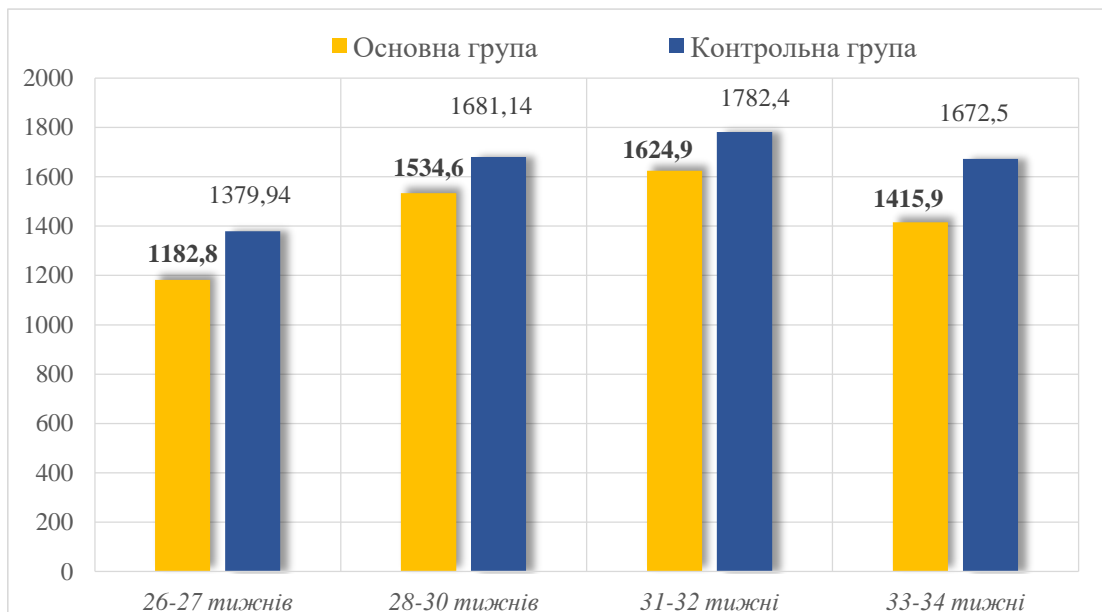


Рисунок 6.3 - Рівень хоріонічного гонадотропіну (мОд/мл) у вагітних в залежності від терміну маніфестації ПРПО в основній групі в порівнянні з групою контролю.

З метою інтеграції оцінки гормонального стану системи мати-плацента-плід та виявлення ендокринних чинників розвитку ПРПО при недоношеній вагітності наступним етапом дослідження було визначення кількісного рівня естрадіолу в сироватці крові вагітних в III триместрі за допомогою набору u-E2 Monobind № 4925-300 (США). Вибір естрадіолу для діагностики гормонального профілю у вагітних обґрунтовано дослідженнями Stubelius A. [114], Das A. [22] та Whittaker P.G.[137-138], в яких було доведено вплив естрадіолу на маркери запалення, кальцієві канали та естрогенові рецептори в телоцитах міометрію з подальшою ініціацією репродуктивних втрат в I триместрі та передчасних пологів [138].

При дослідженні концентрації естрадіолу в сироватці крові вагітних встановлено, що в основній групі найнижчим даний показник був в термінах 28-30 і 26-27тижнів та склав 588,31пг/мл та 653,87 пг/мл відповідно (Рис. 6.4, Рис. 6.5). У всіх гестаційних підгрупах основної групи рівень естрадіолу був нижчим за цей показник в відповідному терміні вагітності контрольної групи($p \leq 0,05$) та нижчим за референтні норми згідно інструкції виробника набору для імуноферментного аналізу Monobind (США).

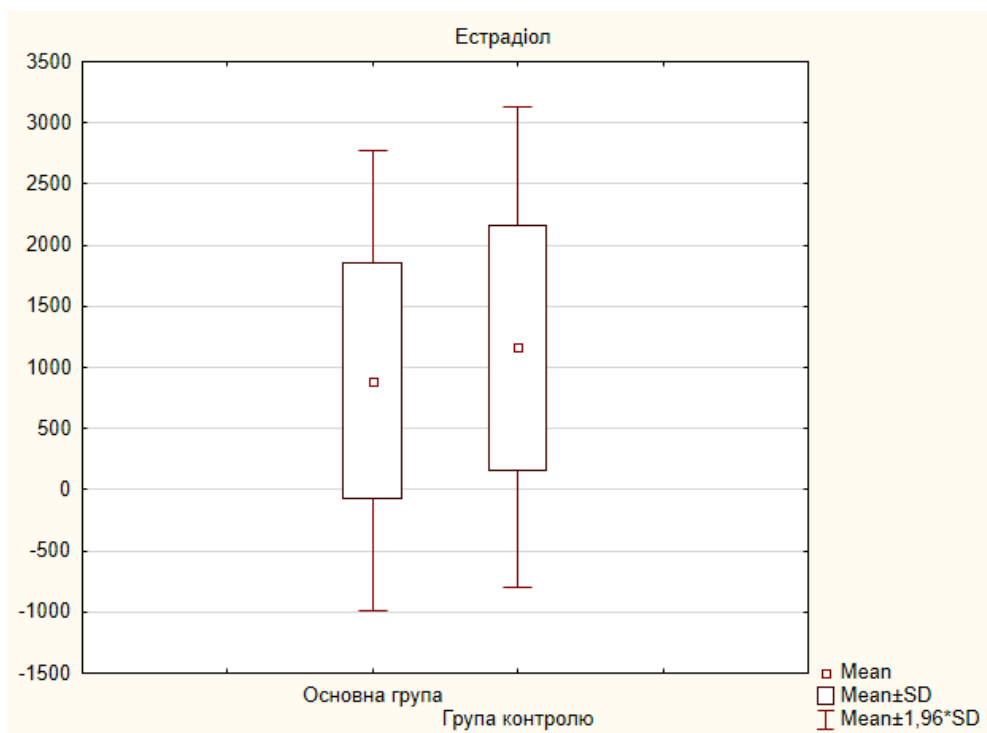


Рисунок 6.4 - Рівень естрадіолу (пг/мл) в III триместрі у досліджуваних вагітних.

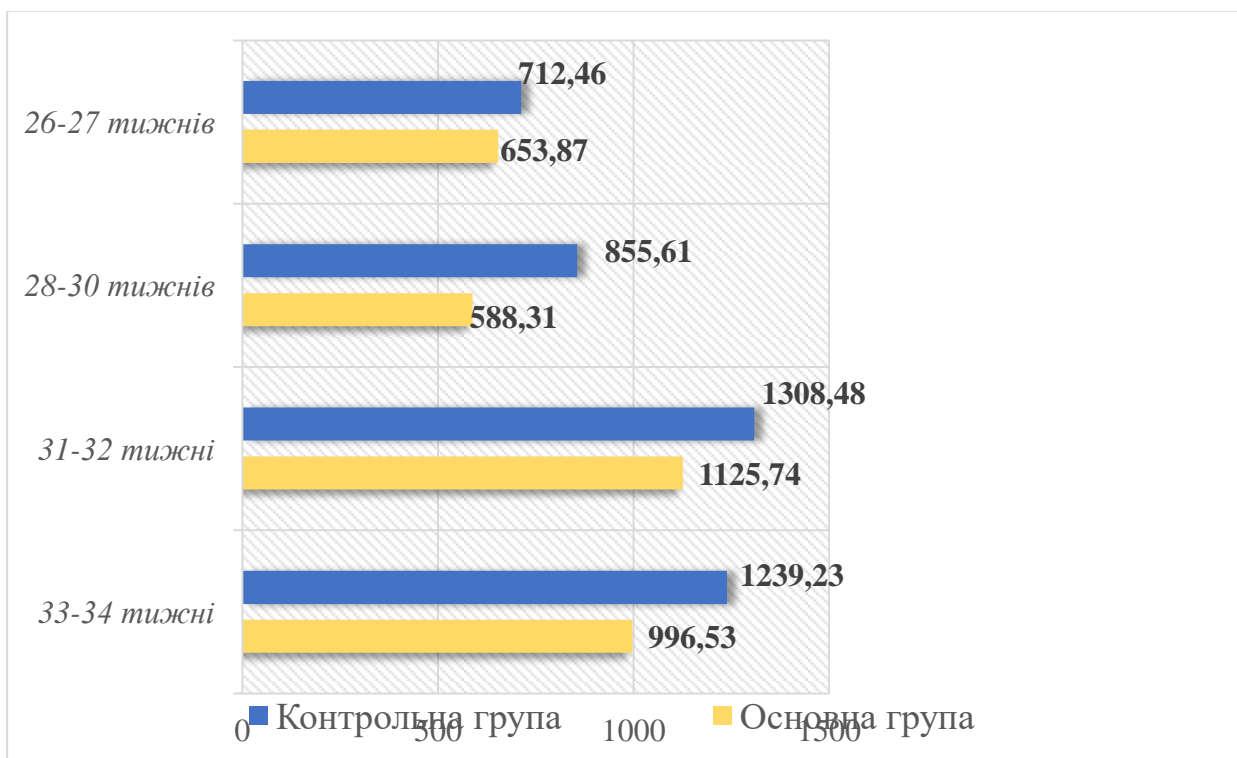


Рисунок 6.5 - Рівень естрадіолу (пг/мл) у вагітних в залежності від терміну маніфестації ПРПО в основній групі в порівнянні з групою контролю.

Для виявлення та оцінки взаємозв'язків між кількісними показниками проводили кореляційний аналіз з визначенням лінійного коефіцієнта кореляції Спірмена (r -Spearman). Під час вивчення кореляційних взаємозв'язків кількісних значень гормонів між собою доведено, що у жінок основної групи встановлений достеменний сильний прямий кореляційний зв'язок ($r=0,87$, $p\leq 0,05$) між рівнем прогестерону та естрадіолу. Тобто, при збільшенні концентрації прогестерону в сироватці крові суттєво зростає рівень естрадіолу. Під час вивчення залежності зв'язків між концентрацією прогестерону та ХГЛ у жінок з ПРПО в 26-34 тижні вагітності встановлено помірну пряму кореляцію, яка також набула статистичної значущості ($r= 0,65$, $p\leq 0,05$).

Маючи за мету оцінити імуномодулюючий ефект гормонів системи мати-плацента-плід, ми дослідили взаємозв'язки між концентрацією прогестерону, естрадіолу, ХГЛ та експресією компонентів вродженого та адаптивного імунітету на місцевому рівні в плодових оболонках та плаценті, що представлено в табл. 6.2 та 6.3 відповідно.

Таблиця 6.2 - Кореляційна залежність концентрацій гормонів ФПК та транскрипційної активності компонентів вродженого та адаптивного імунітету в плодових оболонках у вагітних основної групи (коефіцієнт кореляції r Спірмена)

	TLR2 fm	TLR4 fm	IL1β fm	IL17A fm	Tbet fm	RORyt fm
<i>Прогестерон</i>	0,173529	0,155882	-0,461765	0,655882*	0,147059	0,144118
<i>ХГЛ</i>	0,011773	0,562178*	-0,337013	-0,419426	0,225166	0,101545
<i>Естрадіол</i>	0,091176	-0,020588	-0,411765	-0,56470*	0,211765	0,200000
<i>TLR2 fm</i>	1,000000	0,147059	-0,335294	-0,070588	-0,305882	-0,258824
<i>TLR4 fm</i>	0,147059	1,000000	-0,226471	0,017647	0,000000	-0,211765
<i>IL1β fm</i>	-0,335294	-0,226471	1,000000	0,802941*	0,191176	0,258824
<i>IL17A fm</i>	-0,070588	0,017647	0,80294*	1,000000	-0,094118	-0,111765
<i>Tbet fm</i>	-0,305882	0,000000	0,191176	-0,094118	1,000000	0,932353*
<i>RORyt fm</i>	-0,258824	-0,211765	0,258824	-0,111765	0,932353*	1,000000

Примітка. * - статистична вірогідність $p\leq 0,05$.

Таблиця 6.3 - Кореляційна залежність концентрацій гормонів ФПК та транскрипційної активності компонентів вродженого та адаптивного імунітету в децидуальній частині плаценти у вагітних основної групи (коефіцієнт кореляції r Спірмена)

	TLR2 pl	TLR4 pl	IL1β pl	IL17A pl	Tbet pl	RORyt pl
<i>Прогестерон</i>	0,432353	-0,135294	-0,217647	0,067647	-0,258824	0,147059
<i>ХГЛ</i>	0,550405*	-0,150110	-0,369389	0,456218	-0,001472	0,493010
<i>Естрадиол</i>	0,144118	0,076471	-0,264706	0,038235	-0,202941	0,155882
<i>TLR2 pl</i>	1,000000	-0,173529	-0,60882*	0,244118	-0,379412	0,314706
<i>TLR4 pl</i>	-0,173529	1,000000	-0,155882	0,123529	-0,317647	0,232353
<i>IL1β pl</i>	-0,60882*	-0,155882	1,000000	-0,097059	0,644118*	-0,182353
<i>IL17A pl</i>	0,244118	0,123529	-0,097059	1,000000	0,126471	0,932353*
<i>Tbet pl</i>	-0,379412	-0,317647	0,644118*	0,126471	1,000000	0,067647
<i>RORyt pl</i>	0,314706	0,232353	-0,182353	0,932353*	0,067647	1,000000

Примітка. * - статистична вірогідність $p \leq 0,05$.

Аналізуючи кореляційні матриці між концентрацією гормонів системи мати-плацента-плід та рівнем експресії компонентів вродженої та адаптивної імунної системив плаценті та плодових оболонках варто детально розглянути імуномодулюючий ефект кожного з досліджених гормонів.

Нами була виявлена достовірна помірна зворотна кореляційна залежність між концентрацією прогестерону в сироватці крові та транскрипційною активністю прозапального IL17 α в плодових оболонках у жінок основної групи ($r = -0,66$, $p < 0,05$), що вказує на безпосередній вплив прогестерону не тільки на виношування вагітності та тонус міометрію, але і на реалізацію протизапальної ланки імунної відповіді. Отримані статистичні дані кореляційних зв'язків вказують, що при зниженні рівні прогестерону в сироватці крові вагітної збільшується експресія компонентів прозапального адаптивного імунітету (рис. 6.6).

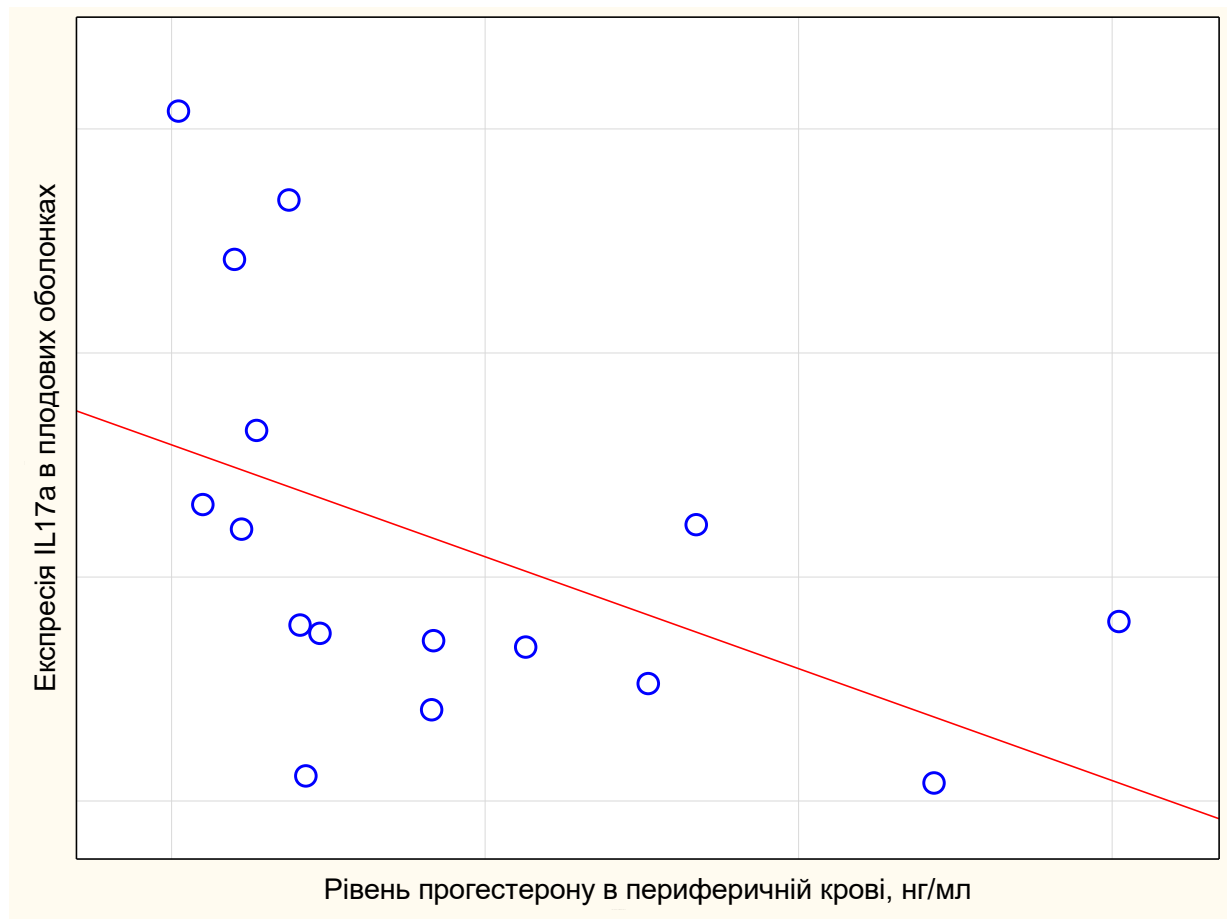


Рисунок 6.6 - Кореляційний зв'язок рівня прогестерону в периферичній крові (нг/мл) та транскрипційної активності IL17 α в плодових оболонках у жінок з ПРПО в термінах вагітності 26-34 тижні.

Подібна тенденція, що набула статистичної значущості спостерігалась в наявності помірної зворотньої кореляційної залежності між концентрацією естрадіолу та транскрипційною активністю також IL17 α в плодових оболонках ($r = -0,57$, $p < 0,05$), що вказує на схожий з прогестероном імуномодулюючий ефект даного гормону фето-плацентарного комплексу. На рис. 6.7 показано, що при зниженні рівня естрадіолу відбувається збільшення експресії прозапального IL17 α в плодових оболонках, що формуєумови для реалізації інтраамніального інфікування та виникнення ПРПО в термінах вагітності 26-34 тижні.

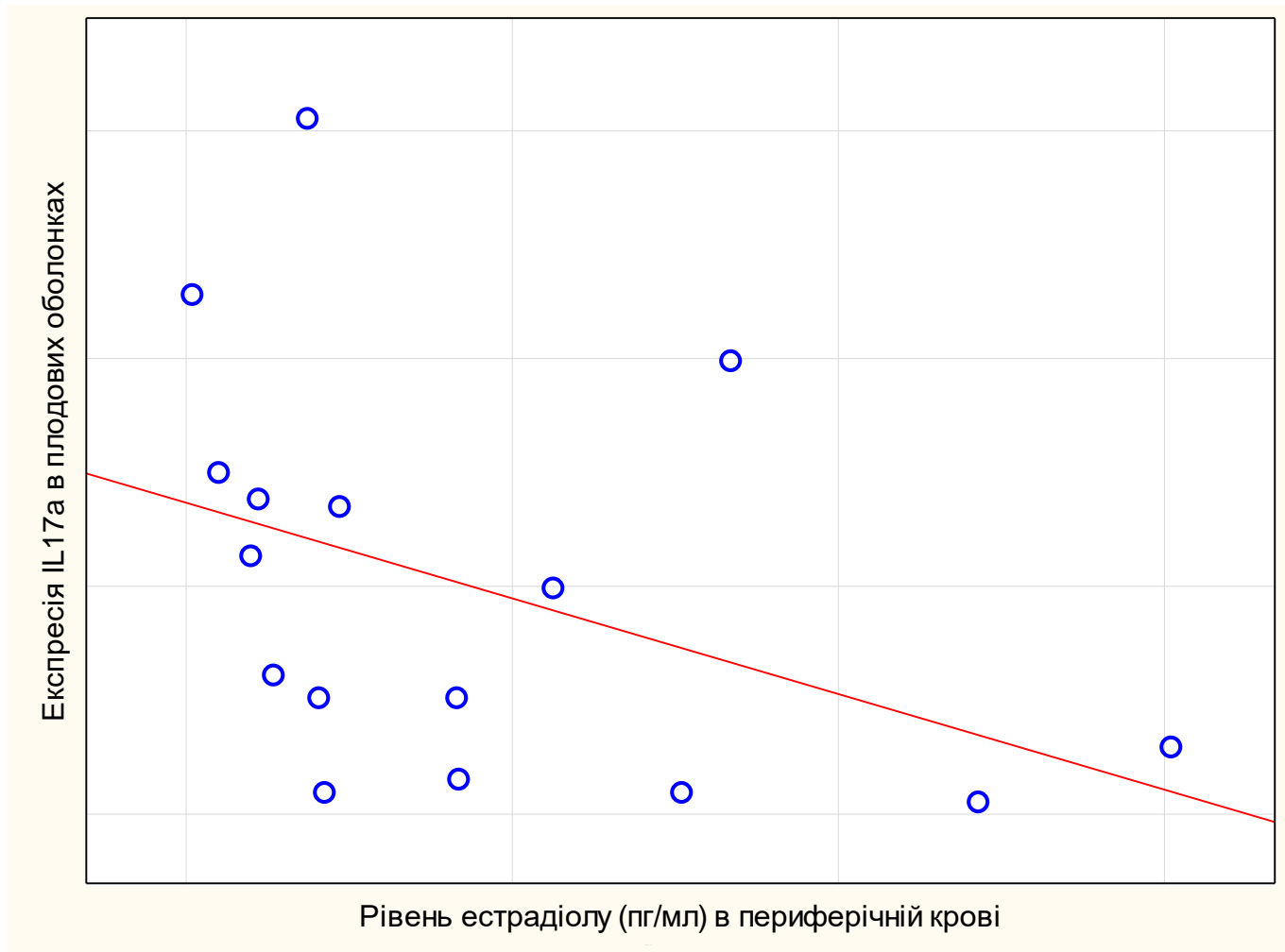


Рисунок 6.7 - Кореляційний зв'язок рівня естрадіолу в периферичній крові (пг/мл) та транскрипційної активності IL17 α в плодових оболонках у жінок з ПРПО при недоношеній вагітності.

В нашому дослідженні нам вдалось довести важливу роль хоріонічного гонадотропіну людини в формуванні імунологічної толерантності не тільки на ранніх термінах вагітності, але й в термінах 26-34 тижні (рис. 6.8). Була виявлена достеменно пряма кореляційна залежність помірної сили між концентрацією ХГЛ та експресією вродженого імунітету TLR2 в плаценті ($r=0,55$, $p<0,05$) та TLR4 в плодових оболонках ($r=0,56$, $p<0,05$). Іншими словами, збільшення рівня ХГЛ призводить до підвищення активності компонентів протизапального вродженого імунітету як в плаценті, так і в плодових оболонках.

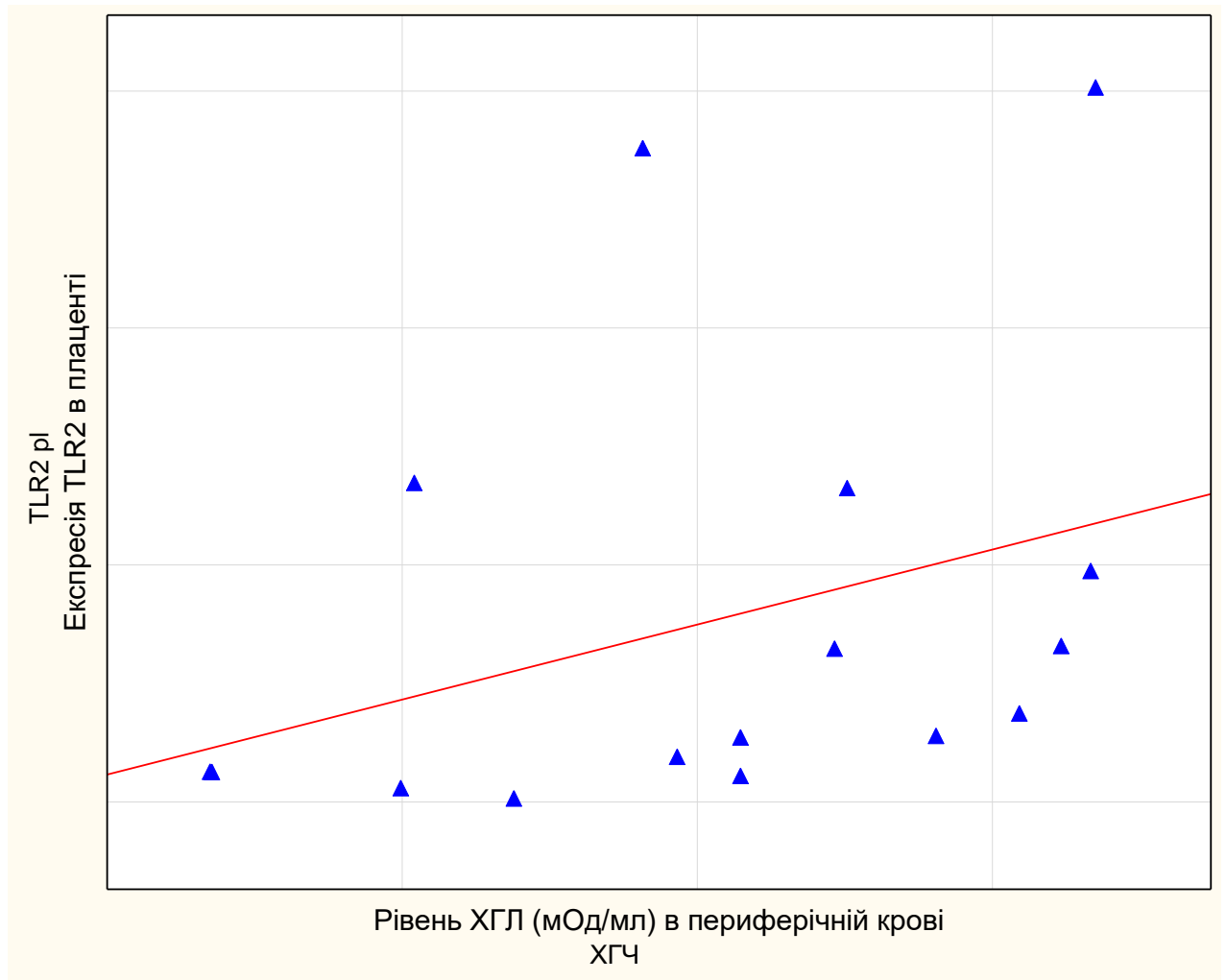


Рисунок 6.8 - Кореляційний зв'язок рівня ХГЛ в периферичній крові (мОд/мл) та транскрипційної активності TLR2 в плаценті у жінок з ПРПО при недоношеній вагітності.

Слід окремо підкреслити статистично вірогідний дуже сильний прямий кореляційний зв'язок між експресією в плаценті та плодових оболонках регулятора диференціювання Th1 типу – Tbet та RAR-related orphan receptor gammat Th17 типу – ROR γ t ($r=0,93$, $p<0,01$). Тобто, у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності при збільшенні транскрипційної активності прозапальних Т-хелперів 1 типу збільшується активність прозапальних Т-хелперів 17 типу. Про взаємний потенціуючий ефект прозапальної імунної відповіді в плодових оболонках також свідчить статистично вірогідна дуже сильна пряма кореляційна залежність між експресією IL1 β та IL17 α ($r=0,80$, $p<0,01$).

Наступним етапом дослідження було встановлення взаємозв'язків між концентраціями прогестерону, естрадіолу, ХГЛ в сироватці крові вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності, короткою шийкою матки та однонуклеотидним поліморфізмом (SNP) генів релаксину. Сформована кореляційна матриця продемонстрована в табл. 6.4.

Таблиця 6.4 - Кореляційна залежність концентрацій гормонів ФПК, короткої шийки матки та однонуклеотидного поліморфізму RLN2 (rs4742076 та rs3758239) у вагітних основної групи (коефіцієнт кореляції r Спірмена)

	Термін гестації	ІЦН	RLN2 (rs4742076)	RLN 2 (rs3758239)	Прогестерон	ХГЛ	Естрадіол
Термін гестації	1,00000	0,0116	0,28842*	-0,044204	0,33584*	0,14233	0,17264
ІЦН	0,0116	1,0000	0,081260	-0,14975	0,083354	0,07354	0,04423
RLN2 (rs4742076)	0,288*	0,0860	1,000000	-0,056699	0,093099	0,02797	-0,04569
RLN 2 (rs3758239)	-0,044	-0,1495	-0,056699	1,000000	0,003106	-0,04237	0,06128
Прогестерон	0,335*	0,0834	0,093099	0,003106	1,000000	0,6573*	0,8729*
ХГЛ	0,1428	0,0737	0,027797	-0,042137	0,65759*	1,0000	0,6790*
Естрадіол	0,1745	0,042	-0,045699	0,061281	0,87286*	0,6796*	1,00000

Примітка. * - статистична вірогідність $p \leq 0,05$.

Нами не була знайдена статистично значуща кореляційна залежність між рівнем гормонів системи мати-плацента-плід, короткою шийкою матки та наявністю SNP в генотипах RLN2 (rs4742076 та rs3758239). Але виявлена статистично вірогідна пряма кореляційна залежність середньої сили між рівнем прогестерону та терміном вагітності, в якому виник ПРПО ($r=0,34$, $p < 0,05$). Тобто, при збільшенні концентрації прогестерону в сироватці крові вагітної збільшувався термін маніфестації передчасного вилиття навколоплідних вод, що

підтверджує безпосередній вплив даного гормону на виношування вагітності. Пряма кореляційна залежність слабкої сили, яка набула статистичної значущості, спостерігалась між наявністю однонуклеотидного поліморфізму генів RLN2 (rs4742076) та терміном маніфестації ПРПО ($r=0,34$, $p< 0,05$).

Резюмуючі отримані в даному розділі дані можливо зробити висновок, що зниження гормон-продукуючої функції системи мати-плацента-плід має достеменно пряму кореляційну залежність з прозапальними імунними реакціями в децидуальній тканині плаценти та плодових оболонках, що підвищує ризик передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності з подальшою ініціацією передчасних пологів в терміні 26-34 тижні гестації.

Результати даного розділу опубліковано в наукових працях:

1. Любомирська К. С. Імуно-генетичні чинники розвитку передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності: акцент на прозапальну ланку імунної відповіді. *Патологія*. 2018. №3(44). С. 309-318.

РОЗДІЛ 7

ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕДЧАСНОГО РОЗРИВУ ПЛОДОВИХ ОБОЛОНОК ПРИ НЕДОНОШЕНІЙ ВАГІТНОСТІ ТА СТАТИСТИЧНА ОБРОБКА ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

7.1 Прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в термінах гестації 26-34 тижнів за допомогою методу логістичної регресії, ROC-аналізу

Зібраний і проаналізований клінічний матеріал дозволяє зробити висновок, що для виявлення груп високого ризику недоношування вагітності потрібно робити оцінку реакції організму на інфекційний процес. Загальновідомими але маловивченими у жінок з ПРПО в терміні гестації 26-34 тижні методами ідентифікації особливостей формування про- або протизапальної імунної відповіді є розрахунок співвідношення популяцій клітин крові, точніше визначення лейкоцитарних індексів інтоксикації (ЛІІ) [174]. Разом з тим наявні погляди щодо цього питання не були об'єктом спеціального вивчення, що свідчить про недостатнє висвітлення чутливості та специфічності лейкоцитарних маркерів запалення при ПРПО та робить актуальним дослідження діагностичних характеристик індексів ендогенної інтоксикації (ЕІ) у вагітних з ПРПО при недоношеній вагітності [174].

За допомогою ROC-аналізу визначено точки розмежування значень обраних чинників, які забезпечують його максимальну прогностичну цінність за показниками чутливості і специфічності. Дані ROC аналізу представляли як середнє значення площі під ROC-кривою (AUC – Area Under Curve), побудованою за показниками чутливості (ЧТ) і специфічності (СП), і межі 95 % довірчого інтервалу (95 % ДІ). З метою оцінки внеску клініко-анамнестичних, лабораторних та молекулярно-генетичних чинників у вірогідність розвитку ПРПО при недоношеній вагітності розраховували відносний ризик та відношення шансів (ВР – RR, ВШ – OR) з визначенням 95 % довірчого інтервалу (ДІ – СІ). Якщо значення RR та OR [СІ 95 %] від 0 до 1, то це відповідає зниженню ризику; при

показниках RR та OR [CI 95 %] рівних 1 – відсутність ефекту; при RR та OR [CI 95 %] вищих за 1 – підвищений ризик.

Для прийняття рішення щодо віднесення пацієток до групи ризику ПРПО використано метод послідовного оцінювання з граничними межами LR+ та LR-. Концепція коефіцієнта правдоподібності (LR) допомагає надати інтерпретацію тесту: це співвідношення ймовірності того, що даний результат тесту буде знайдений у пацієнта, який має захворювання, у порівнянні з імовірністю того, що результат тесту виявиться у пацієнта, який не має захворювання. Позитивне відношення правдоподібності (LR+) – це відношення ймовірності отримання позитивного результату тесту у пацієнта з захворюванням, до цієї ймовірності у пацієнта, який не має цього захворювання (тобто відношення істинно позитивного до хибно позитивного). Негативний коефіцієнт правдоподібності (LR-) – це відношення ймовірності отримання негативного результату тесту у пацієнта з хворобою, до цієї ймовірності у пацієнта, який не має цього захворювання (тобто відношення хибно негативних показників до істинно негативних показників).

$$LR_{+} = \frac{Se}{1 - Sp} \quad LR_{-} = \frac{1 - Se}{Sp} \quad (7.1)$$

При вивченні факторів ризику ПРПО при недоношеній вагітності використовували метод множинної логістичної регресії. За допомогою рівнянь логістичної регресії визначено, які з предикторів впливають на наслідки, та, використовуючи їх значення, виконана оцінка ймовірності того чи іншого наслідку.

Для визначення діагностичної цінності рівня гематологічних показників (рівень лейкоцитів (WBC), гранулоцитів (GRAN), лімфоцитів (LYM) в периферичній крові) та індексів EI як предикторів ПРПО та ініціації передчасних пологів у терміні гестації 26-34 тижні нами проведено ROC-аналіз і встановлено середню якість цих прогностичних факторів.

Оптимальна точка відсічки (cut-off value) для прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності за критерієм максимального балансу між чутливістю і специфічністю, відповідала для $WBC > 12,3 \text{ }^9/\text{л}$ (рис. 7.1), для $LYM < 19\%$ (рис. 7.2), $GRAN > 76\%$ (рис. 7.3), $NLR > 3,87$ (рис. 7.4), ЛП Кальф-Каліфа $> 3,42$ (рис. 7.5), ЛП Островського $> 2,76$ (рис. 7.6). Встановлено, що площа під кривою (AUROC) становила 0,786 для WBC , 0,863 для LYM , 0,847 для $GRAN$, 0,866 для NLR , 0,753 для ЛП Островського, що свідчить про значиму прогностичну цінність досліджуваних предикторів (табл. 7.1). Основні операційні характеристики діагностичної ефективності предикторів ПРПО та передчасних пологів представлені нижче.

Таблиця 7.1 - Операційні характеристики діагностичної ефективності гематологічних показників ЕІ як предикторів ПРПО та передчасних пологів

Показник	Точка розмежування	Чутливість, %	Специфічність, %	Цінність позитивного прогнозу, %	Цінність негативного прогнозу, %
<i>WBC</i>	$> 12,3^9/\text{л}$	63,75	88	61,54	38,46
<i>LYM</i>	$\leq 19 \%$	73,75	90	61,54	38,46
<i>GRAN</i>	$> 76 \%$	68,75	94	61,54	38,46
<i>NLR</i>	$> 3,87$	73,75	90	61,54	38,46
<i>ЛП Кальф-Каліфа</i>	$> 3,42$	36,71	92	60,77	39,23
<i>ЛП Островського</i>	$> 2,76$	67,09	70	61,24	38,76

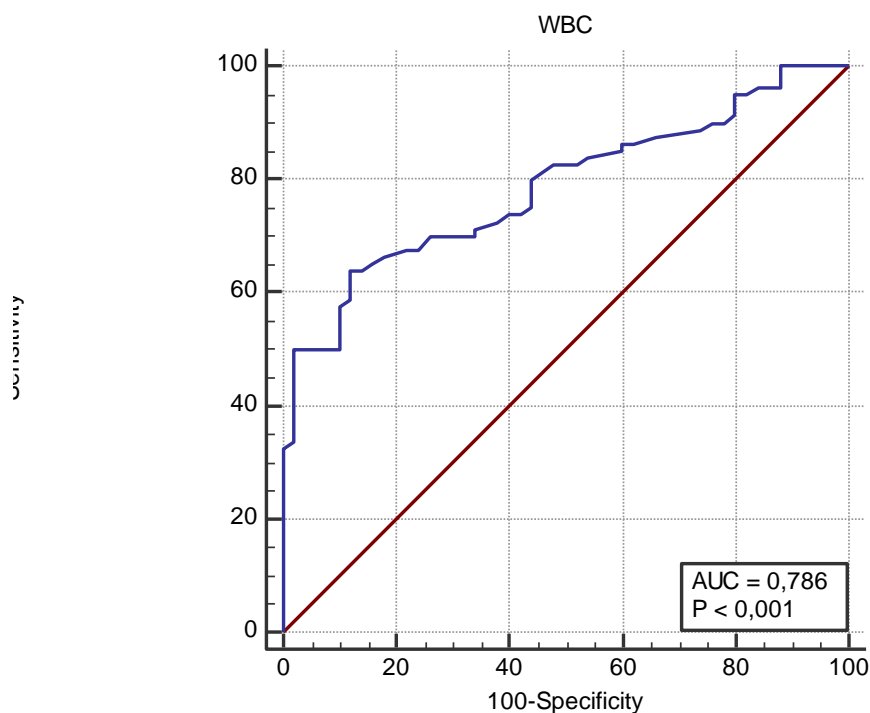


Рисунок 7.1 - Крива ROC-аналізу для прогнозування ризику ПРПО при недоношеній вагітності, залежно від концентрації лейкоцитів (WBC) в периферичній крові.

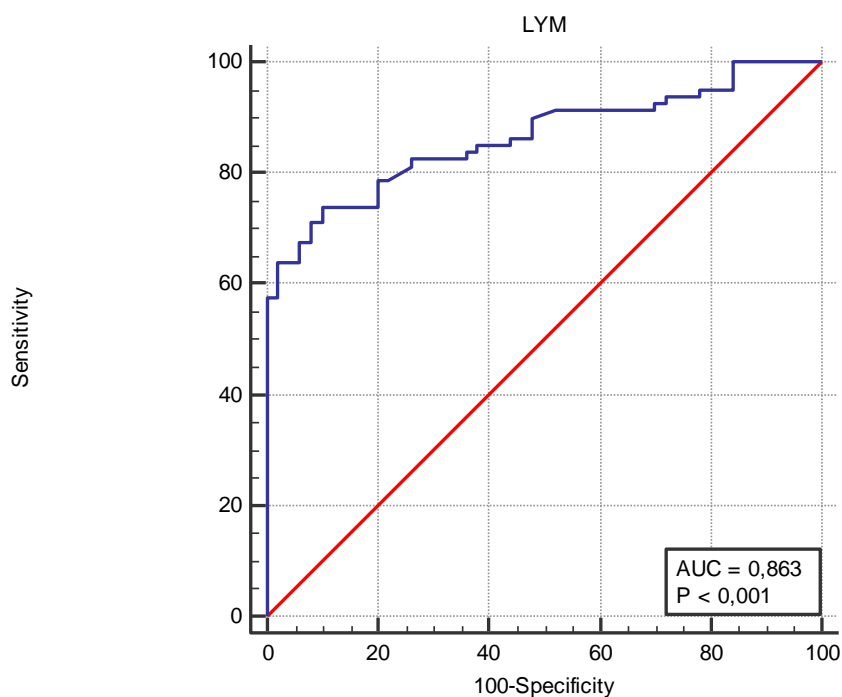


Рисунок 7.2 - Крива ROC-аналізу для прогнозування ризику ПРПО при недоношеній вагітності, залежно від концентрації лімфоцитів (LYM) в периферичній крові.

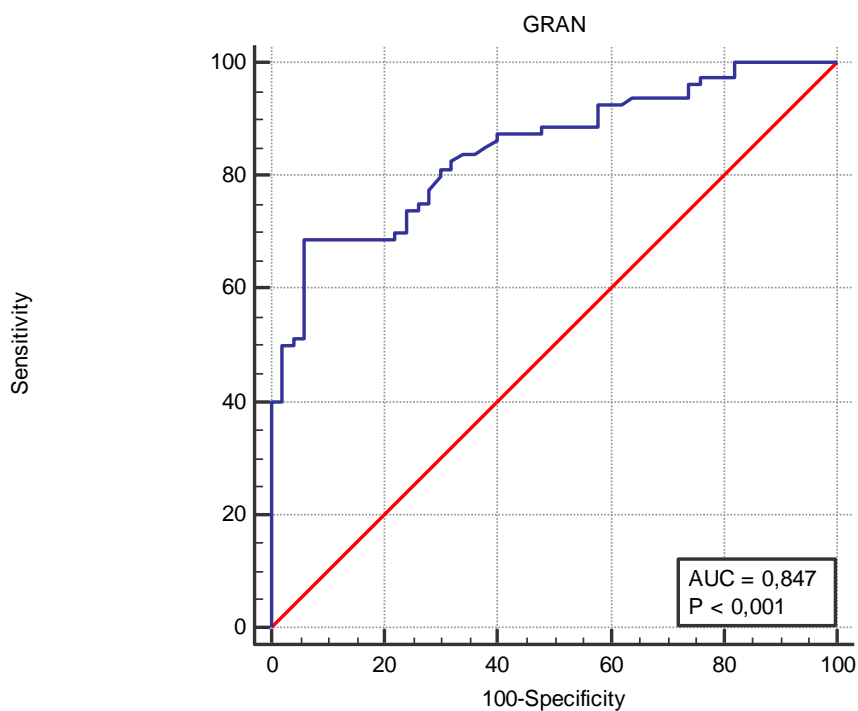


Рисунок 7.3 - Крива ROC-аналізу для прогнозування ризику ПРПО при недоношеній вагітності, залежно від концентрації гранулоцитів (GRAN) в периферичній крові.

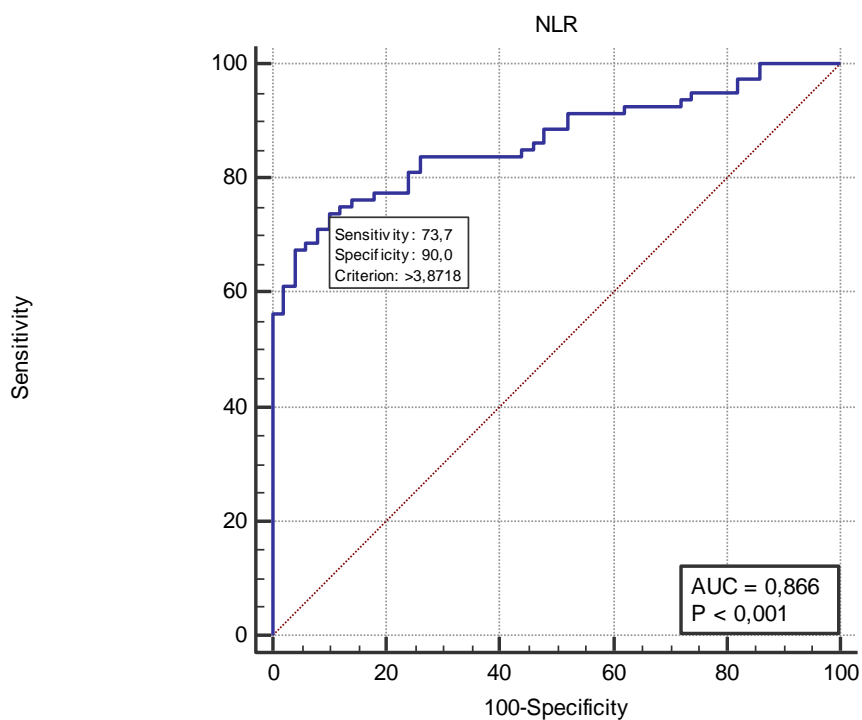


Рисунок 7.4 - Крива ROC-аналізу для прогнозування ризику ПРПО при недоношеній вагітності, залежно від показника NLR.

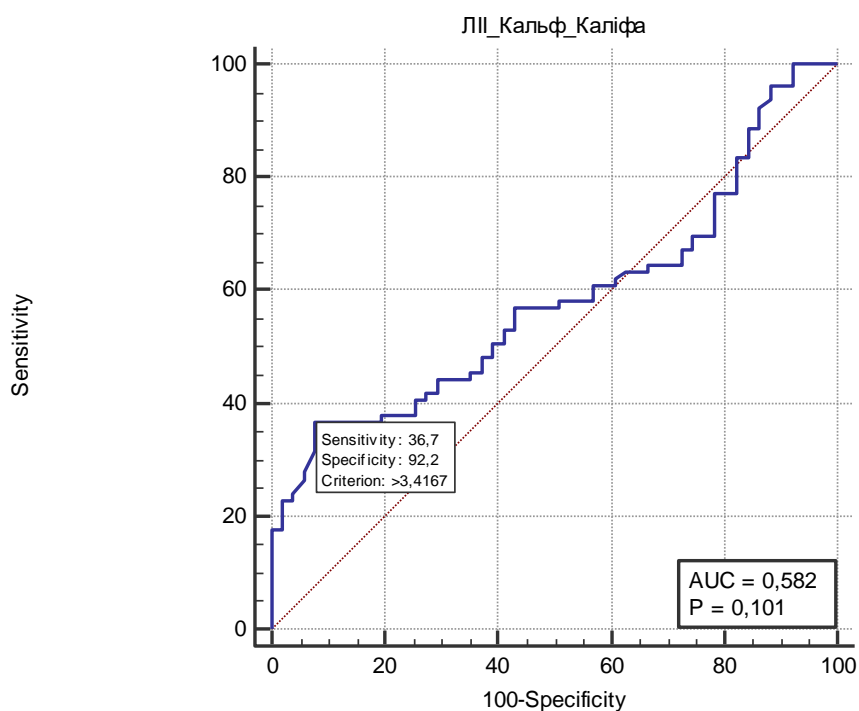


Рисунок 7.5 - Крива ROC-аналізу для прогнозування ризику ПРПО при недоношеній вагітності, залежно від показника індексу ендогенної інтоксикації Кальф-Каліфа.

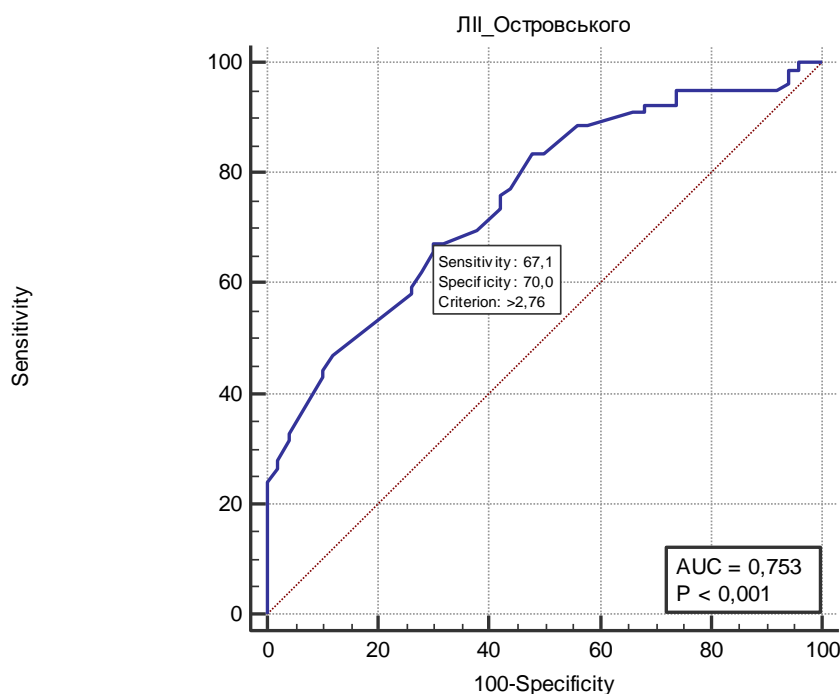


Рисунок 7.6 - Крива ROC-аналізу для прогнозування ризику ПРПО при недоношеній вагітності, залежно від показника індексу ендогенної інтоксикації Островського.

За допомогою інтегративного аналізу анамнезу, перебігу вагітності та лабораторних показників пацієток основної та контрольної груп дослідження було виділено 11 чинників, які підвищували ризик ПРПО при недоношеній вагітності та ініціації передчасних пологів. Зокрема, шанси невиношування вагітності вірогідно ($p < 0,01$) зростають у мешканок сільських районів у 2,25 рази (95 % CI 1,22-4,14), у жінок з показником GRAN > 76 % в 11,46 рази (95 % CI 3,75-35,03), при збільшенні WBC > 12,3 $\times 10^9$ /л в 3,54 рази (95 % CI 1,91-6,58), при наявності передчасних пологів в анамнезі – у 8,13 (95 % CI 1,08-61,37) рази, LYM \leq 19 % – в 7,25 (95 % CI 3,10-16,97) рази, при підвищенні рівня NLR понад 3,87 – у 6,15 (95 % CI 2,85-13,26) разів, рівня ЛШ Кальф-Каліфа більше 3,42 – в 4,53 (95 % CI 1,68-12,23) рази, при підвищенні ЛШ Островського понад 2,76 – 2,37 (95 % CI 1,54-3,64) рази.

Ризик ПРПО в терміні гестації 26-34 тижні з подальшим розвитком передчасних пологів зростає при наявності загальновідомих предикторів – істміко-цервікальної недостатності (OR=4,55, 95 % CI 1,25-16,55), порушенні мікробіоценозу піхви за даними бактеріологічного дослідження (OR=4,33, 95 % CI 1,52-12,33), а також недостатності матково-плацентарно-плодового кровообігу (OR=4,64, 95 % CI 1,48-14,53). В таблиці 7.2 показана характеристика предикторів ПРПО при недоношеній вагітності в порядку зниження відносного ризику та відношення шансів.

Нам не вдалось знайти тенденцію, що набула статистичної значущості в зв'язку з передчасними пологами безсимптомної бактеріурії (OR=1,00, 95 % CI 0,30-3,28), віці вагітної > 35 років (OR=2,61, 95 % CI 0,89-7,64), наявності в анамнезі ранніх репродуктивних втрат (OR=2,61, 95 % CI 0,89-7,64), хронічного аднекситу в анамнезі (OR=0,50, 95 % CI 0,17-1,50) та хронічного пієлонефриту (OR=0,50, 95 % CI 0,17-1,50), відповідно з чим дані фактори були виключені з формування моделі прогнозування передчасних пологів, асоційованих з ПРПО.

Таблиця 7.2 - Порівняльна характеристика предикторів ПРПО при недоношеній вагітності та ризику розвитку передчасних пологів

Ознака наявності		Частоти в групах				RR [CI95%]	OR [CI 95%]
		Абс., люд.		Віднос., %			
		ОГ	ГК	ОГ	ГК		
GRAN, %>76	Так	55	3	68,75	6	11,46 [3,75-35,03]	34,47 [9,67-122,88]
	Ні	25	47	31,25	94		
Наявність передчасних пологів в анамнезі	Так	13	1	16,25	2	8,13 [1,08-61,37]	9,51 [1,18-76,61]
	Ні	67	49	83,75	98		
LYM, % ≤19	Так	58	5	72,5	10	7,25 [3,10-16,97]	23,73 [8,25-68,22]
	Ні	22	45	27,5	90		
NLR >3,87	Так	59	6	73,75	12	6,15 [2,85-13,26]	20,6 [7,6-55,84]
	Ні	21	44	26,25	88		
ЛП Кальфа-Каліфа >3,42	Так	29	4	36,25	8	4,53 [1,68-12,23]	6,54 [2,11-20,23]
	Ні>	51	46	63,75	92		
Істміко-цервікальна недостатність	Так	18	3	22,5	6	3,75 [1,15-12,22]	4,55 [1,25-16,55]
	Ні	62	47	77,5	94		
Порушення МППК	Так	23	4	28,75	8	3,59 [1,31-9,87]	4,64 [1,48-14,53]
	Ні	57	46	71,25	92		
WBC, ⁹/л >12,3	Так	51	9	63,75	18	3,54 [1,91-6,58]	8,01 [3,39-18,96]
	Ні	29	41	36,25	82		
УПФ та/або ПФ в мікробіоценозі піхви (бакпосів)	Так	26	5	32,5	10	3,25 [1,32-7,98]	4,33 [1,52-12,33]
	Ні	54	45	67,5	90		
Мешканка віддалених сіл та районів	Так	36	10	45	20	2,25 [1,22-4,14]	3,27 [1,43-7,50]
	Ні	44	40	55	80		
ЛП Островського > 2,76	Так	53	16	66,25	32	2,37 [1,54-3,64]	6,63 [2,93-14,97]
	Ні	17	34	21,25	68		

Для прийняття рішення щодо віднесення пацієток до групи ризику ПРПО методом послідовного оцінювання вважали достатньою чутливість 95 %, специфічність 95 %, при цьому позитивний коефіцієнт правдоподібності (LR+) приймає значення 19, а негативний коефіцієнт правдоподібності (LR-) приймає значення $1/19$, або 0,05. 31+ прогнозуванні передчасних пологів, асоційованих з ПРПО, використовуючи значення RR відповідного предиктора (див. табл. 7.2), можливо стратифікувати вагітних з високим (LR+=19 або>) та низьким (LR-=0,05 або<) ризиком та розробити алгоритм подальшої тактики ведення вагітності та оптимізувати превентивні заходи.

Для виявлення найбільш чутливих предикторів ризику розвитку передчасних пологів ми застосували метод множинного лінійного покрокового регресійного аналізу. Встановлено, що найбільш значущими незалежними предикторами передчасних пологів у жінок цієї категорії є: гематологічні показники рівня EI, а саме WBC, LYM та GRAN. Значення коефіцієнтів B являють собою натуральні логарифми співвідношення шансів відповідних змінних. Наявність у вагітної тої чи іншої незалежної змінної підвищує шанси виникнення акушерських ускладнень у EXP (B) разів. Математичний зв'язок між залежною (ймовірність передчасних пологів) та незалежними (обраними в процесі мультиваріантного регресійного аналізу) змінними описує множинне рівняння логістичної регресії:

$$Y = \frac{1}{1 + e^{-x}}, \quad (7.2)$$

$$\text{де } X = -8,85 + 0,19 * \text{WBC} - 0,09 * \text{LYM} + 0,12 * \text{GRAN}.$$

Запропонована нами прогностична модель є адекватною, зручною для застосування в практичній медицині та дає змогу з 85 % чутливістю, 72 % специфічністю оцінити ймовірність виникнення ПРПО при недоношеній вагітності.

Слід підкреслити, що 16,25 % пацієток з основної групи дослідження (в порівнянні з 2 % групи контролю) в анамнезі вже мали передчасні пологи, що вказує на особисту генетичну схильність до виникнення даного ускладнення. З метою інтеграції опублікованих раніше даних, на базі проведеного молекулярно-генетичного дослідження SNP генів IL1 β (rs 1143627), TNF α (rs 1800629), IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800872 та rs1800896), RLN2 (rs4742076 та rs3758239) нам вдалось виділити генетичні маркери, асоціація яких набула статистичної значущості в популяції Запорізької області (табл. 7.3).

Таблиця 7.3 - Генетичні маркери, відібрані для прогнозування ризику ПРПО в терміні гестації 26-34 тижні та ініціації передчасних пологів в популяції України

Ознака наявності		Частоти в групах				RR [CI 95%]	OR [CI 95%]
		Абс., люд.		Віднос., %			
		ОГ	ГК	ОГ	ГК		
СТ генотип поліморфізму <i>RLN2 (rs4742076)</i>	Так	17	1	34	2	17 [2,29-125,67]	25,24 [3,12-204,1]
	Ні	33	49	66	98		
GG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872)	Так	25	2	50	4	12,5 [3,07-50,85]	24 [5,16-111,73]
	Ні	25	48	50	96		
AA генотип поліморфізму <i>RLN2 (rs3758239)</i>	Так	47	27	94	54	1,74 [1,33-2,28]	13,34 [3,61-49,41]
	Ні	3	23	6	46		
AG генотип поліморфізму <i>RLN2 (rs3758239)</i>	Так	3	18	6	36	0,67 [0,05-0,54]	0,11 [0,03-0,42]
	Ні	47	32	94	64		
CC генотип поліморфізму <i>RLN2 (rs4742076)</i>	Так	29	49	58	98	0,59 [0,46-0,75]	0,03 [0,00-0,23]
	Ні	21	1	42	2		
TG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872)	Так	18	37	36	74	0,49 [0,32-0,73]	0,19 [0,08-0,47]
	Ні	32	13	64	26		

Протективним ефектом наділені AG генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239) – RR=0,67 95 % CI 0,05-0,54; CC генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076) – RR=0,59 95 % CI 0,46-0,75; TG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872) – RR=0,49 95 % CI 0,32-0,73. В популяції Запорізької області наявність CT генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076) підвищує ризик ПРПО при недоношеній вагітності в 17 разів (95 % CI 2,29-125,67), GG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872) в 12,5 разів (95 % CI 3,07-50,85) та AA генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239) в 1,74 рази (95 % CI 1,33-2,28).

Отже, на антенатальному етапі, за даними нашого дослідження, достовірними прогностичними критеріями реалізації інтраамніального інфікування та подальшого розвитку ПРПО та передчасних пологів можуть використовуватись дані гематологічних показників рівня ендогенної інтоксикації (WBC>12,3 ⁹/л, GRAN>76%, LYM<19 %, NLR>3,87), інтегративного індексу анамнезу, перебігу вагітності та наявність CT генотипу поліморфізму RLN2, GGгенотипу поліморфізму IL10.

7.2 Прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в термінах гестації 26-34 тижні за допомогою методу послідовного аналізу А. Вальда (в модифікації Е.Г. Гублера) на базі клініко-анамнестичних даних

Наступним етапом формування прогностичних моделей предикторів високого ризику ПРПО при недоношеній вагітності було проведення оцінки діагностичної цінності (діагностичних коефіцієнтів (ДК), а також інформативності (мір інформативності (МІ) Кульбака) досліджуваних ознак з формуванням диференційно-діагностичної таблиці, придатної для застосування в складі послідовної процедури А. Вальда (в модифікації Е. Г. Гублера).

Для реалізації зазначеної умови в діагностичному процесі ми використовували метод послідовної діагностичної процедури, яка передбачає бальну оцінку сукупності ознак. Для цього всі розглянуті ознаки згруповані у

вигляді узагальнюючих ознак для виключення взаємопов'язаних показників, що є основною умовою даної процедури для виключення можливості гіпердіагностики захворювання.

Методика розрахунку інформативності ознак по Кульбаку базується на визначенні діагностичних коефіцієнтів (ДК – формула 7.3), розрахованих за формулою Е.Г. Гублера для основної та контрольної груп пацієнтів.

$$\text{ДК} = 10 \lg (A_1 / A_2) \quad (7.3)$$

$$\text{МІ} = 10 \lg (A_1 / A_2) * 0,5 [A_1 - A_2], \quad (7.4)$$

де ДК – діагностичний коефіцієнт;

МІ – міра інформативності Кульбака;

A_1 – частота ознаки в основній групі;

A_2 – частота ознаки в групі контролю.

Всі значущі ознаки були зведені в відповідну диференційно-діагностичну таблицю і розміщені в ній в порядку зменшення їх інформативності. Був проведений статистичний аналіз достовірності відмінностей частоти реєстрації виділених ознак в групах методом χ^2 , для ознак, які показали достовірні відмінності на основі співвідношення їх частот в основній групі (ОГ) і групі контролю (ГК), були розраховані ДК і МІ (табл. 7.4).

Ознаки, які мали $\chi^2 \geq 0,05$ (сірий колір в табл. 7.4), не набули статистичної значущості та були виключені з подальшого аналізу за методикою А. Вальда (в модифікації Е.Г. Гублера). Серед них були наступні ознаки: ранні репродуктивні втрати в анамнезі ($\chi^2=0,07$), хронічний аднексит в анамнезі ($\chi^2=0,21$), хронічний пієлонефрит ($\chi^2=0,21$), вік вагітної > 35 років ($\chi^2=0,07$), безсимптомна бактериурія ($\chi^2=1,00$) та ЛП Кальф-Каліфа ($\chi^2=0,41$). Отримані дані синхронізувались з результатами проведеного на першому етапі прогнозування методу логістичної регресії, який також не виявив тенденцію, що набула статистичної вірогідності вищеперерахованих ознак.

Таблиця 7.4 - Прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності на основі клінічних даних методом послідовного статистичного аналізу А. Вальда (в модифікації Е.Г. Гублера)

Ознака наявності		Частоти в групах				p (χ^2)	Співвідношення частот (ОГ/ГК)	ДК	МІ
		Абс., люд.		Віднос., %					
		ОГ	ГК	ОГ	ГК				
1		2	3	4	5	6	7	8	9
Наявність передчасних пологів в анамнезі	Так	13	1	16,25	2	0,011	0,12	-9,10	0,65
	Ні	67	49	83,75	98		1,17	+0,68	0,05
Ранні репродуктивні втрати в анамнезі	Так	18	5	22,5	10	0,07	0,44	-3,52	0,22
	Ні	62	45	77,5	90		1,16	+0,65	0,04
Хронічний аднексит в анамнезі	Так	7	8	8,75	16	0,21	1,83	+2,62	0,10
	Ні	73	42	91,25	84		0,92	-0,36	0,01
Хронічний пієлонефрит в анамнезі	Так	7	8	8,75	16	0,21	1,83	+2,62	0,10
	Ні	73	42	91,25	84		0,92	-0,36	0,01
Вік вагітної > 35 років	Так	18	5	22,5	10	0,07	0,44	-3,52	0,22
	Ні	62	45	77,5	90		1,16	+0,65	0,04
Мешканка сільських районів	Так	36	10	45	20	<0,001	0,44	-3,52	0,44
	Ні	44	40	55	80		1,45	+1,63	0,20
Істміко-цервікальна недостатність	Так	18	3	22,5	6	0,013	0,27	-5,74	0,47
	Ні	62	47	77,5	94		1,21	+0,84	0,07
Безсимптомна бактериурія	Так	8	5	10	10	1,00	1,00	0,00	0,00
	Ні	72	45	90	90		1,00	0,00	0,00
Кольпіт (бактеріоскопія)	Так	28	6	35	12	0,0037	0,34	-4,65	0,53
	Ні	52	44	65	88		1,35	+1,32	0,15
УПФ та/або ПФ в мікробіоценозі піхви (бакпосів)	Так	26	5	32,5	10	0,0034	0,31	-5,12	0,58
	Ні	54	45	67,5	90		1,33	+1,25	0,14

Продовження таблиці 7.4

1		2	3	4	5	6	7	8	9
Порушення МППК	Так	23	4	28,75	8	0,0046	0,28	-5,56	0,58
	Ні	57	46	71,25	92		1,29	+1,11	0,12
WBC >10 ⁹ /л	Так	65	31	81,25	62	0,015	0,76	-1,17	0,11
	Ні	15	19	18,75	38		2,03	+3,07	0,30
LYM, % < 15	Так	39	2	48,75	4	<0,001	0,08	-	2,43
	Ні	41	48	51,25	96		1,87	+2,73	0,61
GRAN, % > 80	Так	34	2	42,5	4	<0,001	0,09	-10,26	1,98
	Ні	46	48	57,5	96		1,67	+2,23	0,43
NLR > 3,53	Так	61	23	76,25	46	<0,001	0,60	-2,19	0,33
	Ні	19	27	23,75	54		2,27	+3,57	0,54
ЛПІ Кальф-Каліфа > 2	Так	49	27	61,25	54	0,41	0,88	-0,55	0,02
	Ні	31	23	38,75	46		1,19	+0,74	0,03
ЛПІ Островського > 2,8	Так	53	21	66,25	42	0,006	0,63	-1,98	0,24
	Ні	27	29	33,75	58		1,72	+2,35	0,29
Примітка. ознаки з недостовірними відмінностями частот в групах виділені заливкою сірого кольору.									

Аналіз достовірності відмінностей ознак дозволив сепарувати із загального масиву ознак, які є валідними для диференціації високого та низького ризику ПРПО в термінах вагітності 26-34 тижні (табл. 7.5).

Таблиця 7.5 - Маркери диференціації високого та низького ризику ПРПО при недоношеній вагітності (в порядку зменшення інформативності)

Маркери високого ризику ПРПО при недоношеній вагітності				Маркери низького ризику ПРПО при недоношеній вагітності					
№	Наявність ознаки	ДК	МІ	№	Наявність ознаки	ДК	МІ		
1	GRAN, % > 80	Так	- 10,26	1,98	1	NLR > 3,53	Ні	+3,57	0,54
2	Наявність передчасних пологів в анамнезі	Так	-9,10	0,65	2	GRAN, % > 80	Ні	+2,23	0,43
3	Порушення МППК	Так	-5,56	0,58	3	WBC >10 ⁹ /л	Ні	+3,07	0,30
4	УПФ та/або ПФ в мікробіоценозі піхви	Так	-5,12	0,58	4	ЛП Островського > 2,8	Ні	+2,35	0,29
5	Істміко-цервікальна недостатність	Так	-5,74	0,47	5	Мешканка віддалених сіл та районів	Ні	+1,63	0,20
6	Мешканка віддалених сіл та районів	Так	-3,52	0,44	6	УПФ та/або ПФ в мікробіоценозі піхви	Ні	+1,25	0,14
7	NLR > 3,53	Так	-2,19	0,33	7	Порушення МППК	Ні	+1,11	0,12
8	ЛП Островського > 2,8	Так	-1,98	0,24	8	Істміко-цервікальна недостатність	Ні	+0,84	0,07
9	WBC >10 ⁹ /л	Так	-1,17	0,11	9	Наявність передчасних пологів в анамнезі	Ні	+0,68	0,05

Згідно з методологією розрахунку достовірності діагностичного рішення для досягнення рівня ймовірності 95 % ($p = 0,05$), порогова $\Sigma_{ДК}$ – є константою = ± 13 , для досягнення ймовірності 99 % = ± 20 , для досягнення ймовірності 99,9 % = ± 30 , таким чином:

→ при $\Sigma_{ДК} < -13; -20$ та -30 – комплекс клінічних даних з ймовірністю 95 %; 99 % і 99,9 % відповідно свідчить на користь високого ризику ПРПО при недоношеній вагітності;

→ при $\sum_{ДК} < +13; +20$ та $+30$ – комплекс клінічних даних з ймовірністю 95 %; 99 % і 99,9 % відповідно свідчить на користь низького ризику ПРПО при недоношеній вагітності;

→ в межах діапазону $-13 < \sum_{ДК} < +13$ – висновок прогнозу не можна вважати достовірним, так як при цьому його $p > 0,05$.

На підставі отриманих даних була побудована диференційно-діагностична таблиця, в якій маркери диференціації були розташовані в порядку убавання $\sum_{ДК}$ (Табл. 7.6). Такий порядок розташування маркерів в таблиці диктується вимогами послідовної процедури. Перебір діагностично цінних ознак в порядку «від найбільш інформативних до менш інформативних» забезпечує найкоротший шлях до діагностичного висновку необхідного рівня достовірності.

Отримані маркери використані в формуванні шкали високого та низького ризику маніфестації ПРПО в термінах гестації 26-34 тижні (табл. 7.7). При заповненні кожного ряду проводиться підрахунок суми ДК шляхом складання зазначених ДК, при досягненні значення $\sum_{ДК} = +13$ або -13 , вноситься попередній діагностичний висновок про належність до високого ризику ($\sum_{ДК} = +13$) або низького ризику ($\sum_{ДК} = -13$) ПРПО при недоношеній вагітності, який має рівень статистичної вірогідності = 95 % ($p = 0,05$). При досягненні значення $\sum_{ДК} = +20$ або -20 , вноситься заключний діагностичний висновок, який має вірогідність = 99 % ($p = 0,01$). При необхідності більш високого рівня статистичної значущості процес індикації маркерів продовжується до досягнення значення $\sum_{ДК} = +30$ або -30 , який відповідає рівню вірогідності = 99 % ($p = 0,001$).

Таблиця 7.6 - Діагностична таблиця диференціювання високого та низького ризику ПРПО при недоношеній вагітності за адаптованими клінічними критеріями (в порядку зменшення інформативності)

№	Σ_{mi}	Ознака (маркер)	Діапазон ознаки	ДК
1	2,41	GRAN, % > 80	Так	-10,26
			Ні	+2,23
2	0,87	NLR > 3,53	Так	-2,19
			Ні	+3,57
3	0,72	УПФ та/або ПФ в мікробіоценозі піхви	Так	-5,12
			Ні	+1,25
4	0,7	Наявність передчасних пологів в анамнезі	Так	-9,1
			Ні	+0,68
5	0,7	Порушення МППК	Так	-5,56
			Ні	+1,11
6	0,64	Мешканка сільського району	Так	-3,52
			Ні	+1,63
7	0,54	Істміко-цервікальна недостатність	Так	-5,74
			Ні	+0,84
8	0,53	ЛП Островського > 2,8	Так	-1,98
			Ні	+2,35
9	0,41	WBC >10 ⁹ /л	Так	-1,17
			Ні	+3,07
Примітка. Σ_{mi} – сумарна інформативність обох діапазонів ознаки (складається з інформативними наявності і відсутності даної ознаки).				

Таблиця 7.7 - Шкала стратифікації високого та низького ризику ПРПО при недоношеній вагітності за адаптованими клінічними критеріями

Ознака (маркер)	Так	Ні	$\Sigma_{дк}$
GRAN, % > 80	-10,26	+2,23	
NLR > 3,53	-2,19	+3,57	
УПФ та/або ПФ в мікробіоценозі піхви	-5,12	+1,25	
Наявність передчасних пологів в анамнезі	-9,1	+0,68	
Порушення МППК	-5,56	+1,11	
Мешканка сільського району	-3,52	+1,63	
Істміко-цервікальна недостатність	-5,74	+0,84	
ЛП Островського > 2,8	-1,98	+2,35	
WBC >10 ⁹ /л	-1,17	+3,07	

Задля випробування на практиці запропонованої шкали прогнозування високого ризику виникнення ПРПО при недоношеній вагітності, можливо використати наступні клінічні кейси.

Клінічний кейс №1. Вагітна Н., 28 років, повторнонароджуюча (перші пологи в терміні доношеної вагітності, дитина здорова) в терміні гестації 30 тижнів, проживає в м. Запоріжжя, звернулась на прийом до лікаря акушера-гінеколога в жіночу консультацію. В лабораторному та інструментальному обстеженнях звертає на себе увагу: WBC=12,7*10⁹/л, GRAN=88 %, NLR=2,83, ЛП Островського= 3,15, цервікометрія – довжина шийки матки 21 мм, внутрішнє вічко закрито, доплерометрія МППК – порушень не виявлено, в мікробіомі піхви виділено КІ. охутоса 10⁷. Розраховувати ймовірний ризик ПРПО у даної вагітної жінки.

Таблиця 7.8 - Апробація шкали ризику виникнення ПРПО в терміні 26-34 тижні гестації з подальшою ініціацією передчасних пологів

Ознака (маркер)	Так	Ні	Σ _{дж}
GRAN, % > 80	-10,26	+2,23	-10,26
NLR > 3,53	-2,19	+3,57	-6,69
УПФ та/або ПФ в мікробіоценозі піхви	-5,12	+1,25	-11,81
Наявність передчасних пологів в анамнезі	-9,1	+0,68	-11,13
Порушення МППК	-5,56	+1,11	-10,02
Мешканка сільського району	-3,52	+1,63	-8,39
Істміко-цервікальна недостатність	-5,74	+0,84	-14,13
ЛП Островського > 2,8	-1,98	+2,35	-16,11
WBC >10 ⁹ /л	-1,17	+3,07	-17,28

В результаті підрахунку $\Sigma_{\text{ДК}}$ кожного з предикторів ризику, загальна сума $\Sigma_{\text{ДКВ}}$ клінічному кейсі №1 (табл. 7.8) склала **-17,28**, що відповідає високому ризику виникнення ПРПО в даному терміні вагітності та потребує імплементації превентивних заходів.

Клінічний кейс №2. Вагітна М., 34 років, повторнонароджуюча (перші пологи передчасні), проживає в смт. Розівка Запорізької області, звернулась на черговий прийом до лікаря акушера-гінеколога в жіночу консультацію в терміні гестації 28 тижнів після проведеного обстеження. Звертає на себе увагу: WBC=14,1 *10⁹/л, GRAN=85 %, NLR=3,87, ЛПІ Островського= 3,15, цервікометрія – довжина шийки матки 23 мм, внутрішнє вічко має воронкоподібне відкриття до 3 мм, доплерометрія МППК – порушення ІВ ступеня, в мікробіомі піхви виділено *Gardnerella vaginalis*¹⁰. Розраховувати ймовірний ризик ПРПО у даної вагітної жінки.

Таблиця 7.9 - Апробація шкали ризику виникнення ПРПО в терміні 26-34 тижні гестації з подальшою ініціацією передчасних пологів

Ознака (маркер)	Так	Ні	$\Sigma_{\text{ДК}}$
GRAN, % > 80	-10,26	+2,23	-10,26
NLR > 3,53	-2,19	+3,57	-12,45
УПФ та/або ПФ в мікробіоценозі піхви	-5,12	+1,25	-17,57
Наявність передчасних пологів в анамнезі	-9,1	+0,68	-26,67
Порушення МППК	-5,56	+1,11	-32,23
Мешканка віддалених сіл та районів	-3,52	+1,63	-35,75
Істміко-цервікальна недостатність	-5,74	+0,84	-41,49
ЛПІ Островського > 2,8	-1,98	+2,35	-43,47
WBC >10 ⁹ /л	-1,17	+3,07	-44,64

В результаті підрахунку $\sum_{\text{ДК}}$ кожного з предикторів ризику, загальна сума $\sum_{\text{ДК}}$ клінічному кейсі №2 (табл. 7.9) склала **-44,64**, що відповідає вкрайвисокому ризику маніфестації ПРПО в даному терміні вагітності та вимагає застосування алгоритму превентивних заходів. Слід зазначити, що вже на четвертому маркері була отримана $\sum_{\text{ДК}} = -26,67$, що відповідає 99 % ймовірності ($p=0,01$) ризику реалізації внутрішньоамніального інфікування та розвитку ПРПО при недоношеній вагітності.

7.3 Прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в термінах гестації 26-34 тижні за допомогою методу послідовного аналізу А. Вальда (в модифікації Е.Г. Гублера) на базі молекулярно-генетичного дослідження

Згідно описаному в попередньому підрозділі алгоритму послідовного статистичного аналізу А. Вальда (в модифікації Е.Г. Гублера) подальшим завданням було сформулювати прогностичну модель предикторів високого ризику ПРПО при недоношеній вагітності на основі проведеного дослідження однонуклеотидного поліморфізму (SNP) про- та протизапальних генів цитокінів методом полімеразно-ланцюгової реакції з режимі реального часу.

Всі генотипи досліджуваних SNP про- та протизапальних цитокінів були зведені в відповідну диференційно-діагностичну таблицю і розміщені в ній в порядку зменшення їх інформативності. Був проведений статистичний аналіз достовірності відмінностей частоти реєстрації виділених ознак в групах методом χ^2 , для ознак, які показали достовірні відмінності на основі співвідношення їх частот в основній групі (ОГ) і групі контролю (ГК), були розраховані ДК і МІ (табл. 7.10).

Ознаки, які мали $\chi^2 \geq 0,05$ (сірий колір в табл. 7.10), не набули статистичної значущості та були виключені з подальшого аналізу за методикою А. Вальда (в модифікації Е.Г. Гублера). Серед досліджених однонуклеотидних поліморфізмів АА, GG, GA генотипи прозапальних системних цитокінів IL1 β (rs1143627) та TNF α (rs1800629) не підтвердили свою асоціацію з високим ризиком інтраамніального інфікування та розвитком ПРПО при недоношеній вагітності.

За даними статистичного аналізу Вальда генотипи ТТ протизапальних цитокінів IL10 (rs1800872 та rs1800896), ТС IL10 (rs1800896) та СС, СТ, ТТ IL4 (rs2243250) також не виявили достовірну клінічну асоціацію з ризиком ПРПО. Результати проведеного аналізу Вальда відповідають раніше отриманим розрахункам мультиплікативної моделі успадкування та засвідчують відсутність впливу IL1 β (rs1143627) та TNF α (rs1800629), протизапальних цитокінів IL4 (rs2243250) та IL10 (rs1800872 та rs1800896) на генезис ПРПО при недоношеній вагітності.

Таблиця 7.10 - Прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності на основі молекулярно-генетичного дослідження методом послідовного статистичного аналізу Вальда

Ознака наявності		Частоти в групах				p (χ^2)	Співвідношення частот (ОГ/ГК)	ДК	МІ
		Абс., люд.		Віднос., %					
		ОГ	ГК	ОГ	ГК				
1		2	3	4	5	6	7	8	9
АА генотип поліморфізму IL1β (rs1143627)	Так	17	21	34	42	0,41	1,24	+0,92	0,04
	Ні	33	29	66	58		0,88	-0,56	0,02
GG генотип поліморфізму IL1β (rs1143627)	Так	12	13	24	26	0,82	1,08	+0,35	0,00
	Ні	38	37	76	74		0,97	-0,12	0,00
GA генотип поліморфізму IL1β (rs1143627)	Так	21	16	42	32	0,30	0,76	-1,18	0,06
	Ні	29	34	58	68		1,17	+0,69	0,03
AA генотип поліморфізму TNFα (rs1800629)	Так	5	5	10	10	1,00	1,00	0,00	0,00
	Ні	45	45	90	90		1,00	0,00	0,00
GG генотип поліморфізму TNFα (rs1800629)	Так	33	29	66	58	0,41	0,88	-0,56	0,02
	Ні	17	21	34	42		1,24	+0,92	0,04
AG генотип поліморфізму TNFα (rs1800629)	Так	12	16	24	32	0,372	1,33	+1,25	0,05
	Ні	38	34	76	68		0,89	-0,48	0,02

Продовження таблиці 7.10

1		2	3	4	5	6	7	8	9
СС генотип 2 поліморфізму IL4 (rs2243250)	Так	37	28	74	56	0,059	0,76	-1,21	0,11
	Ні	13	22	26	44		1,69	+2,28	0,21
ТТ генотип поліморфізму IL4 (rs2243250)	Так	2	3	4	6	0,65	1,50	+1,76	0,02
	Ні	48	47	96	94		0,98	-0,09	0,00
СТ генотип поліморфізму IL4 (rs2243250)	Так	11	19	22	38	0,08	1,73	+2,37	0,19
	Ні	39	31	78	62		0,79	-1,00	0,08
СС генотип поліморфізму IL10 (rs1800896)	Так	11	4	22	8	0,049	0,36	-4,39	0,31
	Ні	39	46	78	92		1,18	+0,72	0,05
ТТ генотип поліморфізму IL10 (rs1800896)	Так	37	39	74	78	0,64	1,05	+0,23	0,00
	Ні	13	11	26	22		1,18	+0,72	0,05
ТС генотип поліморфізму IL10 (rs1800896)	Так	2	7	4	14	0,081	3,50	+5,44	0,27
	Ні	48	43	96	86		0,90	-0,48	0,02
ТТ генотип поліморфізму IL10 (rs1800872)	Так	7	11	14	22	0,3	1,57	+1,96	0,08
	Ні	43	39	86	78		0,91	-0,42	0,02
GG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872)	Так	25	2	50	4	<0,001	0,08	- 10,97	2,52
	Ні	25	48	50	96		1,92	+2,83	0,65
ТG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872)	Так	18	37	36	74	<0,001	2,06	+3,13	0,59
	Ні	32	13	64	26		0,41	-3,91	0,74
СС генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	Так	29	49	58	98	<0,001	1,69	+2,28	0,46
	Ні	21	1	42	2		0,05	-13,22	2,64
ТТ генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	Так	4	0	8	0	0,04	0,00	-	-
	Ні	46	50	92	100		1,09	+0,36	0,01
СТ генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	Так	17	1	34	2	<0,001	0,06	-12,30	1,97
	Ні	33	49	66	98		1,48	+1,72	0,27

Продовження таблиці 7.10

1		2	3	4	5	6	7	8	9
AA генотип поліморфізму <i>RLN2 (rs3758239)</i>	Так	47	27	94	54	<0,001	0,57	-2,41	0,48
	Ні	3	23	6	46		7,67	+8,85	1,77
GG генотип поліморфізму <i>RLN2 (rs3758239)</i>	Так	-	5	-	10	0,022	-	-	-
	Ні	50	45	100	90		0,90	-0,46	0,02
AG генотип поліморфізму <i>RLN2 (rs3758239)</i>	Так	3	18	6	36	<0,001	6,00	+7,78	1,17
	Ні	47	32	94	64		0,68	-1,67	0,25
Примітка. ознаки з недостовірними відмінностями частот в групах виділені заливкою сірого кольору.									

Аналіз достовірності відмінностей ознак дозволив сепарувати із загального масиву молекулярно-генетичні маркери, які є валідними для диференціації високого та низького ризику ПРПО в термінах вагітності 26-34 тижні, що представлено в лівій та правій половині табл. 7.11. Системні прозапальні цитокіни були виключені від подальшого формування прогностичної шкали.

Таблиця 7.11 - Молекулярно-генетичні маркери диференціації високого та низького ризику ПРПО при недоношеній вагітності (в порядку зменшення інформативності)

Маркери високого ризику ПРПО при недоношеній вагітності				Маркери низького ризику ПРПО при недоношеній вагітності			
№	Наявність ознаки	ДК	МІ	№	Наявність ознаки	ДК	МІ
1	2	3	4	5	6	7	8
1	GG генотип поліморфізму <i>IL10 (rs1800872)</i>	Так - 10,97	2,52	1	CC генотип поліморфізму <i>RLN2 (rs4742076)</i>	Ні - 13,22	2,64
2	CT генотип поліморфізму <i>RLN2 (rs4742076)</i>	Так - 12,30	1,97	2	AA генотип поліморфізму <i>RLN2 (rs3758239)</i>	Ні +8,85	1,77
3	AG генотип поліморфізму <i>RLN2 (rs3758239)</i>	Так +7,78	1,17	3	TG генотип поліморфізму <i>IL10 (rs1800872)</i>	Ні - 3,91	0,74

Продовження таблиці 7.11

1	2		3	4	5	6		7	8
4	TG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872)	Так	+3,1 3	0,59	4	GG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872)	Ні	+2,8 3	0,65
5	AA генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239)	Так	-2,41	0,48	5	CT генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	Ні	+1,72	0,27
6	CC генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	Так	+2,28	0,46	6	AG генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239)	Ні	-1,67	0,25
7	CC генотип поліморфізму IL10 (rs1800896)	Так	- 4,39	0,31	7	CC генотип поліморфізму IL10 (rs1800896)	Ні	+0,72	0,05
8	TT генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	Так	-	-	8	GG генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239)	Ні	-0,46	0,02
9	GG генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239)	Так	-	-	9	TT генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	Ні	+0,36	0,01

На підставі отриманих даних була побудована диференційно-діагностична таблиця, в якій маркери диференціації були розташовані в порядку зменшення $\Sigma_{\text{ДК}}$ (Табл. 7.12). Перебір діагностично цінних ознак в порядку «від найбільш інформативних до менш інформативних» забезпечує найкоротший шлях до діагностичного висновку необхідного рівня достовірності.

Отримані маркери використані в формуванні шкали стратифікації високого та низького ризику маніфестації ПРПО в термінах гестації 26-34 тижні (табл. 7.13). При заповненні кожного ряду проводиться підрахунок суми ДК шляхом складання зазначених ДК, при досягненні значення $\Sigma_{\text{ДК}} = +13$ або -13 , вноситься попередній діагностичний висновок про належність до високого ризику ($\Sigma_{\text{ДК}} = +13$) або низького ризику ($\Sigma_{\text{ДК}} = -13$) ПРПО при недоношеній вагітності, який має рівень статистичної вірогідності $=95\%$ ($p=0,05$). При досягненні значення $\Sigma_{\text{ДК}} = +20$ або -20 , вноситься заключний діагностичний висновок, який має вірогідність $=99\%$ ($p=0,01$).

Таблиця 7.12 – Діагностична таблиця диференціювання високого та низького ризику ПРПО при недоношеній вагітності за адаптованими клінічними критеріями (в порядку зменшення інформативності)

№	Σ_{Mi}	Ознака (маркер)	Діапазон ознаки	ДК
1	3,17	GG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872)	Так	-10,97
			Ні	+2,83
2	3,1	CC генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	Так	+2,28
			Ні	-13,22
3	2,25	AA генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239)	Так	-2,41
			Ні	+8,85
4	2,24	CT генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	Так	-12,30
			Ні	+1,72
5	1,42	AG генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239)	Так	+7,78
			Ні	-1,67
6	1,33	TG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872)	Так	+3,13
			Ні	-3,91
7	0,36	CC генотип поліморфізму IL10 (rs1800896)	Так	-4,39
			Ні	+0,72
8	0,02	GG генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239)	Так	-
			Ні	-0,46
9	0,01	TT генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	Так	-
			Ні	+0,36
Примітка. Σ_{Mi} – сумарна інформативність обох діапазонів ознаки (складається з інформативними наявності і відсутності даної ознаки).				

Таблиця 7.13 - Шкала стратифікації високого та низького ризику ПРПО при недоношеній вагітності за даними молекулярно-генетичного аналізу

Ознака (маркер)	Так	Ні	$\Sigma_{ДК}$
GG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872)	-10,97	+2,83	
CC генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	+2,28	-13,22	
AA генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239)	-2,41	+8,85	
CT генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	-12,30	+1,72	
AG генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239)	+7,78	+1,67	

Продовження таблиці 7.13

TG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872)	+3,13	-3,91	
CC генотип поліморфізму IL10 (rs1800896)	-4,39	+0,72	
GG генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239)	-	-0,46	
TT генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)	-	+0,36	

Задля випробування на практиці запропонованої шкали прогнозування високого ризику виникнення ПРПО при недоношеній вагітності, можливо використати наступні клінічний кейс.

Клінічний кейс №3. Вагітна Д., 35 років, повторнонароджуюча (перші пологи передчасні) в терміні гестації 28 тижнів, проживає в м. Запоріжжя, звернулась на прийом до лікаря акушера-гінеколога в жіночу консультацію. Для прогнозування ризику ПРПО та передчасних пологів, вирішено провести дослідження SNP3 генотипів IL10 (rs1800872), RLN2 (rs4742076), RLN2 (rs3758239). При проведенні молекулярно-генетичного дослідження виявлені: наявність GG генотипу поліморфізму IL10 (rs1800872), CT генотипу поліморфізму RLN2 (rs4742076), AG генотипу поліморфізму RLN2 (rs3758239). Розраховувати ймовірний ризик ПРПО у даної вагітної жінки (табл. 7.14).

Таблиця 7.14 – Апробація шкали ризику виникнення ПРПО в терміні 26-34 тижні гестації з подальшою ініціацією передчасних пологів

Ознака (маркер)	Так	Ні	Σдк
<i>GG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872)</i>	-10,97	+2,83	-10,97
<i>CC генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)</i>	+2,28	-13,22	-24,19
<i>AA генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239)</i>	-2,41	+8,85	-15,34
<i>CT генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076)</i>	-12,30	+1,72	-27,64

Продовження таблиці 7.14

<i>AG</i> генотип поліморфізму <i>RLN2</i> (<i>rs3758239</i>)	+7,78	+1,67	-19,86
<i>TG</i> генотип поліморфізму <i>IL10</i> (<i>rs1800872</i>)	+3,13	-3,91	-23,77
<i>CC</i> генотип поліморфізму <i>IL10</i> (<i>rs1800896</i>)	-4,39	+0,72	-23,09
<i>GG</i> генотип поліморфізму <i>RLN2</i> (<i>rs3758239</i>)	-	-0,46	-23,55
<i>TT</i> генотип поліморфізму <i>RLN2</i> (<i>rs4742076</i>)	-	+0,36	-23,19

В результаті підрахунку $\Sigma_{\text{ДК}}$ кожного з предикторів ризику, загальна сума $\Sigma_{\text{ДК}}$ в клінічному кейсі №3 склала **-23,19**, що відповідає дуже високому ризику виникнення ПРПО в даному терміні вагітності та потребує імплементації превентивних заходів. Слід зазначити, що вже на другому маркері була отримана $\Sigma_{\text{ДК}} = -24,19$, що відповідає 99 % ймовірності ($p=0,01$) ризику виникнення ПРПО при недоношеній вагітності.

Наступним етапом прогнозування було проведення послідовного статистичного аналізу за методикою Вальда-Гублера на основі дослідження експресії компонентів вродженого та адаптивного імунітету в децидуальній тканині плаценти та плодових оболонках, що продемонстровано в табл. 7.15.

Таблиця 7.15 – Прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності на основі дослідження транскрипційної активності компонентів вродженого та адаптивного імунітету методом послідовного статистичного аналізу А. Вальда (в модифікації Е.Г. Гублера)

Ознака наявності	Частоти в групах				p (χ^2)	Співвідношення частот (ОГ/ГК)	ДК	МИ	
	Абс., люд.		Віднос., %						
	ОГ	ГК	ОГ	ГК					
1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<i>TLR2 placenta</i> >1,15	Так	29	1	96,7	3,3	<0,001	0,03	-14,62	6,82
	Ні	1	29	3,3	96,7		29,00	+14,62	6,82
<i>TLR2 membranes</i> >1,15	Так	29	1	96,7	3,3	<0,001	0,03	-14,62	6,82
	Ні	1	29	3,3	96,7		29,00	+14,62	6,82

Продовження таблиці 7.15

1		2	3	4	5	6	7	8	9
<i>TLR4 placenta</i> >1,15	Так	26	2	86,7	6,7	<0,001	0,08	-11,14	4,46
	Hi	4	28	13,3	93,3		7,00	+8,45	3,38
<i>TLR4 membranes</i> >1,15	Так	17	1	56,7	3,3	<0,001	0,06	-12,30	3,28
	Hi	13	29	43,3	96,7		2,23	+3,48	0,93
<i>IL1β placenta</i> >1,15	Так	29	2	96,7	6,7	<0,001	0,07	-11,61	5,23
	Hi	1	28	3,3	93,3		28,00	+14,47	6,51
<i>IL1β membranes</i> >1,15	Так	29	2	96,7	6,7	<0,001	0,07	-11,61	5,23
	Hi	1	28	3,3	93,3		28,00	+14,47	6,51
<i>IL17A placenta</i> >1,15	Так	27	1	90	3,3	<0,001	0,04	-14,31	6,20
	Hi	3	29	10	96,7		9,67	+9,85	4,27
<i>IL17A membranes</i> >1,15	Так	29	1	96,7	3,3	<0,001	0,03	-14,62	6,82
	Hi	1	29	3,3	96,7		29,00	+14,62	6,82
<i>FoxP3 (Treg) placenta</i> >1,15	Так	1	29	3,3	96,7	<0,001	29,00	+14,62	6,82
	Hi	29	1	96,7	3,3		0,03	-14,62	6,82
<i>FoxP3 (Treg) membranes</i> >1,15	Так	1	29	3,3	96,7	<0,001	29,00	+14,62	6,82
	Hi	29	1	96,7	3,3		0,03	-14,62	6,82
<i>T-bet (Th1) placenta</i> >1,15	Так	29	1	96,7	3,3	<0,001	0,03	-14,62	6,82
	Hi	1	29	3,3	96,7		29,00	+14,62	6,82
<i>T-bet (Th1) membranes</i> >1,15	Так	29	1	96,7	3,3	<0,001	0,03	-14,62	6,82
	Hi	1	29	3,3	96,7		29,00	+14,62	6,82
<i>RoRyt (Th17) placenta</i> >1,15	Так	27	2	90	6,7	<0,001	0,07	-11,30	4,71
	Hi	3	28	10	93,3		9,33	+9,70	4,04
<i>RoRyt (Th17) membranes</i> >1,15	Так	28	1	93,3	3,3	<0,001	0,04	-14,47	6,51
	Hi	2	29	6,7	96,7		14,50	+11,61	5,23

Нам вдалось знайти статистичну значущість по транскрипційній активності усіх маркерів як в плаценті, так и плодових оболонках. Але враховуючи інвазивність діагностування даних ознак застосування в практичній діяльності для

прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності є можливим лише після пологів ретроспективно.

Сформовані в даному розділі прогностичні моделі виявлення предикторів високого ризику маніфестації передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності дозволять своєчасно розподіляти вагітних на групи високого та низького ризику даного ускладнення та застосовувати профілактичні заходи, що покращить акушерські та перинатальні наслідки невиношування .

Результати даного розділу опубліковано в наукових працях:.

1. SNPs and transcriptional activity of genes of innate and adaptive immunity at the maternal-fetal interface in woman with preterm labour, associated with preterm premature rupture of membranes / Lyubomirskaya Ekaterina S., Kamyshnyi Alexandr M., Krut Yuriy Ya. et al. Wiadomości Lekarskie. 2020. Vol. 73, №.1. P.25-30. (Дисертантом проведені клінічні спостереження, аналіз і узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка до друку).

РОЗДІЛ 8

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Частота реєстрації передчасних пологів у різних регіонах України коливається від 3 до 12 %. Передчасні пологи (ПП) займають особливе місце у структурі невиношування вагітності (НВ), тому що є однією з основних причин перинатальної захворюваності та смертності новонароджених (75 % випадків припадає на передчасно народжених дітей) [155; 157; 159; 169; 186; 188].

Попри те, що до невиношування вагітності прикута увага сучасної науки існує багато контрарерсій та невирішених питань [153-154; 184; 188; 207; 209]. На сьогодні в різних країнах світу, на різних популяціях жінок виконано багато досліджень, що довели роль поліморфізму імуно-регуляторних генів в розвитку гестаційних ускладнень [77; 87; 109; 111]. Разом з тим, поліморфізм генів інших факторів може частково впливати на схильність до формування даної патології та не приймати безпосередньої участі в патогенезі недоношування вагітності [4; 51]. Однак, на сьогоднішній день актуальною задачею сучасного акушерства залишається визначення необхідного об'єму досліджень для прогнозування передчасного розриву плодових оболонок у жінок з недоношеною вагітністю, що обумовило доцільність проведення даного дослідження.

Метою дослідження було покращення перинатальних наслідків невиношування вагітності за допомогою прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в термінах вагітності 26-34 тижні гестації.

Дизайном дослідження було передбачено включення 80 вагітних жінок з ПРПО в терміні гестації 26-34 тижні з подальшою ініціацією передчасних пологів та 50 вагітних з фізіологічним перебігом вагітності та терміновими пологами без ускладнень. Роботу виконано на клінічній базі кафедри акушерства та гінекології Запорізького державного медичного університету – відділенні патології вагітних та екстрагенітальної патології та пологовому відділенні КУ «Обласний перинатальний центр» ЗОР (м. Запоріжжя, головний лікар – Кирилюк О.Д.) та на базі Відділу молекулярно-генетичних досліджень Навчального медико-

лабораторного центру Запорізького державного медичного університету (завідувач – професор Абрамов А.В.).

Всі пацієнти з передчасними пологамі, індукованими ПРПО в терміні в 26-34 тижні, підлягали комплексному обстеженню та спостереженню, регламентованному чинними уніфікованими протоколами №417 від 15.07.2011 «Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні, №782 від 29.12.2005 «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги» та №624 від 03.11.2008 «Клінічний протокол з акушерської допомоги «Невиношування вагітності» [191-193].

Всім учасникам дослідження були проведені комплексні клініко-біохімічні, лабораторні, імунологічні та інструментальні дослідження, що включало аналіз експресії компонентів вродженого та адаптивного імунітету в плаценті та плодових оболонках, асоціації однонуклеотидного поліморфізму генів про- та протизапальних цитокінів з передчасними пологамі, індукованими ПРПО, концентрації гормонів системи мати-плацента-плід, оцінки інтегральних показників рівня ендогенної інтоксикації вагітних, породіль та новонароджених, вивчення даних віддаленого катамнезу дітей, із подальшою розробкою та формування прогностичних моделей ПРПО при недоношеній вагітності та оптимізацією тактики ведення.

Результати нашого дослідження підтвердили гіпотезу виникнення більшого відсотка гестаційних ускладнень у вагітних пізнього фертильного віку. Відсоток вагітних старших за 30 років в основній групі дослідження переважав над вагітними з фізіологічним перебігом гестації та пологів, який склав 55 % проти 38 % в групі контролю. Такі дані поєднуються з результатами інших дослідників, зокрема мета-аналізом Pinheiro R.L. et al. [2; 21; 166].

Економічний розвиток жителів села, рівень надання акушерсько-гінекологічної допомоги сільському населенню, доступність якісних та чутливих лабораторних досліджень могли вплинути на показник передчасних пологів серед дослідженого контингенту жінок, адже мешканками сільської місцевості були 45 % вагітних основної групи в порівнянні з 26 % в контрольній групі. Побідні

тенденції впливу соціального та економічного розвитку на рівень передчасних пологів були підкреслені роботами Petrou S. et al. [28; 71; 113].

Кожна 6 жінка (16,25 %) контингенту обстежених вагітних основної групи в анамнезі вже мала передчасні пологи або сама була народжена передчасно, що вказує на особисту детерміновану схильність до виникнення недоношування вагітності на тлі передчасного розриву плодових оболонок. Отримані дані також збігаються з проведеними раніше дослідженнями Gomez-Lopez N., Roberto Romero [112].

Суттєвий вплив хронічних осередків інфекції та низького індексу здоров'я жінки на патогенез передчасних пологів, ініційованих передчасним розривом плодових оболонок, підтверджує присутність в структурі екстрагенітальної патології на лідируючих позиціях запальних захворювань ЛОР органів та нирок.

На несприятливий фон розвитку як фізіологічної, так і патологічної вагітності вказує, що майже половина обстежених жінок в кожній групі, хоч і з незначною перевагою в основній групі мали хвороби жіночих статевих органів. Серед гінекологічних захворювань частіше зустрічались наступні: ектопія шийки матки, хронічні запальні процеси додатків матки (СООФ), кісти яєчників, міома матки, порушення менструального циклу (ПОМЦ), дисплазія шийки матки (СІН).

За результатами дослідження, не вдалось уникнути ПРПО в терміні 26-34 тижні з подальшою ініціацією передчасних пологів у 22,5 % жінок, яким в зв'язку з істміко-цервікальною недостатністю (ІЦН) були застосовані розвантажувальний акушерський песарій та гестагенна підтримки місцево (Утрожестан 200-400 мг або Лютеїна 100-200 мг per vaginum). Результати даного дослідження протирічать поглядам інших дослідників [23; 25; 55; 136] та вказують на дещо перебільшений внесок ІЦН та дефіциту ендogenous прогестерону в концепцію розвитку передчасних пологів, ініційованих ПРПО.

Існуюча парадигма впливу дисбалансу вагінальної мікрофлори на генезис невиношування, презентована в своїх роботах Brown R.G., Kindinger LM et al. [122; 133], обґрунтувала наступний напрямок пошуку можливих факторів ризику, а саме проведення бактеріологічного дослідження піхви з визначенням чутливості

до антибіотиків. Аналіз біоценозу пологових шляхів встановив, що у 68,57 % обстежених вагітних основної групи були виявлені значимі титри представників умовно-патогенної та патогенної флори.

Слід підкреслити, що проведене бактеріоскопічне дослідження мазків з піхви дозволило визначити ознаки кольпіту у 31,03 % вагітних основної групи. Враховуючи, що процес інтраамніального інфікування плодових оболонок був уже запущений, застосування місцевої та системної антибактеріальної терапії не вплинуло на зниження частки передчасних пологів загалом, проте шляхом нормалізації біоценозу піхви вдалось досягнути суттєвого зниження відсотка інфекційно-запальних ускладнень в післяпологовому періоді жінок з ПРПО при недоношеній вагітності.

В результаті проведеного аналізу, вдалось зафіксувати наступну закономірність – чим більшим був термін маніфестації ПРПО, тим коротшу тривалість мав безводний проміжок. Так, найдовший безводний проміжок спостерігався в підгрупі 28-30 тижні вагітності та склав 159,25 годин (L 8 – H 620 годин), на противагу вдвічі найкоротшим був в 33-34 тижні та склав – 70,52 годин (L 6 – H 313 годин) відповідно.

Аntenатальний моніторинг стану плода включав у себе проведення кардіотокографії з визначенням короткої варіабельності серцевого ритму (STV) та доплерометрії матково-плацентарно-плодового кровоплину. Статистично значущих відмінностей в показнику короткої варіабельності серцевого ритму плода між основною та контрольною групою не було виявлено, точніше середня оцінка аналізу STV відповідала критерію задовільного стану плода та в основній групі була на рівні $8,25 \pm 2,80$ мс, між іншим в контрольній групі склала – $8,44 \pm 3,32$ мс.

За результатами доплерометрії матково-плацентарно-плодової гемодинаміки у 28,75 % пацієток основної групи були діагностовані різні ступені порушень. Варто зазначити, що діагностований у 8,7 % вагітних основної групи дослідження термінальний ступень порушень МППК разом з короткою варіабельністю серцевого ритму плода нижче 3,5 мс дозволив виявити ознаки

пренатального дистресу плода, що було показанням для пологорозродження шляхом операції кесаревого розтину III категорії ургентності

Розродження *per vias naturales* мали переважна більшість (90 %) родиль основної групи та 100 % контрольної групи. У 12,5 % пацієток основної групи спостерігались ускладнення в пологах, серед яких: у 2,5 % в I періоді пологів – дистрес плода, у 10 % в III періоді пологів – дефект посліду та часткове інтимне прикріплення плаценти, що потребувало виконання ручного обстеження порожнини матки та операції ручного відділення плаценти та виділення посліду.

У досліджуваній контрольній групі, враховуючи фізіологічний перебіг вагітності та пологів, відсоток малюків, які мали 7 – 10 балів за шкалою Апгар був вище за основну групу та склав 96 %. Більшість дітей, народжених передчасно в 26-34 тижні гестації на першій хвилині мали оцінку за шкалою Апгар від 5 до 6 балів (46,15 %) та на п'ятій хвилині 15,38 % відповідно.

З метою ретроспективної оцінки наслідків ПРПО в терміні 26-34 тижні на тканинному рівні наступною точкою аналізу було патогістологічне дослідження (ПГД) послідів. Аналіз отриманих заключень ПГД ілюструє дуже високу відсоткову частку виражених запальних змін у вигляді базального та парієтального децидуїту (73,75 %), гнійного хоріоамніодецидуїту (41,25 %), віллізуїту, фунікулліту (6,25 %), що підтверджує генералізацію інфікування фето-плацентарного комплексу на тлі ПРПО при недоношеній вагітності.

Вичікувальна тактика дає можливість дозріти легеням плода, що впливає на зниження показників асфіксії при народженні, перинатальну захворюваність та смертність. Таким чином, вичікувальна тактика ведення з проведенням облігатної превентивної профілактики РДС синдрому, курсом антибактеріальної терапії пеніцилінами або цефалоспорином III генерації, ретельним спостереженням за станом матері та плода, моніторингом рівня індексів ендогенної інтоксикації є оптимальною для ПРПО при недоношеній вагітності. Такі дані корелюють з результатами інших дослідників, Schmitz T. [84] та уніфікованими гайдлайнами багатьох розвинених країн світу, Американської, Французької колегії та Королівського коледжу акушер-гінекологів зокрема [78; 84].

Проводячи аналіз перинатальної смертності в основній групі, було відмічено, що антенатальна загибель плода виникла у 2 вагітних в термінах 26 тижнів гестації, що склало 2,5 %, рання неонатальна смертність також у 2,5 % відповідно в 27 та 31 тиждень. Таким чином, рівень перинатальної смертності склав 25 %. Авжеж даний індикатор надання акушерсько-гінекологічної та неонатальної допомоги є достатньо високим в порівнянні з європейськими країнами [65]. Водночас, такий рівень перинатальної смертності в основній групі дослідження можливо пояснити невеликою вибіркою вагітних, народженням дітей з екстремально низькою масою та терміном гестації 26-27 тижнів.

За результатами аналізу перинатальних наслідків передчасно народжених дітей основної групи, встановлено, що лідируючими в структурі перинатальної захворюваності були: дихальні розлади (68,75 %), бронхо-легенева дисплазія (БЛД) (16,25 %), гіпоксично-ішемічна енцефалопатія (ГІЕ) (80 %) з синдромом пригнічення, неонатальна жовтяниця (71,25 %). Слід звернути увагу на вплив довготривалого безводного проміжку та передчасних пологів на показники інфекційної захворюваності у вигляді внутрішньоутробної пневмонії (17,5 %) та менінгіту (3,75 %). Внутрішлюнчкові (ВШК), перивентрикулярні (ПВК) та субепендімальні (СЕК) крововиливи як наслідки недоношеності мали місце у по 13,75 % відповідно.

Подальшим напрямком аналізу реалізації внутрішньоутробної інфекції на фоні ПРПО та довготривалого безводного проміжку було зіставити результати бактеріологічного дослідження піхви матері під час маніфестації ПРПО з результатами бактеріологічного дослідження калу та зіву новонароджених. Незважаючи на однакову методику бактеріологічного дослідження мікробний пейзаж матері та дитини суттєво відрізнявся, зі збільшенням видового складу мікроорганізмів у дітей в калі та зіві.

Катамнестичне спостереження нажаль не вдалось провести належним чином в повному обсязі. Адже за даними кабінету катамнезу Запорізької обласної дитячої лікарні лише 30 % дітей грудного віку спостерігались у педіатрів та суміжних спеціалістів (офтальмолога, невролога, нейрохірурга, сурдолога та ін), з

них лише 25 % отримували регулярне спостереження. Найбільш частими захворюваннями були – ретинопатія I-II ступеня (56,52 %), нейрорефлекторна збудливість (34,78 %), внутрішньо-зовнішня гідроцефалія (26,09 %) та кардит (13,04 %). Але для повноцінної оцінки наслідків передчасних пологів та ефективності антенатального та постанатального догляду в ближньому та віддаленому катамнезі необхідно залучення до ретельного динамічного спостереження лікарів педіатрів.

З метою виділення ключових імуноопосередкованих ланок розвитку ПРПО при недоношеній вагітності на місцевому рівні (окремо в плодових оболонках та окремо в плаценті) наступною дослідницькою точкою було визначення експресії компонентів вродженого та адаптивного імунітету шляхом визначення відносного рівня м-РНК Toll-likereceptors – TLR2, TLR4, прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-17A, транскрипційних регуляторів диференціювання Т-лімфоцитів T-bet (Th1), RAR-related orphan receptor gamma γ t – ROR γ t (Th17) і forkheadboxP3 –Foxp3 (Treg) та дослідження їх кореляційних взаємозв'язків з концентраціями прогестерону, естрадіолу та хоріонічного гонадотропіну людини в сироватці крові.

Таким чином, за результатами проведеного молекулярно-генетичного дослідження в плацентах породіль з індукованими ПРПО передчасними пологами були виявлені в 31 раз більші за групу контролю значення транскрипційної активності мРНК гена TLR2 та 10 разів вищими в плодових оболонках відповідно. Між іншим, діапазон експресії мРНК гена TLR4 у плаценті був нижчим за TLR2 та склав відповідно 0,39–43,85 (медіана – 7,74) та на противагу вищим в плодових оболонках – 0,18–216,01 (медіана – 40,04). Аналізуючи структуру розподілу значень відносної нормалізованої експресії в залежності від терміну маніфестації ПРПО, вдалось зафіксувати у 53,53 раза більший у порівнянні з практично здоровими жінками рівень експресії TLR4 в плодових оболонках в 33–34 тижні виникнення ПРПО, у 24,77 раза – в 31–32 тижні відповідно.

На основі вивчення спектру всіх отриманих значень транскрипційної активності мРНК гена IL1 β , даний показник в плаценті становив 1,43–227,93

(mean – 25,08), у плодових оболонках – 1,23–139,24 (mean – 23,83). Разом з тим, досліджена в плаценті відносна нормалізована експресія мРНК гена IL-17A отримала менший за IL1 β розмах значень та склала 1,15–62,76 (mean – 5,69), у плодових оболонках – 1,63–130,67 (mean – 19,31).

Резюмуючи отримані дані по активності IL1 β , встановлено збільшення в 25,08 раз відносної нормалізованої кількості мРНК даного гена в плаценті у вагітних з ПРПО по відношенню до контролю, в плодових оболонках – в 23,83 рази, що вказує на гіперактивність прозапальної імунної відповіді на місцевому рівні. Кількість мРНК гена іншого досліджуваного прозапального цитокіну IL17A в плаценті у вагітних з ПРПО по відношенню до контролю склала 5,69 \pm 11,27, в плодових оболонках – 19,31 \pm 25,47.

На думку Kitazawa J. [3] та Yuan H. [29] Т-хелпери включають в себе три субпопуляції Т клітин: Th1, Th2 і Th17, останні з яких можуть відігравати важливу роль у захисті від деяких позаклітинних патогенів. Наявні погляди щодо цього питання ведуть до перегляду механізмів, що лежать в основі ролі Th1/Th2 в імунній відповіді. IL-17 продукують як Т-хелпери 17 типу, так і група вроджених ILC3 (3 innatelymphoidcells), обидві популяції яких експресують ROR γ T (RAR-relatedorphanreceptorgamma), транскрипційний активність профілю якого також були висвітлені в нашому дослідженні.

Слід звернути увагу на те, що чим вищим був транскрипційний профіль прозапальних цитокінів в плодових оболонках, тим раніше зніціювалась спонтанна пологова діяльність та передчасні пологи. Водночас, низький та середній рівень активності зазначених генів як в плаценті, так і плодових оболонках, сприяв пролонгуванню вагітності, вчасному проведенню профілактики синдрому дихальних розладів новонародженого та превентивної антибактеріальної терапії подальших ускладнень ПРПО при недоношеній вагітності.

За результатами проведеного аналізу асоціації однонуклеотидного поліморфізму генів (single nucleotide polymorphism – SNP) з виникненням ПРПО при недоношеній вагітності методом полімеразної ланцюгової реакції зі

зворотною транскрипцією в режимі реального часу встановлені генотипи схильності до високого ризику ускладнень та генотипи, які мають протективний ефект.

З метою встановлення закономірностей патогенезу та прогнозування ризику розвитку ПРПО при недоношеній вагітності виникла необхідність вивчення мутацій генів $IL1\beta$ (rs1143627) та $TNF\alpha$ (rs1800629). На початку цього дослідження на теренах України не проводилося вивчення такої комбінації генів при даній патології.

Дослідженню цитокінового профілю в цервікальному слизі та периферичній крові у жінок з передчасними пологами в Україні були присвячені роботи Мандрикової А.С. [173], Федішин Т.В. [207], Гарбузюк В.В. [145]. Зальновідомо, що системний прозапальний цитокін $TNF\alpha$ є центральним регулятором імунної відповіді, активує лейкоцити та індукує продукцію інших прозапальних цитокінів $IL1\beta$, таким чином запускає прозапальні імунні реакції. Пусковим фактором запальних деструктивних реакцій в плаценті, що призводять до ішемії її ділянок також може бути високий рівень $TNF\alpha$. Є підстави вважати, що збільшення концентрації прозапальних цитокінів в середовищі, що оточує ембріон, може призводити до порушення проникності гемато-енцефалічного бар'єру і появи неврологічної захворюваності в ранньому періоді новонародженості.

За результатами молекулярно-генетичного дослідження кожного з генотипів (GG, GA та AA) поліморфізму rs1143627 гена $IL1\beta$ та rs1800629 гена $TNF\alpha$ не вдалось виявити статистично вірогідну асоціацію з ПРПО в термінах гестації 26-34 тижні ($\chi^2 = 0,18$ та $\chi^2 = 0,44$ відповідно). На противагу Sata F. зі співавторами довели зв'язок поліморфізму прозапальних цитокінів $IL1\beta$ та $IL1\alpha$ з передчасними пологами на Японській популяції [87]. Пізніше у дослідженні, проведеному Jones H.M., Holzman C. на великій репрезентативній вибірці жінок США (n=3019 за 6 років спостереження) поліморфізм гену $IL1\beta$ був контраверсійно представлений як неасоційований з передчасними пологами [51]. Хоча і на меншій вибірці жінок Данії підвищений ризик ПП та SNP $IL1\beta$ та $TNF\alpha$ був продемонстрований Hollegaard M.V., Grove J. [76-77]. Всупереч дослідженню Hollegaard M.V. нам не

вдалось знайти асоціацію поліморфізму IL1 β (rs1143627) з виникненням ПРПО при недоношеній вагітності на популяції Запорізького регіону.

Moura E. з колегами показали, що поліморфізми TNF α , інтерферону γ та IL6 асоційовані з передчасними пологами [48]. З іншого боку, Bitner A., Devi S.G. в своїх дослідженнях на популяції жінок Польщі та Індії відповідно не знайшли асоціації TNF α з передчасними пологами ініційованими ПРПО [13]. Ми також оцінили внесок TNF α (rs1800629) до генетичної схильності вагітних до передчасних пологів. Нам не вдалось довести зв'язок TNF α (rs1800629) з високим ступенем ризику ПРПО при недоношеній вагітності в популяції українців.

Аналіз мультиплікативної моделі успадкування показав, що відносна частота досліджуваних поліморфних варіантів генів IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800896 та rs1800872) та RLN2 (rs4742076 та rs3758239) істотно відрізнялась між досліджуваними групами.

У дослідженні, проведеному Heinzmann A. гаплотипи IL13 / IL4 у популяції Німеччини були представлені як асоційовані з передчасними пологами [7]. Ми довели зв'язок IL4 rs2243250 з високим ступенем ризику ПРПО при недоношеній вагітності в Запорізькій області. IL10 є протизапальним цитокіном і послаблює запальну реакцію через вплив на прозапальні цитокіни та зменшує функцію імунних клітин нейтрофілів та макрофагів. Stonek F., Metzenbauer M в своїх дослідженнях не знайшли асоціації IL10 з передчасними пологами [50].

Результати нашого дослідження суперечать даним Stonek F. Ми оцінили внесок IL10 rs1800896 та rs1800872 до схильності вагітних до ПРПО та передчасних пологів. На підставі отриманих достовірних статистичних даних, представлених вище, цей маркер може бути використаний для прогнозування даних ускладнень вагітності, використовуючи, зокрема метод MDR – багатофакторного зменшення розмірності.

Використана в дослідженні програма багатофакторного зменшення розмірності допомогла створити моделі ген-генної взаємодії з найвищим коефіцієнтом перехресної перевірки та встановити комплексний «незалежний»

ефект поліморфного варіанту генів IL4 rs2243250, IL10 rs1800896 та rs1800872 для розвитку ПРПО та передчасних пологів в Українській популяції. Класифікаційна здатність створених моделей, з огляду на високий ступінь щільності (90 % або 100 %), підтвердила ймовірність використання трикомпонентної моделі, що включає три вищезазначені гени, які підвищують ризик ПРПО при недоношеній вагітності зі збалансованою точністю 91,49 % та специфічністю 82,98 % відповідно.

В ході проведеного аналізу результатів обстеження пацієнтів встановлено, що протективним ефектом наділені AG генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239) – RR=0,67 95 % CI 0,05-0,54; CC генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076) – RR=0,59 95 % CI 0,46-0,75; TG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872) – RR=0,49 95 % CI 0,32-0,73. В популяції України наявність СТ генотип поліморфізму RLN2 (rs4742076) підвищує ризик ПРПО при недоношеній вагітності в 17 разів (95 % CI 2,29-125,67), GG генотип поліморфізму IL10 (rs1800872) в 12,5 разів (95 % CI 3,07-50,85) та AA генотип поліморфізму RLN2 (rs3758239) в 1,74 рази (95 % CI 1,33-2,28).

RLN2 синтезується жовтим тілом та входить до системної циркуляції під час вагітності [93; 100; 107]. У жінок із спонтанними передчасними пологами з порівнянні з терміновими на ранніх термінах вагітності має місце низький рівень RLN2, тоді як високий рівень спостерігається на пізніх термінах гестації. З іншого боку, Bryant-Greenwood G.D. з колегами проаналізували, що підвищена експресія внутрішньоматкового RLN2 присутня у пацієнтів з ПРПО без інфікування [100]. Нещодавнє дослідження Vogel I. з однорідним населенням Данії підтвердило, що жінки гомозиготні для специфічного SNP в промоторній області RLN2 мають генетичну схильність до передчасних пологів [76].

У дослідженні Frederico G. Rocha зі співавторами показано внесок SNP rs4742076 та rs 3758239 у промоторі RLN2 на популяції Філіппін [100]. Згідно з рівновагою Харді-Вайнберга ми отримали високодостовірні дані по SNP генів RLN2 rs4742076 та rs 3758239 у жінок Запорізького регіону. Тому мультиплікативна модель успадкування по цій ознаці може бути використана для

прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності для вагітних Запорізької популяції.

Підсумовуючи дані досліджуваного репертуару генів SNP, включених до нашого дослідження, ми отримали достовірну різницю у всіх маркерах, про що свідчать дані MDR, χ^2 , $p < 0,05$ та показник відношення шансів. Наявність цих алелей може порушувати баланс між про- та протизапальними цитокінами, змінити запальні реакції, збільшуючи ризик розвитку ПРПО та передчасних пологів.

Враховуючи, що методи ПЛР-ЗТ нажаль не впроваджені на сьогодні широко в клінічну практику, задля апробації отриманих даних про напруженість вродженого імунітету за допомогою рутинного аналізу периферичної крові на гематологічному аналізаторі були визначені та розраховані індекси EI в динаміці у жінок з передчасними пологами на тлі ПРПО та їх новонароджених

Загальна кількість лейкоцитів (WBC) у вагітних при маніфестації ПРПО була вірогідно вище норми і склала $14,53 \pm 4,9$, а при виписці зі стаціонару $9,45 \pm 2,96$ на фоні застосування антибактеріальної терапії [174]. Аналізуючи тривалість безводного проміжку до моменту ініціації передчасної пологової діяльності та його залежність від рівня загальної кількості WBC в периферичній крові вагітних, спостерігалась тенденція збільшення даного показника при зменшенні тривалості безводного проміжку.

На думку Jung, I. et al., предиктивними маркерами хоріоамніоніту у вагітних з ПРПО до 36 тижнів є С-реактивний білок, загальний рівень лейкоцитів, нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення та DNI (delta neutrophil index) [224; 119]. Але нажаль можливості гематологічного аналізатора, який був використаний в даному дослідженні, були обмеженими в аспекті визначення дельта-нейтрофільного індексу.

С-реактивний білок як індикатор системного запалення та білок гострої фази запалення досліджувався у всіх передчасно-народжених новонароджених. Але в цьому дослідженні не показав себе як предиктивний маркер запалення, лише у 15 % новонароджених основної групи мав суттєве кількісне збільшення до

18,50±11,29 мг/л, в усіх інших новонароджених основної групи даний показник був негативним.

Аналіз гематологічних показників рівня ендогенної інтоксикації показав, що найбільш чутливими лейкоцитарними індексами у вагітних із передчасними пологами були NLR (нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення) та лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) Кальф-Каліфа, у новонароджених – ЛІІ Кальф-Каліфа та індекс зсуву нейтрофілів (ІЗН). У вагітних основної групи при розрахунку нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення (NLR) зафіксовано достеменно перевищення норми в 2 рази при госпіталізації (6,12±2,57), водночас на тлі застосування антибактеріальної терапії, після пологорозродження та при виписці зі стаціонару – нормалізація до 3,25±1,28 відповідно. Разом з тим, у передчасно народжених дітей даний показник виявився неінформативними та був в референтних межах норми при народженні (2,47±1,15) та при виписці (1,32±0,86) зі стаціонару. Отримані дані поєднуються з результатами інших дослідників, зокрема Jung, I., Kwon, J.Y., Kim, S.J [119].

В ході проведеного дослідження гормонів фето-плацентарного комплексу за допомогою імуноферментного аналізу в залежності від терміну виникнення ПРПО встановлено, що в основній групі дослідження найнижчі концентрації прогестерону були в терміні 26-27 тижнів та склали 25,89 нг/мл, найвищі – 67,45 нг/мл в 31-32 тижні відповідно. Аналіз концентрацій хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) показав, що в найнижчим даний показник був також в терміні 26-27 тижнів та склав 1182,8 мОд/мл. В термінах гестації 28-30 та 26-27 тижнів у вагітних основної групи виявлені найнижчі концентрації естрадіолу в сироватці крові та склали 588,31 пг/мл та 653,87 пг/мл відповідно. У всіх гестаційних підгрупах основної групи рівень досліджених гормонів був нижчим за цей показник в відповідному терміні у вагітних контрольної групи ($p \leq 0,05$).

У жінок основної групи під час вивчення кореляційних матриць між рівнем прогестерону та естрадіолу було встановлено статистично вірогідний сильний прямий кореляційний зв'язок ($r=0,87$, $p \leq 0,05$) Тобто, при збільшенні концентрації прогестерону в сироватці крові суттєво зростає рівень естрадіолу. У жінок з

ПРПО в 26-34 тижні під час вивчення залежності між концентрацією прогестерону та ХГЛ також доведена помірна пряма кореляція, яка набула статистичної значущості ($r= 0,65, p \leq 0,05$).

З метою оцінки імуномодулюючого ефекту гормонів системи мати-плацента-плід на місцевому рівні, були досліджені кореляційні взаємозв'язки між концентрацією прогестерону, естрадіолу, ХГЛ та експресією компонентів вродженого та адаптивного імунітету в плодових оболонках та плаценті.

Достовірна помірна зворотна кореляційна залежність була виявлена між концентрацією прогестерону ($r= - 0,66, p < 0,05$) та естрадіолу ($r= - 0,57, p < 0,05$) в сироватці крові та транскрипційною активністю прозапального IL17 α в плодових оболонках у жінок основної групи. Тобто, чим більшою була експресія прозапального IL17 α в плодових оболонках, тим нижчими були концентрації гормонів фетоплацентарного комплексу, наділених імунологічним потенціалом (прогестерону та естрадіолу). Встановлена статистично вірогідна пряма кореляційна залежність помірної сили між концентрацією ХГЛ та експресією вродженого імунітету TLR2 в плаценті ($r=0,55, p < 0,05$) та TLR4 в плодових оболонках ($r=0,56, p < 0,05$).

Встановлено, що дуже високі рівні експресії компонентів прозапального адаптивного імунітету безпосередньо впливають не лише на цитокіновий дисбаланс, але й на рівень гормонів системи мати-плацента-плід, змінюючи вектор імунологічної толерантності під час вагітності. Таким чином, проведений сучасний молекулярно-генетичний метод дозволив виділити ключові імуноопосередковані ланки розвитку передчасного розриву плодових оболонок та ініціації передчасних пологів в 26-34 тижні гестації.

Маючи за основну мету дослідницької роботи покращення перинатальних наслідків шляхом прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності наступним етапом дослідження було формування прогностичних моделей за допомогою регресійного аналізу та послідовного статистичного аналізу Вальда-Гублера.

Для визначення діагностичної цінності рівня гематологічних показників (рівень лейкоцитів (WBC), гранулоцитів (GRAN), лімфоцитів (LYM),

нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення (NLR) в периферичній крові) та індексів EI як предикторів ПРПО та ініціації передчасних пологів у терміні гестації 26-34 тижні нами проведено ROC-аналіз і встановлено середню якість цих прогностичних факторів ($p < 0,001$). Оптимальна точка відсічки (cut-off value) для прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності за критерієм максимального балансу між чутливістю і специфічністю, відповідала для $WBC > 12,3 \text{ }^9/\text{л}$, для $LYM < 19 \%$, $GRAN > 76 \%$, $NLR > 3,87$, ЛШ Кальф-Каліфа $> 3,42$, ЛШ Островського $> 2,76$.

Нам не вдалось знайти тенденцію, що набула статистичної значущості в зв'язку з передчасними пологами безсимптомної бактеріурії (OR=1,00, 95 % CI 0,30-3,28), віці вагітної > 35 років (OR=2,61, 95 % CI 0,89-7,64), наявності в анамнезі ранніх репродуктивних втрат (OR=2,61, 95 % CI 0,89-7,64), хронічного аднекситу в анамнезі (OR=0,50, 95 % CI 0,17-1,50) та хронічного пієлонефриту (OR=0,50, 95 % CI 0,17-1,50), відповідно з чим дані фактори були виключені з формування моделі прогнозування передчасних пологів, асоційованих з ПРПО.

На завершальному етапі дослідження за допомогою послідовної процедури А. Вальда (в модифікації Е. Г. Гублера), після проведення оцінки діагностичних коефіцієнтів (ДК), а також мір інформативності (МІ) Кульбака була сформована диференційно-діагностична таблиця неінвазивних клінічних маркерів високого ризику ПРПО при недоношеній вагітності, яка представлена в додатку Г та може використовуватись в практичній діяльності лікаря акушера-гінеколога.

Отже, аналіз та узагальнення результатів проведеного дослідження дозволили сформулювати наведені нижче висновки та практичні рекомендації.

ВИСНОВКИ

Передчасні пологи займають особливе місце у структурі невиношування вагітності, тому що є однією з основних причин перинатальної захворюваності та смертності новонароджених (75 % випадків припадає на передчасно народжених дітей). На сьогодні питання розробки та впровадження нових способів прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності залишається актуальним. В дисертаційній роботі представлено нове вирішення актуальної проблеми сучасного акушерства щодо покращення акушерських та перинатальних наслідків шляхом прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в термінах вагітності 26-34 тижні гестації.

1. Факторами ризику передчасного розриву плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні є: низький індекс здоров'я (екстрагенітальна – 42,5 % та гінекологічна 53,8 % патологія), дисбіоз піхви з наявністю значимих титрів умовно-патогенної та патогенної флори (68,6 %), коротка шийка матки (22,5 %) та безсимптомна бактериурія (12,8 %).

2. За допомогою сучасного молекулярно-генетичного методу виділені ключові імуноопосередковані ланки розвитку передчасного розриву плодових оболонок та ініціації передчасних пологів в 26-34 тижні гестації. Дуже високі рівні експресії компонентів прозапального адаптивного імунітету безпосередньо впливають на цитокіновий дисбаланс, змінюючи вектор (Th1/ Th17/ Treg) направленості імунної відповіді в децидуальній тканині та плодових оболонках при ремоделюванні імунологічної толерантності під час вагітності.

3. Наявність СТ генотипу поліморфізму RLN2 підвищує ризик ПРПО при недоношеній вагітності в 17 разів (95 % CI 2,29-125,67), GG генотипу поліморфізму IL10 в 12,5 разів (95 % CI 3,07-50,85) та AA генотипу поліморфізму RLN2 в 1,74 рази (95 % CI 1,33-2,28). Статистично не підтверджена вірогідна асоціація поліморфізмів генів системних прозапальних цитокінів IL1 β ($\chi^2 = 0,18$) та TNF α ($\chi^2 = 0,44$) з передчасним розривом плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні.

4. Зниження рівня прогестерону та естрадіолу, збільшення рівня хоріонічного гонадотропіну людини підвищує ризик ініціації передчасних пологів у вагітних з передчасним розривом плодових оболонок.

5. Основними неінвазивними маркерами ступеню активності запального процесу та вираженості ендогенної інтоксикації при передчасних пологах на тлі ПРПО у вагітних виступають – загальна кількість лейкоцитів (WBC), рівень гранулоцитів (GRAN) та лімфоцитів (LYM), ЛШ Кальф-Каліфа та нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення (NLR). Згідно з проведеним ROC-аналізом, оптимальна точка відсічки (cut-off value) для прогнозування ПРПО при недоношеній вагітності за критерієм максимального балансу між чутливістю і специфічністю, відповідає для WBC > 12,3 ⁹/л, для LYM < 19%, GRAN > 76 %, NLR > 3,87, ЛШ Кальф-Каліфа > 3,42. Використання даних предикторів ризику дозволяє достовірно знизити частоту перинатальних ускладнень на 35,9% та вчасно виконати превентивні заходи та розродження.

6. Пролонгація вагітності у жінок з ПРПО в термінах 26-34 тижні при ретельному антенатальному моніторингу плода та комплексному підході до ведення даного контингенту жінок позитивно впливає на результати розродження та поліпшує перинатальні наслідки.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Жінкам, які перебувають на обліку в жіночій консультації, в II половині вагітності, в комплексному дослідженні рекомендовано оцінити інтегративний індекс анамнезу, проводити розрахунок рівня ендогенної інтоксикації за допомогою даних загального аналізу крові на гемолітичному аналізаторі (WBC, GRAN, LYM, NLR) та проводити молекулярно-генетичне дослідження для визначення СТ генотипу поліморфізму RLN2, GG генотипу поліморфізму IL10 для виявлення інфекційних та генетичних предикторів реалізації інтраамніального інфікування та подальшого розвитку ПРПО та передчасних пологів.

2. Для раннього прогнозування розвитку ПРПО в термінах 26-34 тижні та стратифікації на групи високого та низького ризику, усі вагітні в термінах гестації 22-34 тижні мають бути обстежені мікроскопією урогенітального мазка з визначенням типу біоценозу або методом ПЛР Фемофлор Скрин для виявлення якісно-кількісного складу мікробіоценозу урогенітального тракту.

3. Оптимальною стратегією менеджменту ПРПО при недоношеній вагітності є вичікувальна тактика ведення до 34 тижнів з проведенням профілактики РДС синдрому, курсом превентивної антибактеріальної терапії пеніцилінами або цефалоспоринами III генерації протягом 7-10 днів на тлі ретельного антенатального моніторингу за станом плода з КТГ із STV (не рідше 1 р/день), динамічним спостереженням за станом вагітної матері з визначенням рівня NLR (загальний аналіз крові на гемолітичному аналізаторі не рідше 1 раз на 3 дні).

4. З метою зниження перинатальних ускладнень у жінок з довготривалим безводним проміжком на тлі ПРПО в термінах гестації 26-34 тижні та наявності ознак хоріоамніоніту (температура $\geq 38^{\circ}\text{C}$, збільшення рівня лейкоцитів та гранулоцитів, зниження рівня лімфоцитів, тахікардія плода або STV $\leq 3,5$ мс) рекомендовано змінити вичікувальну тактику та активну з достроковим розродженням

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. A high concentration of fetal fibronectin in cervical secretions increases the risk of intra-amniotic infection and inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. / К.Ж. Romero et al. *J Perinat Med*. 2019 No 4;47(3). P. 288-303. DOI: 10.1515/jpm-2018-0351.
2. Advanced maternal age: adverse outcomes of pregnancy, a meta-analysis. / Rosa Lomelino Pinheiro, Ana Luísa Areia, Anabela Mota Pinto, et al. *Acta Med Port*. 2019. No 29. 32(3). P. 219-226. DOI: 10.20344/amp.11057.
3. Alteration in endometrial helper T-cell subgroups in chronic endometritis. / J. Kitazawa, F. Kimura, A. Nakamura et al. *Am J Reprod Immunol*. 2020. No 6. P.e13372. DOI: 10.1111/aji.13372.
4. Ancestry informative markers and selected single nucleotide polymorphisms in immunoregulatory genes on preterm labor and preterm premature rupture of membranes: a case control study. / B.R. Ramos, N.D. Mendes, A.A Tanikawa et al. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2016. No 16. P. 30. DOI: 10.1186/s12884-016-0823-1.
5. Antimicrobial properties of amniotic and chorionic membranes: a comparative study of two human fetal sacs. / M. Zare-Bidaki, S. Sadrinia, S. Erfani et al. *J Reprod Infertil*. 2017. 18(2). P. 218–224.
6. Association of cord blood leptin, soluble leptin receptor, insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-binding protein-1 on birth indices in healthy full-term newborns. / K.H. Tennekoon et al. *Horm Res Paediatr*. 2014. No 81(4). P. 232-238.
7. Association of Interleukin 13/4 and toll-like receptor 10 with preterm births. / A. Heinzmann, B. Mailaparambil, N. Mingirulli et al. *Neonatology*. 2009. No 96(3). P. 175–181. doi: 10.1159/000210091.

8. Association of interleukin-10 gene promoter polymorphisms with recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. / Z Yang. *J Assist Reprod Genet.* 2016. No 4. P. 374-379.
9. Bacterial vaginosis in pregnant adolescents: proinflammatory cytokine and bacterial sialidase profile. Cross-sectional study. / C.S. Ferreira at al. *Sao Paulo Med J.* 2015. No 133(6). P. 465-470.
10. Benoist G. Prediction of preterm delivery in symptomatic women (preterm labor). *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris).* 2016. No 45(10). P. 1346-1363.
11. Berghella V, Saccone G. Cervical assessment by ultrasound for preventing preterm delivery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019. No 25. P. CD007235. DOI: 10.1002/14651858.CD007235.
12. Beta-estradiol regulates voltage-gated calcium channels and estrogen receptors in telocytes from human myometrium / Adela Banciu at al. *J Mol Sci.* 2018 No 19. P. 1413. DOI: 10.3390/ijms19051413
13. Bitner, A., & Kalinka, J. IL1 β , IL6 promoter, TNF α -promoter and IL-1RA gene polymorphisms and the risk of preterm delivery due to preterm premature rupture of membranes in a population of Polish women. *Arch Med Sci.* 2010. No 6(4). P. 552–557. doi: 10.5114/aoms.2010.14467.
14. Bolotskikh V, Borisova V Combined value of placental alpha microglobulin-1 detection and cervical length via transvaginal ultrasound in the diagnosis of preterm labor in symptomatic patients.. *J Obstet Gynaecol Res.* 2017. No 43(8). P. 1263-1269.
15. Cappelletti M, Presicce P, Kallapur SG. Immunobiology of acute chorioamnionitis. *Front Immunol.* 2020. No 16. P. 649. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00649
16. Cervical pessary after arrested preterm labor: a randomized controlled trial. F.J.R. Hermans at al. *Obstet Gynecol.* 2018. No. 132(3). P. 741-749. doi: 10.1097/AOG.0000000000002798. PMID: 30095769

17. Cervical pessary to reduce preterm birth <34 weeks of gestation after an episode of preterm labor and a short cervix: a randomized controlled trial. / L. Pratcorona at al. *Am J Obstet Gynecol*. 2018. No 219(1). P. 99.e1-99.e16. doi: 10.1016/j.ajog.2018.04.031.
18. Cervico-vaginal placental alpha-macroglobulin-1 combined with cervical length for the prediction of preterm birth in women with threatened preterm labor./ A.P. Radan at al. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2020. No. 99(3). P. 357-363. doi: 10.1111/aogs.13744
19. Chorioamnionitis and cerebralpalsy: a meta-analysis / J.G. Shatrov, S.C. Birch, L.T. Lam at al. *Obstet. Gynecol*. 2013. Vol. 116, No 2. P. 387-392.
20. Côté N. Pasquier J.C. Spontaneous preterm birth and the maternal microbiome. *Med Sci (Paris)*. 2018. No 34(10). P. 799-805. doi: 10.1051/medsci/2018205.
21. Dakov T, Dimitrova V. Pregnancy and delivery in women above the age of 35. *Akush Ginekol*. 2014. No 53(1). P. 13-20.
22. Das A. Inflammaging and estradiol among older u.s. women: a nationally representative longitudinal study. *Biodemography Soc Biol*. 2017. No 63(4). P. 295-308.
23. Decrease in the incidence of threatened preterm labor after implementation of transvaginal ultrasound cervical length universal screening. / R. Navathe at al. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2019. No 32(11). P. 1853-1858. doi: 10.1080/14767058.2017.1421166.
24. Delta neutrophil index (DNI) as a novel diagnostic and prognostic marker of infection: a systematic review and meta-analysis. / J H Park, H J Byeon, K H Lee et al. *Inflamm Res*. 2017. No 66(10). P. 863-870. doi: 10.1007/s00011-017-1066-y.
25. Early midtrimester serum insulin-like factors and cervical length to predict preterm delivery. / J.E. Shin at al. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2016. No 55(1). P.45-49.

26. Early pregnancy vaginal microbiome trends and preterm birth. / M. J. Stout at al. *Am J Obstet Gynecol.* 2017. No 217(3). P. 356.e1-356.e18
27. Ecological dynamics of the vaginal microbiome in relation to health and disease. Greenbaum S, Greenbaum G, Moran-Gilad J, Weintraub AY. *Am J Obstet Gynecol.* 2019. No 220(4). P. 324-335.
28. Economic consequences of over-diagnosis of threatened preterm labor. / Coloma M, Kang F, l. Vallejo-Torres at al. *Int J Gynaecol Obstet.* 2018. No 141(2). P. 200-205. DOI: 10.1002/ijgo.12450.
29. Effect of T helper cell 1/T helper cell 2 balance and nuclear factor-kappa B on white matter injury in premature neonates. / X Su, H. Yuan, H Cui et al. *Mol Med Rep.* 2018. No 17(4). P. 5552-5556. DOI: 10.3892/mmr.2018.8511.
30. Effects of oral probiotic supplements on vaginal microbiota during pregnancy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial with microbiome analysis. / S. Husain at al. *BJOG.* 2020. No 127(2). P. 275-284.
31. Establishment of vaginal microbiota composition in early pregnancy and its association with subsequent preterm prelabor rupture of the fetal membranes. / R.G. Brown, Al-Memar M, J.R Marchesi at al. *Transl Res.* 2019. No 207. P. 30-43.
32. Estrada Guitierrez G., Zaga V. Clavellina Interaction between pathogeneticbacteria and intrauterine leucocytestrigger alternative molecular signaling cascades leading to labor inwomen. *Infection and Immunity.* 2010. No 7. P. 4792–4799.
33. Estrogen accelerates the resolution of inflammation in macrophagic cells. / Villa A, Rizzi N, Vegeto E at al. *Sci Rep.* 2015. No 19. P. 15224
34. Fetal t cell activation in the amniotic cavity during preterm labor: a potential mechanism for a subset of idiopathic preterm birth. / Nardhy Gomez-Lopez, Roberto Romero, Yi Xu at al. *J Immunol.* 2019. No 1 (203). P. 1793-1807. DOI: 10.4049/jimmunol.1900621.

35. Gailly-Fabre E, Kerlan V, Christin-Maitre S. Pregnancy-associated hormones and fetal-maternal relations. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2015. No 76 (1). P. 39-50.
36. Glover AV, Manuck TA. Screening for spontaneous preterm birth and resultant therapies to reduce neonatal morbidity and mortality: A review. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2018. No 23(2). P. 126-132.
37. Gupta P, Singh MP, Goyal K. Diversity of Vaginal Microbiome in Pregnancy: Deciphering the Obscurity. *Front Public Health*. 2020. No 24. P. 326.
38. Hood L.E. Galas D.J.. Revolutionizing medicine in the 21st century through system approaches. P4 medicine: personalized, predictive, preventive, participatory. a change of view that changes everything. *Biotechnol J*. 2012. Vol.8: <http://www.cra.org/ccc/initiatives>.
39. Horton J. S., Yamamoto S.Y., Bryant-Greenwood G.D.. Relaxin modulates proinflammatory cytokine secretion from human decidual macrophages. *Biol Reprod*. 2011. No. 85(4). P. 788-97
40. Huisman G.J., Fauser B.M., Eijkemans M.J. Implantation rates after in vitro fertilization and transfer of a maximum of two embryos that undergone three to five days of culture. *Fertil. Steril*. 2015. Vol. 73, No 1. P. 117-123.
41. Human chorionic gonadotropin and IL-35 contribute to the maintenance of peripheral immune tolerance during pregnancy through mediating the generation of IL-10(+) or IL-35(+) Breg cells./ J Liu, X. Chen, S. Hao, H. Zhao et al. *Exp Cell Res*. 2019. No 15. 383 (2). P. 111-115.
42. Human chorionic gonadotropin as a central regulator of pregnancy immune tolerance. Schumacher A, Heinze K, Witte J. et al. *J Immunol*. 2013. Vol.15, No 190(6). P. 2650-2658.
43. Iams D. J. Jay D. I Preterm birth categories—labels with consequences. *Am. J. Obstet, Gynecol*. 2014. No. 7. P. 102-107. DOI: 10.1016/j.ajog.2013.10.013.

44. Identification of preterm labor: the role of the fibronectin and ultrasound cervicometry and their association / D.G. C. Renzo at al. *Minerva Ginecol.* 2011. No 63 (6). P. 477-483.
45. Identification of preterm birth in women with threatened preterm labour between 34 and 37 weeks of gestation. / C. Gezer, A. Ekin, U. Solmaz at al. *J Obstet Gynaecol.* 2018. Vol 38. No 5. P. 652-657.
46. Improving the screening accuracy for preterm labor: is the combination of fetal fibronectin and cervical length in symptomatic patients a useful predictor of preterm birth? A systematic review. / E.A De Franco at al. *Am J Obstet Gynecol.* 2013. Vol. 208(3), No 233. P. 1-6. doi: 10.1016/j.ajog.2012.12.015.
47. Inflammatory cells in liquid-based cytology smears classified as bacterial vaginosis. / J Junior Eleutério, at al. *Diagn Cytopathol.* 2017. No 45(12). P. 1100-1104.
48. Inflammatory cytokine gene polymorphisms and spontaneous preterm birth. / E. Moura, E., Mattar, R., de Souza et al. *J. Reprod Immunol.* 2009. No 80(1–2). P. 115–121. doi: 10.1016/j.jri.2008.11.007.
49. Influence of pregnancy history on the vaginal microbiome of pregnant women in their first trimester. / D. Nasioudis, L.J. Forney, G.M. Schneider, at al. *Sci Rep.* 2017. Vol. 31, No 7(1). P 10201
50. Interleukin-10-1082 G/A promoter polymorphism and pregnancy complications: results of prospective cohort study in 1616 pregnant women. / F. Stonek, M. Metzenbauer, E. Hafner et al. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008. No 87. 430–43. doi: 10.1080/00016340801995657.
51. Interplay of cytokine polymorphisms and bacterial vaginosis in the etiology of preterm delivery. / H.M. Jones, C. Holzman, K.H. Friderici *J Reprod Immunol.* 2010. No 87(1–2), P. 82–89. doi: 10.1016/j.jri.2010.06.158.
52. Intraamniotic inflammation in women with preterm prelabour rupture of membranes. / I. Musilova, R. Kutová, L. Pliskova et al. *Plos One.*, 2015. No 10(7). P. e0133929. doi: [10.1371/journal.pone.0133929].

53. Jacobsson B, Saltvedt S., Wikström A.K. Preterm delivery: an overview on prediction, prevention and treatment. *Lakartidningen*. 2019. No 8. P. 116.
54. Lee YH, Kim JH, Song GG. Meta-analyses of associations between interleukin-10 polymorphisms and susceptibility to recurrent pregnancy loss. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016. No 200. P. 51-57.
55. Li H.R., Li Y.H., Wang P.H. Prediction of preterm labor by cervical length or lower uterine wall thickness.. *J Chin Med Assoc*. 2019. No. 82(3). P. 247. doi: 10.1097/JCMA.0000000000000058.
56. Low levels of circulating T-regulatory lymphocytes and short cervical length are associated with preterm labor. / M. Koucký at al. *J Reprod Immunol*. 2014. No 106. P.110-117. doi: 10.1016/j.jri.2014.04.001.
57. Lyubomirskaya K.S. Kamyshnyi O. M.,. Krut Yu.Ya Association between single nucleotide polymorphism of immunoregulatory genes and preterm premature rupture of membranes in preterm labour. *Патологія*. 2018. Вип. 15. №2. P. 187-193.
58. MacIntyre DA, Sykes L, Teoh TG. Prevention of preterm labour via the modulation of inflammatory pathways. *Matern Fetal Neonatal Med*. 2012. No 25. P. 17-20. DOI 10.3109/14767058.2012.666114.
59. Malone F.D. What is new in the management of acute preterm labor?: Best articles from the past year. *Obstet Gynecol*. 2016. No 27(2). P. 398-399.
60. Maternal serum insulin-like growth factor (IGF-I) and binding proteins IGFBP-1 and IGFBP-3 at 11-13 weeks' gestation in pregnancies delivering small for gestational age neonates. / S. Sifakis at al. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2012. No 161(1). P. 30-33.
61. Maternal serum progesterone-induced blocking factor (PIBF) in the prediction of preterm birth. / Hudić I, Stray-Pedersen B, Szekeres-Bartho J, Fatušić Z, Dizdarević-Hudić L, Tomić V, Polgar B, Hadžiefendić B, Fatušić J. *J Reprod Immunol*. 2015. No 109. P. 36-40. doi: 10.1016/j.jri.2015.02.006.

62. Menon R. Oxidative stress damage as a detrimental factor in preterm birth pathology. *Front Immunol.* 2014. No 12. P. 567.
63. Microbiome in normal and pathological pregnancies: A literature overview. / C.R. Taddei, R.V. Cortez, R. Mattar et al. *Am J Reprod Immunol.* 2018. No 80(2). P.e12993.
64. Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome. / Schlabritz-Loutsevitch, N., Maher, J., Buchmann, J. *J. Perinat. Med.* 2017. No 46(5). P. 465–488. doi: 10.1515/jpm-2017-0027.
65. Mortality and severe morbidity of very preterm infants: comparison of two French cohort studies. / A. Godeluck, P. Gérardin, V Lenclume et al. *BMC Pediatr.* 2019. No 17;19(1). P. 360. DOI: 10.1186/s12887-019-1700-7.
66. Newly characterized decidual Tim-3+ Treg cells are abundant during early pregnancy and driven by IL-27 coordinately with Gal-9 from trophoblasts. / Hu X, Zhu Q, Wang Y et al. *Hum Reprod.* 2020. No 1; 35(11). P. 2454-2466
67. Nitsche J.F., Jianq S.W., Brost B.C. Toll-like receptor 2 and toll-like receptor 4 expression on maternal neutrophils during pregnancy. *Am J Reproductive Immunology.* 2010. No 64 (6). P. 427–434.
68. Nitsche J.F., Jiang S.W., Brost B.C. Maternal neutrophil toll-like receptor mRNA expression is down-regulated in preeclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 2011. Vol 66. No 3. P. 242-248. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2011.00985.
69. Onset of human preterm and term birth is related to unique inflammatory transcriptome profiles at the maternal fetal interface. / Bukowski, R., Sadovsky, Y., Goodarzi et al. *Peer J.* 2017. No 5. P. e3685. doi: 10.7717/peerj.3685.
70. Pearlstein T. Depression during pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2015. No 29(5). P. 754-764. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2015.04.004.

71. Petrou S. Health economic aspects of late preterm and early term birth.. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2019. No 24(1). P. 18-26. DOI: 10.1016/j.siny.2018.09.004.
72. Physical fitness, serum relaxin and duration of gestation. / E. Thorell. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2015. No. 14. P. 168.
73. Placental alkaline phosphatase de-phosphorylates insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-1. / A.L. Solomon AL at al. *Placenta.* 2014. No. 35(7). P. 520-522.
74. Placental alpha microglobulin-1 compared with fetal fibronectin to predict preterm delivery in symptomatic women. / D.A. Wing at al. *Obstet Gynecol.* 2017. No 130(6). P. 1183-1191. DOI: 10.1097/AOG.0000000000002367.
75. Polymerization of insulin-like growth factor-binding protein-1 (IGFBP-1) potentiates IGF-I actions in placenta. / H. Shibuya. *J Cell Physiol.* 2011. No 226(2). P. 434-439.
76. Polymorphism in the promoter region of relaxin-2 and preterm birth: involvement of relaxin in the etiology of preterm birth Vogel, I., Hollegaard, M. V., Hougaard, D. M., Thorsen, P., & Grove, J. *In Vivo.* 2009. No 23(6). P. 1005–1009.
77. Polymorphisms in the tumor necrosis factor alpha and interleukin 1-beta promoters with possible gene regulatory functions increases the risk of preterm birth./ M. V. Hollegaard, ,G. Grove, P. Thorsen et al. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008. No 87(12). P.1285–90. doi: 10.1080/00016340802468340.
78. Practice Bulletin No. 172: Premature Rupture of Membranes. American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics. *Obstet Gynecol.* 2016. No 128(4). P. e165-77. DOI: 10.1097/AOG.0000000000001712.
79. Prediction of spontaneous preterm delivery in women presenting with premature labor: a comparison of placenta alpha microglobulin-1, phosphorylated insulin-like growth factor binding protein-1, and cervical length. / T. Nikolova. *Am J Obstet Gynecol.* 2018. No 219(6). P. 610.e1-610.e9. doi: 10.1016/j.ajog.2018.09.016.

80. Pregnancy level of estradiol attenuated virus-specific humoral immune response in H5N1-infected female mice despite inducing anti-inflammatory protection / L. Finch Courtney at al.. *Emerg Microbes Infect.* 2019. No 8(1). P.1146–156. DOI: 10.1080/22221751.2019.1648184
81. Pregnancy loss: French clinical practice guidelines. / C Huchon. at al. , *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016. No 18. P. 18-26.
82. Pregnancy-induced gingivitis and omics in dentistry: in silico modeling and in vivo prospective validation of estradiol-modulated inflammatory biomarkers./ Mervi Gürsoy at al. *OMICS.* 2014. No. 18(9). P. 582–590. DOI: 10.1089/omi.2014.0020
83. Preterm labor: Reproducibility of detection test of PAMG-1 before and after digital examination, and transvaginal ultrasound cervical length. / S Werlen at al. *Gynecol Obstet Fertil.* 2015. No 43(10). P. 640-645.
84. Preterm premature rupture of the membranes: Guidelines for clinical practice from the French College of Gynaecologists and Obstetricians (CNGOF). / T. Schmitz, L. Sentilhes, E. Lorthe at al. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2019. No 236. P.1-6. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2019.02.021
85. Progesterone-induced blocking factor (PIBF) modulates cytokine production by lymphocytes from women with recurrent miscarriage or preterm delivery. / R. Raghupathy, E. Al-Mutawa Al-Azemi M, M Makhseed at al. *J Reprod Immunol.* 2009. No 80(1-2). P. 91-99. DOI: 10.1016/j.jri.2009.01.004
86. Progesterone-related immune modulation of pregnancy and labor. / N.M. Shah Lai PF, N. Imami, M.R. Johnson at al. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019. No 29 (10). P. 198. doi: 10.3389/fendo.2019.00198.
87. Proinflammatory cytokine polymorphisms and the risk of preterm birth and low birthweight in Japanese population. / F. Sata, S. Toya, H. Yamada. *Mol Hum Reprod.* 2009. No 15(2). P. 121–130. doi: 10.1093/molehr/gan078.

88. Quantitative fetal fibronectin and cervical length in symptomatic women: results from a prospective blinded cohort study. / L.D. Levine et al. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019. No 32(22). P. 3792-3800. DOI: 10.1080/14767058.2018.1472227.
89. Quinn K.H. Parast M.M. Decidual regulatory T cells in placental pathology and pregnancy complications.. *Am J Reprod Immunol.* 2013. No 69(6). P. 533-538.
90. Ravi M, Beljorie M, El Masry K. Evaluation of the quantitative fetal fibronectin test and PAMG-1 test for the prediction of spontaneous preterm birth in patients with signs and symptoms suggestive of preterm labor. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019 No 32(23). P. 3909-3914. DOI: 10.1080/14767058.2018.1476485..
91. Regulation of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-1 concentrations in preterm fetuses. / J. Verhaeghe. et al. *Am J Obstet Gynecol.* 2003. No. 188(2). P.485-91
92. Relationship between vaginal microbial dysbiosis, inflammation, and pregnancy outcomes in cervical cerclage. / L.M. Kindinger, D.A MacIntyre, Y.S. Lee et al. *Sci Transl Med.* 2016. No 3(8). P. 350ra102. DOI: 10.1126/scitranslmed.aag1026.
93. Relaxin for preventing preterm birth. / E. Bain *Cochrane Database Syst Rev.* 2013. No 16. P. 8. CD010073.
94. Repeated measures of urinary oxidative stress biomarkers during pregnancy and preterm birth. / K.K. Ferguson et al. *Am J Obstet Gynecol.* 2015 No 212 (2). P. 208.e1-8.
95. Responses of insulin-like growth factor (IGF)-I and two IGF-binding protein-1 subtypes to fasting and re-feeding, and their relationships with individual growth rates in yearling masu salmon (*Oncorhynchus masou*). / K. Kawaguchi. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2013. No 165(2). P. 191-198.
96. Riboni F., Vitulo A., Plebani M. Биохимические маркеры при прогнозировании преждевременных родов. *Медицинские аспекты здоровья женщины.* 2013. № 6. С. 34–39.

97. Risk stratification with cervical length and fetal fibronectin in women with threatened preterm labor before 34 weeks and not delivering within 7 days. / F.J.R Hermans at al. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2015. No 94(7). P. 715-721. doi: 10.1111/aogs.12643.
98. Robertson S.A., Care A.S., Moldenhauer L.M. Regulatory T cells in embryo implantation and the immune response to pregnancy. *J Clin Invest*. 2018. No 1; 128 (10). P. 4224-4235
99. Robertson S.A., Wahid H.H., Chin P.Y. Toll-like receptor-4: a new target for preterm labour pharmacotherapies? *Curr Pharm Des*. 2018. Vol 24. No 9. P. 960-973. DOI: 10.2174/1381612824666180130122450.
100. Rocha F. G, Horton J.S., Bryant-Greenwood G.D. Relaxin and preterm birth.. *Ital J Anat Embryol*. 2013. No 118. P. 21-2.
101. Role of cervical length measurement for preterm delivery prediction in women with threatened preterm labor and cervical dilatation. / L. Hirsch. *J Ultrasound Med*. 2016. No. 35(12). P. 2631-2640. DOI: 10.7863/ultra.15.12007.
102. Role of paternal antigen-specific treg cells in successful implantation. / Saito S, Shima T, Nakashima A. at al. *Am J Reprod Immunol*. 2016. No 75(3). P. 310-316.
103. Rundell K, Panchal B. Preterm Labor: Prevention and Management. *Am Fam Physician*. 2017. Vol. 15, No. 95(6). P. 366-372.
104. Schumacher A., Zenclussen A. Human chorionic gonadotropin-mediated immune responses that facilitate embryo implantation and placentation. *Front Immunol*. 2019. Vol. 10, No 10. P. 2896. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02896.
105. Schumacher A., Sharkey D.J., Robertson S.A. Immune cells at the fetomaternal interface: how the microenvironment modulates immune cells to foster fetal development. *J Immunol*. 2018. No 201 (2). P. 325-334. DOI: 10.4049/jimmunol.1800058.

106. Serological targeted analysis of an ITIH4 peptide isoform: a preterm birth biomarker and its associated SNP implications. / Z Tan et al. *J Genet Genomics*. 2015. Vol. 20, No 42(9). P. 507-10.
107. Serum relaxin and cervical length for prediction of spontaneous preterm birth in second-trimester symptomatic women. / A. Pantelis et al. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018. No 52(6). P. 763-768.
108. Serum relaxin in cervical incompetence patients. / X. Gu et al. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2015. Vol. 15. No 95(35). P. 2817-2820.
109. Single-nucleotide polymorphism associations with preterm delivery: a case-control replication study and meta-analysis. / M.E. O'Callaghan et al. *Pediatr Res*. 2013 No 74(4). P. 433-438.
110. Son M, Miller E. S. Predicting preterm birth: Cervical length and fetal fibronectin. *Semin Perinatol*. 2017. No 41(8). P. 445-451. DOI: 10.1053/j.semperi.2017.08.002.
111. Spontaneous preterm birth and single nucleotide gene polymorphisms: a recent update. / I. Sheikh, A. Ahmad, E. Jamal et al. *BMC Genomics*. 2016. № 17(9). P. 759. doi: 10.1186/s12864-016-3089-0.
112. Spontaneous preterm birth: advances toward the discovery of genetic predisposition. / Jerome F Strauss, Roberto Romero, Nardhy Gomez-Lopez et al. *Am J Obstet Gynecol*. 2018. No 218(3). P. 294-314.e2. DOI: 10.1016/j.ajog.2017.12.009.
113. Stavros Petrou, Hei Hang Yiu, Joseph Kwon. Economic consequences of preterm birth: a systematic review of the recent literature (2009-2017). *Arch Dis Child*. 2019. No 104 (5). P. 456-465. DOI: 10.1136/archdischild-2018-315778.
114. Stubelius A, Andersson A, Islander U, Carlsten H. Ovarian hormones in innate inflammation. *Immunobiology*. 2017. Vol. 222(8-9). P. 878-883
115. Suff N, Story L, Shennan A. The prediction of preterm delivery: What is new? *Semin Fetal Neonatal Med*. 2019. No 24(1). P. 27-32.

116. Systematic and local inflammatory response in women with preterm rupture of membranes. / T. Cobo, B. Jacobsson, M. Kacerovsky et al. *PLOS ONE*. 2014. January. Volume 9. P. 785-787.
117. Szekeres-Bartho J, Schindler A.E. Progestogens and immunology. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2019. No 60. P. 17-23. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2019.07.001.
118. Szekeres-Bartho J, Šućurović S, Mulac-Jeričević B. The Role of extracellular vesicles and pibf in embryo-maternal immune-interactions. *Front Immunol*. 2018. No 13 (9). P. 2890. doi: 10.3389/fimmu.2018.02890
119. The Delta Neutrophil Index as a predictive marker of histological chorioamnionitis in patients with preterm premature rupture of membranes: A retrospective study. / H.Y Cho, I. Jung, J.Y Kwon et al. *Plos One* 2017. DOI:10.1371/journal.pone.0173382
120. The fetal fibronectin test: 25 years after its development, what is the evidence regarding its clinical utility? A systematic review and meta-analysis. / G. Faron et al. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2020. No 33(3). P. 493-523. DOI: 10.1080/14767058.2018.1491031.
121. The importance of the PD-1/PD-L1 pathway at the maternal-fetal interface. / Meggyes M, Miko E, Szigeti B. et al. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2019. No 19. P.74.
122. The interaction between vaginal microbiota, cervical length, and vaginal progesterone treatment for preterm birth risk. / L.M. Kindinger, P.R. Bennett PR, Y.S. Lee et al. *Microbiome*. 2017. No 19. 5(1). P. 6. DOI: 10.1186/s40168-016-0223-9.
123. The microbiome in preterm birth. / D.M.Chu, M. Seferovic, R.M. Pace et al. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018. No 52. P. 103-113.
124. The perinatal microbiome and pregnancy: moving beyond the vaginal microbiome. / A.L. Prince et al. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015. No 16. P. 5-6 a023051

125. The role of decidual immune cells on human pregnancy. Liu S, Diao L, Huang C. at al. *J Reprod Immunol*. 2017. No 124. P. 44-53.

126. The unique microbiome and innate immunity during pregnancy. / C. Mei at al. *Front Immunol*. 2019. No 17(10). P. 2886.

127. The vaginal microbiome during pregnancy and the postpartum period in a European population. / D.A. MacIntyre at al.. *Sci Rep*. 2015. No 11 (5). P. 8988.

128. Three types of functional regulatory t cells control t cell responses at the human maternal-fetal interface. / Salvany-Celades M, van der Zwan A, Benner M. at al. *Cell Rep*. 2019. No 28. P. 2537-2547.e5.

129. Tissue-specific human beta-defensins (HBD)-1, HBD-2 and HBD-3 secretion profile from human amnio-chorionic membranes stimulated with *Candida albicans* in a two-compartment tissue culture system / V. Zaga Clavellina, M. Ruiz, P. Flores at al. *Reproductive biology and endocrinology*. 2012. Vol. 10. P. 70.

130. Treatment of bacterial vaginosis before 28 weeks of pregnancy to reduce the incidence of preterm labor. / K.F. Rebouças at al. *Int J Gynaecol Obstet*. 2019. No 146(3). P. 271-276

131. Unique associations between insulin-like growth factor binding protein-1, insulin-like growth factor-1 and t cell immunoglobulin mucin 3 in successful twin pregnancies conceived with donor oocytes. / G. Sisti. *Medicina (Kaunas)*. 2019. Vol. 16, No. 55(5). P. 144.

132. Using cervical length measurement for lower spontaneous preterm birth rates among women with threatened preterm labor. / G Chiossi at al. *Obstet Gynecol*. 2018. No. 132(1). P. 102-106. DOI: 10.1097/AOG.0000000000002695

133. Vaginal dysbiosis increases risk of preterm fetal membrane rupture, neonatal sepsis and is exacerbated by erythromycin. / R.G. Brown, J.R Marchesi JR, Y.S. Lee at al. *BMC Med*. 2018. Vol. 24, No 16(1). P. 9. DOI: 10.1186/s12916-017-0999-x.

134. Vaginal inflammation: association between leukocyte concentration and levels of immune mediators. / J. Beghini at al. *Am J Reprod Immunol*. 2016. No 75(2). P. 126-133.

135. Vaginal microbiome in early pregnancy and subsequent risk of spontaneous preterm birth: a case-control study. / N. Tabatabaei. *BJOG*. 2019. No 126(3). P. 349-358.

136. Vaginal progesterone prophylaxis for preterm birth (the OPPTIMUM study): a multicentre, randomized, double-blind trial. / J.E Norman. at al. *Lancet*. 2016. No 387. P. 2106 – 2016.

137. Whittaker Paul G, Schreiber Courtney A, Sammel Mary D. Gestational hormone trajectories and early pregnancy failure: a reassessment *Reprod Biol Endocrinol*. 2018. No 16. P. 95. DOI: 10.1186/s12958-018-0415-1

138. Whittaker PG, Schreiber CA, Sammel MD. Gestational hormone trajectories and early pregnancy failure: a reassessment. *Reprod Biol Endocrinol*. 2018. Vol. 11, No 16(1). P. 95

139. Wilsher S, Newcombe J.R, Allen W.R.T The immunolocalization of Galectin-1 and Progesterone-Induced Blocking Factor (PIBF) in equine trophoblast: Possible roles in trophoblast invasion and the immunological protection of pregnancy. *Placenta*. 2019. No 15. P. 32-39. DOI 10.1016/j.placenta.2019.08.081.

140. Авруцкая В. В. Динамика продукции интерлейкинов у женщин с осложненным течением беременности: автореф. дис... на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук : спец. 14.00.01 «Акушерство та гінекологія». Москва. 2016. 58 с.

141. Біла В.В. Патогенетичне лікування загрози передчасних пологів: автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня к. мед. наук: 14.01.01. Київ. 2012. 34 с.

142. Бойчук А.В., Нікітіна І.М., Сухарєв А.Б. Можливості лікування загрози передчасних пологів при багатоплідній вагітності з використанням сублінгвальної форми мікронізованого прогестерону. *Актуальні питання*

педіатрії, акушерства та гінекології. 2018. № 1. С.41-47. DOI: 10.11603/24116-4944.2018.1.8625.

143. Булавенко О.В., Вознюк А.В. Прогнозування ризику виникнення передчасних пологів у жінок із багатоплодовою вагітністю в популяційній когорті вінницької області в залежності від вихідного стану здоров'я та перебігу вагітності. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2017. №28. С. 123-127.

144. Вдовиченко Ю.П. Влияние длительного безводного промежутка на раннюю неонатальную смертность при преждевременном излитии околоплодных вод и недоношенной беременности: *Сб. науч. трудов ассоциации акушеров-гинекологов Украины*. Київ. 2015. С. 483-486.

145. Гарбузюк В.В. Обґрунтування профілактики та лікувальної тактики при передчасних пологах у жінок, хворих на туберкульоз легень. автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня к. мед. наук: 14.01.01. Київ, 2019. 29 с.

146. Геращенко І. В. Вивчення токолітичних властивостей похідних бромідів 1,3-диарил-3-гідрокси-2,3,6,7,8,9-гексагідро-5н-імідазо[1,2-а]азепінію: дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: 14.03.03. Київ, 2015. 159 с.

147. Герман Л.В. Оптимізація діагностики та лікування плацентарної дисфункції у вагітних з невиношуванням: автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня к. мед. наук: 14.01.01. Чернівці, 2015. 27 с.

148. Голяновский В., Поладич И. Преждевременный разрыв плодных оболочек. *З турботою про жінку*. 2012. № 9. С. 31–34.

149. Гончарук Н.П. Особливості ведення вагітності та пологів у жінок з передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: 14.01.01. Київ. 2008. 28 с.

150. Гопчук О.М. Диференційований підхід до застосування прогестерону в акушерсько-гінекологічній практиці. *Здоров'я жінчини*. 2016. № 2. С. 36 – 41.

151. Дмитренко Г.В. Показатели врожденного иммунитета как критерий раннего прогнозирования течения гестационного процесса: автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня к. мед. наук: 14.01.01. Волгоград, 2015. 31 с.

152. Дука Ю.М. Патогенетичне обґрунтування діагностики, лікувальної тактики та профілактики виникнення системних порушень у вагітних жінок із надмірною масою тіла: дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук: 14.01.01. Дніпропетровськ, 2015. 339 с.

153. Дьоміна О.В. Удосконалення медичного супроводу жінок з ризиком невиношування вагітності: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: 14.01.01. Київ, 2012. 31 с.

154. Дяк К.В. Прогнозування та попередження передчасних пологів у вагітних групи ризику: дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: 14.01.01. Київ, 2018. 172 с.

155. Жабченко И. Профилактика преждевременных родов: современные организационные и лечебные возможности. *З турботою про жінку*. 2012. № 8. С. 69–71.

156. Жабченко И.А. Акушерская тактика при истмико-цервикальной недостаточности: решение основных и сопутствующих проблем. *Охрана материнства и детства*. 2015. № 2. С. 58 – 65.

157. Загородняя О.С. Передчасні пологи – патогенез, прогнозування та профілактика перинатальних втрат: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук: 14.01.01. Київ, 2016. 38 с.

158. Значение цитокинового дисбаланса в развитии несостоятельности околоплодных оболочек. Л.И. Дятлова та ін. / Тезисы форума «Мать и дитя». 24–27 сентября 2013 года. Москва.

159. Иванников Н.Ю. Оптимизация акушерской тактики ведения поздних преждевременных родов: автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня к. мед. наук: 14.01.01. Москва, 2015. 29 с.

160. Інструкція з використання тест-тампону для швидкого виявлення навколоплідної рідини AMNIOTECT ProLab Diagnostics.

161. Інструкція Тест Actim™ Prom для визначення навколоплідних вод у вагінальних виділеннях.

162. Козлов П.В. Преждевременный разрыв плодных оболочек при недоношенной беременности (прогнозирование, тактика ведения, перинатальные исходы): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук: 14.01.01. Москва, 2010. 37 с.

163. Круть Ю.Я. Пучков В.А. Ранні діагностичні критерії гнійно-септичних ускладнень у вагітних з передчасним розривом плодових оболонок, тривалим безводним періодом при недоношеній вагітності. *Запорізький медичний журнал*. 2011. № 6. С. 29–30.

164. Круть Ю.Я., В.А. Пучков, К.С. Любомирська. Передчасний розрив плодових оболонок при недоношеній вагітності. *Здоровье женщины*. 2014. №4(90) С. 91-94.

165. Круть Ю.Я., Пучков В.А. Стан системи імунітету у вагітних при недоношеній вагітності, ускладненій передчасним розривом плодових оболонок. *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. 2011. № 5. С. 69–73.

166. Крюкова Н.И. Кулавский В.А., Крюков А.А. Особенности формирования фетоплацентарного комплекса у беременных позднего репродуктивного возраста. *Фундаментальные исследования*. 2012. №7 (часть 2) – С. 359-361.

167. Кузнецов П.А. Оценка факторов врожденного иммунитета слизистой цервикального канала в прогнозировании преждевременных родов: автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: 14.01.01. Москва, 2009. 26 с.

168. Кучер Е. Генетические маркеры иммунного ответа. *З турботою про жінку*. 2020. №1-2(103-104). С.34-41.

169. Лукаев А.А. Перинатальный риск при преждевременных родах: автореф. дис. на здобуття наукового ступеня к. мед. наук: 14.01.01. Москва, 2015, 29 с.

170. Луценко Н.Н. Оптимизация длительности пролонгирования недоношенной беременности, осложненной преждевременным разрывом плодных оболочек: автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: 14.01.01. Москва, 2008. 27 с.

171. Любомирська К.С. Імуногенетичні чинники розвитку передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності в Запорізькій області. *Патологія*. 2018. Вип. 15, № 3. С.309-318.

172. Любомирська К.С., Камишний О.М., Круть Ю.Я. Любомирська К.С. Роль рецепторів вродженого імунітету в патогенезі асоційованого з передчасними пологами передчасного розриву плодових оболонок. *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2019. №1. С.101-110.

173. Мандрикова А.С. Оптимізація тактики ведення вагітності та ранніх передчасних пологів у жінок після допоміжних репродуктивних технологій. автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня к. мед. наук: 14.01.01. Київ. 2018. 27 с.

174. Мелкадзе Е.В. Прогнозирование перинатальных исходов у беременных с угрозой прерывания во II триместре гестации: автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня к. мед. наук: 14.01.01. Самара, 2014. 29 с.

175. Метаболические аспекты невынашивания беременности у женщин с синдромом потери плода / Н.В. Спиридова та ін. *Астраханский медицинский журнал*. 2011. Т. 6, № 3. С. 247–249.

176. Мунтян О.А. Діагностика та прогнозування патології імплантації у жінок із звичним невиношуванням вагітності: дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: 14.01.01. Вінниця, 2019. 189 с.

177. Нагорная В.Ф. Эндогенный прогестерон и прогестины в обеспечении физиологической беременности, профилактике и лечение ее осложнений. *Здоровье женщины*. 2014. №1. С.103-108.

178. Невынашивание беременности: новый взгляд на старую проблему / С.И. Жук та ін. *Здоровье Украины*. 2017. № 5/1. С. 35.

179. Ниточко К.О. Прогнозування, профілактика та шляхи зниження внутрішньоутробного інфікування при недоношеній вагітності та передчасному розриві навколоплодових оболонок: дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: 14.01.01. Одеса, 2014. 178 с.

180. Особенности инициации преждевременных родов на фоне системного нарушения метаболизма. Н.А. Друккер та ін. / Тезисы форума «Мать и дитя». 24–27 сентября 2013 года. Москва.

181. Особенности продукции провоспалительных цитокинов при беременности, осложненной преждевременным излитием околоплодных вод. Л.И. Дятлова та ін. / Тезисы форума «Мать и дитя». 24–27 сентября 2013 года. Москва.

182. Особенности состояния тиолдисульфидной системы крови беременных с угрозой прерывания беременности. / А.К. Белозерова та ін. Мать и дитя : тезисы форума, г. Москва, 24-27 сентября 2013. С. 16.

183. Особенности цитокинового профиля крови и ее клеточного состава при дородовом излитии околоплодных вод. Т.Н. Глухова та ін. / Тезисы форума «Мать и дитя». 24–27 сентября 2013 года. Москва.

184. Павлов А.В. Особенности функциональной активности периферических нейтрофилов и продуцируемых ими медиаторов при невынашивании беременности поздних сроков: автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: 14.01.01. Иваново, 2011. 38 с.

185. Патогенетичне обґрунтування терапії у вагітних з функціональною недостатністю обтураційної функції шийки матки. / ОЛЕШКО В. Ф. та ін. *Збірник*

наукових праць асоціації акушерів-гінекологів України. 2018. Вип. 2(42). С. 120-125.

186. Передчасні пологи: протиріччя та сучасні реалії / В.П. Лакатош та ін. *Здоровье женщины*. 2014. №7 (93). С. 10-18.

187. Посохова С.П., Ниточко Е.А. Прогностические критерии внутриутробного инфицирования плода при недоношенной беременности и преждевременном разрыве плодных оболочек. *Здоровье женщины*. 2012. № 8. С. 117–120.

188. Преждевременные роды – современный взгляд на проблему / П.Н. Веропотвелян, Н.П. Веропотвелян, Т.Г. Нарытник та ін. *Здоровье женщины*. 2015. № 7 (103). С. 17-22.

189. Преждевременные роды, как важнейшая проблема современного акушерства. / Г.М. Савельева та ін. *Акушерство и гинекология*. 2012. № 8/2. С. 4–10.

190. Преждевременный разрыв плодных оболочек – инфекционный фактор / П.Н. Веропотвелян та ін. *Здоровье женщины*. 2013. № 5. С. 57–64.

191. Про внесення змін до наказу МОЗ України від 15 грудня 2003 року № 582, наказу МОЗ від 31.12.2004 року № 676». Клінічний протокол з акушерської допомоги «Передчасні пологи»: наказ МОЗ України № 624 від 03.11.2008.

192. Про внесення змін до наказу МОЗ України від 29 грудня 2005 року № 782». Клінічний протокол з акушерської допомоги «Передчасний розрив плодових оболонок»: наказ МОЗ України № 205 від 24.03.2014.

193. Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги із змінами і доповненнями, внесеними наказами Міністерства охорони здоров'я України від 24 березня 2009 року № 182, від 15 липня 2011 року № 417, від 24 березня 2014 року № 205, від 8 травня 2014 року № 310, від 2 листопада 2015 року № 709: наказ МОЗ України від 29 грудня 2005 року № 782

194. Профилактика преждевременных родов: современные подходы, направленные на снижение перинатальной заболеваемости и смертности (материалы научно-практических конференций в Днепропетровске (27 марта), Донецке (28 марта), Киеве (29 марта). Медицинские аспекты здоровья женщины. 2012. №6-7. С. 26-36.

195. Психоэмоциональное состояние женщин при аномальном течении беременности / Н.В. Спиридонова та ін. : материалы XII Всерос. науч. форума «Мать и дитя». Москва. 2011. С. 197.

196. Пучков В.А., Круть Ю.Я. Морфологічні зміни плаценти у вагітних з передчасним розривом плодових оболонок при передчасних пологах. *Здоровье женщины*. 2013. № 4. С. 88–89.

197. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICAL: посібник. Москва: «Медиа Сфера», 2000. 312 с.

198. Резніченко Г. І. Профілактика невиношування вагітності і передчасних пологів. *Жіночий лікар*. 2013. № 3. С. 10–14.

199. Руденко А.В. Прогностические и ранние диагностические критерии инфекционных осложнений матери при недоношенной беременности, осложненной преждевременным разрывом плодных оболочек: автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: 14.01.01. Москва, 2008. 32 с.

200. Руднева О.Д. Преждевременные роды. Коллегиальное обсуждение. *Status Praesens*. 2013. № 1[12] 02. С. 17-22.

201. Руднева О.Д. Преждевременные роды: джунгли контраверсий. Коллегиальное обсуждение проблемы. *Здоровье женщины*. 2013. № 6. С. 42–46.

202. Рыбалка Е.В. Оптимизация ведения преждевременных родов: автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук: 14.01.01. Волгоград, 2013. 40 с.

203. Ситнік П.О. Прогнозування тяжкості та діагностика гнійно-запальних захворювань придатків матки: дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: 14.01.01. Одеса, 2019. 151 с.

204. Снапковская Л.Г. Оптимизация тактики ведения беременных с угрозой прерывания беременности: автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня канд. мед. н.: 14.01.01. Москва, 2012. 29 с.

205. Спиридонова, Н.В., Мелкадзе Е.В. Состояние новорожденных у женщин при преждевременных родах в зависимости от наличия угрозы прерывания беременности в I, II, III триместрах гестации: материалы XIV Всерос. науч. форума «Мать и дитя». 2013. С. 461–462.

206. Сухорукова О.И. Профилактика преждевременных родов. *Акушерство и гинекология*. 2012. № 7. С.21-25.

207. Феदिшин Т.В. Особливість патогенезу спорадичного та звичного невиношування у жінок. автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня к. мед. наук: 14.01.01. Ужгород. 2018. 31 с.

208. Федотовская О.И. Оптимизация акушерской тактики при преждевременных родах – роль клинических и молекулярно-генетических факторов: автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня к. мед. наук: 14.01.01. Москва, 2014. 31 с.

209. Шевченко А.О., Любомирська К.С., Кирилюк О.Д. Невиношування вагітності: акцент на чинники ризику, патогенез та прогнозування. *Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології*. 2016. Т. 10, №2-3. С. 58-63.

ДОДАТОК А1



АКТ

**про впровадження в практику охорони здоров'я
матеріалів наукових досліджень**

1. Найменування пропозиції для впровадження: «Особливості визначення предикторів високого ризику передчасного розриву плодових оболонок в термінах вагітності 26-34 тижні гестації».
2. Ким запропоновано, адреса, виконавці: Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Любомирська К.С.
3. Джерело інформації: SNPs and transcriptional activity of genes of innate and adaptive immunity at the maternal-fetal interface in woman with preterm labour, associated with preterm premature rupture of membranes / Lyubomirskaya Ekaterina S., Kamyshnyi Alexandr M., Krut Yuriy Ya. et al. *Wiadomości Lekarskie*. 2020. Vol. 73, №.1. P.25-30.
4. Ким і коли впроваджено: КНП «Обласний перинатальний центр» ЗОР
5. Термін впровадження: з вересня 2019 р. по квітень 2020 р.
6. Форма впровадження: впроваджено в діагностичний процес нові стратегії прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності
7. Ефективність впровадження: підвищення ефективності своєчасного прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності за допомогою запропонованих способів.
8. Зауваження та пропозиції: не вносились.



відповідальний за впровадження:
зам. директора з медичної частини, к.мед.н.

Богуславська Н.Ю. Богуславська Н.Ю.

ДОДАТОК А2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор
 Комунальне Некомерційне
 Підприємство «Нікопольський
 Центр Первинної Медико-
 Санітарної Допомоги»
 Нікопольської Міської Ради

Горяна В.В.



2020 р.

АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я
 матеріалів наукових досліджень

1. Найменування пропозиції для впровадження: «Прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності».
 2. Ким запропоновано, адреса, виконавці: Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Любомирська К.С.
 3. Джерело інформації: Роль рецепторів вродженого імунітету в патогенезі асоційованого з передчасними пологами передчасного розриву плодових оболонок. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2019. №1(23). С.101-109.
 4. Ким і коли впроваджено: КНП «Нікопольським ЦПМСД»НМР
 5. Термін впровадження: з вересня 2019 р. по квітень 2020 р.
 6. Форма впровадження: впроваджено в діагностичний процес нові способи прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності
 7. Ефективність впровадження: підвищення ефективності своєчасного прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні за допомогою запропонованих способів.
 8. Зауваження та пропозиції: не вносились.
- «13» 03 2020 р.

відповідальний за впровадження:
 Директор з медичного обслуговування

Капатура Л.М.

ДОДАТОК АЗ



АКТ
про впровадження в практику охорони здоров'я
матеріалів наукових досліджень

1. Найменування пропозиції для впровадження: «Предиктори високого ризику передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності».
2. Ким запропоновано, адреса, виконавці: Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Любомирська К.С.
3. Джерело інформації: SNPs and transcriptional activity of genes of innate and adaptive immunity at the maternal-fetal interface in woman with preterm labour, associated with preterm premature rupture of membranes / Lyubomirskaya Ekaterina S., Kamyshnyi Alexandr M., Krut Yuriy Ya. at al. *Wiadomości Lekarskie*. 2020. Vol. 73, №.1. P.25-30.
4. Ким і коли впроваджено: КНП «Пологовий будинок №3» ЗМР
5. Термін впровадження: з вересня 2019 р. по квітень 2020 р.
6. Форма впровадження: впроваджено в діагностичний процес нові способи прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності
7. Ефективність впровадження: підвищення ефективності своєчасного прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні за допомогою запропонованих способів.
8. Зауваження та пропозиції: не вносились.

04 04 2020 р.

відповідальний за впровадження:
 зам. директора з медичної частини, к.мед.н.



ДОДАТОК А4



«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Генеральний директор
 КНП «Міський пологовий
 будинок №9» ЗМП
 О.В. Комарова

"24" 04 2020 р.

АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я
 матеріалів наукових досліджень

1. Найменування пропозиції для впровадження: «Прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності за допомогою індексів ендогенної інтоксикації».
 2. Ким запропоновано, адреса, виконавці: Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Любомирська К.С.
 3. Джерело інформації: Роль рецепторів вродженого імунітету в патогенезі асоційованого з передчасними пологами передчасного розриву плодових оболонок. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2019. №1(23). С.101-109.
 4. Ким і коли впроваджено: КНП «Міський пологовий будинок №9» ЗМП
 5. Термін впровадження: з вересня 2019 р. по квітень 2020 р.
 6. Форма впровадження: впроваджено в діагностичний процес нові способи прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності
 7. Ефективність впровадження: підвищення ефективності своєчасного прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні за допомогою запропонованих способів.
 8. Зауваження та пропозиції: не вносились.
- "24" 04 2020 р.

відповідальний за впровадження:
 зам головного лікаря з мед. частини

Пейчева О.В.

ДОДАТОК А5



АКТ

**про впровадження в практику охорони здоров'я
матеріалів наукових досліджень**

1. Найменування пропозиції для впровадження: «Особливості визначення молекулярно-генетичних предикторів високого ризику передчасного розриву плодових оболонок в термінах вагітності 26-34 тижні гестації».
 2. Ким запропоновано, адреса, виконавці: Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Любомирська К.С.
 3. Джерело інформації: Association between singlenucleotide polymorphism of immunoregulatory genes and preterm premature rupture of membranes in preterm labour. / Lyubomirskaya K. S., Kamyshnyi O. M., Krut Yu. Ya. Pathologia. 2018, Vol. 15, №2. P. 187-193.
 4. Ким і коли впроваджено: Запорізький державний медичний університет
 5. Термін впровадження: з вересня 2019 р. по квітень 2020 р.
 6. Форма впровадження: впроваджено в навчальний процес нові стратегії прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності
 7. Ефективність впровадження: розширення знань студентів та інтернів щодо своєчасного прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності за допомогою запропонованих способів.
 8. Зауваження та пропозиції: не вносились.
- '04' 04 2020 р.

відповідальний за впровадження:
зав. кафедри акушерства і гінекології,
д.мед.н., професор

Крут Ю.Я.

ДОДАТОК А6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Генеральний директор
 КНП «Міський пологовий
 будинок №4» ЗМП
 Ю.М. Бессарабов

"26" 2020 р.



АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я
 матеріалів наукових досліджень

1. Найменування пропозиції для впровадження: «Прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній».
2. Ким запропоновано, адреса, виконавці: Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Любомирська К.С.
3. Джерело інформації: SNPs and transcriptional activity of genes of innate and adaptive immunity at the maternal-fetal interface in woman with preterm labour, associated with preterm premature rupture of membranes. Wiadomości Lekarskie. 2020, №1, P.25-30.
4. Ким і коли впроваджено: КНП «Міський пологовий будинок №4» ЗМП
5. Термін впровадження: з вересня 2019 р. по квітень 2020 р.
6. Форма впровадження: впроваджено в діагностичний процес нові способи прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності
7. Ефективність впровадження: підвищення ефективності своєчасного прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні за допомогою запропонованих способів.
8. Зауваження та пропозиції: не вносились.

"26" 04 2020 р.

відповідальний за впровадження:
 зам головного лікаря з мед. частини



Сукмановська О.П.

ДОДАТОК А7



«З А Т В Е Р Д Ж У Ю»
 Генеральний директор
 КНП
 «Перегінська районна лікарня»
 РРР
 Шкіра Г.М.

"20" 04 2020 р.

АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я
 матеріалів наукових досліджень

1. Найменування пропозиції для впровадження: «Прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності».
2. Ким запропоновано, адреса, виконавці: Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Любомирська К.С.
3. Джерело інформації: Роль рецепторів вродженого імунітету в патогенезі асоційованого з передчасними пологам передчасного розриву плодових оболонок: Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2019, №1(23). С.101-109.
4. Ким і коли впроваджено: КНП «Перегінська РЛ» РРР
5. Термін впровадження: з вересня 2019 р. по квітень 2020 р.
6. Форма впровадження: впроваджено в діагностичний процес нові способи прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності
7. Ефективність впровадження: підвищення ефективності своєчасного прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні за допомогою запропонованих способів.
8. Зауваження та пропозиції: не вносились.

Відповідальний за впровадження:

Заступник директора з медичної частини

Матюша Т.І.

ДОДАТОК А8

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Генеральний директор
 Комунальне некомерційне
 підприємство
 «Якимівська центральна
 районна лікарня»
 В. Строкань



№ 04 2020 р.

АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я
 матеріалів наукових досліджень

1. Найменування пропозиції для впровадження: «Прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності».
 2. Ким запропоновано, адреса, виконавці: Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26; Любомирська К.С.
 3. Джерело інформації: Роль рецепторів вродженого імунітету в патогенезі асоційованого з передчасними пологами передчасного розриву плодових оболонок, *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2019. №1(23). С.101-109.
 4. Ким і коли впроваджено:
 5. Термін впровадження: з вересня 2019 р. по квітень 2020 р.
 6. Форма впровадження: впроваджено в діагностичний процес нові способи прогнозування передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності
 7. Ефективність впровадження: підвищення ефективності своєчасного прогнозування передчасного розриву плодових оболонок в терміні гестації 26-34 тижні за допомогою запропонованих способів.
 8. Зауваження та пропозиції: не вносились.
- "25" 04 2020 р.

відповідальний за впровадження:

головний районний спеціаліст з акушерства та гінекології:

В. Младьонов



ДОДАТОК Б
ПЕРЕЛІК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ
ДИСЕРТАЦІЇ

3. Любомирська К. С. Круть Ю. Я. Роль рецепторів вродженого імунітету в патогенезі асоційованого з передчасними пологами передчасного розриву плодових оболонок. *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2019. №1(23). С.101-109. (Здобувачем проведені клінічні спостереження, аналіз і узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка до друку).
4. Lyubomirskaya K. S., Kamyshnyi O. M., Krut Yu. Ya. Association between single nucleotide polymorphism of immunoregulatory genes and preterm premature rupture of membranes in preterm labour. *Патологія*. 2018. Вип. 15, №2. С. 187-193. (Дисертантом проведені клінічні спостереження, аналіз і узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка до друку).
5. Любомирська К. С. Імуно-генетичні чинники розвитку передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності: акцент на прозапальну ланку імунної відповіді. *Патологія*. 2018. №3(44). С. 309-318.
6. SNPs and transcriptional activity of genes of innate and adaptive immunity at the maternal-fetal interface in woman with preterm labour, associated with preterm premature rupture of membranes / Lyubomirskaya Ekaterina S., Kamyshnyi Alexandr M., Krut Yuriy Ya. et al. *Wiadomości Lekarskie*. 2020. Vol. 73, No.1. P.25-30. (Дисертантом проведені клінічні спостереження, аналіз і узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка до друку).
7. Любомирська К.С. Круть Ю.Я. Дослідження вродженого та адаптивного імунного статусу вагітних в терміні гестації 26-34 тижні, ускладненого передчасним розривом плодових оболонок. «Актуальні питання акушерства, гінекології і репродуктивної медицини»: зб. матеріалів наук.-практ. конф. з міжнар. участю (м. Запоріжжя, 01 лист. 2017 р.). Запоріжжя, 2017. С. 61-62

(Автором проведено відбір та обстеження вагітних, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).

8. Любомирська К.С. Асоціація однонуклеотидного поліморфізму генів цитокінів з передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності. *«Актуальні питання сучасної медицини та фармації»* : зб. матеріалів наук.-практ. конф. з міжнар. участю (м. Запоріжжя, 31 травня 2018 року). Запоріжжя, 2018. С. 82.

ДОДАТОК В
ВІДОМОСТІ ПО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання акушерства, гінекології і репродуктивної медицини», 01 листопада 2017 року, м. Запоріжжя.

2. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини та фармації», 31 травня 2018 року, м. Запоріжжя.

3. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю спільно з асоціацією гінекологів-ендокринологів України «Медико-соціальні, правові проблеми репродуктивної медицини та ефективні шляхи їх подолання в умовах реформування медичної галузі України», 23 жовтня 2020 року, м. Запоріжжя.

ДОДАТОК Г

**БЛАНК «РОЗРАХУНОК РИЗИКУ ПЕРЕДЧАСНОГО РОЗРИВУ
ПЛОДОВИХ ОБОЛОНОК ПРИ НЕДОНОШЕНІЙ ВАГІТНОСТІ
ЗА АДАПТОВАНИМИ КЛІНІЧНИМИ КРИТЕРІЯМИ»**

Ознака (маркер)	Так	Ні	$\Sigma_{\text{ДК}}$
GRAN, % > 80	-10,26	+2,23	
NLR > 3,53	-2,19	+3,57	
УПФ та/або ПФ в мікробіоценозі піхви	-5,12	+1,25	
Наявність передчасних пологів в анамнезі	-9,1	+0,68	
Порушення МППК	-5,56	+1,11	
Мешканка сільського району	-3,52	+1,63	
Істміко-цервікальна недостатність	-5,74	+0,84	
ЛП Островського > 2,8	-1,98	+2,35	
WBC > 10 ⁹ /л	-1,17	+3,07	

Інструкція

При заповненні кожного ряду проводиться підрахунок суми ДК шляхом складання зазначених ДК.

- ✓ При досягненні значення $\Sigma_{\text{ДК}} = +13$ або -13 , вноситься попередній діагностичний висновок про належність до високого ризику ($\Sigma_{\text{ДК}} = +13$) або низького ризику ($\Sigma_{\text{ДК}} = -13$) ПРПО при недоношеній вагітності, який має рівень статистичної вірогідності =95% ($p=0,05$).
- ✓ При досягненні значення $\Sigma_{\text{ДК}} = +20$ або -20 , вноситься заключний діагностичний висновок, який має вірогідність =99% ($p=0,01$).
- ✓ При необхідності більш високого рівня статистичної значущості процес індикації маркерів продовжується до досягнення значення $\Sigma_{\text{ДК}} = +30$ або -30 , який відповідає рівню вірогідності =99% ($p=0,001$).