

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Чистякова О.М.², Червинец В.М.¹, Червинец Ю.В.¹, Гребенщикова Л.Ю.^{1,2}, Радков О.В.^{1,2}

ГАЗОВЫЙ СПЕКТР СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ ВАГИНАЛЬНЫМИ СТАФИЛОКОККАМИ У ЖЕНЩИН ПРИ ДОСРОЧНОМ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОМ РАЗРЫВЕ ПЛОДНЫХ ОБОЛОЧЕК И МАЛОВОДИИ

¹Тверской государственный медицинский университет, 170100, Тверь, Россия;

²Областной клинический перинатальный центр им. Е.М. Бакуниной, 170036, Тверь, Россия

*Представлена характеристика спектра и количества газовых сигнальных молекул, выделяемых стафилококками влагалища у пациенток с досрочным преждевременным разрывом плодных оболочек (ПРПО) в сроке гестации 24,0-33 недель 6 дней в зависимости от остаточного объема околоплодных вод. Стафилококки, выделенные из влагалищной микрофлоры представлены видами *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. xylophilus*. Спектр газовых сигнальных молекул, продуцируемых и потребляемых стафилококками влагалища у пациенток с маловодием при досрочном ПРПО отличался в два раза меньшим выделением азота ($p=0,009$), в 50 раз меньшим выделением сероводорода ($p<0,001$), при сравнении с аналогичными показателями у пациенток без маловодия, выделением оксида азота в группе с маловодием при его поглощении в группе с нормальным остаточным объемом околоплодных вод.*

Ключевые слова: микрофлора; стафилококки; досрочный преждевременный разрыв плодных оболочек; маловодие; газовые сигнальные молекулы

Для цитирования: Чистякова О.М., Червинец В.М., Червинец Ю.В., Гребенщикова Л.Ю., Радков О.В. Газовый спектр сигнальных молекул, выделяемых вагинальными стафилококками у женщин при досрочном преждевременном разрыве плодных оболочек и маловодии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (6): 294-300.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-6-294-300>

Для корреспонденции: Чистякова Ольга Михайловна, врач акушер-гинеколог; e-mail canyou@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Поступила 12.03.2024

Принята к печати 03.04.2024

Опубликовано 25.05.2024

Chistyakova O.M.², Chervinets V.M.¹, Chervinets Yu.V.¹, Grebenshchikova L.Yu.^{1,2}, Radkov O.V.^{1,2}

SPECTRUM OF GAS SIGNALING MOLECULES SECRETED BY THE VAGINAL STAPHYLOCOCCI UPON PRETERM PREMATURE RUPTURE OF MEMBRANES AND OLIGOHYDRAMNIOS

¹Tver` State Medical University, 170100, Tver`, Russia;

²E. M. Bakunina Tver` Regional Clinical Perinatal Center, 170036, Tver`, Russia

*The paper characterizes the spectrum and the amount of gas signaling molecules secreted by vaginal Staphylococci in patients upon preterm premature rupture of membranes (PPROM) at 24.0–33.6 gestation weeks depending on the residual amount of the amniotic fluid. The Staphylococci isolated from the vaginal microbiota were represented by *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. xylophilus*. The spectrum of gas signaling molecules produced and consumed by the vaginal Staphylococci in patients with oligohydramnios upon PPRM was characterized by two times less nitrogen excretion ($p=0.009$), by 50 times less hydrogen sulfide excretion ($p<0.001$), compared to similar indicators in patients without oligohydramnios, as well as by nitrogen oxide excretion in the group with oligohydramnios upon its absorption in the group with the normal residual amount of the amniotic fluid.*

Key words: microbiota; Staphylococci; preterm premature rupture of membranes (PPROM); oligohydramnios; gas signaling molecules

For citation: Chistyakova O.M., Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Grebenshchikova L.Yu., Radkov O.V. Spectrum of gas signaling molecules secreted by the vaginal staphylococci upon preterm premature rupture of membranes and oligohydramnios. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (6): 294-300 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-6-294-300>

For correspondence: Chistyakova O.M., obstetrician-gynecologist; e-mail canyou@yandex.ru

Information about authors:

Chistyakova O.M., <https://orcid.org/0000-0002-0535-3396>;

Chervinets V.M., <https://orcid.org/0000-0001-5304-1963>;

Chervinets Yu.V., <https://orcid.org/0000-0001-9209-7839>;

Grebenshchikova L. Yu., <https://orcid.org/0000-0003-2815-1882>;

Radkov O. V., <https://orcid.org/0000-0003-4398-3222>.

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

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

Received 12.03.2024

Accepted 03.04.2024

Published 25.05.2024

Введение. Досрочный преждевременный разрыв плодных оболочек (ПРПО) как предшественник преждевременных родов, одного из «больших акушерских синдромов», является одной из важнейших проблем современного акушерства, при этом остаточный объём околоплодных вод при досрочном ПРПО является одним из определяющих факторов перинатальных исходов при недоношенной беременности [1 - 3]. Известно, что антенатальное зубиотическое состояние вагинальной микробиоты является протективным в отношении возникновения досрочного ПРПО и связанных с ним осложнений, однако концепция нормальности и дисбиоза микробиоты влагалища является дискуссионной, поскольку женщины разных рас имеют уникальную вагинальную микробиоту с региональными вариациями [4 - 9].

При этом любые изменения биологических свойств микроорганизмов могут рассматриваться как показатели индивидуального адаптогенеза или реализации их патогенного потенциала [10 - 13]. Одним из биологических свойств микроорганизмов является химическая коммуникация, основанная на производстве, обнаружении и реагировании на внеклеточные сигнальные молекулы, получившая название «quorum sensing» [14 - 16]. Микроорганизмы в биоплёнке непрерывно обмениваются между собой сигнальными молекулами, активирующими или приостанавливающими развитие сообщества [16 - 19]. Ряд газовых сигнальных молекул бактерий, таких как монооксид азота (NO), оксид углерода II (CO), сульфид водорода (H₂S), могут проявлять свою биологическую активность, влияя на тонус гладких мышц, регуляцию иммунных реакций и окислительное состояние клеток, как в непосредственном месте их синтеза, так и действуя системно [17]. Описано влияние продукции и функциональной роли NO, CO, H₂S на иммунокомпетентные клетки врождённого и адаптивного иммунитета в норме и при различных воспалительных и иммунных заболеваниях [17,18]. Роль CO, H₂S, оксида углерода IV (CO₂) в регуляции микробиоты влагалища показана с точки зрения защитных свойств в отношении возникновения бактериального вагиноза и заболеваний, передающихся половым путём, включая ВИЧ-1 [19,20]. Описана связь спектра газотрансмиттеров, синтезируемых и поглощаемых вагинальной микробиотой при привычном невынашивании беременности, нарушении маточно-плацентарного кровообращения, преэклампсии, преждевременных родах [21 - 25]. Однако вопрос об изменении спектра и количества газовых сигнальных молекул микробиоты влагалища, продуцируемых и потребляемых в зависимости от остаточного объёма околоплодных вод при досрочном преждевременном разрыве плодных оболочек остается недостаточно изученным. Учитывая актуальность научно-практической проблемы и её не-

достаточную разработанность, сформулирована цель исследования.

Цель: анализ спектра газовых сигнальных молекул, выделяемых стафилококками влагалища у пациенток с досрочным преждевременным разрывом плодных оболочек и маловодием.

Материал и методы. В исследование включены 164 пациентки с досрочным ПРПО в сроке гестации 24,0-33 недели 6 дней, из них основную группу составили 85 пациенток с маловодием, контрольную группу 79 пациенток без маловодия. Средний возраст пациенток в группах сопоставим и составил в группе пациенток с маловодием 30,4±6,2 лет, в группе пациенток без маловодия 29,5±5,9 ($p=0.14$). У всех пациенток фиксировались демографические данные, информация об исходах беременности. Критерии включения в исследование: ПРПО в сроке беременности 24-33 недели 6 дней, одноплодная беременность, отсутствие противопоказаний для проведения выжидательной тактики на момент поступления в стационар.

Критерии исключения: аутоиммунные, онкологические, гематологические заболевания матери, врождённые аномалии мочевыводящей системы у плода, наличие показаний для прекращения выжидательной тактики на момент поступления в клинику. Исследование проведено в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (ред. 2008 года). Проект протокола исследования одобрен локальным Этическим комитетом ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России.

Взятие материала из заднего свода влагалища производили на момент поступления в акушерскую клинику при осмотре в стерильных зеркалах стерильным тампоном на полистироловой палочке с площади 1 см² и в течение 2-х часов доставляли в бактериологическую лабораторию. Для выделения и культивирования микроорганизмов использован культуральный метод. Вагинальные образцы высевали на маннитовый солевой агар (MSA) (Oxoid, Великобритания), эозин-метилен-синий агар (EMB) (Bio-Rad, Франция), 5% кровяной агар (BA) (Oxoid, Великобритания) и агар Man, Rogosa and Sharpe (MRS) (Biokar, Франция). Инкубацию проводили в течение 18-24 часов при 37 °С в аэробных и микроаэрофильных условиях. Для определения гемолитической и лецитиназной активности микроорганизмов использован агар для анаэробов без глюкозы и метиленового синего (M229, HiMedia, Индия) и железно-желатиновый агар (M686, HiMedia, Индия). Из выделенных штаммов стафилококков отобраны 10 штаммов в основной группе и 10 штаммов в контрольной группе, обладающих наибольшей антагонистической

активностью к другим представителям условно-патогенной микрофлоры влагалища. Продукцию газовых сигнальных молекул (водород (H_2), кислород (O_2), азот (N_2), оксид углерода II (CO), метан (CH_4), оксид углерода IV (CO_2), монооксид азота (NO), сульфид водорода (H_2S)) определяли методом газовой хроматографии на хроматографе «Кристал-люкс-4000 М» (НПФ Метатром, Россия). Количественные характеристики спектра выделяемых и поглощаемых газовых сигнальных молекул выражались в миллионных долях (parts per million – ppm). Нормальность распределения признаков оценена критерием Колмогорова–Смирнова. Сравнение независимых выборок выполняли при помощи критерия χ^2 или точного критерия Фишера, и с использованием U -критерия Манна–Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез составил $<0,05$. Расчёты проведены в программе SPSS, версия 22.0 (IBM Corp., США).

Результаты. У большинства пациенток с маловодием при досрочном ПРПО в отделяемом влагалища обнаружены *Enterococcus faecalis* (61,44%), *Gardnerella* spp. (45,78%), *Staphylococcus* spp. (42,16%), *Bacillus* spp. (39,75%), *Staphylococcus aureus* (38,55%), *Bacillus subtilis* (33,73%), *Micrococcus* spp. (26,50%), *Escherichia coli* (22,89%), *Klebsiella pneumonia* (20,04%), *Streptococcus* spp. (16,86%), *Enterococcus* spp. (15,66%), *Staphylococcus epidermidis* (13,25%), *Bacteroides* spp. (10,84%). Частота обнаружения *Haemophilus* spp. и *Bacillus megaterium* составила менее 10%. В группе пациенток без маловодия у большинства пациенток в отделяемом влагалища обнаружены *Enterococcus faecalis* (67,94%), *Staphylococcus haemolyticus* (53,84%), *Staphylococcus sciuri* (46,92%), *Gardnerella* spp. (46,10%), *Bacillus* spp. (42,30%), *Candida albicans* (26,92%), *Staphylococcus aureus* (19,23%), *Escherichia coli* (15,38%), *Bacillus buchneri* (14,10%), *Enterococcus* spp. (10,25%), остальные микроорганизмы, *Staphylococcus epidermidis* и *Bacillus subtilis*, встречались с частотой менее 10%. В основной группе количество микроорганизмов в диапазоне от 4 lg КОЕ/см² до 6 lg КОЕ/см² определено для *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* spp., *Haemophilus* spp., *Klebsiella pneumoniae*; менее 4 lg КОЕ/см² для *Bacillus megaterium*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *Gardnerella* spp., *Bacteroides* spp., *Bacillus subtilis*, *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*. Среди пациенток контрольной группы количество микроорганизмов в образцах более 4 lg КОЕ/см² не отмечалось, но в количестве менее 4 lg КОЕ/см² выделены *Candida albicans*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus sciuri*, *Bacillus* spp., *Bacillus buchneri*, *Staphylococcus xylois*, *Gardnerella* spp., *Bacillus subtilis*, *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus*.

При анализе факторов патогенности бактерий в группе с маловодием в 2,5 раза чаще отмечена частота выявления микроорганизмов с гемолитической активностью чем в контрольной группе ($p=0,002$). Частота обнаружения микроорганизмов с лецитиназной активностью в исследуемых группах женщин не различалась ($p=0,863$). При попытке культивирования лактобацилл на селективных средах отмечалось отсутствие их роста в обеих группах.

Влагалищная микробиота пациенток основной группы содержала стафилококки 2-х видов: *S. epider-*

midis, *S. aureus*. Влагалищная микробиота пациенток контрольной группы содержала стафилококки следующих видов: *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. xylois*, *S. sciuri*.

Определена продукция газовых сигнальных молекул стафилококками влагалища (табл. 1, 2, рис. 1). Стафилококки в группе пациенток с маловодием отличались выделением NO в количестве в среднем 3,62 ppm (наиболее активный продуцент – *Staphylococcus epidermidis*). В группе пациенток без маловодия, выделенные штаммы стафилококков в основном потребляли NO , в среднем – 11,11 ppm, наиболее активное потребление отмечено у *Staphylococcus aureus* (рис.2).

Основная группа характеризовалась в два раза меньшим выделением N_2 ($p=0,009$), чем у пациенток без маловодия, при этом среднее количество в группе пациенток с маловодием составило 1,62%, а без маловодия 3,22%. Наиболее активно выделяли N_2 в основной группе – *S. epidermidis*, в контрольной – *S. aureus*.

У пациенток с маловодием отмечено в 50 раз меньшее выделение H_2S (в среднем 0,27 ppm) ($p<0,001$), чем у пациенток без маловодия (в среднем 14,26 ppm). В контрольной группе только *S. xylois* наиболее активно выделял H_2S .

Отмечено отсутствие продукции и потребления H_2 стафилококками в обеих группах. Потребление кислорода O_2 в обеих группах значимо не различалось и составило в среднем в основной группе – 5,36%, в контрольной – 6,51%, при этом в основной группе наиболее активно потреблял O_2 – *S. aureus*, в контрольной – *S. epidermidis*. Не отмечено значимых различий между группами в выделении CO , CO_2 и CH_4 . В группе пациенток с маловодием продукция CO и CO_2 в среднем составила 15,73 ppm и 12171,88 ppm соответственно. При этом в основной группе наиболее активно выделял CO и CO_2 – *S. epidermidis*. В группе пациенток без маловодия продукция CO и CO_2 в среднем составила 10,93 ppm и 12646,36 ppm соответственно. При этом в контрольной группе наиболее активно выделял CO – *S. xylois*, CO_2 – *S. epidermidis*. Наиболее активный продуцент CH_4 в основной группе – *S. epidermidis*, в контрольной – *S. xylois*, при этом среднее количество выделяемого CH_4 составило 2,01 и 2,19 ppm соответственно.

Обсуждение. Данные исследования демонстрируют, что при поступлении в стационар у пациенток с маловодием при досрочном ПРПО имеются характерные изменения состава микробиоты влагалища, характеризующиеся микробным дисбалансом. В обеих группах в основном преобладали следующие микроорганизмы: *Enterococcus faecalis*, *Gardnerella* spp., *Staphylococcus* spp. и *Bacillus* spp. (от 40 до 60% случаев). Выявлено отличие в количественном составе влагалищной микробиоты: в основной группе количество микроорганизмов колебалось в диапазоне от 4 lg КОЕ/см² до 6 lg КОЕ/см², в контрольной группе – не более 4 lg КОЕ/см². У пациенток обеих групп отмечается отсутствие роста лактобацилл на селективных средах, что в некоторых исследованиях расценивается как проявление исходно выраженного дисбиоза, который является одним из факторов риска досрочного ПРПО [10,12]. Ряд исследований объясняет отсутствие лактобацилл при данном осложнении беременности избыточным ростом аэробных условно-патогенных бактерий [8], сто-

ит отметить, что часть исследователей отрицает эту связь [26]. У пациенток с маловодием отмечается отсутствие роста грибов рода *Candida*, что может являться следствием снижения pH влагалищной среды менее 4,0, поскольку известно, что щелочная среда обладает ингибирующим действием в отношении дрожжевых грибов, а нейтральная, и, в особенности кислая влагалищная среда, благоприятны для образования ими биоплёнок, содержащих большое количество матричных компонентов, что обеспечивает субпопуляции дрожжевых грибов лучшую адаптацию к меняющимся условиям среды [15]. При маловодии реализация патогенной гемолитической и лецитиназной активности микроорганизмов более вероятна и ассоциирована с более высокой

частотой реализации внутриутробной инфекции, что согласуется с данными одних авторов [10], но не находит подтверждения в других работах [13]. Данные анализа спектра газовых сигнальных молекул стафилококков влагалища указывают на многократно меньшее выделение H_2S в основной группе. Известно, что подавление синтеза H_2S приводит к подавлению высвобождения субстанции P и пептида, связанного с геном кальцитонина, и, как следствие, способствует неадекватной местной воспалительной реакции и снижению активности иммунокомпетентных клеток [27 - 29]. Таким образом, многократно меньшее выделение H_2S в основной группе может быть связано с исходным состоянием иммунной системы у пациенток данной группы.

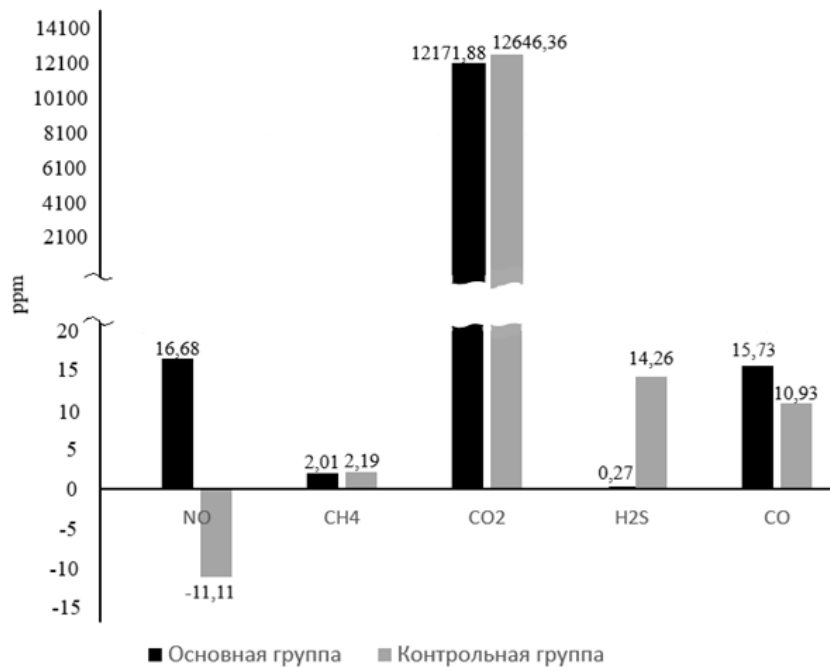


Рис. 1. Продукция и потребление газовых сигнальных молекул стафилококками у пациенток с досрочным ПРПО.

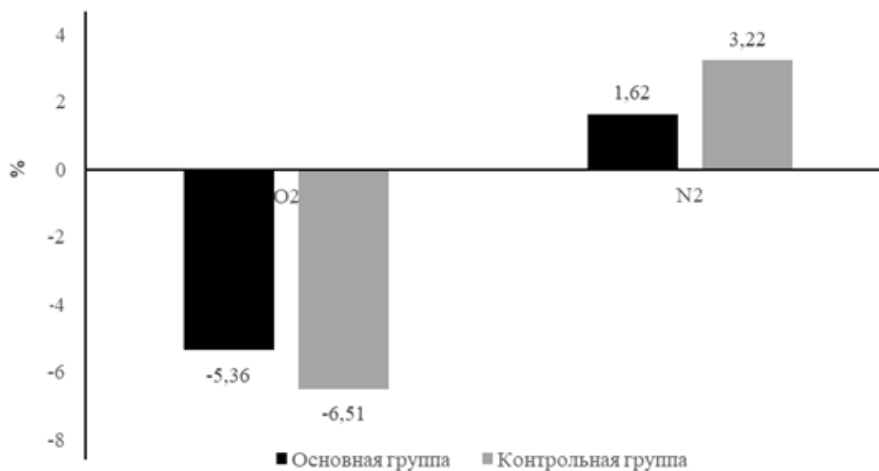


Рис. 2. Продукция и потребление молекул кислорода и азота стафилококками у пациенток с досрочным ПРПО.

Таблица 1

Продукция газовых сигнальных молекул стафилококками влагалища у пациенток с маловодием (указаны медианные значения)

№ п/п	Проба	O ₂ , %	N ₂ , %	NO, ppm	H ₂ S, ppm	CH ₄ , ppm	CO ₂ , ppm	CO, ppm
1	<i>S. epidermidis</i> 3/4 (95.6%)	-5,635	1,941	16,033	0	0,511	11631,897	4,109
2	<i>S. epidermidis</i> 2/4 (99.6%)	-5,591	1,312	15,063	0	0,59	11377,47	3,956
3	<i>S. epidermidis</i> 5/1 (99.2%)	-5,202	-0,014	15,947	0	5,079	16024,886	36,926
4	<i>S. epidermidis</i> 1/4 (85.8%)	-5,156	0,69	23,511	0	5,889	14707,923	48,508
5	<i>S. epidermidis</i> 8/3(97.8%)	-5,87	3,075	16,754	1,167	0,602	10856,691	4,164
6	<i>S. epidermidis</i> 11/2 (97.9%)	-5,548	2,958	15,883	0	0,563	10441,865	3,95
7	<i>S. epidermidis</i> 1 (85.9%)	-4,622	1,029	17,328	0	4,722	13114,01	42,44
8	<i>S. aureus</i> 19/1 (96.8%)	-5,886	1,8	15,012	0	0,885	10580,25	4,766
9	<i>S. aureus</i> 13/3 (96.1%)	-5,086	1,507	14,601	0	0,540	10812,861	3,997
10	<i>S. aureus</i> 2/1 (96.1%)	-4,975	1,863	16,71	1,569	0,760	12170,944	4,492
11	Медианное значение	-5,36	1,62	16,680	0,270	2,010	12171,88	15,73

Таблица 2

Продукция газовых сигнальных молекул стафилококками влагалища у пациенток без маловодия (указаны медианные значения)

№ п/п	Проба	O ₂ , %	N ₂ , %	NO, ppm	H ₂ S, ppm	CH ₄ , ppm	CO ₂ , ppm	CO, ppm
1	<i>S. haemolyticus</i> 51 (86.9%)	-5,522	3,091	-14,331	5,124	4,684	11607,476	32,99
2	<i>S. sciuri</i> 434 (88.3%)	-5,939	4,608	-16,026	0	-0,702	5754,469	1,429
3	<i>S. aureus</i> 376 (88.4%)	-6,586	5,369	-24,478	0	0,387	8999,623	5,338
4	<i>S. aureus</i> 061 (97.8%)	-9,3	6,051	-16,928	0	0,653	17616,369	3,247
5	<i>S. xylois</i> 285 (99.2%)	-0,285	-1,258	-0,253	0	1,61	4844,224	8,905
6	<i>S. aureus</i> 0278 (97.8%)	-9,06	2,098	-8,25	19,467	2,297	20141,294	2,523
7	<i>S. epidermidis</i> 265 (89.3%)	-6,811	3,652	-5,516	0,423	2,2	12275,535	4,394
8	<i>S. epidermidis</i> 260 (80.5%)	-10,678	4,024	-9,385	0	2,129	22014,525	3,355
9	<i>S. xylois</i> 118 (91%)	-5,687	1,953	-5,347	45,559	6,245	12248,087	41,863
10	<i>S. xylois</i> 288 (99.7%)	-5,241	2,584	-10,612	0,761	2,419	10962,112	5,223
11	Медианное значение	-6,51	3,22	-11,11	14,26	2,19	12646,36	10,93

Полученные данные указывают на уменьшение выделения N₂ в основной группе, газотрансммитера, способствующего адгезии и трансэндотелиальной миграции лейкоцитов, пролиферации кровеносных сосудов и усиленному тромбообразованию.

Данные исследования указывают на активный синтез NO в опытной группе и его потребление в контрольной группе. В ряде исследований рассматривается возможный патофизиологический механизм действия NO и его производных на гипериммунное системное воспаление путём окисления азота и образования токсичного соединения пероксинитрита, являющегося мощным провоспалительным агентом, присутствие которого значительно повреждает эндотелий сосудов и окисляет липиды [30 - 33]. Эти результаты дают представление о связи особенностей спектра газовых сигнальных молекул при маловодии с формированием более тяжёлого клеточного иммунного ответа.

Заключение. У пациенток с маловодием и без него при досрочном ПРПО выявлен состав микробиоты, характерный для дисбиотического микробного нарушения во влагалище. Спектр продуцируемых и потребляемых стафилококками влагалища газовых сигнальных молекул поддерживает местную воспалительную реакцию. При выявлении у беременных факторов риска

досрочного ПРПО необходимо комплексное исследование микробиоты влагалища с применением культурального и других необходимых методов лабораторной диагностики. При выявлении дисбиотических изменений необходимо провести своевременную их коррекцию путём применения пре/про/метабиотиков, которые способствуют сбалансированию спектра, частоты встречаемости и количества влагалищной нормобиоты, и выделяемых ими газовых сигнальных молекул.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сухих Г.Т., Серов В.Н., Адамян Л.В. Филиппов О.С., Баев О.Р., Клименченко Н.И., и др. Преждевременные роды. *Проблемы репродукции*. 2015; 21 (прил. 6): 55-78.
2. Šket T., Železnik Ramuta T., Starčič Erjavec M., Erdani Kreft M. The role of innate immune system in the human amniotic membrane and human amniotic fluid in protection against intra-amniotic infections and inflammation. *Front. Immunol.* 2021; 12: 735324. DOI: 10.3389/fimmu.2021.735324.2021.
3. Moore T.R. The role of amniotic fluid assessment in evaluating fetal well-being. *Clin. Perinatol.* 2011; 38 (1): 33-46. DOI: 10.1016/j.clp.2010.12.005.
4. Боярский К.Ю., Кахиани Е.И. Микробиом репродуктивной си-

- стемы человека. *Проблемы репродукции*. 2019; 25 (4): 34. DOI: 10.17116/repro201925041.
5. Buchta V. Vaginal microbiome. *Ceska gynekol*. 2018; 83(5): 371-9.
 6. Mendling W. Vaginal Microbiota. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016; 902: 83-93. DOI: 10.1007/978-3-319-31248-4_6.
 7. Зибзева С.Ю., Стольников И.И., Червинец Ю.В., Червинец В.М. Характеристика вагинального микробиома пациенток с привычным невынашиванием беременности. *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова*. 2023; 18 (2): 74-8.
 8. Kumar M., Murugesan S., Singh P., Saadaoui M., Elhag D.A., Teranegra A. Vaginal microbiota and cytokine levels predict preterm delivery in Asian women. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2021; 4 (11): 639-65. DOI: 10.3389/fcimb.2021.639665.
 9. Saraf V.S., Sheikh S.A., Ahmad A., Gillevet P.M., Bokhari H., Javed S. et.al. Vaginal microbiome: normalcy vs dysbiosis. *Arch. Microbiol.* 2021; 203 (7): 3793-3802. DOI: 10.1007/s00203-021-02414-3.
 10. Whidbey C., Vornhagen J., Gendrin C., Boldenow E., Samson J.M., Doering K. et. al. A streptococcal lipid toxin induces membrane permeabilization and pyroptosis leading to fetal injury. *EMBO Mol. Med.* 2015; 7 (4): 488-95. DOI: 10.15252/emmm.201404883.
 11. Singh N., Pattnaik L., Panda S. R., Jena P., Panda J. Fetomaternal outcomes in women affected with preterm premature rupture of membranes: an observational study from a tertiary care center in Eastern India. *Cureus*. 2022; 14 (5): e25533. DOI: 10.7759/cureus.25533.
 12. Velemínský M., Tosner J. Relationship of vaginal microflora to PROM, pPROM and the risk of early-onset neonatal sepsis. *Neur. Endocrinol. Lett.* 2008; 29 (2): 205-21.
 13. Кунгурцева Е.А., Джиоев Ю.П., Попкова С.М., Лещенко О.Я., Загвозкина А.В. Патогенный потенциал и взаимовлияние микрофлоры слизистых оболочек открытых полостей различных биотопов у женщин как важные факторы их репродуктивного здоровья. *Acta Biomedica Scientifica*. 2014; 100 (6): 63-7.
 14. Sparvoli L.G., Cortez R.V., Daher S., Padilha M., Sun S.Y., Nakamura M.U. Women's multisite microbial modulation during pregnancy. *Microb. Pathog.* 2020; 147: 104230. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104230.
 15. Gonçalves B., Fernandes L., Henriques M., Silva S. Environmental pH modulates biofilm formation and matrix composition in *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Biofouling*. 2020; 36 (5): 621-30. DOI: 10.1080/08927014.2020.1793963.
 16. Mukherjee S., Bassler B.L. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019; 17 (6): 371-82. DOI: 10.1038/s41579-019-0186-5.
 17. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Беляева Е.А., Петрова О.А., Ганина Е.Б. Метаболическая активность высокоантагонистических штаммов лактобацилл здорового человека. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2018; 4: 11-7.
 18. Rengarajan A., Mauro A., Boeldt D. S. Maternal disease and gasotransmitters. *Nitric. Oxide*. 2020; 1 (96): 1-12. DOI: 10.1016/j.niox.2020.01.001.
 19. Yeruva T., Lee C. H. Regulation of Vaginal Microbiome by Nitric Oxide. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2019; 20 (1): 17-31. DOI: 10.2174/1389201020666190207092850.
 20. Guerra D.D., Hurt K.J. Gasotransmitters in pregnancy: from conception to uterine involution. *Biol. Reprod.* 2019; 101 (1): 4-25. DOI: 10.1093/biolre/iz038.
 21. Rengarajan A., Mauro A. K., Boeldt D.S. Maternal disease and gasotransmitters. *Nitric. Oxide*. 2020; 1 (96): 1-12. DOI: 10.1016/j.niox.2020.01.001.
 22. Ncib K., Bahia W., Leban N. Microbial diversity and pathogenic properties of microbiota associated with aerobic vaginitis in women with recurrent pregnancy loss. *Diagnostics* (Basel). 2022; 12 (10): 24-44. DOI: 10.3390/diagnostics12102444.
 23. Досова С.Ю. Роль вагинального микробиома в патогенезе привычного невынашивания беременности. *Тверской медицинский журнал*. 2020; (2): 8-10.
 24. Sutton E.F., Gemmel M., Powers R.W. Nitric oxide signaling in pregnancy and preeclampsia. *Nitric. Oxide*. 2020; 95 (1): 55-62. DOI: 10.1016/j.niox.2019.11.006.
 25. Banerji R., Kanojija P., Saroj S.D. Role of interspecies bacterial communication in the virulence of pathogenic bacteria. *Crit. Rev. Microbiol.* 2020; 46 (2): 136-46. DOI: 10.1080/1040841X.2020.1735991.
 26. Lev-Sagie A., De Seta F., Verstraelen H., Ventolini G., Lonnee-Hoffmann R., Vieira-Baptista P. et. al. The vaginal microbiome: II. Vaginal dysbiotic conditions. *J. Low Genit. Tract. Dis.* 2022; 26 (1): 79-84. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000644.
 27. Ganguly A., Ofman G., Vitiello P.F. Hydrogen sulfide-clues from evolution and implication for neonatal respiratory diseases. *Children* (Basel). 2021; 8 (3): 213. DOI: 10.3390/children8030213.
 28. Helms C., Kim-Shapiro D.B. Hemoglobin-mediated nitric oxide signaling. *Free Radic. Biol. Med.* 2013; 61: 464-72.
 29. Curieses Andrés C.M., Pérez de la Lastra J.M. Chemistry of hydrogen sulfide-pathological and physiological functions in mammalian cells. *Cells*. 2023; 12 (23): 2684. DOI: 10.3390/cells12232684.
 30. Menon R., Boldogh I., Hawkins H.K., Woodson M., Poletini J., Syed T.A. et.al. Histological evidence of oxidative stress and premature senescence in preterm premature rupture of the human fetal membranes recapitulated *in vitro*. *Am. J. Pathol.* 2014; 184 (6): 1740-51. DOI: 10.1016/j.ajpath.2014.02.011.
 31. Yuan B., Ohyama K., Takeichi M., Toyoda H. Direct contribution of inducible nitric oxide synthase expression to apoptosis induction in primary smooth chorion trophoblast cells of human fetal membrane tissues. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2009; 41 (5): 1062-9. DOI: 10.1016/j.biocel.2008.09.031.
 32. Poletini J., Richardson L.S., Menon R. Oxidative stress induces senescence and sterile inflammation in murine amniotic cavity. *Placenta*. 2018; 63: 26-31. DOI: 10.1016/j.placenta.2018.01.009.
 33. Dutta E.H., Behnia F., Boldogh I. Oxidative stress damage-associated molecular signaling pathways differentiate spontaneous preterm birth and preterm premature rupture of the membranes. *Mol. Hum. Reprod.* 2016; 22 (2): 143-57. DOI: 10.1093/molehr/gav074.

REFERENCES

1. Sukhikh G.T., Serov V.N., Adamyan L.V., Filipov O.S., Baev O.R., Klimenchenko N.I. Preterm labor. *Problemy reproduktivnoy*. 2015; 21 (Suppl.6): 55-78. (in Russian)
2. Šket T., Železnik Ramuta T., Starčič Erjavec M., Erdani Kreft M. The Role of innate immune system in the human amniotic membrane and human amniotic fluid in protection against intra-amniotic infections and inflammation. *Front. Immunol.* 2021; 12: 735324. DOI: 10.3389/fimmu.2021.735324.2021.
3. Moore T.R. The role of amniotic fluid assessment in evaluating fetal well-being. *Clin. Perinatol.* 2011; 38 (1): 33-46. DOI: 10.1016/j.clp.2010.12.005.
4. Boyarskiy K.Y., Kakhiani E.I. Microbiome of human reproductive system. *Problemy reproduktivnoy*. 2019; 25 (4): 34. DOI: 10.17116/repro201925041. (in Russian)
5. Buchta V. Vaginal microbiome. *Ceska gynekol*. 2018; 83 (5): 371-9.
6. Mendling W. Vaginal Microbiota. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016; 902: 83-93. DOI: 10.1007/978-3-319-31248-4_6.
7. Zebzeeva S.Yu., Stol'nikova I.I., Chervinets Yu.V., Chervinets V.M. Characteristics of the vaginal microbiome of patients with habitual miscarriage. *Vestnik Nacional'noy mediko-khirurgicheskogo tsentra imeni N.I. Pirogova*. 2023; 18 (2):74-8. (in Russian)
8. Kumar M., Murugesan S., Singh P., Saadaoui M., Elhag D.A., Teranegra A. Vaginal microbiota and cytokine levels predict preterm delivery in Asian women. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2021; 4 (11): 639-65. DOI: 10.3389/fcimb.2021.639665.
9. Saraf V.S., Sheikh S.A., Ahmad A., Gillevet P.M., Bokhari H., Javed S. et.al. Vaginal microbiome: normalcy vs dysbiosis. *Arch. Microbiol.* 2021; 203 (7): 3793-3802. DOI: 10.1007/s00203-021-02414-3.
10. Whidbey C., Vornhagen J., Gendrin C., Boldenow E., Samson J.M., Doering K. et. al. A streptococcal lipid toxin induces membrane permeabilization and pyroptosis leading to fetal injury. *EMBO Mol. Med.* 2015; 7 (4) 488-95. DOI: 10.15252/emmm.201404883.
11. Singh N., Pattnaik L., Panda S.R., Jena P., Panda J. Fetomaternal outcomes in women affected with preterm premature rupture of membranes: an observational study from a tertiary care center in Eastern India. *Cureus*. 2022; 14 (5): e25533. DOI: 10.7759/cureus.25533.
12. Velemínský M., Tosner J. Relationship of vaginal microflora to PROM, pPROM and the risk of early-onset neonatal sepsis. *Neur. Endocrinol. Lett.* 2008; 29 (2): 205-21.
13. Кунгурцева Е.А., Джиоев Ю.П., Попкова С.М., Лещенко О.Я., Загвозкина А.В. Патогенный потенциал и взаимовлияние микрофлоры слизистых оболочек открытых полостей различных биотопов у женщин как важные факторы их репродуктивного здоровья. *Acta Biomedica Scientifica*. 2014; 100 (6): 63-7.

- croflora of mucous membranes of open cavities of different biotopes in women as important factors of their reproductive health. *Acta Biomedica Scientifica*. 2014; 100 (6): 63-7. (in Russian)
14. Sparvoli L.G., Cortez R.V., Daher S. Padilha M., Sun S.Y., Nakamura M.U. Women's multisite microbial modulation during pregnancy. *Microb. Pathog.* 2020; 147: 104230. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104230.
 15. Gonçalves B., Fernandes L., Henriques M., Silva S. Environmental pH modulates biofilm formation and matrix composition in *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Biofouling*. 2020; 36 (5): 621-30. DOI: 10.1080/08927014.2020.1793963.
 16. Mukherjee S., Bassler B.L. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019; 17 (6): 371-82. DOI: 10.1038/s41579-019-0186-5.
 17. Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Belyaeva E.A., Petrova O.A., Ganina E.B. Metabolic activity of high-antagonistic strains of lactobacilli isolated from healthy people. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2018; 4: 11-7. (in Russian)
 18. Rengarajan A., Mauro A., Boeldt D. S. Maternal disease and gasotransmitters. *Nitric Oxide*. 2020; 1 (96): 1-12. DOI: 10.1016/j.niox.2020.01.001.
 19. Yeruva T., Lee C.H. Regulation of Vaginal Microbiome by Nitric Oxide. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2019; 20 (1): 17-31. DOI: 10.2174/1389201020666190207092850.
 20. Guerra D.D., Hurt K.J. Gasotransmitters in pregnancy: from conception to uterine involution. *Biol. Reprod.* 2019; 101 (1): 4-25. DOI: 10.1093/biolre/ioz038.
 21. Rengarajan A., Mauro A. K., Boeldt D.S. Maternal disease and gasotransmitters. *Nitric Oxide*. 2020; 1 (96): 1-12. DOI: 10.1016/j.niox.2020.01.001.
 22. Ncib K., Bahia W., Leban N. Microbial diversity and pathogenic properties of microbiota associated with aerobic vaginitis in women with recurrent pregnancy loss. *Diagnostics (Basel)*. 2022; 12 (10): 24-44. DOI: 10.3390/diagnostics12102444.
 23. Dosova S.Y. The role of vaginal microbiome in the pathogenesis of habitual miscarriage. *Tverskoy meditsinskiy zhurnal*. 2020; 2: 8-10. (in Russian)
 24. Sutton E.F., Gemmel M., Powers R.W. Nitric oxide signaling in pregnancy and preeclampsia. *Nitric. Oxide*. 2020; 95 (1): 55-62. DOI: 10.1016/j.niox.2019.11.006.
 25. Banerji R., Kanojiya P., Saroj S.D. Role of interspecies bacterial communication in the virulence of pathogenic bacteria. *Crit. Rev. Microbiol.* 2020; 46 (2): 136-46. DOI: 10.1080/1040841X.2020.1735991.
 26. Lev-Sagie A., De Seta F., Verstraelen H., Ventolini G., Lonnee-Hoffmann R., Vieira-Baptista P. et. al. The vaginal microbiome: II. Vaginal dysbiotic conditions. *J. Low Genit. Tract. Dis.* 2022; 26 (1): 79-84. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000644.
 27. Ganguly A., Ofman G, Vitiello P.F. Hydrogen sulfide-clues from evolution and implication for neonatal respiratory diseases. *Children (Basel)*. 2021; 8 (3): 213. DOI: 10.3390/children8030213.
 28. Helms C., Kim-Shapiro D.B. Hemoglobin-mediated nitric oxide signaling. *Free Radic. Biol. Med.* 2013; (61): 464-72.
 29. Curieses Andrés C M, Pérez de la Lastra J.M., Chemistry of hydrogen sulfide-pathological and physiological functions in mammalian cells. *Cells*. 2023; 12(23): 2684. DOI: 10.3390/cells12232684.
 30. Menon R., Boldogh I., Hawkins H.K., Woodson M., Polettini J., Syed T.A. et.al. Histological evidence of oxidative stress and premature senescence in preterm premature rupture of the human fetal membranes recapitulated in vitro. *Am. J. Pathol.* 2014; 184(6): 1740-51. DOI: 10.1016/j.ajpath.2014.02.011.
 31. Yuan B., Ohyama K., Takeichi M., Toyoda H. Direct contribution of inducible nitric oxide synthase expression to apoptosis induction in primary smooth chorion trophoblast cells of human fetal membrane tissues. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2009; 41(5): 1062-9. DOI: 10.1016/j.biocel.2008.09.031.
 32. Polettini J., Richardson L.S, Menon R. Oxidative stress induces senescence and sterile inflammation in murine amniotic cavity. *Placenta*. 2018; 63: 26-31. DOI: 10.1016/j.placenta.2018.01.009.
 33. Dutta E.H., Behnia F., Boldogh I. Oxidative stress damage-associated molecular signaling pathways differentiate spontaneous preterm birth and preterm premature rupture of the membranes. *Mol. Hum. Reprod.* 2016; 22(2): 143-57. DOI: 10.1093/molehr/gav074.