

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ВОЕННОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОЕННО-МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ С.М.КИРОВА»  
МИНИСТЕРСТВА ОБОРОНЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

САДОВАЯ Наталья Дмитриевна

ТЕЧЕНИЕ ПЕРВОЙ ПОЛОВИНЫ БЕРЕМЕННОСТИ У ЖЕНЩИН С  
ДИСБАКТЕРИОЗОМ КИШЕЧНИКА, ПРОФИЛАКТИКА ОСЛОЖНЕНИЙ

3.1.4. Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук доцент

Безменко Александр Александрович

Санкт-Петербург 2022

## Оглавление

<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>4</b>
<b>Глава 1 РОЛЬ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....</b>	<b>22</b>
1.1 Современные представления о микробиоте репродуктивной системы и составе кишечной микрофлоры человека.....	23
1.1.1 Микробиота репродуктивной системы.....	24
1.1.2 Состав кишечной микрофлоры и методы её диагностики .....	27
1.2 Определение дисбактериоза кишечника. Факторы, способствующие его формированию. Клинические проявления. Классификация .....	35
1.3 Роль условно-патогенных микроорганизмов в развитии патологии первой половины беременности.....	38
1.3.1 Микрофлора кишечника во время беременности.....	38
1.3.2 Эндотоксин как причина системного воспаления .....	39
1.3.3 Роль эндотоксина в патогенезе невынашивания беременности .....	44
<b>Глава 2 СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКИХ ГРУПП .....</b>	<b>50</b>
2.1 Возрастные, антропометрические показатели и индекс массы тела .....	50
2.2 Уровень образования, характер трудовой деятельности и социальное положение .....	51
2.3 Акушерско-гинекологический анамнез и экстрагенитальная патология .	52
<b>Глава 3 ОЦЕНКА РОЛИ ДИСБАКТЕРИОЗА КИШЕЧНИКА В ПАТОГЕНЕЗЕ ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ .....</b>	<b>56</b>
3.1 Системно-структурный анализ микрофлоры влагалища и кишечника в группах исследования.....	56
3.2 Определение факторов риска развития кишечного дисбиоза и его клинических проявлений у беременных женщин .....	64
3.3 Сравнительная характеристика уровня эндотоксинемии и интерлейкинов в группах исследования.....	65

<b>Глава 4 ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ВЫЯВЛЕНИЮ И КОРРЕКЦИИ ДИСБАКТЕРИОЗА КИШЕЧНИКА В ПРЕГРАВИДАРНЫЙ ПЕРИОД И ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ .....</b>	<b>70</b>
4.1 Диагностика дисбактериоза кишечника среди беременных и планирующих беременность женщин .....	71
4.2 Дифференцированный комплексный подход к коррекции дисбактериоза кишечника .....	74
<b>ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ .....</b>	<b>77</b>
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>83</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....</b>	<b>85</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....</b>	<b>86</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>88</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования и степень её разработанности**

Проблема невынашивания беременности (НБ), на современном этапе, остается одной из актуальных для практического акушерства [33, 36, 104, 128]. От 15 до 23% подтвержденных беременностей заканчиваются самопроизвольными выкидышами [8]. По обобщенным данным мировой литературы, на долю хромосомных аномалий приходится около 7% репродуктивных потерь, остальные причины самопроизвольных выкидышей являются условно-предотвратимыми, и их доля может быть нивелирована в результате успешно проведенной предгравидарной подготовки, профилактики или своевременной терапии [105, 112, 117]. Одной из таких причин считают инфекционную, при этом сообщается о возрастающей роли в НБ условно-патогенных микроорганизмов [28, 40]. Оценивая невынашивание беременности как основную причину репродуктивных потерь и главный резерв повышения рождаемости, успешный исход каждой беременности – важнейшая медико-социальная задача.

Согласно современным представлениям, в патогенезе ранних гестационных потерь важную роль играют иммунные нарушения [46, 89, 91, 130, 139, 151, 161, 179]. При патологическом течении беременности преобладание Т-хелперов 1 типа приводит к продукции провоспалительных цитокинов [53, 129]. Они активируют апоптоз клеток трофобласта и разрушение эндотелия сосудов посредством ингибирующего влияния на продукты ростовых факторов, чрезмерной цитотоксической активации натуральных киллеров и фагоцитарной активности макрофагов в эндометрии и децидуальной ткани [53, 119, 157]. Кроме того, провоспалительные цитокины активируют коагуляционные механизмы, снижают антикоагулянтную и фибринолитическую активность крови, в результате чего происходит образование тромбов в сосудах трофобласта [21, 37, 57], и инициируют выброс простагландинов в амнионе и децидуальной оболочке [35]. Все вышеперечисленные механизмы приводят к десквамации децидуальной оболочки и прерыванию беременности.

В некоторых научных работах [12, 29, 154, 183] отражено, что патологическое течение гестационного процесса может быть обусловлено эндотоксин-индуцированной активацией клеток иммунной системы. В норме основным источником эндотоксина в организме человека является микрофлора кишечника [1, 64, 86]. При физиологических условиях он проникает в кровоток в незначительных количествах, что обеспечивает адаптацию макроорганизма к изменяющимся условиям жизнедеятельности [5, 10, 120]. При дисбактериозе кишечника происходит избыточное поступление эндотоксина в системный кровоток на фоне абсолютной или относительной недостаточности эндотоксин-связывающих систем, что влечет за собой развитие токсинемической агрессии, которая может быть причиной развития самых разнообразных синдромов и заболеваний [30, 85, 115, 121].

Во время беременности в организме женщины создаются все условия для нарушения микробиоценоза кишечника. В результате гормональных, функциональных и структурных изменений происходит замедление перистальтики кишечника, снижение тонуса гладкой мускулатуры кишечной стенки, желчного пузыря и желчевыводящих путей, что увеличивает длительность экспозиции кишечного содержимого в терминальных отделах толстой кишки [2, 18, 98]. Длительный толстокишечный стаз приводит к активации условно-патогенной микрофлоры и нарушению барьерной функции кишечника, способствуя проникновению эндотоксина в кровь [11, 62, 80, 97] и запуску иммунопатологических реакций, приводящих к развитию системной воспалительной реакции и прерыванию беременности.

В последние годы существенно вырос интерес к исследованию микробиоценоза кишечника. Например, по запросу «gut microbiota» («кишечная микробиота») на информационном ресурсе PubMed можно найти лишь 13 статей, датированных 2001 годом, 663 статьи за 2019 год и 9453 статьи за 2020 год.

Несмотря на очевидную значимость кишечной микробиоты, выполняющей роль «биохимической лаборатории» в том числе в поддержании гестационного процесса, число исследований, направленных на её изучение во время

беременности, крайне невелико. Несколько работ (Савченко Т.Н. и соавт., 2013; Сейтханова Б.Т., 2014; Гапон М.Н. и соавт., 2016; Полищук И.С. и соавт., 2016) было посвящено изучению особенностей микробиоценоза кишечника беременных женщин с применением культурального метода диагностики [25, 74, 88, 90]. Ряд исследований (Zhang D., 2015; Carla R. Taddei et al., 2018; Baldassarre M.E. et al., 2019) описывает взаимосвязь отдельных представителей кишечной микрофлоры с развитием осложнений гестационного периода [127, 131, 207].

Остаётся малоизученным качественный и количественный состав микробиоценоза кишечника у беременных женщин, не определен состав кишечной микрофлоры при физиологическом течении беременности. Недостаточно исследованы изменения кишечной микробиоты, которые ассоциируются с патологическим течением гестации и требуют активных лечебно-профилактических мероприятий. Не разработаны единые подходы к формированию групп риска, выявлению кишечного дисбактериоза и его коррекции в прегравидарный период и во время беременности. Нерешённые проблемы кишечного дисбактериоза у беременных и его взаимосвязи с патологией гестации позволили определить цель и задачи исследования, направленные на снижение неблагоприятных исходов беременности, что будет способствовать решению демографических проблем.

**Цель исследования:** оценить влияние кишечного дисбактериоза на течение первой половины беременности, разработать дифференцированный комплексный подход к его выявлению и профилактике осложнений беременности.

#### **Задачи исследования:**

1. Изучить состояние микробиоценозов влагалища и кишечника у женщин в первой половине беременности.
2. Провести сравнительную оценку микробиоценоза кишечника у женщин с нормальным и патологическим течением первой половины беременности.

3. Определить факторы риска развития кишечного дисбиоза и его основные клинические проявления у беременных женщин.
4. Проанализировать уровень эндотоксинемии, про- и противовоспалительных интерлейкинов в сыворотке крови и их взаимосвязь со степенью дисбиотических процессов кишечника у обследованных беременных.
5. Разработать алгоритм диагностики и дифференцированного подхода к коррекции дисбиотических нарушений кишечника у женщин в прегравидарный период и во время беременности.

### **Научная новизна и теоретическая значимость исследования**

Впервые у беременных женщин была проведена комплексная оценка микрофлоры кишечника с использованием молекулярно-генетического метода исследования – полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. На основании сравнительного анализа установлено, что внедрение и активное использование данного метода в диагностике нарушений микрофлоры влагалища и кишечника позволяет быстро и с высокой точностью идентифицировать большинство микроорганизмов указанных биотопов и имеет явное преимущество перед микроскопическим или бактериологическим методами исследования.

Впервые выявлено, что дисбактериоз кишечника I степени диагностируется у 90,5% беременных женщин и не осложняет течение беременности, а умеренный и тяжёлый дисбактериоз являются факторами риска невынашивания беременности (оценка общего отношения шансов Мантеля-Хенцеля  $OR=37,3$ ,  $p<0,001$ ).

Новыми являются данные о взаимосвязи хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта с выраженными нарушениями кишечной микрофлоры (умеренный и тяжёлый дисбактериоз) во время беременности ( $OR=13,1$ ,  $p<0,001$ ).

Впервые выявлена статистически значимая положительная взаимосвязь уровня эндотоксинемии со степенью дисбиотических процессов в кишечнике ( $r=0,8$ ,  $p<0,001$ ) и с уровнем провоспалительных интерлейкинов в сыворотке

крови ( $r=0,5$ ,  $p<0,05$ ) у беременных с угрозой прерывания беременности и начавшимся выкидышем. Результаты исследования позволяют считать выраженные изменения кишечной микрофлоры важным звеном патогенеза невынашивания в первой половине беременности.

### **Практическая значимость исследования**

Впервые разработан и предложен алгоритм выявления кишечного дисбактериоза у беременных женщин и дифференцированный комплексный подход к его коррекции в прегравидарный период и во время беременности.

На основе результатов исследования создан нештатный центр по наблюдению и лечению беременных с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, который функционирует на базе клиники акушерства и гинекологии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова.

Материалы диссертации используются в практической работе клиники и учебном процессе кафедры акушерства и гинекологии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова.

### **Методология и материалы исследования**

Для реализации цели и задач диссертационного исследования были обследованы 200 беременных женщин, которые наблюдались в клинике акушерства и гинекологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации в период с 2018 по 2021 годы. Средний возраст пациенток составил  $29\pm 5$  лет (от 18 до 43 лет), срок беременности наблюдаемых – от 6 до 22 недель.

Основную группу составили 74 женщины, госпитализированные в гинекологическое отделение клиники с диагнозом «начавшийся самопроизвольный выкидыш». В контрольную группу вошли 126 женщин с физиологически протекающей беременностью, состоявшие на учете в женской консультации клиники акушерства и гинекологии.



Всем пациентам основной группы был установлен диагноз «начавшийся самопроизвольный выкидыш» в результате наличия следующих диагностических критериев:

- Жалобы на кровянистые выделения из половых путей;
- Наличие кровянистых выделений из цервикального канала без структурных изменений шейки матки во время осмотра в зеркалах.

Критерии исключения при отборе пациенток: беременность, наступившая в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий; многоплодная беременность; женщины с привычным НБ в анамнезе; беременные с подтвержденными генетическими, анатомическими, эндокринными и инфекционными факторами НБ, подозрение на наличие тромбофилии; острые воспалительные заболевания, обострение экстрагенитальной патологии.

Для исключения генетических факторов невынашивания беременности проводился активный опрос о наличии наследственных заболеваний у женщины, супруга, их детей и ближайших родственников; выполнялся комбинированный скрининг в I триместре беременности, включающий экспертное ультразвуковое исследование (УЗИ) плода, анализ материнской сыворотки крови на хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) и ассоциированный с беременностью протеин-А (РАРР-А); выполнялось цитогенетическое исследование абортного материала.

Анатомические факторы НБ исключались в результате сбора анамнеза о предыдущей беременности и проведения УЗИ органов малого таза (для исключения врожденных или приобретенных анатомических дефектов матки, в том числе истмико-цервикальной недостаточности).

Эндокринные причины НБ исключались после сбора анамнеза, оценки данных о менструальном цикле, объективного осмотра женщины, консультации терапевта, при необходимости назначалось дополнительное (гормональное или ультразвуковое) обследование, консультация эндокринолога.

Для исключения инфекционных факторов проводились: сбор жалоб и анамнеза, объективный осмотр; общий анализ мочи; микроскопическое

исследование отделяемого женских половых органов; анализ крови на наличие иммуноглобулинов класса М к вирусам краснухи, простого герпеса, гепатита С, вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ), цитомегаловирусу, токсоплазме, бледной трепонеме, анализ крови на HBsAg; консультация терапевта.

Для оценки вероятности наличия тромбофилии была использована анкета-опросник (таблица 1) [110].

Таблица 1 – Анкета-опросник с балльной оценкой маркеров, которые с большой долей вероятности указывают на наличие тромбофилий [110]

Маркеры	Баллы
Потеря двух и более беременностей в анамнезе	1
Отсутствие детей, родившихся живыми и (или) жизнеспособными	1
Клинически значимые тромбозы в анамнезе	1
Наличие в семейном анамнезе инсультов, инфарктов и ишемической болезни сердца у ближайших родственников в возрасте до 50 лет	1
Наличие в семейном анамнезе тромбозов и тромбоэмболии легочной артерии у ближайших родственников в возрасте до 50 лет	1
Преэклампсия, эклампсия, HELLP-синдром, тяжелая плацентарная недостаточность, задержка внутриутробного развития плода в анамнезе	1
Тяжелые осложнения послеродового периода в анамнезе: плевропневмония, кардиомиопатия	1
Клинические проявления, указывающие на возможное наличие тромбофилий со стороны центральной нервной системы или гастроинтестинальные проявления	1
Мигрени и венозные осложнения при приеме оральных контрацептивов	1
Болезнь Альцгеймера у кого-либо из кровных родственников	1

Риск оценивался по сумме баллов: 0 баллов – риск отсутствует, 1 балл – вероятность менее 20%, 2 балла – от 20 до 40%, 3 балла – от 40 до 60% (средний риск), 4 балла – от 60 до 80% (высокий риск), 5 баллов и более – очень высокий риск наличия тромбофилии (более 80%). В исследовании участвовали пациентки с суммарным количеством баллов не более 1.

Острые воспалительные заболевания и обострение экстрагенитальной патологии исключались по результатам консультаций смежных специалистов.

Всем пациенткам выполнялось обследование по единому протоколу. Дизайн исследования отображен в таблице 2.

Пациенты основной и контрольной групп были обследованы в соответствии с требованиями порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология».

Клинические методы обследования включали в себя опрос, общее объективное исследование пациенток, гинекологический осмотр (оценка состояния молочных желез, осмотр шейки матки в зеркалах, бимануальное гинекологическое исследование). С целью исключения сопутствующих заболеваний, которые могли бы осложнить течение беременности, женщины были проконсультированы терапевтом, офтальмологом, отоларингологом, стоматологом.

Методы лабораторного обследования включали клинический анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи, коагулограмму, микроскопическое исследование отделяемого женских половых органов, инфекционный скрининг во время беременности, определение группы крови, резус-фактора, определение ХГЧ и тиреотропного гормона (ТТГ). Дополнительное специальное обследование включало: качественный и количественный анализ микробиоценоза влагалища и толстой кишки с использованием метода ПЦР в режиме реального времени, исследование уровня эндотоксина, интерлейкина (ИЛ)-1, ИЛ-6, ИЛ-10 в сыворотке крови.

Таблица 2 – Дизайн исследования

ЭТАП 1
<p>Сбор анамнеза, общее физикальное обследование, гинекологический осмотр, взятие мазков для микроскопического исследования отделяемого женских половых органов на гонококк, грибы рода <i>Candida</i>; методы лабораторного обследования: развернутый клинический анализ крови, биохимический анализ крови, коагулограмма, определение антител классов М и G к вирусу краснухи, токсоплазме, бледной трепонеме, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, вирусу гепатита С, анализ крови на HBsAg, определение группы крови и резус-фактора, определение ХГЧ и ТТГ, общий анализ мочи; инструментальные методы: электрокардиография (ЭКГ); УЗИ органов малого таза.</p> <p>Консультация терапевта, офтальмолога, оториноларинголога, стоматолога.</p>
ЭТАП 2
<p>Отбор пациентов в соответствии с критериями включения и исключения, формирование групп исследования.</p>
ЭТАП 3
<p style="text-align: center;"><u>Проведение дополнительного обследования:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Качественный и количественный анализ микробиоценоза влагалища («Фемофлор-16») и толстой кишки методом ПЦР в режиме реального времени;</li> <li>• Исследование уровня эндотоксина в крови методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии;</li> <li>• Определение уровня цитокинов: провоспалительных (ИЛ-1, ИЛ-6) и противовоспалительного ИЛ-10 в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА).</li> </ul>

Оценка микробиоценоза влагалища выполнялась с помощью микроскопии мазка, окрашенного по Граму. Мазок забирался урогинекологическим зондом из заднебокового свода влагалища во время осмотра шейки матки в зеркалах. Анализ мазков производился на микроскопе фирмы Zeiss (производство – Германия) с увеличением 1000 (объектив x 100, окуляр x 10).

Интерпретацию результатов микроскопии вагинального отделяемого осуществляли в соответствии с классификацией Е.Ф. Кира [40]: нормоценоз,

промежуточный тип, дисбиоз влагалища и вагинит (таблица 3). Воспалительные заболевания влагалища являлись критерием исключения из исследования.

Таблица 3 – Микроскопическая характеристика биоценоза влагалища [40]

Состояние (тип) биоценоза	Характеристика признаков
Нормоценоз	Доминирование лактобактерий, отсутствие грамотрицательной микрофлоры, спор, мицелия, псевдогифов, лейкоцитов, единичные, чистые эпителиальные клетки.
Промежуточный тип	Умеренное или сниженное количество лактобактерий, наличие грамположительных кокков, грамотрицательных палочек. Обнаруживаются лейкоциты, моноциты, макрофаги, эпителиальные клетки.
Дисбиоз влагалища	Незначительное количество или полное отсутствие лактобактерий, обильная полиморфная грамотрицательная и грамположительная палочковая и кокковая микрофлора; наличие «ключевых клеток». Количество лейкоцитов варьиabelно. Отсутствие или незавершенность фагоцитоза.
Вагинит (воспалительный тип мазка)	Большое количество лейкоцитов, макрофагов, эпителиальных клеток, выраженный фагоцитоз. При обнаружении гонококков, трихомонад, мицелия, псевдогифов, спор.

С целью анализа микробиоценоза влагалища и толстой кишки был использован метод ПЦР в режиме реального времени. Взятие материала из влагалища осуществляли урогенитальным зондом из заднебокового свода, из ампулы прямой кишки - ложечкой Фолькмана, введенной на глубину не менее 4 см. Полученные клинические образцы помещали в пробирки типа «Эппендорф» с

транспортной средой (стерильный изотонический водно-солевой буферный раствор с консервантом). Хранение образцов биоматериалов осуществляли в морозильной камере при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$ . В лабораторию образцы доставляли с учетом правил транспортировки. Исследование проводили в два этапа: выделяли ДНК (пробоподготовка) микроорганизмов с использованием комплекта ПРОБА-НК-ПЛЮС и проводили ПЦР-амплификацию ДНК в режиме реального времени с использованием специализированного прибора ДТ96, (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Процесс амплификации заключался в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей из этих праймеров Taq-полимеразой. После прохождения амплификации по показателю индикаторного цикла программно рассчитывали количество общей бактериальной массы каждого из микроорганизмов [109].

Для определения количественного и качественного состава влагалищной флоры использовалась тест-система «Фемофлор-16», включающая определение нормобиоты (*Lactobacillus* spp.) и условно-патогенных микроорганизмов (УПМ): аэробных (*Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp.), анаэробных (*Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp., *Leptotrichia* spp., *Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp., *Veilonella* spp., *Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Mobiluncus* spp., *Corynebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Atopobium vaginae*), микоплазм (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum et parvum*) и грибов (*Candida* spp.) [109].

При анализе микробиоценоза влагалища методом ПЦР выделяли: нормоценоз, дисбиоз I степени (умеренный) и дисбиоз II степени (выраженный) [109]. При нормоценозе абсолютный показатель *Lactobacillus* spp. составлял  $10^6$ - $10^8$  копий ДНК/мл, УПМ - менее  $10^4$  копий ДНК/мл. Дисбиоз I степени (умеренный) диагностировали в случае повышения УПМ более  $10^4$  копий ДНК/мл при нормальных показателях или незначительном снижении ( $10^6$ - $10^8$  копий ДНК/мл) *Lactobacillus* spp. Дисбиоз II степени (выраженный) устанавливали при

выявлении *Lactobacillus* spp. ниже  $10^6$  копий ДНК/мл (или полном их отсутствии) в сочетании с повышением количества УПМ более  $10^5$  копий ДНК/мл.

Комплексное исследование, направленное на оценку состояния микробиоценоза кишечника, выполнялось с помощью комплекта олигонуклеотидных зондов [70] и включало определение следующих микроорганизмов: *Bacteroides* spp., *Parabacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Faecalibacterium prausnitzi*, *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Blautia* spp., *Akkermansia* spp., *Methanobrevibacter* spp., *Clostridium difficile*, *Fusobacterium nucleatum*, семейство *Campylobacteriaceae*, *Enterobacter* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp.

Согласно рабочей инструкции к тест-системе «Колонофлор» был определен диапазон референтных значений концентрации кишечных микроорганизмов для метода ПЦР в результате исследования здоровых людей без предъявления жалоб со стороны желудочно-кишечного тракта [78] (таблица 4).

Таблица 4 – Референтные интервалы для исследования микробиоценоза толстой кишки методом ПЦР в режиме реального времени [78]

Показатель	Референтный интервал (копий ДНК/мл)
<i>Bacteroides</i> spp.	$10^9$ - $10^{12}$
<i>Prevotella</i> spp.	до $10^{11}$
<i>Akkermansia</i> spp.	до $10^{11}$
<i>Faecalibacterium prausnitzi</i>	$10^8$ - $10^{11}$
Соотношение <i>Bacteroides</i> spp./ <i>Faecalibacterium prausnitzi</i>	0,01-100
<i>Blautia</i> spp.	$10^8$ - $10^{11}$
<i>Bifidobacterium</i> spp.	$10^9$ - $10^{10}$

## Продолжение таблицы 4

Methanobrevibacter spp.	$10^6-10^{10}$
Parabacteroides spp.	$10^7-10^8$
Lactobacillus spp.	$10^7-10^8$
Fusobacterium nucleatum	не обнаружено
Enterococcus spp.	не более $10^8$
Clostridium dif.	не более $10^4$
Enterobacter spp.	не более $10^4$
Pseudomonas spp.	не более $10^4$
Streptococcus spp.	не более $10^4$
Staphylococcus spp.	не более $10^4$
Campylobacter spp.	не более $10^4$

Для комплексной оценки степени нарушения кишечной микрофлоры была усовершенствована и использована классификация дисбактериоза кишечника (рационализаторское предложение №919 от 08.07.2021 г.), которая изложена в разделе диссертации 3.1.

С целью оценки возможного системного влияния дисбактериоза кишечника на организм беременной у 62 женщин (32 женщин из основной группы и 30 из контрольной) был исследован уровень эндотоксинемии. Исследование крови проводилось с использованием метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии, в основе которого лежит высокоточное определение присутствия молекулярных признаков микроорганизмов из числа их клеточных липидов. Для этого анализа у пациенток основной и контрольной групп проводился забор венозной крови в количестве не менее 5 мл. Хранение материала осуществлялось в морозильной камере при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$ . После транспортировки образцов в лабораторию жидкие пробы высушивали (с добавлением равного по объему количества метанола) и подвергали кислому метанолизу в 3,65% растворе



соляной кислоты. Освобожденные жирные кислоты и альдегиды из сложных липидов микроорганизмов экстрагировали гексаном. Далее проводилось исследование в режиме полного сканирования с использованием газового хроматографа Agilent Technologies 6890 (США), оснащенного масс-спектрометрическим детектором Agilent Technologies 5973 (США). Хроматографическое разделение компонентов происходило на кварцевой капиллярной колонке HP5 диаметром 0,2 мм, длиной 25 м и толщиной слоя 0,33 мкм. Газ-носитель – гелий, скорость потока 24 мл/мин, скорость потока через колонку 1,2 мл/мин. Анализ состава проводили в динамическом режиме на масс-спектрометре, обработку полученных данных – с помощью компьютерной программы автоматического анализа.

Оценка результатов эндотоксинемии проводилась в соответствии с классификацией J.Marshall (2004 г.) [168]. Показатель эндотоксина от 0 до 0,39 нмоль/л расценивался как низкий, от 0,4 до 0,59 нмоль/л – как повышенный, от 0,6 до 1,0 нмоль/л – как высокий.

У 50 из обследованных женщин (30 из основной и 20 из контрольной группы) оценивали состояние системы иммунитета по результатам определения уровня цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10 в сыворотке крови методом ИФА (Вектор-Бест-Балтика, Россия) на иммунохимическом анализаторе LisaScan EM (Erba Mannheim, Германия).

Инструментальные методы обследования включали выполнение УЗИ органов малого таза с использованием аппарата «Sonoscape Company Limited» S20 трансабдоминальным и, при необходимости, трансвагинальным датчиком и ЭКГ по общепринятой технике.

Исследование проводилось в соответствии со стандартами Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденные приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации (МЗ РФ) от 19.06.2003 г. №266. Проведение научной работы одобрено независимым

этическим комитетом при Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова (протокол № 258 от 21.12.2021 г.).

### **Статистические методы обработки результатов исследования**

Проведен системно-структурный статистический анализ полученных результатов, для этого была создана электронная база данных с использованием программы Microsoft Excel 2010 (Microsoft, США). Полученные данные обрабатывали с помощью программного пакета IBM SPSS Statistics 22 (Armonk, США).

Количественные переменные описывались следующими статистическими методами: числом пациентов, средним арифметическим значением, стандартным отклонением от среднего арифметического значения, медианой, минимальным и максимальным значением. Извлеченные количественные признаки представлены при помощи формулы  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее значение признака (или медиана -  $Me$ ),  $m$  – стандартная ошибка среднего. Качественные переменные описывались абсолютными и относительными частотами (процентами).

Чтобы оценить статистическую значимость различий в сравниваемых группах, при нормальном виде распределения данных (вид распределения оценивался с помощью критерия Колмогорова-Смирнова) использовали методы параметрической статистики (критерий Стьюдента). Методы непараметрической статистики (ранговый критерий Манна-Уитни) применялись при распределениях, отличавшихся от нормального. Частотные характеристики качественных показателей сравнивали у обследованных лиц из различных групп с использованием критерия  $\chi^2$  (при  $n > 30$ ) или с помощью метода углового преобразования Фишера ( $\phi$ ) при  $n < 30$ .

С целью выявления наличия взаимосвязи двух признаков по группам применялся корреляционный анализ Спирмена. Значения коэффициента корреляции оценивались в интервале от минус 1 до 1. Крайние его значения указывали на функциональную линейную зависимость признаков, 0 – на отсутствие статистической связи. Была использована принятая классификация

силы корреляции, где значение  $r$ : 0,1-0,3 – слабая связь, 0,3-0,7 – средняя, 0,7-1 – высокая,  $r > 0$  – связь прямая,  $r < 0$  – связь обратная.

Для определения показателя отношения шансов использовалась оценка Мантеля-Хензеля.

Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (об отсутствии значимых различий или факторных влияний) принимали равным 0,05.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Физиологической нормой беременности можно считать дисбактериоз кишечника I степени. Осложненное течение первой половины беременности ассоциируется с выраженными дисбиотическими изменениями кишечной (дисбактериоз II и III степени) и вагинальной микрофлоры.

2. Во время беременности дисбактериоз кишечника характеризуется бессимптомным течением. Хронические заболевания пищеварительной системы способствуют существенным нарушениям кишечной микрофлоры и увеличению риска невынашивания беременности.

3. У беременных дисбактериоз кишечника сопровождается статистически значимым повышением уровня эндотоксина в сыворотке крови, имеющим прямую пропорциональную зависимость от степени нарушения кишечной микрофлоры. Эндотоксинемия, приводящая к активации иммунной системы по провоспалительному типу, является важным звеном патогенеза невынашивания в первой половине беременности.

### **Апробация и внедрение результатов работы в практику**

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 5 статей – в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций. Зарегистрировано одно рационализаторское предложение.

Результаты исследований доложены и обсуждены на научных форумах международного, всероссийского и межрегионального значения, кафедральных совещаниях: V Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста» (Рязань, 2019); XV Международной (XXIV Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции (Москва, 2020); научно-практической конференции главных специалистов-гинекологов медицинской службы Вооруженных сил РФ «Современное состояние и перспективы оказания акушерско-гинекологической помощи в Вооруженных силах РФ» (Санкт-Петербург, 2021); III Всероссийском научно-практическом конгрессе с международным участием «Инновации в акушерстве, гинекологии и репродуктологии» (Санкт-Петербург, 2021 г.); кафедральном совещании коллектива кафедры акушерства и гинекологии (протокол №173 от 23.10.2021 г.); межкафедральном совещании коллективов кафедры акушерства и гинекологии и второй кафедры (терапии усовершенствования врачей), протокол № 176 от 14.12.2021 г.

Результаты исследований внедрены в лечебно-диагностическую работу клиники, включены в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова и используются в практической работе ряда лечебно-профилактических учреждений Санкт-Петербурга.

### **Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации**

Автором лично проведен анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационного исследования, сформулированы цель и задачи, разработан дизайн исследования, определены критерии включения и исключения пациентов из исследования. Соискатель самостоятельно выполнял сбор жалоб и анамнеза, клиническое и гинекологическое обследования, забор материала, анализ результатов клинико-лабораторных, инструментальных и специальных методов

исследования. Каждая пациентка курировалась лично исследователем. Автор принимал участие в постановке молекулярно-генетических методов исследования (транспортировка проб и их подготовка к исследованию). Соискателем лично осуществлена статистическая обработка полученных данных, а также подготовка к публикации основных результатов исследования, оформление диссертации и автореферата.

### **Объем и структура диссертации**

Материалы диссертации изложены на 110 страницах машинописного текста, включающего 17 таблиц и 12 рисунков. Структура диссертации включает следующие разделы: оглавление, введение, обзор литературы, 3 главы с результатами собственных исследований, обсуждение полученных результатов, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список использованной литературы, включающий 208 источников, из которых 121 отечественных и 87 зарубежных.

## ГЛАВА 1

### РОЛЬ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Проблема невынашивания беременности, на современном этапе, остается одной из актуальных для практического акушерства [20, 89]. От 15 до 23% подтвержденных беременностей заканчиваются самопроизвольными выкидышами [14, 20, 89, 102]. В США и Канаде число женщин с НБ составляет 5-9% от общего количества беременных, в Китае и РФ – 6-15%, в Египте и Дании данный показатель составляет более 20% [19, 208].

В РФ в структуре общих репродуктивных потерь 77% составляют спонтанные аборты, 80% из которых происходит до 12 недель беременности. При этом важно отметить, что, несмотря на разрабатываемые в последние годы новые методы диагностики и лечения, число самопроизвольных прерываний беременности остается на высоком уровне. Согласно официальным данным, абсолютное число самопроизвольных абортов в 2010 году составляло 172529, в 2015 году – 236380, а в 2018 году ситуация относительно улучшилась – 102304 [34].

Несмотря на длительное изучение данной проблемы, этиологические факторы и патогенетические механизмы самопроизвольного прерывания беременности изучены не полностью. Основная трудность в выявлении непосредственной причины связана с тем, что невынашивание беременности является многофакторным процессом, где одни факторы выступают ведущими причинами, а другие – второстепенными. В практической деятельности определить и разобщить их бывает крайне сложно [20, 119].

Среди причин невынашивания беременности выделяют генетические, эндокринные, инфекционные, анатомические, иммунологические и гематологические. По обобщенным данным мировой литературы, на долю хромосомных аномалий приходится около 7% репродуктивных потерь. Остальные причины самопроизвольных выкидышей являются условно-

предотвратимыми, и их доля может быть нивелирована в результате успешно проведенной прегравидарной подготовки, профилактики или своевременной терапии [7, 9, 105, 112, 117, 119].

Одной из наиболее значимых условно-предотвратимых причин считают инфекционную, при этом сообщается о возрастающей роли в невынашивании беременности условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) [28, 72, 92].

### **1.1 Современные представления о микробиоте репродуктивной системы и составе кишечной микрофлоры человека**

Микробиота играет основную роль в поддержании нормальной жизнедеятельности организма человека, выполняя или регулируя многочисленные его функции: защита от патогенов, поддержание иммунитета, участие в переваривании пищи, обеспечение производства важных компонентов питания. Разнообразие и численность микробного состава человека изменяется под действием факторов внешней среды, а также в случае различных патологических состояний.

Бактериологическое сообщество, входящее в систему «макроорганизм – эндосимбионтные бактерии», имеет древнее филогенетическое происхождение и в своем развитии прошло несколько исторических этапов [113].

На первом этапе это были отношения взаимного антагонизма: организм человека сопротивлялся вторжению чужеродных микроорганизмов. На втором этапе, когда элиминация бактерий по тем или иным причинам не удавалась, макроорганизм и проникшая в него микрофлора вступили в компромиссные взаимоотношения путем сглаживания взаимного антагонизма и сосуществования, основанных на принципах комменсализма. На третьем этапе, путем преодоления комменсализма, сформировался взаимовыгодный симбиоз по принципу взаимных услуг — мутуализм, когда макроорганизм и проникшая в него микрофлора извлекают определенные преимущества от совместного существования. Эндосимбионтные бактерии занимают свою экологическую нишу с

благоприятными и стабильными условиями, обеспечивающими сохранность микробной популяции, а макроорганизм получает надежную защиту от проникновения условно-патогенных и патогенных бактерий и вирусов, угрожающих его здоровью. Кроме того, макроорганизм использует соучастие бактерий, колонизирующих его желудочно-кишечный тракт, в обмене веществ, синтезе витаминов, энзимов, медиаторов. Четвертый этап возник с началом эры антибиотиков (середина XX века), когда произошла постепенная утрата многих полезных для человека эндосимбионтных бактерий, исторически адаптированных к макроорганизму, а на их месте появились резистентные к антибиотикам штаммы-мутанты с вирулентными свойствами, в том числе L-формы бактерий [113]. Нарушение целостности качественного и количественного состава аутохтонной микрофлоры, в норме находящейся в позитивных симбиотических отношениях с макроорганизмом, может приводить к опасным последствиям для здоровья человека в целом и прямо влияет на качество жизни.

Таким образом, важность и многообразие функций, которые присущи микрофлоре человека, с одной стороны, и возможные негативные последствия для здоровья в случае нарушений ее целостности с другой стороны, определяют актуальность этой проблемы.

### **1.1.1 Микробиота репродуктивной системы**

Благодаря исследованиям последних лет удалось идентифицировать микробиоту женской репродуктивной системы, которая включает микробиоту влагалища, цервикального канала, матки, маточных труб и перитонеальной жидкости из позадматочного пространства (рис. 1) [122].

Теория о «стерильной матке» была опровергнута, однако бактериальная нагрузка в полости матки в 10-10000 раз ниже, чем во влагалище. Установлено, что, в отличие от микрофлоры влагалища и цервикального канала, бактерии рода *Lactobacillus* в матке не доминируют, а *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Vagococcus* и *Sphingobium* составляют заметную долю её микробиома [83]. Безусловно, при нарушении микрофлоры полости матки могут возникнуть многие патологические



процессы: бесплодие, невынашивание, плацентарная дисфункция, хориоамнионит, внутриутробная инфекция, послеродовой эндометрит и другие.

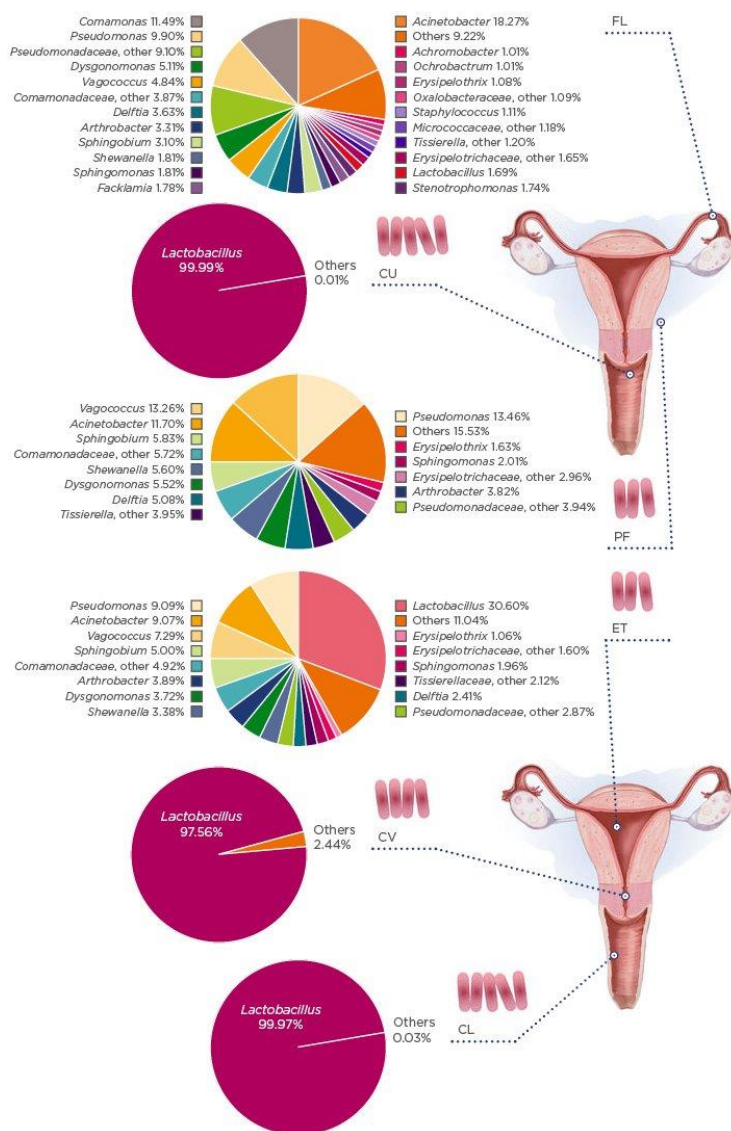


Рисунок 1 – Микробиота женской репродуктивной системы [122].

Условные обозначения: FL – маточная труба, CU – задний свод влагалища, PF – перитонеальная жидкость из прямокишечно-маточного пространства, ET – полость матки, CV – цервикальный канал, CL – нижняя треть влагалища.

Немаловажную роль для функционирования репродуктивной системы играет микрофлора влагалища, где в норме создается бактериальный «буфер», предотвращающий колонизацию условно-патогенной эндогенной микрофлоры, а также распространение экзогенной половой инфекции [83]. Под действием различных триггерных факторов в вагинальном биотопе происходит снижение количества облигатной микрофлоры и активация УПМ, то есть формируется дисбиотический процесс [82, 87].

Во время беременности бактериальный вагиноз (БВ) встречается в 10-46% случаев и достоверно ассоциирован с самопроизвольным прерыванием беременности, фетоплацентарной недостаточностью, преждевременными родами, рождением незрелых детей, послеродовыми гнойно-воспалительными осложнениями, развитием инфекционных осложнений в неонатальном и более поздних периодах жизни детей [22, 27, 40, 59, 92, 111, 159]. При этом отмечена прямая зависимость между сроком возникновения БВ и вероятностью развития акушерских и неонатальных осложнений. Развитие БВ в первом триместре беременности повышает вероятность самопроизвольного выкидыша и преждевременных родов примерно в 5 раз [58, 79, 106].

Негативное действие условно-патогенных микроорганизмов влагалища связано с тем, что под влиянием их ферментативных систем образуются летучие амины, которые, совместно с органическими кислотами, оказывают цитотоксическое действие и вызывают десквамацию эпителиальных клеток [41, 65]. Следствием этих процессов является активация местного иммунитета и синтез провоспалительных цитокинов, которые могут оказывать прямое повреждающее действие на эндометрий и децидуальную оболочку [22, 27, 101].

В некоторых научных работах указывается, что основным источником бактериальных патогенов в микрофлоре репродуктивного тракта (а также мочевыделительной системы и дыхательных путей) является желудочно-кишечный тракт [73, 83, 204]. Доказательством этому служит ассоциация БВ с дисбактериозом кишечника (в 70-84% случаев), выявление в составе вагинального биотопа кишечной микрофлоры (*Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis*, *Klebsiella*

spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*), которая участвует в развитии дисбиотических и воспалительных заболеваний пищеварительного тракта [45, 49, 76, 84, 93]. При физиологических условиях микроорганизмы, проходящие через кишечный эпителий, разрушаются фагоцитами еще до достижения кровотока. В случае избыточного накопления патогенных микроорганизмов, истощенная лимфоидная ткань кишечника перестает выполнять свою барьерную функцию, что способствует транслокации бактерий или их токсичных соединений [10, 178, 197].

### 1.1.2 Состав кишечной микрофлоры и методы её диагностики

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) является самым крупным ареалом обитания микрофлоры, общее количество микроорганизмов насчитывает порядка  $10^{14}$ - $10^{15}$  и превышает число клеток органов и тканей организма человека в 10 раз [185]. В состав микрофлоры кишечника входит более 50 родов и более 500 видов бактерий, причем в толстой кишке сконцентрировано около 70% всех микроорганизмов, населяющих организм человека [43, 75].

Считается, что ЖКТ новорожденного стерилен, однако приводятся данные, что заселение бактериальной флорой происходит еще до рождения: исследование М. Mshvildadze показало наличие бактериальной ДНК в меконии здоровых новорожденных [43, 175]. По мере развития ребенка увеличивается разнообразие и стабильность его микробиоты: если с первых дней жизни преобладают *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, то затем наблюдается относительное снижение представительства молочнокислой флоры, а среди *Bifidobacterium* начинают преобладать *longum*, *breve*, *adolescentis* [17]. Большое значение в формировании микробного пейзажа играет способ родоразрешения и вскармливания. К двум годам жизни ребенка его микробиота соответствует таковой у взрослого человека [167].

Микробиота кишечника служит основным источником энергии для эпителиальных клеток кишки, подавляет образование токсичных продуктов

белкового обмена, обладающих канцерогенными свойствами, участвует в поддержании необходимой напряженности иммунитета, синтезе витаминов [50].

История изучения состава микрофлоры ЖКТ началась в 1681 г., когда голландский исследователь Антони Ван Левенгук впервые сообщил о своих наблюдениях относительно бактерий и других микроорганизмов (назвав их «анималькули»), обнаруженных в человеческих фекалиях, и выдвинул гипотезу о совместном существовании различных видов бактерий в пищеварительной системе [56].

В 1850 году Луи Пастер развил концепцию о функциональной роли бактерий в ферментационном процессе. Немецкий врач Роберт Кох продолжил исследования в данном направлении и создал методику выделения чистых культур, позволяющую идентифицировать специфичные бактериальные штаммы, что необходимо для разграничения болезнетворных и полезных микроорганизмов. В 1886 г. один из основоположников учения о кишечных инфекциях F. Esherich впервые описал кишечную палочку (*Bacterium coli commune*). Илья Ильич Мечников в 1888 году, работая в Институте Луи Пастера, утверждал, что в кишечнике человека обитает комплекс микроорганизмов, которые оказывают на организм «аутоинтоксикационный эффект», полагая, что введение в ЖКТ «здоровословных» бактерий способно модифицировать действие кишечной микрофлоры и противодействовать интоксикации. Отечественные исследователи приступили к изучению этого вопроса только в 50–х годах XX века. В 1955 году Перетц Л.Г. показал, что кишечная палочка здоровых людей является одним из основных представителей нормальной микрофлоры и играет положительную роль благодаря сильным антагонистическим свойствам по отношению к патогенным микробам.

Начатые более 300 лет назад исследования состава кишечного микробиоценоза, его нормальной и патологической физиологии и разработка способов положительного влияния на кишечную микрофлору продолжают и в настоящее время [113], при этом интерес научного общества в отношении этого вопроса ежегодно возрастает [43]. Например, по запросу «gut microbiota»

(«кишечная микробиота») на информационном ресурсе PubMed можно найти лишь 13 статей, датированных 2001 годом, 253 статьи за 2015 год, 663 статьи за 2019 год и 9453 статей за 2020 год.

Со времен Пастера и Коха для исследования микрофлоры начали применяться классические культуральные (бактериологические) методы диагностики. Благодаря им были получены фундаментальные данные о составе микрофлоры человека, выделены и идентифицированы основные виды микроорганизмов.

Принцип бактериологического метода основан на применении различных питательных сред для выращивания микробных популяций. Но, следует отметить, что данный метод имеет ряд недостатков: трудоемкость, дороговизна, долговременность (до 10 суток для получения результатов), зависимость от соблюдения сроков транспортировки и качества сред, низкая чувствительность и довольно узкий диапазон исследования (лишь небольшая фракция бактерий, которые могут быть культивированы, – менее 10% микроорганизмов, заселяющих толстую кишку).

С момента первых исследований бактерий кишечника представления о роли микроорганизмов, составляющих внутреннюю среду организма человека, во многом изменились. Прежде всего, прогресс в понимании микробного сообщества стал возможным благодаря молекулярно-генетическим методам диагностики, которые позволяют быстро и с высокой точностью идентифицировать микроорганизмы. К ним относятся: хроматография, ПЦР-диагностика, секвенирование и метагеномика [75].

Хроматографическими методами анализа изучают конечные продукты обмена веществ бактерий – метаболиты. Например, газо-жидкостная хроматография определяет в режиме реального времени метаболическую активность анаэробной микрофлоры по спектрам и уровням летучих жирных кислот и органических соединений. Газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией выявляет микроорганизмы по нелетучим жирным кислотам, альдегидам и стеринам, входящим в состав их клеточной стенки. К недостаткам

данных методов относятся: выполнение многократных исследований для анализа широкого диапазона бактерий, особенности компьютерной обработки информации и высокая стоимость исследования.

В 1985 году К.Б. Маллис создал революционную технологию – полимеразную цепную реакцию, в основе которой лежит процесс выделения фрагмента макромолекулы ДНК или РНК за счет увеличения их количества.

Метод отличается простотой исполнения, возможностью полной автоматизации, быстротой получения результата, необходимостью в небольшом количестве исследуемого материала. Эта технология сейчас получила широкое распространение и стала рутинным и ежедневным инструментом в каждой молекулярно-биологической лаборатории. ПЦР в режиме реального времени отличается возможностью количественного определения микроорганизмов [189].

В 2019 году был разработан и экспериментально протестирован набор олигонуклеотидных зондов и праймеров для качественной и количественной оценки определенного набора бактериальных таксонов кишечника при помощи метода ПЦР в реальном времени [70]. В результате исследования были отобраны 14 прокариотических таксонов, составляющих  $56 \pm 11\%$  от общей микробной представленности: *Lactobacillus* spp.; *Bifidobacterium* spp.; *Bacteroides* spp.; *Prevotella* spp.; *Enterobacteriaceae*; *Akkermansia* spp.; *Clostridium* cluster XIVa, *Clostridium* cluster IV; *Enterococcus* spp.; *Christensenellaceae*; *Streptococcus* spp.; *Methanobrevibacter* spp.; *Ruminococcus* spp., *Blautia* spp.. Принципы отбора биомаркеров заключались в том, что представители этих таксонов должны: быть наиболее представленными в микробиоте кишечника человека, иметь описанное положительное или отрицательное влияние на здоровье человека и/или быть прямо или обратно ассоциированными с теми или иными патологиями. Такое изобретение дает возможность эффективно и полно охарактеризовать изменения состава кишечной микрофлоры человека, а также указать на предрасположенность или наличие определенных заболеваний у человека и при этом охватить большую часть фактического состава микробиоты.

Метод секвенирования является самым точным молекулярно-генетическим методом, который позволяет идентифицировать не только видовое разнообразие в исходном образце, но и оценивать их количественные соотношения и биологические функции. В основе метода – определение маркерных генов (16S рРНК для бактерий и археев и 18S рРНК для эукариот) или полного генома (полногеномное секвенирование). Но недостатками метода, на данный момент, являются высокая стоимость и относительная сложность анализа полученной информации, необходимость значительной технологической базы, что пока ограничивает применение метода в клинической практике.

Метагеномика представляет собой исследование генетического материала различных микробиоценозов и основывается на выделении микробной ДНК путем ПЦР и последующем секвенировании, что дает возможность получить информацию обо всех генах в смешанной колонии микроорганизмов. Целями метагеномики является изучение реального разнообразия микроорганизмов, их функций, экологических взаимодействий и эволюции [118].

Используя современные методы диагностики было установлено, что фекальная микробиота человека насчитывает около 3,3 миллионов различных генов микроорганизмов, из которых удалось идентифицировать не менее 85% всех часто встречаемых генов. В результате исследований также было выявлено, что основная часть (99%) этих генов имеет бактериальное происхождение, а доминирующими бактериальными группами, отвечающими за состав 80-99% микробиоты кишечника здоровых лиц, являются Firmicutes, Bacteroidetes и Actinobacteria [43].

Аналогичные данные были получены в ходе масштабных исследований американской Human Microbiome Project (HMP) [145] и европейской Metagenomics of human intestinal tract (MetaHIT) [172] популяции: у взрослых кишечная микрофлора представлена двумя преобладающими типами бактерий: Bacteroidetes и Firmicutes (рис. 2).

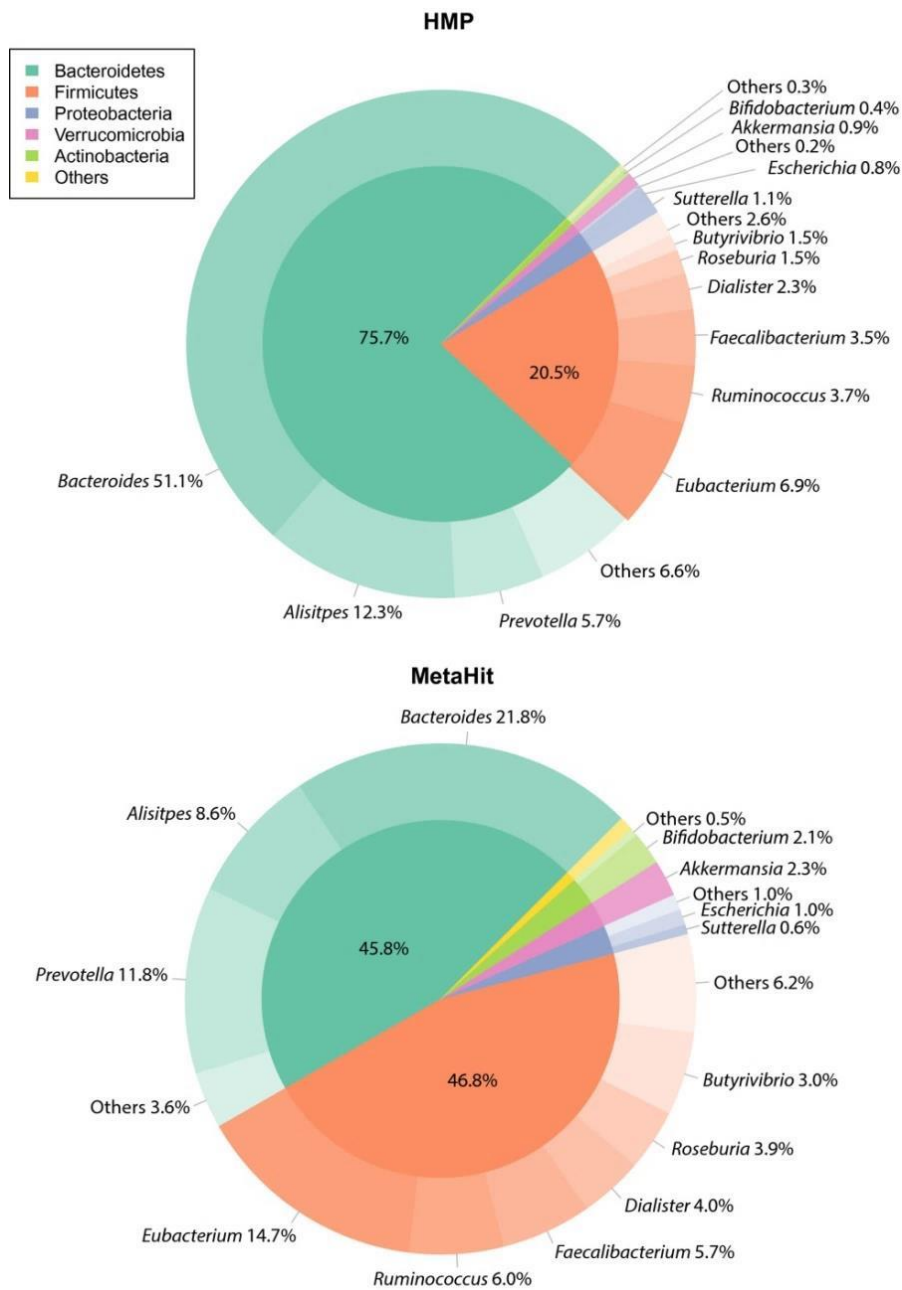


Рисунок 2 – Качественный состав кишечной микрофлоры по данным проектов исследования микробиоты здоровой американской (HMP) и европейской популяции (MetaHit) [124].

В 2013 г. А.В. Тяхт с соавторами [196] проводили исследования кишечной микробиоты населения России, в результате которого выявлено сходство бактериальных таксонов населения городов РФ с таковыми в популяциях Западной Европы и Северной Америки. Но, помимо этого, были обнаружены



новые структурные сообщества (преобладание Firmicutes и Actinobacteria) в образцах кишечного содержимого у населения из восточной России и сельских регионов. У городского населения состав микробиоты был менее разнообразный, чем у жителей сельской местности. Было отмечено, что состав микробиоты кишечника населения напрямую зависит от диеты и рациона питания, культурных привычек и стрессовых факторов, а также от социально-экономического статуса людей.

Не менее важным является положение о том, что, по данным молекулярно-генетических исследований, микрофлора любого биотопа специфична на штаммовом уровне для каждого индивидуума, генетически детерминирована и, видимо, наследуема [116]. При этом те же результаты метагеномных исследований позволили ввести такое понятие, как «филогенетическое ядро микробиоты», или «ключевая микробиота», которая представлена доминирующими микроорганизмами, встречающимися у большинства людей (более чем в 50% случаев) [95].

Так, на родовом уровне доминировали *Faecalibacterium*, *Ruminococcus*, *Eubacterium*, *Dorea* (все Firmicutes), *Bacteroides*, *Alistipes* (оба Bacteroidetes) и *Bifidobacterium* (Actinobacteria) [95].

Кроме этого, в 2011 г., на основании результатов исследований микрофлоры людей, проживающих на разных континентах, был сделан вывод о существовании трех основных энтеротипов в микробиоме кишечника, которые различались по видовому и функциональному составу. При первом энтеротипе определяются преимущественно представители тесно связанных родов *Bacteroides* и *Parabacteroides*, основной функцией которых является ферментация углеводов и белков. Второй энтеротип представлен видами, относящимися к родам *Prevotella* и *Desulfovibrio*, которые способны синергично деградировать гликопротеины муцина слизи кишечника. Третий энтеротип в большей степени обогащен представителями порядка Clostridiales (тип Firmicutes) – родов *Ruminococcus* (семейство Ruminococcaceae), *Blautia* (семейство Lachnospiraceae) и *Akkermansia muciniphila*. Авторы данного открытия считают, что использование энтеротипов в

дальнейшем можно будет использовать в качестве диагностических и прогностических инструментов [95].

Все больше данных появляется об ассоциации изменений качественного и количественного состава микрофлоры с патологией ЖКТ, заболеваниями сердечно-сосудистой системы, нарушениями обмена веществ, аллергическими и аутоиммунными заболеваниями [134, 135, 147, 152, 164, 184, 185, 186].

Например, кишечная микробиота у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких, в отличие от микробиоты здоровых добровольцев, характеризовалась присутствием *Proteobacteria*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Eggerthella*, *Anaerococcus*, *Clostridium difficile*, а также высокой обсемененностью грибами рода *Candida* (*Candida dubliniensis* и *Candida albicans*) [108]. Основными характеристиками микробиоты кишечника у пациентов с хронической сердечной недостаточностью были снижение *Faecalibacterium prausnitzii* и увеличение *Ruminococcus gnavus* [135]. Проводился анализ микробиоты кишечника у пациентов с синдромом алкогольной зависимости, в ходе которого было обнаружено большое количество УПМ (*Ruminococcus gnavus* и *Ruminococcus torques*, представители семейства *Enterobacteriaceae*) и сниженное количество представителей родов *Faecalibacterium* и *Akkermansia* [140]. У людей, страдающих ожирением, дисбактериоз кишечника обусловлен увеличением числа видов *Firmicutes*, рода *Clostridium* и видов *Eubacterium rectale*, *Clostridium coccoides*, *Lactobacillus reuteri*, *Akkermansia muciniphila*, *Clostridium histolyticum* и *Staphylococcus aureus* [147].

Был проведен ряд подобных исследований и среди беременных женщин. Состав кишечной микробиоты женщин с гестационным сахарным диабетом характеризовался высокой распространенностью *Collinsella*, *Rothia*, *Desulfovibrio*, *Faecalibacterium* и *Anaerotruncus* на фоне снижения видов *Clostridium* и *Veillonella* [134]. Исследование Soderborg Т.К. установило связь между нарушением кишечной микрофлоры и ожирением у матери, что в последующем приводит к высокому риску ожирения и неалкогольной жировой болезни печени у ребенка

[190]. Проводился анализ кишечной микрофлоры перед родами у беременных с преэклампсией и отмечено увеличение количества *Blautia*, *Ruminococcus*, *Bilophila* и *Fusobacterium* на фоне значительного снижения *Faecalibacterium*, *Gemmiger*, *Akkermansia*, *Dialister* и *Methanobrevibacter* по сравнению со здоровыми женщинами [166].

## **1.2 Определение дисбактериоза кишечника. Факторы, способствующие его формированию. Клинические проявления. Классификация**

Дисбактериоз кишечника – клинико-лабораторный синдром, связанный с изменением качественного и/или количественного состава микрофлоры кишечника с последующим развитием метаболических и иммунологических нарушений и возможным развитием желудочно-кишечных расстройств.

Считается, что термин «дисбактериоз кишечника» был предложен выдающимся российским учёным-инфекционистом А.Ф. Билибиным. Однако, как показал ретроспективный анализ, приоритет в использовании именно этого термина принадлежит А. Nissle, который первым применил его в 1916 г.

Тем не менее, основателем учения о дисбактериозе кишечника должен быть признан один из корифеев отечественной медицины, лауреат Нобелевской премии, И.И. Мечников, который первым обратил внимание на роль кишечной микрофлоры (нормобиоценоза) в жизнедеятельности организма человека и её значение в противодействии инфекции благодаря феномену бактериального антагонизма. Он писал: «Многочисленные ассоциации микробов, населяющих кишечник человека, в значительной мере определяют его духовное и физическое здоровье». В то же время различные процессы, вызывающие нарушения количественного и качественного состава нормофлоры кишечника, могут способствовать развитию разнообразных патологических процессов [113].

В 1972 г. советский физиолог Александр Уголев охарактеризовал дисбактериоз как изменение качественного и количественного состава бактериальной флоры кишечника, возникающее под влиянием неправильного

питания, физического и психического стресса, тяжелых заболеваний, приема антибактериальных препаратов, хирургических вмешательств, иммунодефицита, загрязнения окружающей среды и др.

Российский ученый профессор Яков Циммерман предложил термин «дисбиоз»: он отражает изменение не только бактериальной флоры, но и грибов, а также связанные с нарушением микроэкологии кишечника метаболические, трофические и другие расстройства макроорганизма [113].

В настоящее время термины «дисбактериоз» и «дисбиоз» оспариваются и даже отрицаются представителями западной медицины и их сторонниками в нашей стране. Вместо понятия «дисбиоз» в специальной литературе популяризируется «синдром избыточного бактериального роста» (в англоязычной литературе — *bacterial overgrowth syndrome*). Однако чаще всего данное понятие употребляют именно в отношении тонкой кишки.

Дисбактериоз кишечника всегда рассматривался не как самостоятельная нозологическая форма, а как симптомокомплекс (синдром), подразумевающий уменьшение общего количества нормальной микрофлоры с замещением ее видами, которые в норме присутствуют в минимальном количестве или отсутствуют вовсе. Этот микробный дисбаланс может быть длительным или возникать периодически, не всегда проявляется клинически, а небольшие временные колебания числа отдельных микроорганизмов обычно устраняются самостоятельно. При этом он действительно может приводить к развитию ряда патологических (в том числе иммунопатологических) реакций [24].

Существует множество факторов, способствующих формированию дисбактериоза кишечника. Из наиболее существенных можно отметить: неполноценное в качественном и количественном отношении питание, острые кишечные инфекции, хронические соматические заболевания (особенно ЖКТ), хирургические вмешательства, лекарственные препараты (антибиотики, цитостатики, гормонотерапия), эндокринные расстройства, нарушения иммунного статуса, чрезмерные физические и психоэмоциональные перегрузки [32].

Клинические симптомы при нарушении микрофлоры кишечника характеризуется большим разнообразием от отсутствия какой-либо симптоматики до наличия тяжелых нарушений. Прежде всего проявляются симптомы со стороны ЖКТ: аэрофагия, отрыжка, изжога, тошнота, горечь во рту, боли в животе различной локализации, расстройство стула. Иногда на первый план выходят системные проявления в виде интоксикации, обезвоживания, снижения массы тела, аллергические проявления, гиповитаминозы, которые обусловлены мальабсорбцией, иммунными нарушениями и транслокацией микроорганизмов в несвойственные им биотопы [32].

Для оценки нарушений биотопа кишечника используется ряд классификаций: по этиологии (связанный с заболеваниями органов пищеварения или другими заболеваниями, лекарственный, стрессорный, возрастной), по клиническим формам (латентная, местная или генерализованная формы), по виду доминирующих микроорганизмов (стафилококковый, протейный, клебсиеллезный, клостридиозный и другие), по степени компенсации (компенсированный, субкомпенсированный, декомпенсированный). В клинической практике чаще всего используется классификация по степени тяжести: по данным различных авторов выделяют III или IV степени [32].

Согласно протоколу ведения больных с дисбактериозом кишечника, утвержденному приказом МЗ РФ от 09.06.2003 г. №231, решающее значение при постановке данного диагноза имеют микробиологические показатели, определяемые культуральным методом [77]. В приказе регламентированы количественные показатели облигатных и условно-патогенных микроорганизмов у здоровых людей и выделены III типа нарушений микробиоценоза.

I степень дисбактериоза кишечника характеризуется снижением содержания бифидобактерий до  $10^8$ – $10^7$  КОЕ/г, лактобактерий до  $10^6$ – $10^5$  КОЕ/г, типичных эшерихий до  $10^6$ – $10^5$  КОЕ/г, возможным повышением содержания типичных эшерихий до  $10^9$ – $10^{10}$  КОЕ/г.

II степень – снижение содержания бифидобактерий до  $10^7$  и ниже КОЕ/г, лактобактерий до  $10^5$  и ниже КОЕ/г, повышение содержания гемолитических

эшерихий или других условно-патогенных бактерий до концентрации  $10^5$ - $10^7$  КОЕ/г или обнаружение ассоциаций условно-патогенных микроорганизмов в концентрации  $10^4$ - $10^5$  КОЕ/г.

III степень – снижение содержания бифидобактерий до  $10^7$  и ниже КОЕ/г, лактобактерий до  $10^5$  и ниже КОЕ/г, обнаружение ассоциаций условно-патогенных микроорганизмов в концентрации  $10^6$ - $10^7$  КОЕ/г и выше.

### **1.3 Роль условно-патогенных микроорганизмов в развитии патологии первой половины беременности**

#### **1.3.1 Микрофлора кишечника во время беременности**

Установлено, что беременность является предрасполагающим фактором развития дисбактериоза кишечника [68]. Основной причиной нарушения нормального состава кишечной микрофлоры во время беременности является гормональная перестройка организма, что способствует уникальным воспалительным и иммунным трансформациям, которые меняют проницаемость кишечника и бактериальный состав кишечной микрофлоры [163]. Гормональные изменения также влияют на сократимость и функционирование кишечника [170], приводят к развитию гипомоторной дискинезии желчевыводящих путей и толстой кишки [162, 163]. Эстрогены и прогестерон влияют на метаболизм, рост и вирулентность некоторых условно-патогенных бактерий [176]. Примером этого является активация *Listeria monocytogenes* во время беременности из-за повышенного уровня эстрогенов и прогестерона, что может быть причиной неблагоприятных исходов, включая преждевременные роды или мертворождение [144].

Определенное значение может иметь недостаточное потребление жидкости и клетчатки [123, 137]. Кроме эндокринных и алиментарных причин, в качестве предрасполагающих факторов, отмечают также: вынужденное ограничение подвижности, нередко сопряженное с угрозой прерывания беременности, прием препаратов железа в целях профилактики и лечения анемии, сдавливание

кишечника увеличивающейся маткой, применение некоторых препаратов, целью которых является коррекция экстрагенитальной патологии (к примеру, антигипертензивных) [23].

Таким образом, нарушается эвакуаторно-моторная функция кишечника: перистальтика становится вялой, увеличиваются процессы брожения и метеоризма. Длительный толстокишечный стаз приводит к активации условно-патогенной микрофлоры, что не только ухудшает качество жизни женщины, но и может создать реальную угрозу для течения беременности [68, 97, 193].

### **1.3.2 Эндотоксин как причина системного воспаления**

Микрофлора кишечника в норме является основным источником липополисахарида (ЛПС, LPS, эндотоксин), представляющего главный компонент наружной мембраны грамотрицательных бактерий. Это подтверждается относительно низкими его концентрациями у новорожденных, желудочно-кишечный тракт которых в первые часы жизни минимально колонизирован грамотрицательными бактериями [1, 86].

При физиологических условиях эндотоксин проникает в кровоток в незначительных количествах, что обеспечивает адаптацию макроорганизма к изменяющимся условиям жизнедеятельности [11, 42, 205]. Нарушение этого баланса происходит в результате как минимум сочетания трех таких факторов, как увеличение проницаемости слизистой оболочки кишки, неконтролируемый рост микрофлоры и изменение ее состава (дисбактериоз) и нарушение местного иммунитета [83]. В результате этого происходит избыточное поступление ЛПС в системный кровоток (рис.3) на фоне абсолютной или относительной недостаточности эндотоксин-связывающих систем, что влечет за собой развитие токсиневой агрессии, которая может быть непосредственной причиной развития самых разнообразных синдромов и заболеваний [115, 120, 126, 198].

Эффекты действия эндотоксина зависят от его концентрации. Умеренная активация клеток и систем при низких дозах эндотоксина с увеличением его концентрации переходит в гиперактивацию [10].

При проникновении LPS в системный кровоток происходит образование комплексов со специфическими LPS-связывающими белками – LBP, которые представляют собой белки острой фазы воспаления, продуцируемые энтероцитами и гепатоцитами.

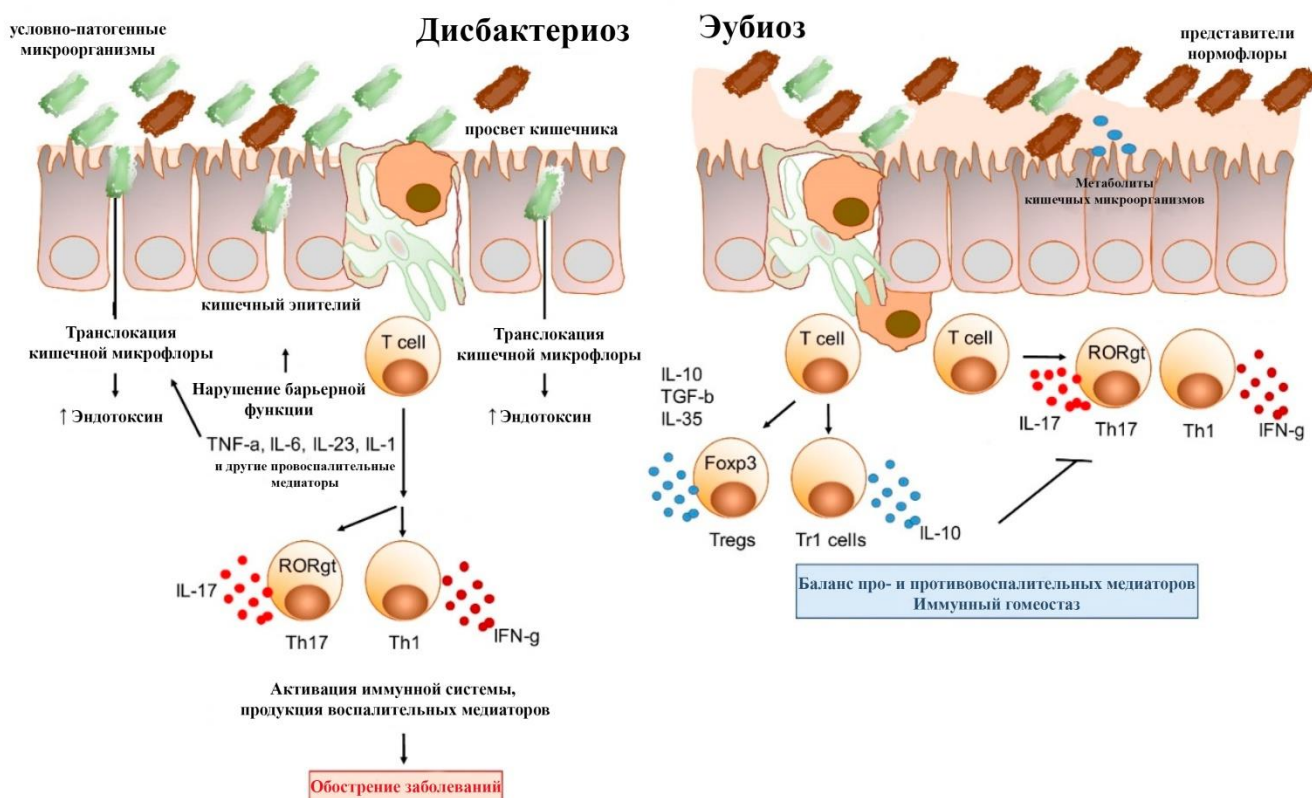


Рисунок 3 – Механизм транслокации эндотоксина в системный кровоток, развитие токсинной агрессии [158].

LBP прочно связывают LPS и переносят их на специфические рецепторы клеток иммунной системы – толл-подобные рецепторы (TLR), которые являются



трансмембранными рецепторами опознавания патогена. У человека определено 10 видов TLR (таблица 5): TLR1, TLR2 и TLR6 распознают липопептиды грамположительных бактерий и грибов, TLR4 распознает LPS грамотрицательных бактерий, TLR5 – бактериальный флагеллин, для TLR10 лиганд не установлен, однако предполагают, что он имеет бактериальную природу.

Таблица 5 – Толл-подобные рецепторы и их лиганды

Толл-подобные рецепторы	Лиганды	
	Экзогенные	Эндогенные
TLR1	триацетилированные липопротеиды (вместе с TLR2)	не обнаружены
TLR2	пептидогликан, липопептиды, липотейхоевая кислота, зимозан	не обнаружены
TLR3	двухцепочечная РНК	собственная РНК
TLR4	липополисахариды, паклитаксел (противоопухолевый препарат растительного происхождения)	белки теплового шока (Hsp60, Hsp 70, Hsp 90), сурфактантный белок А, белок HMGB1, фибриноген, фибронектин, олигосахариды гиалуроновой кислоты, эозинофильный нейротоксин
TLR5	флагеллин	не обнаружены
TLR6	диацетилированный липопротеин (вместе с TLR2)	не обнаружены
TLR7	одноцепочечная РНК	не обнаружены
TLR8	одноцепочечная РНК	не обнаружены
TLR9	неметилированная ДНК, герпесвирусная инфекция	аутоиммунный комплекс хроматина с иммуноглобулином G
TLR10	не обнаружены	не обнаружены

В результате взаимодействия LPS и TLR4, при участии корцепторов, происходят конформационные изменения TLR и запускается сигнальный каскад реакций, которые активируют транскрипционный ядерный фактор Nf-kB [10, 136, 150, 156]. Этот фактор связывается с промоторными участками ряда генов, обеспечивает их экспрессию и активацию лейкоцитов и макрофагов, синтез провоспалительных цитокинов, фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- $\alpha$ ), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, интерферонов, адгезивных молекул межклеточного взаимодействия, острофазовых белков, в том числе амилоидного белка, цитопротективных белков теплового шока, активацию тромбоцитов и факторов свертывания крови [10, 199, 202] (рис. 4).

Патогенность грамположительных бактерий обеспечивают липотейхоевые кислоты и пептидогликаны. Они функционально сходны с эндотоксином грамотрицательных бактерий, также являются патоген-ассоциированными молекулярными паттернами и лигандом для рецепторов TLR 1, 2, 6. Однако, в отличие от TLR4, связывание с TLR2 не приводит к индукции воспалительного ответа, что подтверждается отсутствием увеличения концентрации цитокинов. В этом случае механизм патологического действия направлен не через воспалительную реакцию, а путем активации апоптоза. При этом установлено, что связывание LPS с TLR4 способствует увеличению экспрессии TLR2, что позволяет предположить, что запуск каскада реакций происходит несколькими путями, вызывая избыточный иммунный ответ, особенно в случае сочетанных инфекций [51].

Исходя из этого, эндотоксин, липотейхоевые кислоты и пептидогликаны, попадая в системный кровоток, являются одним из наиболее мощных естественных индукторов воспаления. Они активируют иммунные клетки, что ведет к выбросу воспалительных медиаторов, ответственных за развитие воспалительных реакций.

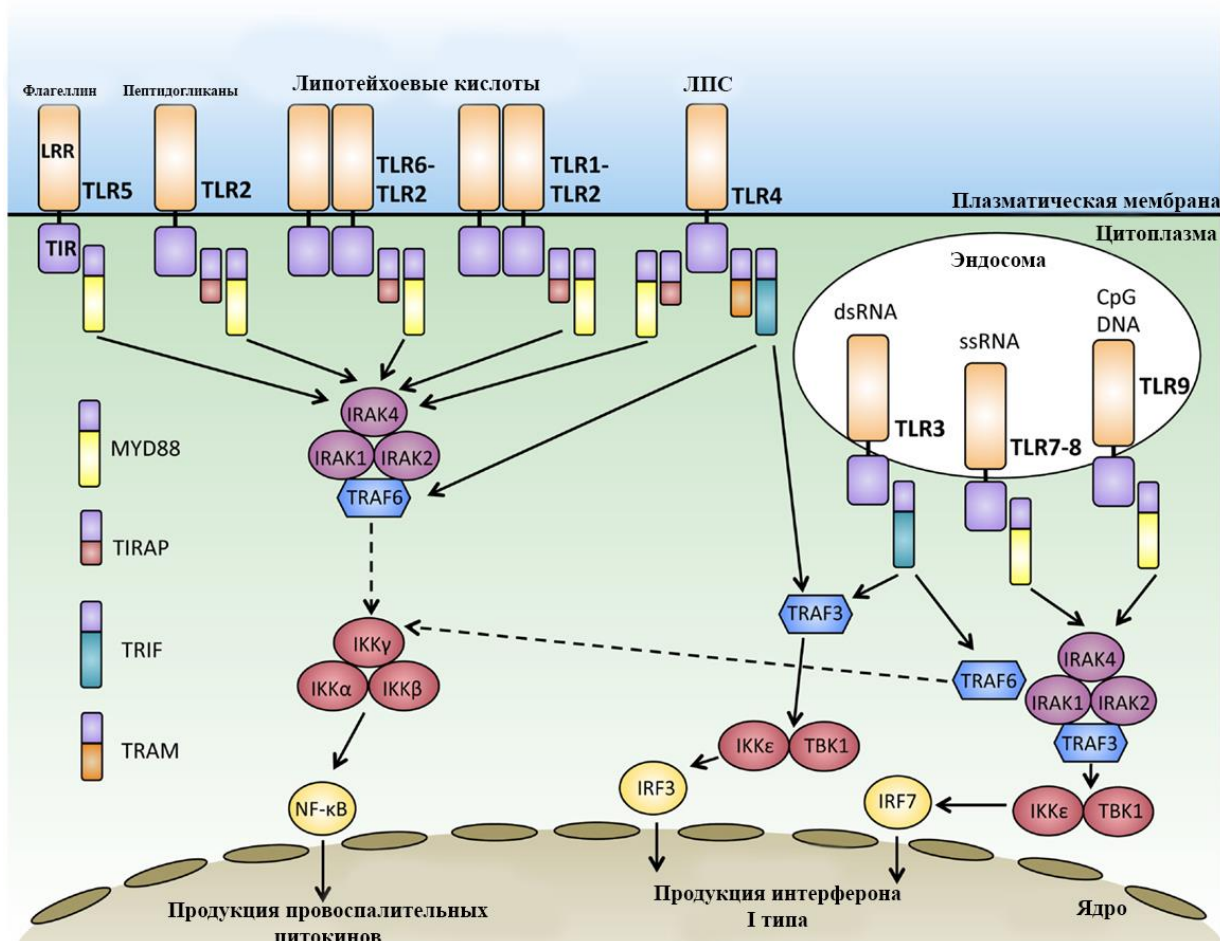


Рисунок 4 – Механизм индукции воспаления через TLR [200].

Условные обозначения: TLR - толл-рецепторы; NF-κB - ядерный фактор κB; IRF-3,7 - регуляторные факторы интерферона; IKK - киназа ферментного комплекса; TRAF - фактор, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухоли; IRAK - интерлейкин рецептор ассоциированная киназа; TRAM, TRIF, TIRAP - адаптер-подобные белки; MyD88 - белок первичной реакции миелоидной дифференцировки 88.

Известно, что различные виды TLR расположены в органах репродуктивной системы [52]: TLR 1, 2, 3, 5, 6 находятся в эпителии влагалища, экзо- и эндоцервиксе, эндометрии и маточных трубах, TLR 4 – в эндоцервиксе, эндометрии и маточных трубах [154] и все 10 видов TLR представлены в клетках трофобласта, которые во время беременности выполняют иммунную функцию и первыми реагируют на патогенные микроорганизмы [160, 174]. В работе

Лебедевой О.П. и соавт. (2013) было выявлено, что у пациенток с самопроизвольными выкидышами наблюдалась достоверно высокая, по сравнению с контролем, экспрессия мРНК TLR1,2,4 [51].

### **1.3.3 Роль эндотоксина в патогенезе невынашивания беременности**

Согласно современным представлениям, иммунные нарушения играют важную роль в патогенезе ранних гестационных потерь [103, 107]. Во время физиологически протекающей беременности включаются механизмы иммуносупрессии в связи с тем, что плод является полуаллогенным для матери. Вследствие гормональных влияний происходит переключение иммунного ответа, опосредованного Т-хелперами 1-го типа (Th1), на иммунный ответ, опосредованный Т-хелперами 2-го типа (Th2).

Th1 вырабатывают провоспалительные цитокины – ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, интерферон-гамма (ИФН- $\gamma$ ), которые стимулируют пролиферацию цитотоксических Т-лимфоцитов и активируют макрофаги, участвуя в воспалительных и иммунных реакциях. Th2 вырабатывают противовоспалительные цитокины – ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9, ИЛ-10, ИЛ-13, которые ингибируют Th1 иммунный ответ и продукцию провоспалительных цитокинов [89, 130].

Установлено, что в течение беременности соотношение про- и противовоспалительных цитокинов меняется в динамике. На этапе имплантации отмечено преобладание провоспалительных цитокинов вследствие местной активации медиаторов воспаления в ответ на внедрение бластоцисты в матку. Дальнейшее течение беременности характеризуется системным сдвигом в сторону противовоспалительных цитокинов (Th2).

Связующим звеном между иммунной и эндокринной системами на ранних сроках беременности является прогестерониндуцированный блокирующий фактор (ПИБФ). Он представляет собой гидрофильный белок альфа-спиралевидной структуры, молекулярной массой 90 кДа, состоящий из 757 аминокислот. Ген данного протеина локализуется на хромосоме 13q21-q22. В

результате ряда научных исследований было выявлено наличие различных изоформ ПИБФ. Так, в первом триместре экспрессируются изоформы 90, 80 и 40 кДа, а в конце беременности приоритетными являются 80 кДа изоформы [141]. В случае физиологического течения беременности концентрация ПИБФ постоянно растет с 7 до 37 недели. После 41-й недели концентрация данного протеина значительно уменьшается [151].

ПИБФ вырабатывается в момент взаимодействия прогестерона с рецепторами T-клеток и направляет иммунный ответ матери в сторону Th2, обеспечивая цитопротективный характер иммунного ответа.

В случае наличия инфекционного агента происходит активация TLR, что инициирует иммунный ответ Th1 [154]. Как следствие, происходит выработка провоспалительных цитокинов, которые вызывают апоптоз клеток трофобласта и разрушение эндотелия сосудов путем ингибирующего влияния на продукты ростовых факторов, чрезмерной цитотоксической активации NK-клеток и фагоцитарной активности макрофагов в эндометрии и децидуальной ткани [3].

Повышенное количество провоспалительных цитокинов, в свою очередь, способствует усилению выработки простагландинов в амнионе и децидуальной оболочке. Механизм их действия реализуется через структурные изменения шейки матки и стимулирующее действие на мускулатуру тела матки (путем деполяризации клеточных мембран и освобождения ионов кальция в миоцитах [35]), что приводит к десквамации децидуальной оболочки и прерыванию беременности. Также имеются данные, что простагландины обладают лютеолитическим действием [146], то есть способствуют инволюции желтого тела и, соответственно, снижению системного уровня прогестерона.

Кроме того, провоспалительные цитокины усиливают выработку протромбиназы, активируют коагуляционные механизмы и снижают антикоагулянтную и фибринолитическую активность крови, в результате чего происходит образование тромбов в сосудах трофобласта. Проведены исследования, в которых анализировались основные параметры системы гемостаза у беременных, и было выявлено, что у женщин с невынашиванием

беременности отмечаются гиперкоагуляционные сдвиги с достоверным отличием основных показателей гемостаза от таковых у женщин с физиологической беременностью. При неблагоприятном исходе беременности выявлены следующие морфологические проявления: тромбы разной давности в сосудах и интервиллезных пространствах, инфаркты, псевдоинфаркты, гематомы разной давности в плаценте, яркий интервиллезный фибриноид и фибриноид в базальной пластинке с очагами некроза. Полученные результаты у женщин с угрозой прерывания беременности подтверждают и дополняют сведения о формировании у них тромбофилического статуса [37, 57]. Поражение трофобласта и эндотелия сосудов приводит к выработке антифосфолипидных антител и анти-ДНК антител, формированию специфического цитотоксического иммунного ответа против антигенов плода [15, 44, 80, 130].

Ряд отечественных и зарубежных исследований посвящен изучению цитокинового профиля у беременных женщин с целью подтверждения влияния иммунных механизмов на течение и исход гестационного периода. Исследование Чистяковой Г.Н. [114] указывает, что критерием угрозы прерывания беременности в раннем сроке может являться повышение уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8, ИНФ- $\alpha$  и ИНФ- $\gamma$  на фоне снижения уровня цитокинов противовоспалительного действия ИЛ-4 и ИЛ-10. Аналогичные результаты были получены Начаровым Ю.В. [61]: у женщин с угрозой преждевременного прерывания беременности выявлено повышение провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ ) и снижение противовоспалительных (ИЛ-4), а применение препарата прогестеронового ряда позволяло восстановить необходимый баланс и тем самым предотвратить преждевременное прерывание беременности.

Сравнительный анализ соотношений про- и противовоспалительных цитокинов у пациенток с урогенитальной инфекцией и угрозой прерывания беременности также выявил достоверное смещение баланса в сторону продукции первых как в сыворотке крови, так и в цервикальной слизи [55].

Следовательно, инфекционный агент не оказывает прямого действия на развивающийся эмбрион, ему принадлежит триггерная роль в иммунопатологических реакциях в эндометрии, тромбофилических и аутоиммунных процессах, непосредственно участвующих в гибели и отторжении плодного яйца.

Такое же патогенетическое действие на беременную матку могут оказывать эндотоксин, липотейхоевые кислоты и пептидогликаны (рис.5).



Рисунок 5 – Механизм влияния бактериального эндотоксина на матку во время беременности [154].

Антигены бактерий, проникнув в системный кровоток, связываются с толл-подобными рецепторами трофобласта и запускают механизм воспалительной реакции (или апоптоза при связывании с TLR 1, 2, 6) через Th1 иммунный ответ, а также активируют систему гемостаза, что, в конечном итоге, может привести к прерыванию беременности.

Помимо активации иммунной системы, высокие дозы эндотоксина стимулируют выработку катехоламинов и кортизола, системное влияние которых также может привести к прерыванию беременности на любых сроках [63, 146].

При подробном изучении влияния бактериального эндотоксина на организм во время беременности были установлены следующие факты:

- Эндотоксин не проникает через плаценту в ткани плода.
- Эндотоксин стимулирует маточные макрофаги, вырабатывающие большое количество провоспалительных медиаторов (хемокины, интерфероны, интерлейкины, лейкотриены, простагландины и вазоактивные амины), которые являются основными регуляторами эндотоксин-индуцированного выкидыша.
- Концентрация эндотоксина, приводящая к потере беременности, не является летальной для беременной женщины.
- Абортивный эффект эндотоксина выше в первом триместре беременности.

Самый важный и спорный из перечисленных фактов – это индукция выкидыша при отсутствии токсического действия на организм женщины. Объяснением высокой чувствительности беременности к воздействию агентов, таких как эндотоксин, является то, что матка, которая обеспечивает благоприятные условия для развития плода, является гиперчувствительной к эндотоксину. В физиологических условиях макрофаги присутствуют в относительно малых количествах в большинстве органов и тканей и существуют в покое или неактивированном состоянии. Активация их требует воздействия высокой концентрации эндотоксина. Исключением из этих обобщений является матка во время беременности, которая содержит большое число активных макрофагов, что является неотъемлемым условием для поддержания нормальной



беременности. Высокая чувствительность к воздействию эндотоксина является прямым результатом наличия большого количества активированных макрофагов в матке.

Первые работы по влиянию ЛПС на организм во время беременности были проведены экспериментальным путем на животных: еще в 1990 году исследователями был введен антиген кишечной палочки коровам в первом, втором и третьем триместрах беременности. В результате отметили повышение уровня простагландинов, тромбксана В-2, кортизола и снижение прогестерона в плазме крови; в последующем у некоторых происходило прерывание беременности. Тяжесть клинических проявлений, как правило, зависела от дозы эндотоксина и не зависела от срока беременности, но у коров в первом триместре абортивный эффект наблюдался чаще [146]. В 1998 году подобное исследование было проведено на беременных мышах: внутрибрюшное введение антигена *Escherichia coli* приводило к аборту ввиду быстрого накопления нейтрофилов и макрофагов в матке и плаценте [203]. Результаты работы Тоуама R.P. на беременных мышах показали, что аборт происходит в случае введения эндотоксина в дозе не менее 150 мг/кг, при этом авторы утверждают, что механизм абортивного эффекта достигался путем повышения концентрации провоспалительных агентов в кровеносной системе и амниотической жидкости [194].

Появление инновационных и более точных методов исследования микробиома человека, наличие новой информации о видовом составе микрофлоры кишечника, а также о связи нарушений микробиоты с различными патологическими состояниями в организме, обосновывают актуальность исследования микробиоты кишечника у беременных женщин. А последующая разработка методов профилактики или коррекции данных нарушений может быть не просто перспективным научным направлением, а одним из способов предупреждения репродуктивных потерь.

## ГЛАВА 2

### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКИХ ГРУПП

#### 2.1 Возрастные, антропометрические данные и индекс массы тела

Пациентки обеих групп были сопоставимы ( $p>0,05$ ) по возрасту, сроку беременности и антропометрическим показателям (таблица 6).

Таблица 6 – Сравнительная характеристика групп по возрасту, сроку беременности и антропометрическим показателям

Показатели	Основная группа (n=74)	Контрольная группа (n=126)
Возраст ( $M\pm m$ , (min-max)), лет	28,7 $\pm$ 0,8 (18-43)	29,3 $\pm$ 0,7 (23-41)
Срок беременности ( $M\pm m$ , (min-max)), недель	10,2 $\pm$ 0,5 (5-20)	10,8 $\pm$ 0,5 (6-22)
Рост ( $M\pm m$ , (min-max)), см	165,1 $\pm$ 0,6 (155-172)	165,0 $\pm$ 0,7 (158-175)
Масса тела ( $M\pm m$ , (min-max)), кг	61,7 $\pm$ 1,0 (44-78)	62,0 $\pm$ 1,2 (46-76)
Индекс массы тела ( $M\pm m$ , (min-max)), кг/м <sup>2</sup>	22,6 $\pm$ 0,3 (16,9-26,9)	23,0 $\pm$ 0,5 (16,1-28,8)

Избыточную массу тела (индекс массы тела более 25 кг/м<sup>2</sup>) имели 7 (9,5%) пациенток основной группы и 13 (10,3%) женщин контрольной

группы. Дефицит массы тела (индекс менее 18) выявлен у 6 (8,1%) пациенток основной группы и 10 (7,3%) беременных контрольной группы. Остальные женщины имели нормальную массу тела.

## 2.2 Уровень образования, характер трудовой деятельности и социальное положение

Распределение женщин по уровню образования, характеру трудовой деятельности и социальному положению представлено в таблице 7.

Таблица 7 – Распределение женщин по уровню образования, характеру трудовой деятельности и социальному положению

Контингент обследованных женщин, (абс/%)	Основная группа (n=74)	Контрольная группа (n=126)
Образование:		
- высшее	55 (77,3%)	96 (76,2%)
- среднее специальное	9 (12,1%)	17 (13,5%)
- среднее	10 (13,6%)	13 (10,3%)
Служащие	48 (64,9%)	82 (65%)
Рабочие	3 (4%)	7 (5,5%)
Учащиеся	5 (6,7%)	12 (9,5%)
Неработающие	18 (24,4%)	25 (20%)
Городские жители	74 (100%)	126 (100%)
Сельские жители	-	-
Состоят в браке	68 (91,9%)	113 (89,7%)
Не состоят в браке	6 (8,1%)	13 (10,3%)

Статистически значимых межгрупповых различий в отношении уровня образования, характера трудовой деятельности и социального положения не выявлено ( $p>0,05$ ).

## 2.2 Акушерско-гинекологический анамнез и экстрагенитальная патология

Возраст менархе, продолжительность менструального цикла и менструаций в группах исследования существенно не отличались ( $p>0,05$ ). У всех женщин менструальный цикл был регулярным.

Структура гинекологической патологии отображена в таблице 8 и представлена преимущественно нарушением менструального цикла в анамнезе (13,5% от общего числа) и доброкачественными новообразованиями яичников в анамнезе (12%). Статистически значимых межгрупповых различий по частоте заболеваемости также выявлено не было ( $p>0,05$ ).

Таблица 8 – Гинекологическая заболеваемость в анамнезе у обследованных женщин

Заболевания, (абс/%)	Основная группа (n=74)	Контрольная группа (n=126)
Нарушение менструального цикла в анамнезе	10 (13,5%)	17 (13,4%)
Новообразования яичников в анамнезе	10 (13,5%)	14 (11%)
Патология шейки матки	8 (10,8%)	12 (9,5%)

Количество первобеременных в основной группе составили 56,7% (n=42), повторобеременных 43,3% (n=32), первородящих 75,7% (n=56), повторнородящих 24,3% (n=18). В контрольной группе по паритету беременностей соответственно: 65,9% (n=83) и 34,1% (n=43), по паритету родов – 79,4% (n=100) и 20,6% (n=26).

Исходы предыдущих беременностей представлены в таблице 9. Статистически значимых межгрупповых различий по данным признакам также не выявлено ( $p>0,05$ ).

Таблица 9 – Исходы предыдущих беременностей у обследованных женщин

Показатель, (абс./%)	Основная группа (n=74)	Контрольная группа (n=126)
Артифициальный аборт	7 (9,5%)	10 (7,9%)
Из них: более 2-х случаев	1 (1,3%)	3 (2,4%)
Самопроизвольный выкидыш	5 (6,7%)	4 (3,1%)
Неразвивающаяся беременность	5 (6,7%)	7 (5,5%)
Трубная беременность	2 (2,7%)	3 (2,4%)
Роды	18 (24,3%)	26 (20,6%)

Анализ экстрагенитальной патологии (таблица 10) у обследованных женщин выявил преобладание заболеваний желудочно-кишечного тракта (30% от общего числа беременных), болезней крови (13,5%), мочевыделительной системы (13%) и сердечно-сосудистых заболеваний (10,5%). Различий по частоте встречаемости хронических заболеваний в основной группе по сравнению с контрольной не выявлено ( $p>0,05$ ).

Таблица 10 – Хронические соматические заболевания в анамнезе у обследованных женщин

Группа заболеваний, (абс./%)	Основная группа (n=74)	Контрольная группа (n=126)
Сердечно-сосудистые заболевания	7 (9,4%)	14 (11,1%)
Заболевания желудочно-кишечного тракта	28 (37,8%)	32 (25,4%)
Болезни мочевыделительной системы	12 (16,2%)	14 (11,1%)
Заболевания костно-мышечной системы и соединительной ткани	3 (4%)	7 (5,5%)
Болезни органов зрения	6 (8,1%)	7 (5,5%)
Болезни ЛОР-органов	6 (8,1%)	7 (5,5%)
Болезни крови, кроветворных органов	9 (12,1%)	18 (14,3%)

Болезни мочевыделительной системы были преимущественно представлены хроническим пиелонефритом, циститом и мочекаменной болезнью, болезни крови – хронической железодефицитной анемией, сердечно-сосудистые заболевания – варикозным расширением вен нижних конечностей, артериальной гипо- или гипертензией, реже – врожденными или приобретенными пороками сердца.

В структуре гастроэнтерологической патологии (рис.6) у беременных обеих групп преобладал хронический гастрит (55% случаев всех заболеваний ЖКТ), хронический гастродуоденит (33,3%), синдром раздраженного кишечника (33,3%). В меньшей степени были диагностированы гастроэзофагальная рефлюксная болезнь, функциональное расстройство билиарного тракта, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (ДПК), хронический панкреатит.

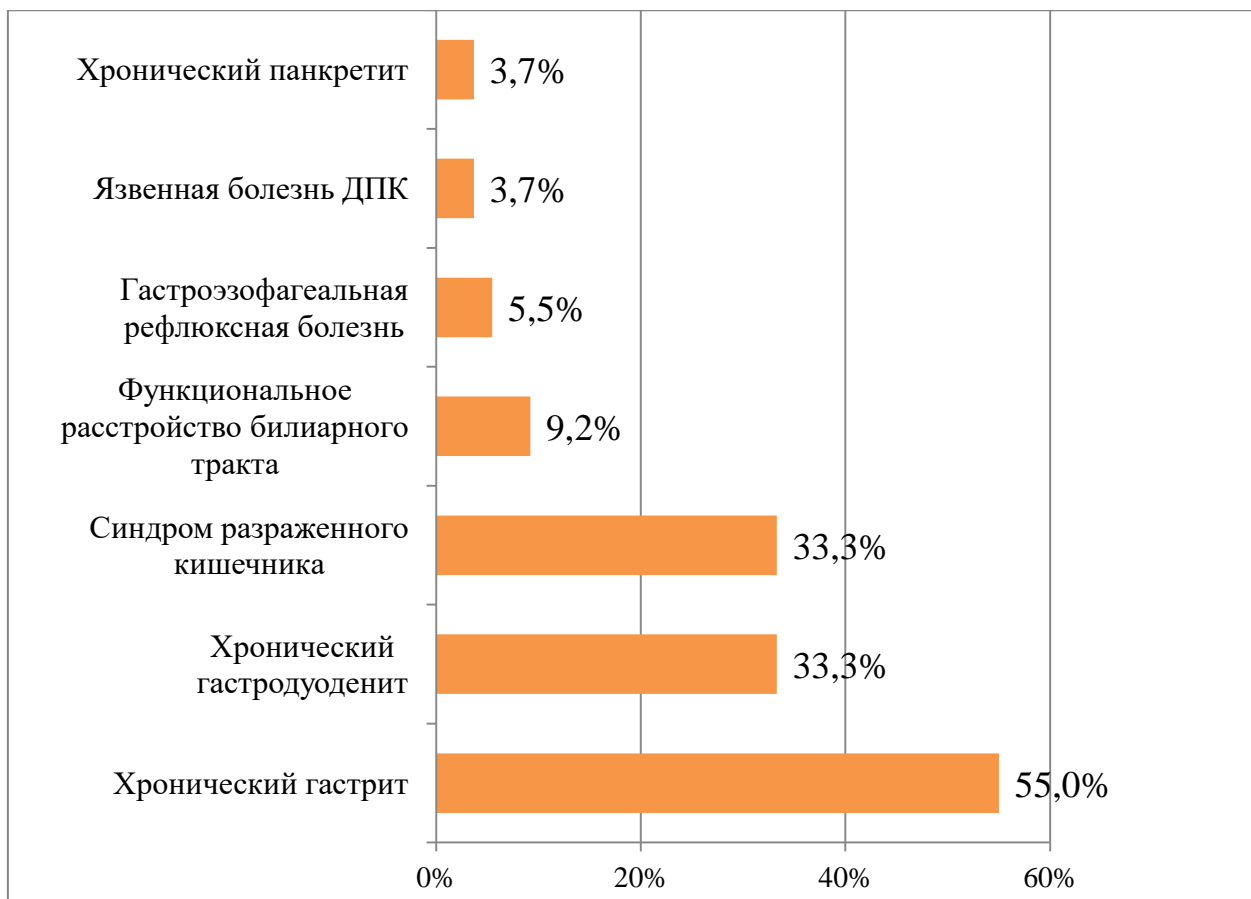


Рисунок 6 – Структура гастроэнтерологической патологии у женщин с заболеваниями ЖКТ.

Учитывая представленные данные, пациентки обеих групп выбраны из одной генеральной совокупности, описанные критерии не влияют на результаты исследования.

## ГЛАВА 3

# ОЦЕНКА РОЛИ ДИСБАКТЕРИОЗА КИШЕЧНИКА В ПАТОГЕНЕЗЕ ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ

### 3.1 Системно-структурный анализ микрофлоры влагалища и кишечника в группах исследования

Для комплексной оценки состояния микробиоценоза кишечника методом ПЦР в режиме реального времени была использована усовершенствованная классификация дисбактериоза кишечника (рационализаторское предложение № 919 от 08.07.2021 г.). В основу предложенного варианта взята классификация, утвержденная приказом МЗ РФ от 9 июня 2003 г. № 231 [77], которая была дополнена данными из рабочей инструкции по исследованию микробиоты толстой кишки методом ПЦР в режиме реального времени [78]:

- 1) I степень (легкая) – появление УПМ в количестве менее  $10^4$  копий ДНК/мл на фоне дефицита представителей облигатной микрофлоры менее, чем на 2 порядка;
- 2) II степень (умеренная) – наличие УПМ в количестве  $>10^4$  копий ДНК/мл, но  $<10^6$  копий ДНК/мл при снижении облигатной микрофлоры более, чем на 2 порядка;
- 3) III степень (тяжелая) – избыточный рост ассоциаций УПМ ( $>10^6$  копий ДНК/мл) при выраженном дефиците облигатной микрофлоры более, чем на 2 порядка.

По полученным данным, кишечный дисбактериоз был выявлен у 100% обследованных беременных – у 74 пациенток основной группы и у 126 женщин контрольной группы. Однако существенные различия между группами заключались в степени дисбактериоза. Так, у пациентов основной группы в 20,3% (n=15) наблюдений был выявлен дисбактериоз кишечника I



степени, в 55,4% (n=41) – II степени и у 24,3% (n=18) пациентов – III степени (рис. 7). В то время как у пациентов контрольной группы были выявлены нарушения в составе кишечной микрофлоры соответствовавшие, преимущественно, дисбактериозу I степени – 90,5% (n=114). Лишь у 9,5% (n=12) пациентов контрольной группы диагностирован дисбактериоз II степени, а случаев тяжелого дисбиоза выявлено не было. Различия между относительными величинами в обеих группах явились статистически значимыми ( $p < 0,001$ ).

Наличие умеренного или тяжелого дисбактериоза кишечника является фактором риска осложненного течения ранних сроков беременности (оценка общего отношения шансов Мантеля-Хенцеля  $OR=37,3$ , 95%-доверительный интервал от 16,4 до 84,9,  $p < 0,001$ ).

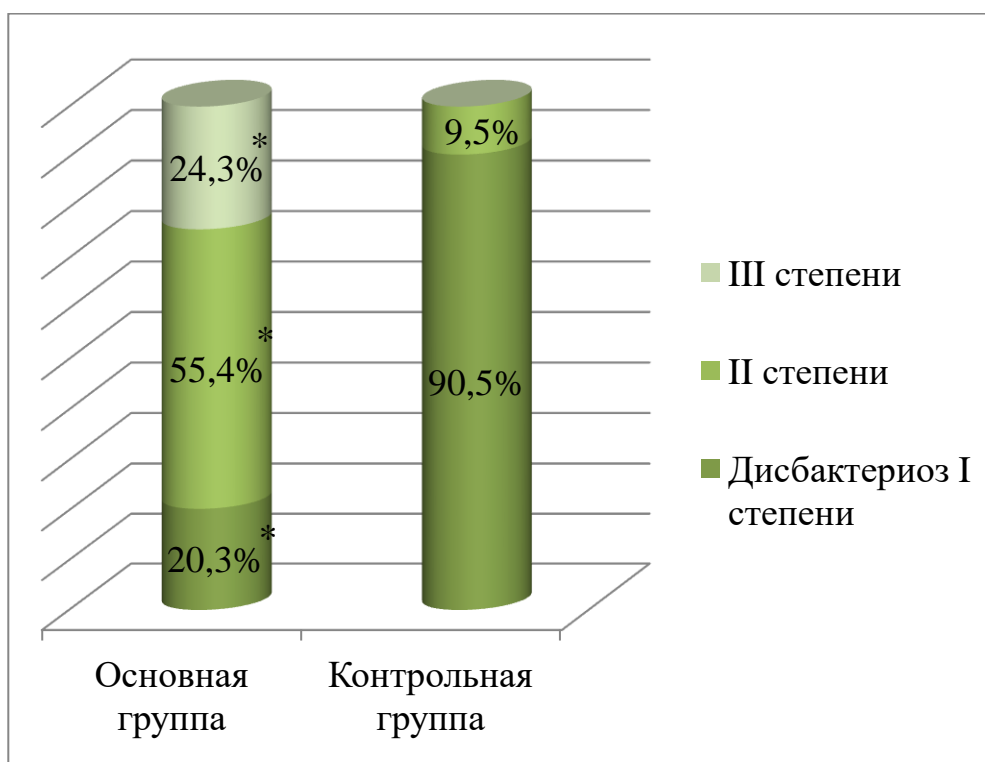


Рисунок 7 – Степень нарушения микрофлоры кишечника у пациентов основной и контрольной групп, где \* – статистически значимые различия по критерию соответствия  $\chi^2$  в сравнении с контролем ( $p < 0,001$ ).

При изучении качественного и количественного состава кишечной микрофлоры (таблица 11) у пациентов основной группы выявлено снижение концентрации представителей нормофлоры кишечника и увеличение количества условно-патогенных микроорганизмов по сравнению с группой контроля. Микробиологический состав кишечной флоры в контрольной группе характеризовался преимущественно снижением интенсивности колонизации толстой кишки нормофлорой.

В отношении таких микроорганизмов, как *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp., а также условно-патогенных *Clostridium difficile*, *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Campylobacter* spp. отмечены статистически значимые межгрупповые различия (рис.8).

Таблица 11– Качественный и количественный состав кишечной микрофлоры у пациенток обеих групп,  $M \pm m$

Концентрация микроорганизмов, log <sub>10</sub> копий ДНК/мл	Основная группа (n=74)	Группа контроля (n=126)	р-кри- терий
<i>Bacteroides</i> spp.	5,5±0,43	6,5±0,36	>0,05
<i>Prevotella</i> spp.	5,2±0,40	5,6±0,34	>0,05
<i>Akkermansia</i> spp.	5,2±0,57	4,4±0,42	>0,05
<i>Faecalibacterium prausnitzi</i>	5,4±0,42	5,5±1,07	>0,05
Соотношение <i>Bacteroides</i> spp./ <i>Faecalibacterium prausnitzi</i>	1,0±0,02	1,3±0,02	>0,05
<i>Blautia</i> spp.	5,9±0,44	6,1±0,73	>0,05
<i>Bifidobacterium</i> spp.	4,2±0,48	6,8±0,16	<b>&lt;0,05</b>
<i>Methanobrevibacter</i> spp.	5,2±0,49	4,6±0,37	>0,05
<i>Parabacteroides</i> spp.	4,6±0,42	4,7±0,32	>0,05

Продолжение таблицы 11

Lactobacillus spp.	3,9±0,37	6,1±0,11	<0,001
Условно-патогенные микроорганизмы:			
Fusobacterium nucleaticum	2,0±0,45	2,6±0,57	>0,05
Enterococcus spp.	3,1±0,40	3,4±0,48	>0,05
Clostridium difficile	4,6±0,16	2,1±0,91	<0,001
Enterobacter spp.	4,7±0,29	1,6±0,31	<0,001
Pseudomonas spp.	2,1±0,31	0,5±0,88	<0,001
Streptococcus spp.	4,8±0,27	2,3±0,38	<0,001
Staphylococcus spp.	3,3±0,14	1,6±0,43	<0,05
Campylobacter spp.	4,2±0,21	2,8±0,66	<0,05

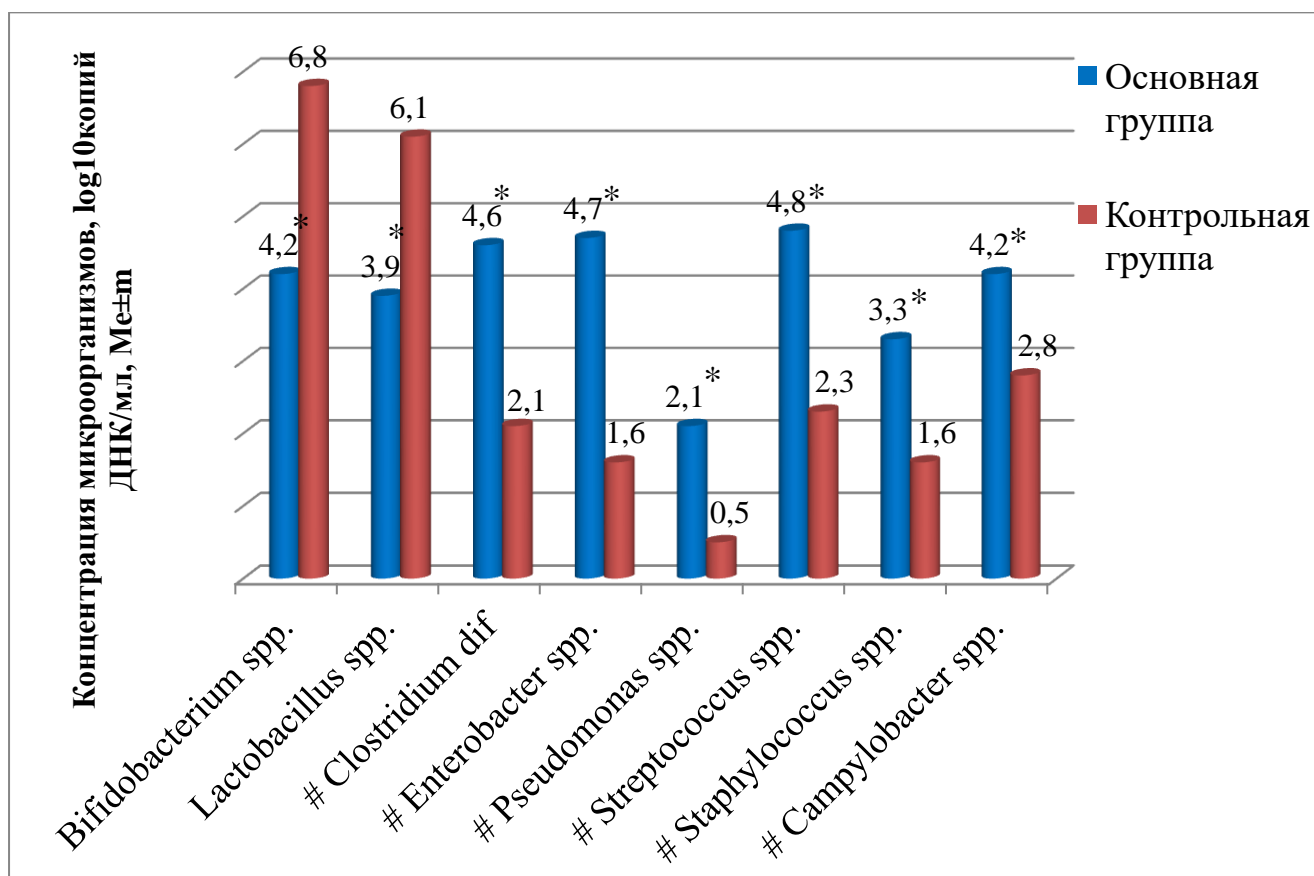


Рисунок 8 – Сравнительная характеристика концентрации микроорганизмов в кишечнике у обследованных беременных, где \* – статистически значимые различия в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ), # – УПМ.

Проведенное исследование микрофлоры влагалища методом ПЦР в режиме реального времени также показало преобладание дисбиотических изменений микрофлоры у пациентов основной группы (у 59,5%, n=44) по сравнению с группой контроля (у 8%, n=10). Нормоценоз был обнаружен у 40,5% (n=30) исследуемых основной группы и у 92% (n=116) – контрольной. Различия между относительными величинами в обеих группах были статистически значимыми ( $p < 0,001$ ).

При оценке степени нарушения влагалищного микробиоценоза было установлено, что в основной группе дисбиоз II степени обнаружен в 21,7% (n=16) наблюдений, а дисбиоз I степени – 37,8% (n=28), в то время как в контрольной группе – всего лишь в 2,4% (n=3) и 5,6% (n=7) случаев соответственно (рис. 9).

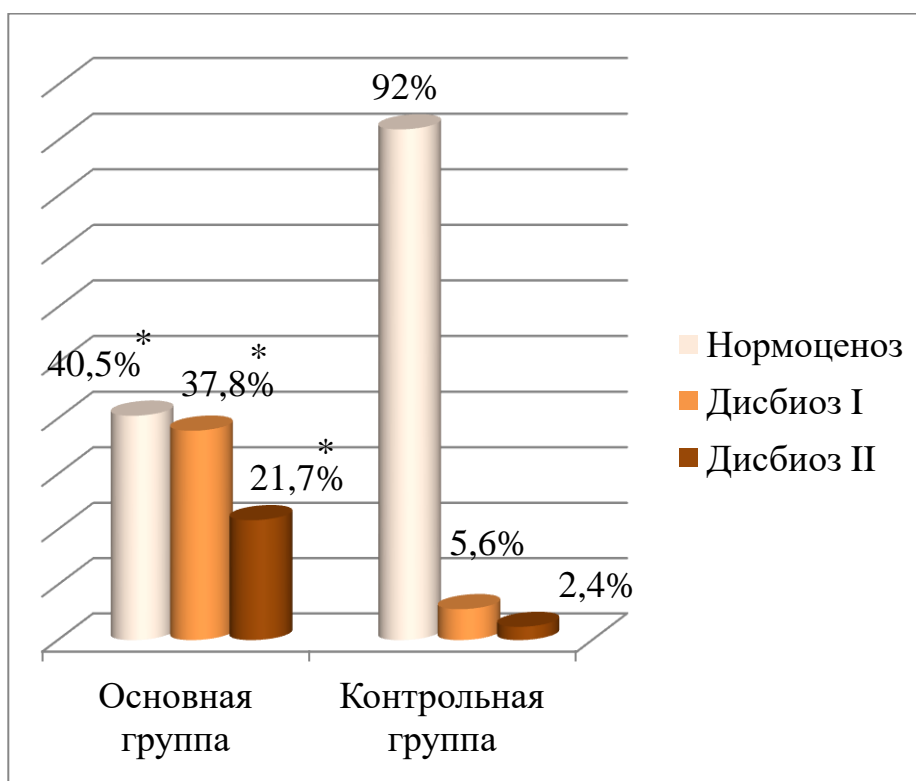


Рисунок 9 – Результат исследования влагалищной микрофлоры методом ПЦР в режиме реального времени, где \* – статистически значимые различия по критерию соответствия  $\chi^2$  в сравнении с контролем ( $p < 0,001$ ).

Различия в частоте диагностирования как умеренного, так и тяжелого дисбиозов влагалища у пациентов обеих групп также явились статистически значимыми ( $p < 0,001$ ).

При оценке качественного состава влагалищного микробиоценоза было выявлено, что у пациентов основной группы с дисбиозом влагалища в 50% случаев доминировали облигатные анаэробы (*Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella bivia*, *Eubacterium* spp., *Megasphaera* spp.), в 27,2% – факультативные анаэробные бактерии (сем. Enterobacteriaceae, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp.), в остальных 22,8% случаев выявлена смешанная флора. В контрольной группе также преобладали облигатные анаэробы (70%) и в 30% случаев выявлен смешанный дисбиоз.

Отмечена более высокая концентрация большинства условно-патогенных микроорганизмов влагалища у пациенток основной группы по сравнению с контролем (таблица 12).

Таблица 12 – Качественный и количественный состав влагалищной микрофлоры у пациенток обеих групп,  $M \pm m$

Концентрация микроорганизмов, $\log_{10}$ копий ДНК/мл	Основная группа (n=74)	Контрольная группа (n=126)	p-кри- терий
<i>Lactobacillus</i> spp.	6,7±0,63	6,8±0,13	>0,05
сем. Enterobacteriaceae	2,6±0,41	1,5±0,34	>0,05
<i>Streptococcus</i> spp.	3,5±0,48	0,4±0,12	<0,001
<i>Staphylococcus</i> spp.	2,4±0,33	1,7±0,25	<0,05
<i>Gardnerella vaginalis</i> / <i>Prevotella bivia</i> / <i>Porphyromonas</i> spp.	3,8±0,86	1,5±0,58	<0,05
<i>Eubacterium</i> spp.	4,8±0,75	3,2±0,47	>0,05

## Продолжение таблицы 12

Sneathia spp./ Leptotrichia spp./ Fusobacterium spp.	3,4±1,12	0,3±0,24	<0,05
Megasphaera spp./ Veillonella spp./ Dialister spp.	4,3±0,47	1,1±0,51	<0,05
Lachnobacterium spp. / Clostridium spp.	3,7±0,75	0,7±0,36	<0,05
Mobiluncus spp. / Corynebacterium spp.	2,7±0,34	1,3±0,27	<0,05
Peptostreptococcus spp.	2,9±0,42	0,5±0,33	<0,05
Atopobium vaginae	3,7±1,21	0,48±0,48	<0,001
Candida spp.	2,6±0,24	1,4±0,51	>0,05
Ureaplasma spp.	1,5±0,48	0,8±0,37	>0,05

Следует отметить, что диагностическая ценность метода ПЦР в режиме реального времени с целью оценки дисбиоза влагалища оказалась в 2-2,5 раза выше стандартного метода микроскопии влагалищного мазка. Так, в результате микроскопического исследования (таблица 13) дисбиоз влагалища был выявлен у 13 (17,6%) обследованных в основной группе и у 8 (6,3%) в контрольной группе, в то время как методом ПЦР в режиме реального времени – у 44 (59,5%) и 10 (8%), соответственно.

В результате исследования была выявлена ассоциация дисбиоза влагалища с дисбактериозом кишечной микрофлоры (коэффициент корреляции Спирмена (r)=0,4, p<0,05). Это еще раз доказывает взаимосвязь между качественным и количественным составом кишечного и вагинального биотопов у женщин, что подтверждается также наличием корреляций, представленных в таблице 14. Высокий уровень клинически значимых условно-патогенных микроорганизмов в вагинальном биотопе был диагностирован на фоне дефицита нормофлоры и высокой концентрации УПМ в кишечном биоценозе.

Таблица 13 – Сравнительные результаты исследования биоценоза влагалища методами микроскопии и ПЦР в режиме реального времени у беременных основной и контрольной групп

Степень чистоты влагалища, (абс./%)	Основная группа (n=74)		Контрольная группа (n=126)	
	микроскопия	ПЦР	микроскопия	ПЦР
Нормоценоз	13 (17,6%)	30 (40,5%)	40 (31,7%)	116 (92%)
Промежуточный тип	48 (64,8%)		78 (62%)	
Дисбиоз влагалища	13 (17,6%)	44 (59,5%)	8 (6,3%)	10 (8%)
Дисбиоз I степени		28 (37,8%)		7 (5,6%)
Дисбиоз II степени		16 (21,7%)		3 (2,4%)

Таблица 14 – Статистически значимые корреляции между вагинальной и кишечной микрофлорой у пациенток основной и контрольной групп,  $r$

Влагалищная микрофлора \ Кишечная микрофлора	<i>Gardnerella vag.</i> <i>Prevotella bivia</i> <i>Porphyromonas spp.</i>	<i>Atorobitum vaginae</i>	<i>Sneathia spp.</i> <i>Leptotrichia spp.</i> <i>Fusobacterium spp.</i>	сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Eubacterium spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>Peptostreptoc. spp.</i>
<i>Lactobacillus spp.</i>						-0,5	
<i>Akkermansia spp.</i>			-1			-0,6	
<i>Pseudomonas spp.</i>							0,5
<i>Staphylococcus spp.</i>	0,5	0,46	0,5	0,42	0,45	0,6	0,4
<i>Clostridium difficile</i>		0,4				0,6	
<i>Campylobacter spp.</i>		0,77					

### 3.2 Определение факторов риска развития кишечного дисбиоза и его клинических проявлений у беременных женщин

Для выявления факторов риска кишечного дисбиоза и его клинических проявлений у всех беременных основной и контрольной групп был проведен опрос на предмет наличия гастроэнтерологических жалоб. Беременными были отмечены: вздутие живота (у 40% от общего числа), нарушение стула: запоры и диарея (54%), 33% женщин предъявляли жалобы на тошноту, 7% - на изжогу. Следует отметить, что все жалобы были не специфическими, встречались с одинаковой частотой у пациенток как основной, так и контрольной групп и не зависели от степени дисбактериоза кишечника.

Результаты исследования (таблица 15) показали, что у женщин с хроническими заболеваниями желудочно-кишечного тракта имеется высокая вероятность развития дисбактериоза кишечника умеренной и тяжелой степени во время беременности (OR=13,1, 95%-доверительный интервал от 6,4 до 27,1,  $p < 0,001$ ).

Таблица 15 – Таблица сопряженности хронических заболеваний пищеварительной системы с выраженным дисбактериозом кишечника

		Дисбактериоз кишечника умеренной и тяжелой степени		Всего
		есть	нет	
Хронические заболевания ЖКТ	есть	45	15	60
	нет	26	114	140
Всего		71	129	200



### 3.3 Сравнительная характеристика уровня эндотоксинемии и интерлейкинов в группах исследования

С целью оценки возможного системного влияния дисбактериоза кишечника на организм беременных была исследована концентрация эндотоксина в сыворотке крови (рис.10).

Выявлено, что средний показатель уровня эндотоксинемии в основной группе составил  $0,54 \pm 0,02$  нмоль/мл и классифицировался как «повышенный». В то время как у беременных контрольной группы он составил  $0,31 \pm 0,02$  нмоль/мл и характеризовался как «низкий». Межгрупповые различия явились статистически значимыми ( $p < 0,001$ ).

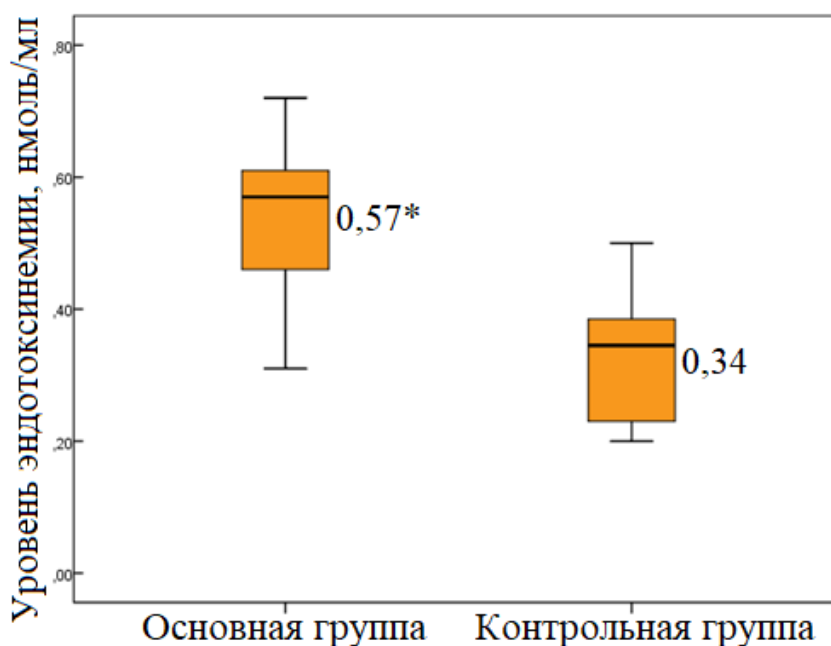


Рисунок 10 – Медианы уровня эндотоксинемии у беременных в сравниваемых группах, где \* – статистически значимые различия в сравнении с контролем ( $p < 0,001$ ).

Выявлена положительная корреляция ( $r=0,8$ ,  $p<0,001$ ) между степенью дисбактериоза кишечника и уровнем эндотоксина в крови (рис.11), что подтверждает роль нарушения микрофлоры кишечника в системной эндотоксинемии.

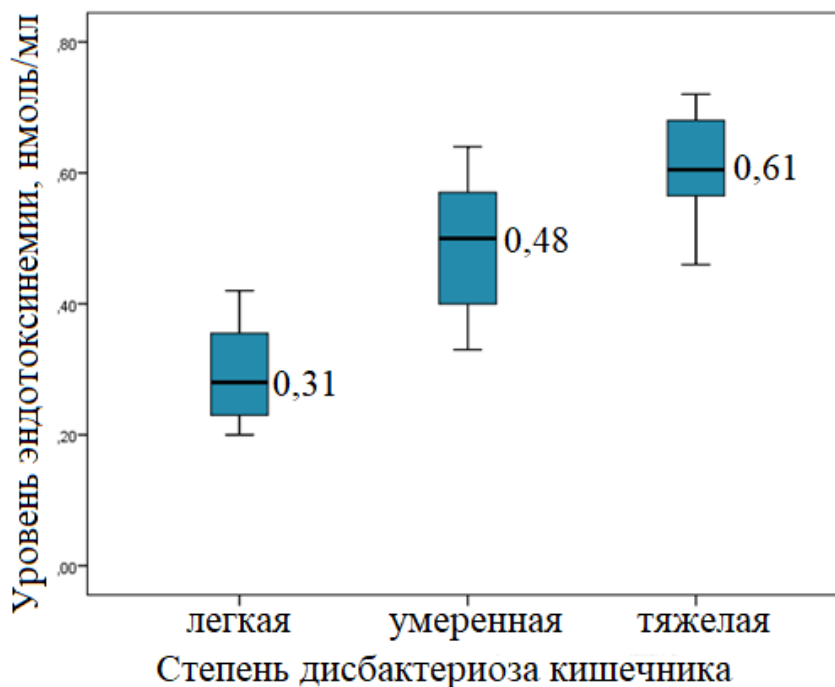


Рисунок 11 – Медианы уровня эндотоксинемии в зависимости от степени дисбактериоза кишечника.

Примечание: различия между показателями во всех группах были статистически значимыми ( $p<0,001$ ).

У женщин с дисбактериозом I степени средний уровень эндотоксина в сыворотке крови составил  $0,28\pm 0,01$  нмоль/л, II степени –  $0,46\pm 0,02$  нмоль/л, III степени –  $0,60\pm 0,02$  нмоль/л. Различия между показателями во всех группах были статистически значимыми ( $p<0,001$ ).

Такая взаимосвязь, прежде всего, обусловлена количеством микроорганизмов с высоким патогенным потенциалом. Отмечена положительная корреляция между уровнем эндотоксинемии и концентрацией условно-патогенных микроорганизмов: *Clostridium difficile* и *Streptococcus* spp. в кишечнике, *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp./*Fusobacterium* spp. и *Streptococcus* spp. во влагалище. А также выявлена умеренная отрицательная связь эндотоксинемии с *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. в кишечнике (таблица 16).

Таблица 16 – Результаты корреляции между уровнем эндотоксина и концентрацией микроорганизмов кишечного и вагинального биотопов у женщин обеих групп,  $r$

Пары признаков		Основная группа (n=74)	Контрольная группа (n=126)
Эндотоксин	<i>Bifidobacterium</i> spp. (киш.)	-0,4, p<0,05	-
Эндотоксин	<i>Lactobacillus</i> spp. (киш.)	-0,4, p<0,05	-
Эндотоксин	<i>Clostridium dif.</i> (киш.)	-	0,7, p<0,05
Эндотоксин	<i>Streptococcus</i> spp. (киш.)	0,7, p<0,05	-
Эндотоксин	<i>Sneathia</i> spp./ <i>Leptotrichia</i> spp./ <i>Fusobacterium</i> spp. (ваг.)	1,0, p<0,001	-
Эндотоксин	<i>Streptococcus</i> spp. (ваг.)	-	0,8, p<0,001

Анализ уровня цитокинов в сыворотке крови (таблица 17) выявил статистически значимое повышение концентрации провоспалительных цитокинов у пациентов основной группы (ИЛ-1 $\beta$  составил 4,9 $\pm$ 1,62 пг/мл, ИЛ-6 – 4,8 $\pm$ 1,55 пг/мл) на фоне более низкого показателя

противовоспалительного ИЛ-10 ( $18,0 \pm 4,50$  пг/мл) по сравнению с группой контроля ( $1,8 \pm 0,19$  пг/мл,  $2,1 \pm 0,17$  пг/мл,  $30,3 \pm 4,42$  пг/мл соответственно).

Таблица 17 – Показатели цитокинового профиля у беременных основной и контрольной групп,  $M \pm m$

Показатели цитокинового профиля, пг/мл	Основная группа (n=74)	Контрольная группа (n=126)	p-критерий
ИЛ-1 $\beta$	$4,9 \pm 1,62$	$1,8 \pm 0,19$	<b>&lt;0,001</b>
ИЛ-6	$4,8 \pm 1,55$	$2,1 \pm 0,17$	<b>&lt;0,05</b>
ИЛ-10	$18,0 \pm 4,50$	$30,3 \pm 4,42$	<b>&gt;0,5</b>

Анализ соотношений про- и противовоспалительных цитокинов показал смещение баланса в сторону продукции противовоспалительных цитокинов у пациентов обеих групп, что имеет благоприятное прогностическое значение для исхода беременности. Соотношение ИЛ-10/ИЛ-1 $\beta$  у пациенток основной группы в среднем составило  $9,1 \pm 2,42$ , ИЛ-10/ИЛ-6 –  $8,3 \pm 2,34$ , у пациенток контрольной группы  $21,3 \pm 4,21$  и  $13,9 \pm 2,59$  соответственно.

При оценке наличия взаимосвязей между показателями эндотоксина и цитокинов в сыворотке крови у обследованных женщин выявлена статистически значимая положительная корреляция между концентрацией эндотоксина и уровнем ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 ( $r=0,5$ ,  $p<0,05$ ), что свидетельствует о роли эндотоксина в активации иммунной системы по провоспалительному типу.

Таким образом, подтверждение вышеописанных связей доказывает предположение, что выраженные изменения кишечной микрофлоры

являются важными звеньями патогенеза невынашивания в первой половине беременности.

Анализ течения беременностей показал, что 14 (19%) женщин из основной группы были в дальнейшем повторно госпитализированы с диагнозом начавшийся самопроизвольный выкидыш. Три пациентки основной группы находились на стационарном лечении трижды, одна пациентка получала лечение 5 раз.

Среди беременных основной группы в пяти случаях (6,7%) была диагностирована неразвивающаяся беременность, в двух (2,7%) – полный самопроизвольный выкидыш, двум женщинам проводилась медикаментозная индукция выкидыша из-за преждевременного излития околоплодных вод во II триместре беременности. Различия между группами в плане неблагоприятных исходов беременности также явились статистически значимыми ( $p < 0,001$ ).

## ГЛАВА 4

### **ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ВЫЯВЛЕНИЮ И КОРРЕКЦИИ ДИСБАКТЕРИОЗА КИШЕЧНИКА В ПРЕГРАВИДАРНЫЙ ПЕРИОД И ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ**

Анализ результатов проведённого исследования показал, что во время беременности заболевания пищеварительной системы имеют немаловажное значение в структуре всей экстрагенитальной патологии. При этом изменения в организме женщины могут способствовать развитию (дебютированию), рецидиву или прогрессированию заболеваний желудочно-кишечного тракта, нарушению кишечной микрофлоры, что может осложнять течение гестационного периода и даже быть причиной репродуктивных потерь.

Результаты исследования, подтвердившие влияние дисбактериоза кишечника на течение первой половины беременности, а также анализ имеющихся современных научных данных, показали необходимость разработки мультидисциплинарного дифференцированного подхода к его выявлению и профилактике осложнений у женщин в прегравидарный период и в первой половине беременности.

В связи с этим было принято решение о создании в клинике акушерства и гинекологии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова нештатного центра по наблюдению и лечению беременных с заболеваниями желудочно-кишечного тракта с участием профильных специалистов второй кафедры (терапии усовершенствования врачей), что будет способствовать повышению эффективности оказания медицинской помощи и позволит значительно сократить вероятность обострения соматической патологии в течение беременности и возникновения акушерских осложнений.

#### **4.1 Диагностика дисбактериоза кишечника среди беременных и планирующих беременность женщин**

Учитывая отсутствие чётких клинических проявлений и патогномоничных симптомов нарушения микрофлоры кишечника у беременных (раздел 3.2), а также сравнительную дороговизну углубленного исследования кишечной микробиоты, ограничивающую его рутинное применение, решением проблемы диагностики кишечного дисбактериоза является активное выявление женщин группы риска.

С этой целью при сборе анамнеза необходимо уточнять наличие возможных факторов, способствующих формированию нарушений кишечной микрофлоры. Общеизвестными являются: неполноценное в качественном и количественном отношении питание, острые кишечные инфекции, хирургические вмешательства, прием лекарственных препаратов (антибиотики, цитостатики, гормонотерапия), эндокринные расстройства, нарушения иммунного статуса, чрезмерные физические и психоэмоциональные перегрузки.

Особое внимание следует уделять выявлению заболеваний желудочно-кишечного тракта, которые существенно ухудшают не только качество жизни во время беременности, но и достоверно (раздел 3.2) сопровождаются нарушениями кишечной микрофлоры ( $OR=13,1$ ,  $p<0,001$ ), способствуют увеличению риска невынашивания беременности.

Учитывая наличие положительной корреляции между состоянием микрофлоры влагалища и кишечника (раздел 3.1), выявление дисбиоза влагалища может служить признаком нарушения кишечной микрофлоры.

Таким образом, у беременных или женщин, планирующих беременность, наличие дисбиоза влагалища, хронических заболеваний ЖКТ и других факторов, способствующих формированию дисбактериоза кишечника, является основанием для проведения исследования кишечной микрофлоры.

Согласно протоколу ведения больных с дисбактериозом кишечника [77] решающее значение при постановке данного диагноза имеют микробиологические показатели, определяемые культуральным методом («золотой стандарт» при исследовании кишечного микробиоценоза). Однако данный метод имеет ряд недостатков: трудоемкость, дороговизна, долговременность (до 10 суток для получения результатов) и довольно узкий диапазон исследования (лишь небольшая фракция бактерий, которые могут быть культивированы, – менее 10% микроорганизмов, заселяющих толстую кишку). Поэтому в настоящее время все большую распространенность получают молекулярно-генетические методы (полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, хроматография и секвенирование), которые позволяют быстро и с высокой точностью идентифицировать микроорганизмы, населяющие разные биотопы, в том числе кишечный. Метод полногеномного секвенирования является самым точным молекулярно-генетическим методом, который позволяет идентифицировать не только видовое разнообразие в исходном образце, но и оценивать их количественные соотношения и биологические функции. Недостатками метода, на данный момент, являются его высокая стоимость и относительная сложность анализа полученной информации, необходимость значительной технологической базы, что пока ограничивает применение метода в клинической практике.

Альтернативным и более доступным исследованием, с высокой чувствительностью и специфичностью, возможностью автоматизации и быстрого получения результата, является полимеразная цепная реакция в режиме реального времени. Исследование позволяет выполнить качественный и количественный анализ около  $56 \pm 11\%$  бактериальных таксонов кишечной микрофлоры от общего микробного пула. ПЦР в режиме реального времени дает возможность достаточно полно охарактеризовать изменения состава кишечной микробиоты и указать на предрасположенность или наличие определенных заболеваний у человека.



В данном исследовании впервые у беременных женщин была проведена комплексная оценка микрофлоры кишечника с использованием ПЦР в режиме реального времени. На основании сравнительного анализа установлено, что внедрение и активное использование метода в диагностике нарушений микрофлоры влагалища и кишечника позволяет быстро и с высокой точностью идентифицировать большинство микроорганизмов и имеет явное преимущество перед микроскопическим или бактериологическим методами исследования. На этапе прегравидарной подготовки или во время беременности для выявления дисбиоза вагинального или кишечного биотопов целесообразно применять метод ПЦР в режиме реального времени.

Недостатком использования метода ПЦР в режиме реального времени для анализа кишечной микрофлоры является отсутствие комплексной оценки состояния микробиоценоза кишечника.

Для решения этой проблемы была усовершенствована классификация (рационализаторское предложение № 919 от 08.07.2021 г.), утвержденная приказом МЗ РФ от 9 июня 2003 г. № 231 [77], за счет дополнения данных из рабочей инструкции по исследованию микробиоты толстой кишки методом ПЦР в режиме реального времени [78]:

- 1) I степень (легкая) – появление УПМ в количестве менее  $10^4$  копий ДНК/мл на фоне дефицита представителей облигатной микрофлоры менее, чем на 2 порядка;
- 2) II степень (умеренная) – наличие УПМ в количестве  $>10^4$  копий ДНК/мл, но  $<10^6$  копий ДНК/мл при снижении облигатной микрофлоры более, чем на 2 порядка;
- 3) III степень (тяжелая) – избыточный рост ассоциаций УПМ ( $>10^6$  копий ДНК/мл) при выраженном дефиците облигатной микрофлоры более, чем на 2 порядка.

Валидность данной классификации может быть подтверждена при сопоставлении степени нарушения микрофлоры кишечника и уровня

эндотоксинемии. Средний уровень эндотоксина в сыворотке крови при I степени дисбактериоза кишечника составил  $0,28 \pm 0,01$  нмоль/л и классифицировался как «низкий». Умеренный дисбактериоз отмечался «повышенным» показателем эндотоксинемии –  $0,46 \pm 0,02$  нмоль/л, а для тяжелого дисбактериоза были характерны «высокие» значения –  $0,60 \pm 0,02$  нмоль/л в среднем. Различия между показателями во всех группах были статистически значимыми ( $p < 0,001$ ).

#### **4.2 Дифференцированный подход к коррекции дисбактериоза кишечника**

В результате исследования (раздел 3.1) установлено, что дисбактериоз кишечника I степени можно считать физиологической нормой беременности, а наличие умеренного или тяжелого дисбактериоза кишечника является фактором риска невынашивания беременности ( $OR=37,3$ ,  $p < 0,001$ ).

В связи с этим беременным или планирующим беременность женщинам из группы риска (наличие дисбиоза влагалища, хронических заболеваний ЖКТ, других факторов, способствующих формированию дисбактериоза кишечника, указанных в разделе 4.1) целесообразно проведение исследования кишечной микрофлоры методом ПЦР в режиме реального времени.

Диагностирование выраженного дисбактериоза кишечника (умеренная или тяжелая степень): повышение концентрации УПМ (*Clostridium difficile*, семейство *Campylobacteriaceae*, *Enterobacter* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp.) более  $10^4$  копий ДНК/мл и снижение облигатной микрофлоры (прежде всего *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp.) более, чем на 2 порядка относительно референтных значений, является показанием для консультации гастроэнтеролога с последующей коррекцией дисбиотических изменений.

Выявление у беременных дисбактериоза кишечника I степени не требует назначения специального лечения.

При выявлении у пациенток дисбиоза влагалища в сочетании с хроническими заболеваниями ЖКТ и другими факторами риска (раздел 4.1), оправдано назначение терапии, направленной на нормализацию кишечной микрофлоры без микробиологической верификации кишечного дисбактериоза, в связи с его высокой вероятностью (OR=9,2,  $p<0,05$ ).

Принимая во внимание, что эндотоксинемия, возникающая в результате выраженных изменений кишечной микрофлоры, может являться важным звеном в патогенезе невынашивания беременности (раздел 3.3), при планировании беременности у женщин с репродуктивными потерями в анамнезе, может быть рекомендовано исследование микробиоценоза кишечника (при исключении других возможных причин невынашивания).

Алгоритм дифференцированного подхода к коррекции дисбактериоза кишечника у женщин в период прегравидарной подготовки и в течение первой половины беременности представлен на рисунке 12.

Практическое использование алгоритма будет способствовать предотвращению осложненного течения беременности и сокращению спонтанных репродуктивных потерь в первой половине беременности.

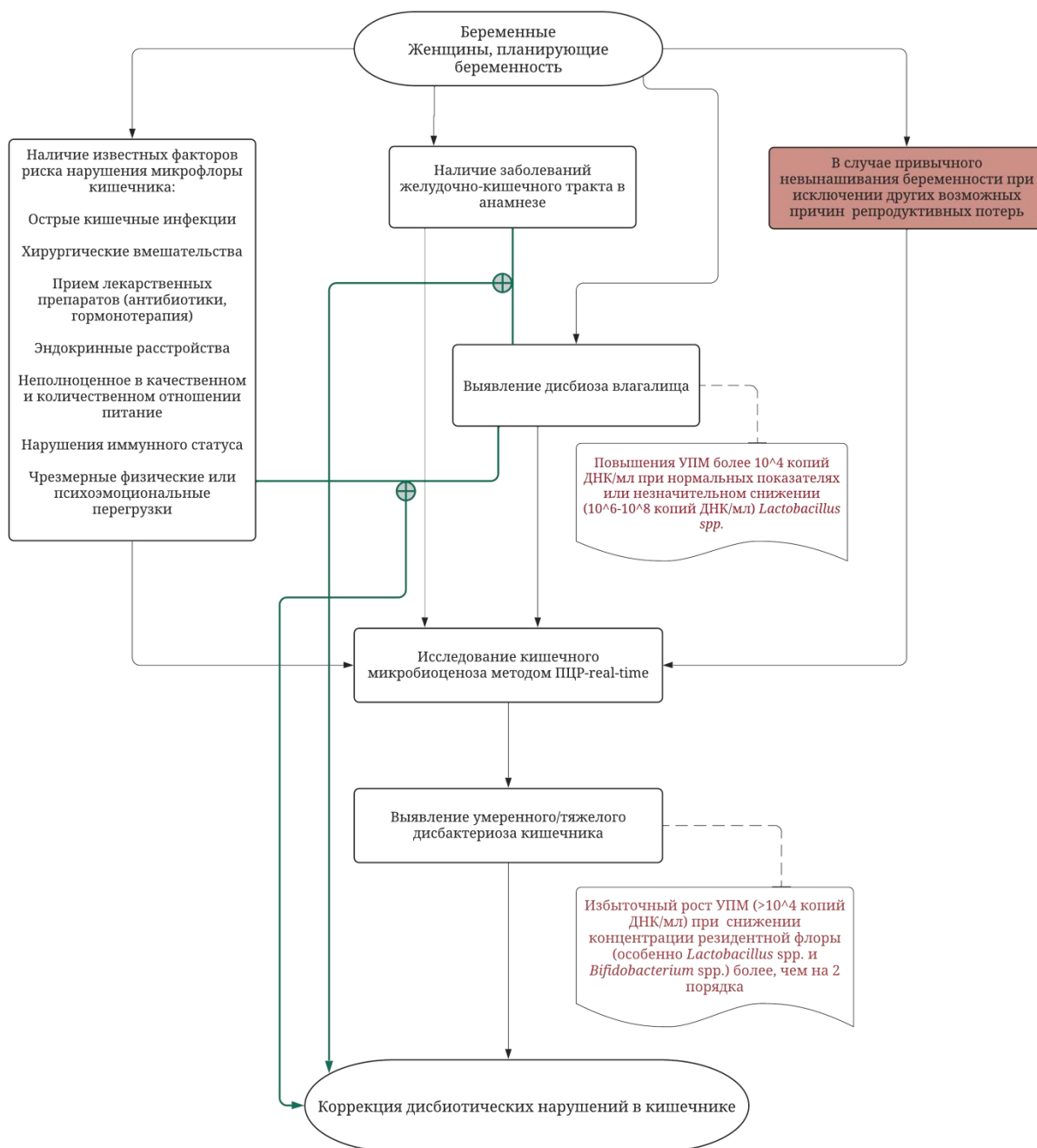


Рисунок 12 – Алгоритм дифференцированного комплексного подхода к коррекции дисбактериоза кишечника у женщин в период прегравидарной подготовки и в течение первой половины беременности.

## ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Диссертационное исследование посвящено изучению актуальной проблемы современной гинекологии, а именно поиску возможных причин невынашивания беременности. Согласно современным данным, несмотря на большое количество исследований, внедряемых новых методов диагностики и лечения, процент ранних репродуктивных потерь не имеет тенденции к снижению [14, 20, 89, 102]. В то же время в научном сообществе ведется активное обсуждение влияния микрофлоры кишечника на различные органы и системы органов, появляются новые данные о ее роли в патогенезе многих заболеваний [127, 131, 145, 172, 196, 207]. Учитывая, что беременность является предрасполагающим фактором для нарушения микрофлоры кишечника [68], а также наличие установленной связи дисбиоза влагалища с патологическим течением беременности [58, 79, 106] и ассоциации дисбиоза влагалища и кишечника [45, 49, 76, 84, 93], было выдвинуто предположение о возможной роли дисбактериоза кишечника в невынашивании беременности.

Для подтверждения этого предположения были обследованы 200 беременных женщин и сформированы две однородные репрезентативные группы: основная – 74 пациентки с начавшимся самопроизвольным выкидышем и контрольная – 126 женщины с нормально протекающей беременностью. Наряду со стандартными методиками, в работе были использованы активно внедряемые молекулярно-генетические методы диагностики (ПЦР в режиме реального времени), что имеет неоспоримое преимущество в виде простоты исполнения, возможности полной автоматизации, скорости получения результатов.

Из 200 обследованных беременных нормоценоз кишечника не был выявлен ни в одном случае, при этом в 64,5% (n=129) случаев нарушения соответствовали I степени дисбактериоза, в 26,5% (n=53) – II степени и в 9% (n=18) – III степени. В исследовании Гапон М.Н. и соавт. также было установлено, что дисбактериоз кишечника присутствовал у 100% обследованных беременных и лишь в 35% случаев у небеременных женщин [25]. Нарушение микрофлоры кишечника было

выявлено у всех беременных и в работе Сейтхановой Б.Т.: у 23,5% женщин был диагностирован дисбактериоз кишечника I степени, у 60,8% – II степени, у 15,7% – III степени [90].

Оценивая качественный и количественный состав кишечной микрофлоры, было выявлено, что у всех беременных он характеризуется снижением концентрации представителей нормофлоры, а в 35,5% случаев, помимо этого, отмечалось увеличение концентрации условно-патогенных микроорганизмов.

По данным Полищук И.С. и соавт., микробиоценоз у беременных женщин также характеризовался низким содержанием бифидобактерий и высокой численностью УПМ, среди которых чаще всего встречались бактерии рода *Clostridium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, атипичные эшерихии и энтерококки [74]. Сейтхановой Б.Т. были диагностированы изменения кишечного микробиоценоза, выразившиеся в снижении количественного уровня основных компонентов защитной флоры (лакто- и бифидобактерии) и более высокой концентрации УПМ [90]. В исследованиях Koren O. [163] и Liu J. [164] по изучению микробиоты кишечника здоровых беременных с I по III триместр было обнаружено увеличение количества *Actinobacteria* и *Proteobacteria* и уменьшение количества *Faecalibacterium*. В исследовании Zhang D. [207] подтверждается, что кишечная микрофлора во время беременности подвергается значительным изменениям, некоторые из которых направлены на поддержание нормального течения гестационного периода (например, селективное изменение микрофлоры поддерживает нормальный уровень глюкозы и инсулина в сыворотке крови). Но существуют экзогенные и эндогенные факторы, которые приводят к существенному дисбалансу в составе кишечной микробиоты и могут стать причиной таких осложнений, как самопроизвольное прерывание беременности, преэклампсия, задержка внутриутробного развития [142, 180, 181, 182, 187, 191, 195, 206].

Подтверждением этому является как раз один из результатов нашего исследования: сравнительный анализ показал, что у женщин с начавшимся самопроизвольным выкидышем достоверно чаще был диагностирован

дисбактериоз кишечника умеренной или тяжелой степени ( $OR=37,3$ ,  $p<0,001$ ). В этой же группе отмечены дисбиотические изменения влагалищной микрофлоры, которые имели прямопропорциональную зависимость от степени дисбактериоза кишечника ( $r=0,4$ ,  $p=0,04$ ), что еще раз доказывает наличие межбиотических взаимодействий.

Анализ микробиоценоза пищеварительного тракта у женщин с невынашиванием беременности проводился в работе Савченко Т.Н. и соавт.: дисбактериоз кишечника диагностирован у 84% беременных с клиникой начавшегося выкидыша (I-я подгруппа), у 95,7% пациенток с прервавшейся беременностью (II-я подгруппа) и у 55% здоровых беременных (группа сравнения). Дисбактериоз кишечника III степени в I-й и II-й подгруппах выявлялся достоверно чаще ( $p<0,05$ ), чем в группе сравнения (показатели составили 25,3%, 34,1% и 5,0% соответственно) [88]. Дисбиотические нарушения кишечной микрофлоры у беременных с невынашиванием беременности также были выявлены в исследовании Афанасьева С.С. и соавт. [69]. Они характеризовались достоверным уменьшением числа кишечной палочки с нормальными ферментативными свойствами, лактобацилл и бифидобактерий и увеличением концентрации кишечной палочки со слабо выраженными ферментативными свойствами, энтерококков, клостридий и клебсиелл. По мнению авторов, оценка состояния микробиоценоза кишечника, как показателя общей реактивности организма беременной женщины, может быть способом прогнозирования гестационных осложнений. В исследовании Субханкуловой С.Ф. [99] установлено, что констипация, которая была выявлена у 63-75% беременных, сопровождалась нарушением микробиоценоза толстой кишки и была достоверно ассоциирована с ранним токсикозом, угрозой прерывания беременности, аномалиями родовой деятельности.

В работе Carla R. Taddei et al. показано, что возникновение или обострение акушерских и/или системных заболеваний у беременных женщин ассоциировано с низким микробным разнообразием, увеличением количества патогенных представителей типа Firmicutes и Proteobacteria phyla и уменьшением

эубиотических бактерий, таких как *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* и *Akkermansia* в кишечной микробиоте [131]. Работа Baldassarre M.E. et al. свидетельствует, что дисбиоз кишечника связан с высоким риском невынашивания беременности, преждевременных родов и неблагоприятными исходами недоношенности новорожденного: непереносимость питания, некротический энтероколит и поздний сепсис [127]. Патент Рухляда Н.Н. и соавт. подтверждает, что выявление вагинального и кишечного дисбиозов у беременных ассоциируется с развитием осложнений гестационного периода [71].

Результаты о корреляции вагинального и кишечного микробиоценозов были получены в ряде научных исследований [1, 42, 59, 76, 90].

Научной новизной проведенного исследования являются данные о взаимосвязи хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта с выраженными нарушениями кишечной микрофлоры (умеренный и тяжелый дисбактериоз) во время беременности (OR=13,1,  $p<0,001$ ), которые способствуют увеличению риска невынашивания беременности. Аналогичные данные, но в отношении небеременных женщин, были получены в исследовании Карпеева С.А. [38]: наличие заболеваний органов пищеварения, таких как хронический гастрит, гастроэзофагальная рефлюксная болезнь, синдром раздраженного кишечника с преобладанием запоров или диареи приводит к нарушению микрофлоры кишечника и ассоциируется с риском привычного невынашивания беременности.

Подтверждением роли дисбактериоза кишечника в патогенезе ранних репродуктивных потерь является наличие положительной корреляции между степенью дисбактериоза кишечника и уровнем эндотоксинемии ( $r=0,8$ ,  $p<0,001$ ), которая вызывает активацию иммунной системы по провоспалительному типу, о чем свидетельствует положительная корреляция с концентрациями ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 ( $r=0,5$ ,  $p<0,05$ ).

Несколько исследований были направлены на изучение влияния эндотоксинемии на течение беременности. Например, в работе Кузнецовой О.А. [48] эндотоксинемия была выявлена у всех пациенток с неразвивающейся беременностью, причем у каждой десятой (9,6%) в высокой концентрации.



Данные изменения сопровождались достоверным увеличением ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 и снижением ИЛ-6 в сыворотке крови. По мнению автора, наличие эндотоксинемии у беременных следует рассматривать как маркер неблагополучия в ранние сроки. Субханкулова С.Ф. оценивала уровень эндотоксина у беременных, страдающих запорами: его повышенный уровень –  $1,53 \pm 0,1$  EU/мл (более, чем в два раза по сравнению со здоровыми беременными –  $0,65 \pm 0,005$  EU/мл,  $p < 0,05$ ) ассоциировался с осложненным течением гестационного периода [100]. В исследовании Di Simone N. et al. подтверждается, что аномальная бактериальная транслокация через кишечный эпителий, связанная с повышенной концентрацией ЛПС, на ранних сроках беременности ассоциирована с повышенным уровнем цитокинов и инфламмасом в эндометрии, что увеличивает риск возникновения осложнений беременности [138].

Целью ряда отечественных и зарубежных работ было изучение влияния эндотоксинемии на течение поздних сроков беременности. Работа Еникеева А.Н. [29] описывает этиопатогенетическую роль бактериального ЛПС в формировании гестоза и плацентарной недостаточности в III триместре беременности в связи с определением высоких плазменных концентраций эндотоксина (свыше 4,0 EU/мл) на фоне увеличения уровня ИЛ-2, ИНФ- $\gamma$  и снижения ИЛ-10 и ИЛ-4 у данной категории женщин. Роль эндотоксина в развитии преэклампсии была подтверждена в работе Wang J. [201]: авторами был выявлен дисбактериоз кишечной микрофлоры и высокие концентрации ЛПС в плазме крови и фекалиях. В исследовании Бондаренко К.Р. было выявлено, что патологическое течение второй половины беременности сопряжено с увеличением плазменной концентрации липополисахаридов, активацией антиэндотоксиновых иммунных механизмов и инфекционно-воспалительными сдвигами общеклинических лабораторных показателей гомеостаза [13]. Имеются данные о влиянии повышенных показателей уровня эндотоксинемии на структурные изменения в плаценте (минерализация и некроз) [143], развитие синдрома задержки внутриутробного развития плода [171], преждевременных родов, хориоамнионита [169]. Приводятся данные о его возможном тератогенном влиянии (в

экспериментальных условиях введение высоких концентраций ЛПС приводило к анэнцефалии и порокам развития глаз у потомства) [132].

Результаты проведенного исследования и анализ современных научных данных, подтвердившие влияние дисбактериоза кишечника на течение первой половины беременности, показали необходимость мультидисциплинарного дифференцированного подхода к его выявлению и профилактике осложнений у женщин в прегравидарный период и в первой половине беременности. В разработанном алгоритме представлены группы риска, предлагается доступный и эффективный способ диагностики дисбактериоза кишечника, его комплексная оценка, а также описаны диагностические критерии, при которых требуется коррекция. Его внедрение и активное использование в практической деятельности будут способствовать предотвращению осложненного течения беременности, сокращению неблагоприятных исходов беременности и улучшению демографической ситуации в целом.

## ВЫВОДЫ

1. Выявление дисбактериоза кишечника I степени и снижение интенсивности колонизации толстой кишки нормофлорой у 90,5% женщин контрольной группы позволяет считать данные изменения кишечной микрофлоры физиологическими для первой половины беременности.

2. У пациенток с начавшимся самопроизвольным выкидышем зарегистрированы более выраженные изменения кишечной микрофлоры по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ): дисбактериоз кишечника II степени – у 55,4%, III степени – у 24,3%, снижение числа представителей резидентной микрофлоры и повышение концентрации условно-патогенных микроорганизмов. Полученные результаты позволяют отнести умеренный и тяжелый дисбактериоз кишечника к факторам риска невынашивания в первой половине беременности ( $OR = 37,3$ ,  $p < 0,001$ ).

3. Отмечено преобладание дисбиотических изменений микрофлоры влагалища среди беременных основной группы (у 59,5%,  $n = 44$ ) по сравнению с группой контроля (у 8%,  $n = 10$ ,  $p < 0,001$ ). Высокий уровень клинически значимых условно-патогенных микроорганизмов в вагинальном биотопе был диагностирован на фоне дефицита нормофлоры и высокой концентрации УПМ в кишечном биоценозе. Выявлена положительная корреляция между состоянием микрофлоры влагалища и кишечника ( $r = 0,4$ ,  $p = 0,04$ ), что указывает на важную роль дисбактериоза кишечника в патогенезе невынашивания беременности.

4. В первой половине беременности дисбактериоз кишечника характеризуется бессимптомным течением, все жалобы являются не специфическими, встречаются с одинаковой частотой у пациенток как основной, так и контрольной групп и не зависят от степени дисбактериоза кишечника. У женщин с хроническими заболеваниями пищеварительной системы имеется высокая вероятность развития выраженного дисбактериоза кишечника во время беременности: из 60 беременных с сопутствующей патологией ЖКТ у 45 была

выявлена умеренная и тяжелая степень микробиологических нарушений в кишке (OR=13,1,  $p<0,001$ ).

5. У женщин с угрозой прерывания беременности диагностировано превышение среднего уровня эндотоксинемии относительно контрольных значений ( $0,54\pm 0,02$  нмоль/мл и  $0,31\pm 0,02$  нмоль/мл соответственно,  $p<0,001$ ), зарегистрировано статистически значимое повышение уровня провоспалительных ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и снижение противовоспалительного ИЛ-10. Выявлена прямая сильная корреляция между степенью дисбактериоза кишечника и уровнем эндотоксинемии ( $r=0,8$ ,  $p<0,001$ ). Эндотоксинемия вызывает активацию иммунной системы по провоспалительному типу, что подтверждает выявление прямой корреляции между концентрацией эндотоксина в крови и уровнем ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 ( $r=0,5$ ,  $p<0,05$ ).

6. Результаты исследования позволяют считать выраженные изменения кишечной микрофлоры важными звеньями патогенеза невынашивания в первой половине беременности, которые, в совокупности с современными научными данными, позволили разработать и предложить для практики алгоритм диагностики и дифференцированный подход к профилактике кишечного дисбактериоза у беременных женщин, направленный на сокращение спонтанных репродуктивных потерь.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При сборе анамнеза у беременных или женщин, планирующих беременность, необходимо акцентировать внимание на выявлении заболеваний желудочно-кишечного тракта. В случае наличия гастроэнтерологической патологии рекомендуется исследование кишечного микробиоценоза.

2. В случае выявления дисбиоза влагалища у беременных целесообразно исследование кишечной микрофлоры.

3. С целью оценки влагалищной и кишечной микрофлоры на этапе прегравидарной подготовки или во время беременности оптимальным является метод ПЦР в режиме реального времени, который имеет преимущество в скорости получения результата и диагностической значимости для выявления дисбиоза, позволяя оценить качественную и количественную составляющую микробиома.

4. У беременных с дисбиозом влагалища и факторами риска дисбактериоза кишечника (в том числе наличие хронических заболеваний ЖКТ) коррекция дисбиотических нарушений кишечника может осуществляться без микробиологической верификации кишечного дисбактериоза.

5. У женщин с повторными репродуктивными потерями в анамнезе, в случае исключения основных причин невынашивания беременности, целесообразно исследование микробиоценоза кишечника с целью исключения дисбактериоза.

6. Выявление у беременных умеренного и тяжелого дисбактериоза кишечника является показанием для консультации гастроэнтеролога с целью назначения соответствующей терапии.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

- БВ – бактериальный вагиноз
- ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ДПК – двенадцатиперстная кишка
- ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
- ИЛ – интерлейкин
- ИФН – интерферон
- КОЕ – колониеобразующая единица
- ЛПС – липополисахарид
- МЗ РФ – Министерство здравоохранения Российской Федерации
- НБ – невынашивание беременности
- ООО «НПО ДНК-технология» – общество с ограниченной ответственностью «Научно-производственное объединение ДНК-технология»
- ПИБФ – прогестерониндуцированный блокирующий фактор
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- рРНК – рибосомная РНК
- США – Соединенные Штаты Америки
- ТТГ – тиреотропный гормон
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- УПМ – условно-патогенная микрофлора
- ФГБВОУ ВО – Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования
- ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли-альфа
- ХГЧ – хорионический гонадотропин человека
- ЭКГ – электрокардиограмма
- НМР – Human Microbiome Project

LBP – lipopolysaccharide-binding protein (липополисахарид-связывающий белок)

LPS – lipopolysaccharide (липополисахарид)

MetaHIT – Metagenomics of Human Intestinal Tract

Nf- $\kappa$ B – nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells  
(универсальный фактор транскрипции, контролирующей экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла)

NK-клетки – натуральные киллеры

PAPP-A – pregnancy-associated plasma protein-A (ассоциированный с беременностью протеин-A)

Th1,2 – Т-хелперы 1 и 2 типа

TLR – toll-like receptors (толл-подобные рецепторы)

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Айламазян, Э.К. Микробиота женщины и исходы беременности / Э.К. Айламазян, Е.В. Шипицына, А.М. Савичева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – Т.LXV, № 4. – С.6-14.
2. Аксёнов, Д.В. Вода камень точит / Д.В. Аксёнов, Н.Г. Алимова // Status Praesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак. - 2020. – Т. 1, № 64. - С. 71-76.
3. Алешкин, В.А. Иммунология репродукции: пособие для врачей, ординаторов и научных работников / В.А. Алешкин, А.Н. Ложкина, Э.Д. Загородняя. – Чита, 2004. – 79 с.
4. Амирова, Ж.С. Система цитокинов у беременных с персистирующей и рецидивирующей угрозой прерывания беременности / Ж.С. Амирова // Вестник новых медицинских технологий. – 2006. – Т.13, № 4. – С.66-67.
5. Аниховская, И.А. Кишечный эндотоксин и стресс в адаптации и старении / И.А. Аниховская, И.М. Салахов, М.Ю. Яковлев // Вестник РАЕН. - 2016. - Т. 16., № 1. - С. 19-24.
6. Ардатская, М.Д. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника: современное состояние проблемы, комплексная диагностика и лечебная коррекция / М.Д. Ардатская, С.В. Бельмер, В.П. Добрица [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2015. – Т. 5, №117. – С. 13-50
7. Аржанова, О.Н. Этиопатогенез невынашивания беременности / О.Н. Аржанова, Н.Г. Кошелева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2004. - Том LIII, №1. – С. 37-40.
8. Беременность ранних сроков. От прегравидарной подготовки к здоровой гестации. Под ред. Радзинского В.Е., Оразмурадова А.А. Москва: Редакция журнала Status Praesens, 2018; 800 с.
9. Бескровный, С.В. Патогенетические подходы к профилактике и терапии различных форм гормонального невынашивания беременности ранних



сроков / С.В. Бескровный, Д.И. Гайворонских, Г.В. Долгов [и др.] // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2012. – Т. 4, №49. – С. 284-288.

10. Бондаренко, В.М. Механизмы транслокации бактериальной аутофлоры в развитии эндогенной инфекции / В.М. Бондаренко // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2013. - №3. – С. 1-21.

11. Бондаренко, В.М. Определение эндотоксина грамотрицательных бактерий в крови человека / В.М. Бондаренко, В.Г. Лиходед, М.Ю. Яковлев // Микробиология. – 2002. – №2. – С. 83-89.

12. Бондаренко, К.Р. Возможности профилактики поздних акушерских осложнений путем коррекции эндогенной микробиоты / К.Р. Бондаренко, Ю.Э. Доброхотова, М.Ю. Новик // Медицинский алфавит. – 2017. – Т. 3, №320. – С.6-14.

13. Бондаренко, К.Р. Поздние акушерские осложнения, ассоциированные с грамотрицательными бактериальными инфекциями. Патогенез, клиника, диагностика и профилактика: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук: 14.01.01/ Бондаренко Карина Рустамовна – Москва, 2017. – 48 с.

14. Боровкова, Е.И. Самопроизвольный выкидыш: состояние изученности вопроса / Е.И. Боровкова, И.В. Мартынова // Научно-практический журнал «Исследования и практика в медицине». – 2014. – Т. 1, №1 – С. 52-56.

15. Боровкова, Л.В. Влияние СКЭНАР-терапии на систему провоспалительных цитокинов при невынашивании беременности инфекционного генеза / Л.В. Боровкова, С.О. Колобова // Медицинский альманах. 2008. - №3. – С. 150-153.

16. Бронивец, И.Н. Дисбактериоз кишечника: диагностика, профилактика и лечение / И.Н. Бронивец // Медицинские новости. – 2016. - № 11. – С. 56-58.

17. Булатова, Е. Кишечная микробиота: современные представления / Е. Булатова, Н. Богданова, Е. Лобанова // Педиатрия. – 2009. – Т.87, №3. – С.104-110.

18. Бурков, С.Г. Запоры беременных: современный взгляд на проблему / С.Г. Бурков // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2017. –Т. 8, №144. - С. 97-100.

19. Вартанян, Э.А. Проблемы организации предгравидарной подготовки и ведения беременности у женщин с привычным невынашиванием в структуре первичной медико-санитарной помощи / Э.А. Вартанян, О.В. Гриднев, А.В. Белостоцкий [и др.] // Научно-практический журнал «Исследования и практика в медицине». – 2016. – Т.3, №4. – С. 27-32.

20. Ведищев, С.И. Современные представления о причинах невынашивания беременности / С.И. Ведищев, А.Ю. Прокопов, У.В. Жабина [и др.] // Вестник ТГУ. - 2013. – Т.18, №4. – С. 1309-1312.

21. Вознюк, В.П. Патология гемостаза и невынашивание беременности / В.П. Вознюк, С.В. Бурнаева, Е.П. Вдовина, А.С. Янюта // Здоровье женщины. - 2018. – Т. 10, №136. - С. 65.

22. Воронова, Ю.В. Дисбиоз влагалища: современные аспекты диагностики и лечения / Ю.В. Воронова // Дальневосточный медицинский журнал. - 2014. - №2. - С.35-40.

23. Вялов, С.С. Эффективность комплексных пробиотиков при запорах у беременных женщин / С.С. Вялов, И.Г. Бакулин, А.Б. Хурасева [и др.] // Архивъ внутренней медицины. – 2013. – Т. 1, №9. – С. 14-18.

24. Гайсина, Ю.Р. Эндотоксинемия и влияние микробных липополисахаридов на систему гемостаза у женщин с бактериальным вагинозом / Ю.Р. Гайсина, Ю.А. Ахмадуллина, А.Ж. Гильманов [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. - Т.6, № 3. – С. 155-159.

25. Гапон, М.Н. Местный цитокиновый статус у беременных с дисбактериозом кишечника / М.Н. Гапон, В.Я. Зарубинский, И.С. Полищук и др. // Medicus. – 2016. – Т.6, №12. - С.58-61.

26. Гомберг, М.А. Бактериальный вагиноз и новые инфекции, с ним ассоциированные / М.А. Гомберг // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2010. - № 2. – С. 32-34.

27. Гродницкая, Е.Э. Микробиоценоз влагалища и пути его коррекции у женщин с самопроизвольным прерыванием беременности в поздние сроки гестации в анамнезе / Е.Э. Гродницкая, М.Б. Шаманова, О.С.Палей [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2011. – № 1. – С. 22-25.
28. Доброхотова, Ю.Э. Инфекционные аспекты невынашивания / Ю.Э. Доброхотова. – М, 2005. – 16 с.
29. Еникеев, А.Н. Роль бактериальных эндотоксинов в этиологии и патогенезе осложнений гестационного периода: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01, 14.03.09 / Еникеев Аскар Наилевич – Уфа, 2012. – 23 с.
30. Ермоленко, Е.И. Потенциальное влияние эндотоксина и масляной кислоты на сократительную активность толстой кишки при экспериментальном дисбиозе / Е.И. Ермоленко, Л.Б. Захарова, Е.Н. Парийская // Здоровье - основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. – 2018. – Т.13, №2. – С.1012-1024.
31. Жуковская, И.Г. Особенности течения и исходы беременности у женщин с различными видами диспептических расстройств / И.Г. Жуковская, Е.А. Сандакова, Е.А. Садовниченко // Лечение и профилактика. – 2018. – Т.8, № 2. – С. 9-14.
32. Завгородняя, Е.Ф. Дисбактериоз кишечника (обзор)/ Е.Ф. Завгородняя // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2010. - №16. – С.131-141.
33. Зверева, В.А. Особенности течения беременности и перинатальные показатели у женщин с привычным невынашиванием беременности / В.А. Зверева, А.А. Лаптева, А.С. Розова [и др.] // Молодёжь, наука, медицина. Материалы 65-й Всероссийской межвузовской студенческой научной конференции с международным участием, Тверь – 2019. – С. 385-386.
34. Землянова, Е.В. Потери потенциальных рождений в России из-за проблем, связанных со здоровьем [Электронный ресурс] / Е.В. Землянова // Электронный научный журнал «Социальные аспекты здоровья населения». – 2016. – Т.2, №48. Режим доступа: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/742/30/>

35. Иванова, А.А. Нестероидные противовоспалительные средства у беременных женщин: риски развития нежелательных явлений / А.А. Иванова, А.С. Колбин // Педиатрическая фармакология. – 2011. - Т.8, №3. – С. 58-64.

36. Камінський, В.В. Роль мікст-інфекцій при патологічних процесах залозистого епітелію статевих органів з атипією клітин неясного генезу у жінок з безплідністю / В.В. Камінський, В.В. Суменко, О.Я. Бондарук, О.І. Гак // Здоровье женщины. – 2019. – Т.8, №144. – С. 58–63.

37. Канева, Ф.М. Особенности состояния гемостаза у женщин с невынашиванием беременности / Ф.М. Канева, А.Л. Фролов [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. - № 8. – С.37-41.

38. Карпеев, С.А. Малоизученные аспекты привычного невынашивания беременности / С.А. Карпеев // Сборник работ, посвященный 35-летию ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова». – 2015. – С.69-85

39. Кательникова, А.Е. Перспективы использования лекарственных средств на основе гидробионтов в лечении респираторных вирусных инфекций и их осложнений/ А.Е. Кательникова, В.Г. Макаров, В.В. Воробьева [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15, №1. – С.3-13

40. Кира, Е.Ф. Бактериальный вагиноз / Е.Ф. Кира. – М: ООО «Медицинское информационное агентство», 2012. – 472 с.

41. Кира, Е.Ф. Микробиоценоз и локальный иммунологический статус влагалища / Е.Ф. Кира, Ю.В. Халтурина //Российский вестник акушера-гинеколога. – 2018. – Т.18, №2. – С. 52-64.

42. Кира, Е.Ф. Пробиотики в восстановлении микробиоценоза влагалища / Е.Ф. Кира // Акушерство и гинекология. – 2017. - №5. – С. 32-38.

43. Кожевников, А.А. Кишечная микробиота: современные представления о видовом составе, функциях и методах исследования / А.А. Кожевников, К.В. Раскина, Е.Ю. Мартынова [и др.] // РМЖ. – 2017. – № 17. – С. 1244–1247.

44. Кравченко, Е.Н. Прогнозирование течения беременности и профилактика преждевременных родов посредством определения цитокинов /

Е.Н. Кравченко, А.В. Мишутина // Медицина и образование в Сибири. – 2012. - №6. – С.1-14.

45. Краснопольский, В.И. Бактериальный вагиноз. Информационно-методическое письмо / В.И. Краснопольский, Л.С. Логутова, О.Ф. Серова. – М, 2005. – 20 с.

46. Кречетова, Л.В. Динамика выработки антиотцовских антилейкоцитарных антител при иммунизации алогичными клетками женщин с привычным выкидышем / Л.В. Кречетова, Н.А. Хачатрян, Н.К. Тетруашвили [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2015. - №3. – С. 16-20.

47. Крукиер, И.И. Влияние дисбаланса цитокинов околоплодных вод и сыворотки крови женщины на развитие преждевременных родов / И.И. Крукиер, М.А. Левкович, А.Ф. Михельсон [и др.] // Доктор.Ру. – 2019. – Т. 4, №159. – С.19–22.

48. Кузнецова, О.А. Значение эндотоксина в прогнозировании осложнений ранних сроков беременности у женщин с синдромом потери плода: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Кузнецова Оксана Александровна. – Волгоград, 2013. – 23 с.

49. Кунгурцева, Е.А. Взаимоформирование микрофлоры слизистых оболочек открытых полостей различных биотопов у женщин как важный фактор их репродуктивного здоровья / Е.А. Кунгурцева, С.М. Попкова, О.Я. Лещенко // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2014. - Т.69, № 9-10. – С.27-32.

50. Кучумова, С. Ю. Физиологическое значение кишечной микрофлоры / С. Ю. Кучумова, Е. А.Полуэктова, А. А. Шептулин [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии — 2011. — Т. 21, № 5. — С.17–27.

51. Лебедева, О.П. Роль Толл-подобных рецепторов в развитии послеродового эндометрита / О.П. Лебедева, С.П. Пахомов, М.И. Чурносков [и др.] // Белгород: «Везелица», 2013. – 180 с.

52. Лебедева, О.П. Толл-подобные рецепторы, активируемые бактериальными лигандами, в патогенезе неразвивающейся беременности и самопроизвольных выкидышей/ О.П. Лебедева, О.Н. Ивашова, И.О. Жукова [и др.] // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2018. – Т.41, №1. – С. 24-29.
53. Левкович, М.А. Роль про и противовоспалительных цитокинов и полиморфизма их генов при невынашивании беременности раннего срока / М.А. Левкович, В.А. Линде, Д.Д. Нефедова // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т. 9(18), № 3(1). – С. 125-127.
54. Левкович, М.А. Современные представления о роли цитокинов в генезе физиологического и патологического течения беременности / М.А. Левкович // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2008. – Т.8, №3. – С.37-40
55. Левкович, М.А. Цитокин-опосредованные механизмы угрозы прерывания беременности при урогенитальной инфекции / М.А. Левкович, Л.П. Сизякина // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т.9, № 4. – С. 97-99.
56. Лоранская, И.Д. Функциональный анализ микробиоценоза кишечного тракта/ И.Д. Лоранская, О.А. Лаврентьева // РМЖ. – 2011. - №17. – С.1057
57. Макацария, А.Д. Тромбофилии и противотромботическая терапия в акушерской практике / А.Д. Макацария. – Москва: Триада-Х, 2003. – 904 с.
58. Мельников, В.А. Возможность прогнозирования и предупреждения осложнений первого триместра беременности на основании состояния биоценоза влагалища / В.А. Мельников, Лазарева Н.В., Тюмина О.В. // «Медицинский альманах». – 2009. – Т. 4, №9. – С. 50 – 52.
59. Молчанов, О.Л. Микроэкосистема влагалища. Особенности функционирования в норме/ О.Л. Молчанов, Е.Ф. Кира // Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга. – 2018. – № 1. – С. 65–68.
60. Мусаев, М.Р. Дисбиотические процессы в системе неспецифической резистентности у беременных с экстрагенитальными заболеваниями / М.Р. Мусаев, Ш.К. Бекметова, С.О. Матмуратова [и др.] // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т.1, №106. – С. 153-156.

61. Начаров, Ю.В. Содержание про- и противовоспалительных цитокинов у женщин с невынашиванием беременности после проведения сохраняющей терапии / Ю.В. Начаров, Т.М. Соколова, А.В. Усова // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – Т. 15, № 2. – С. 50-52.

62. Оноприйчук, А.Р. Роль микробиоты желудочно-кишечного тракта в развитии гестационного сахарного диабета / А.Р. Оноприйчук, Р.В. Капустин, О.Н. Аржанова // Акушерство и гинекология.- 2020. - № 3. - С. 18-24.

63. Опарина, О.Н. Показатели активности антиэндотоксинового иммунитета и концентрации липополисахарида кишечной микрофлоры в крови человека при физических нагрузках / О.Н. Опарина, И.А. Аниховская, А.М. Девятаев [и др.] // Физиология человека. – 2004. - Т. 30, № 1. – С.135-138.

64. Опарина, О.Н. Роль интегральных показателей эндотоксин-антиэндотоксиновой системы в оценке эффективности тренировочного процесса / О.Н. Опарина, Ж.В. Тома // Международный научно-исследовательский журнал. – 2020. – Т.7-2, №97. – С.31-33.

65. Ордянец, И.М. Надуманная проблема? / И.М. Ордянец, И.Д. Ипастова // Status Praesens. – 2018. – Т.5, №51. – С. 91-96.

66. Осипов, Г.А. Клиническое значение исследования микроорганизмов слизистой оболочки кишечника культурально-биохимическим и хромато-масс-спектрометрическими методами / Г.А. Осипов, А.И. Парфенов, Н.В. Верховцева и др. // Экспериментальная клиническая гастроэнтерология. – 2003. - №4. – С. 59-67.

67. Острик, Д.А. Особенности течения беременности у женщин с заболеваниями желчевыводящих путей / Д.А. Острик // Forcipe. – 2019. - №2. – С.158-159.

68. Парфенов, А.И. Что нам дал вековой опыт познания симбионтной кишечной микрофлоры / А.И. Парфенов / Архив патологии. – 2012. – Т.84, №2. – С. 21-25.

69. Пат. RU2578028C1. Способ оценки состояния здоровья женщин при прогнозировании физиологического и осложненного течения беременности на

ранних сроках гестации / С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин, Е.А. Воропаева [и др.]; заявитель и патентообладатель: Федеральное Бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; заявл. 23.12.2014; опубл.: 20.03.2016, Бюл. № 8. – 23 с.

70. Пат. RU2680268C1. Система детекции наиболее значимых прокариотических представителей микробиоты кишечника человека на основе ПЦР панели / А.С. Попенко, А.В. Тяхт, Д.Г. Алексеев [и др.]; заявитель и патентообладатель: общество с ограниченной ответственностью «Кномикс»; заявл. 20.10.2017; опубл.: 19.02.2019, Бюл. № 5. – 106 с.

71. Пат. RU2742110C1. Способ диагностики состояния микрофлоры влагалища и кишечника у женщин с осложненной беременностью / Н.Н. Рухляда, С.В. Винникова, Л.Ш. Цечоева, В.М. Луфт; заявитель и патентообладатель: ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ; заявл. 19.03.2020; опубл.: 02.02.2021, Бюл. № 4. – 5 с.

72. Плужникова, Т.А. Коррекция дисбактериоза влагалища у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе / Т.А. Плужникова // Советы врачу. – 2008. - №3. –С. 74-76.

73. Подопригора, Г.И. Бактериальная транслокация из кишечника: микробиологические, иммунологические и патофизиологические аспекты / Г.И. Подопригора, Л.И. Кафарская, Н.А. Байнов [и др.] // Вестник РАМН. – 2015. – Т.70, №6. – С. 640-650.

74. Полищук, И.С. Характер микробиоценоза толстой кишки беременных / И.С. Полищук, М.Н. Гапон, Л.Н. Терновская // Сборник трудов конференции «Актуальные вопросы диагностики и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний на юге России». - 2016. – С.274-278.



75. Полуэктова, Е.А. Современные методы изучения микрофлоры желудочно-кишечного тракта / Е.А. Полуэктова, О.С. Ляшенко, О.С. Шифрин [и др.] // РЖГГК. – 2014. – Т.24, №2. – С.85-91.

76. Попкова, С.М. Микроэкологические сочетания вагинального и кишечного биотопов у женщин с воспалительными заболеваниями нижнего этажа полового тракта и девочек-подростков с дисфункцией яичников / С.М. Попкова, Е.Б. Ракова, Е.Е. Храмова [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2013. – Т.33, №4. – С. 77-83.

77. Приказ МЗ РФ от 9 июня 2003 г. № 231 «Об утверждении отраслевого стандарта «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». Москва, 2003.

78. Рабочая инструкция по применению медицинского изделия «Набор реагентов для исследования микробиоты толстого кишечника методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной детекцией в реальном времени «КОЛОНОФЛОР». [Электронный ресурс]. Режим доступа: [https://alphalabs.ru/assets/files/ИНСТРУКЦИЯ\\_КФ.pdf](https://alphalabs.ru/assets/files/ИНСТРУКЦИЯ_КФ.pdf) (дата обращения: апрель 2020 г.)

79. Радзинский, В.Е. Биоценозы гениталий при угрожающем невынашивании и преждевременных родах / В.Е. Радзинский, Н.Г. Кипяткова, А.В. Мухтарова // Вестник РАМН. – 2009. – № 6. – С. 364 - 373.

80. Радзинский, В.Е. Опыт применения препарата «Эубикор» для коррекции дисбиозов у беременных. / В.Е. Радзинский, И.М. Ордянец // Медицинский альманах. – 2013. – №6. – С. 57-59

81. Радзинский, В.Е. Прогестеронобусловленные изменения провоспалительных цитокинов при привычном невынашивании беременности / В.Е. Радзинский, Е.Ю. Запертова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2004. –Т LIII, №4. – С. 59-61.

82. Радзинский, В.Е. Современные аспекты коррекции дисбиотических нарушений в гинекологической практике. / В.Е. Радзинский, И.М. Ордянец, О.С. Побединская, Н.В. Буянова // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2013. – №2. – С.72-75.

83. Рищук, С.В. Эндогенная инфекция в акушерстве и гинекологии / С.В. Рищук, Е.И. Кахиани // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2020. - №3. – С. 1-47.
84. Рищук, С.В. Эндогенная микробиота влагалища и её регуляция / С.В. Рищук, О.Е. Пунченко, А.А. Малышева // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2013. - №4. – С. 1-30.
85. Рыбальченко, О.В. Влияние эндотоксина на характер транслокации условно патогенных бактерий / О.В. Рыбальченко, О.Г. Орлова // Инфекция и иммунитет. – 2017. - №5. – С.960
86. Рыбина, Е.В. Особенности микрофлоры желудочно-кишечного тракта доношенных новорожденных при разных способах родоразрешения / Е.В. Рыбина, К.Г. Кенбаева, А.М. Савичева // Педиатр. – 2014. – Т.5, №3. – С.30-32.
87. Савичева, А.М. Бактериальный вагиноз и аэробный вагинит как основные нарушения баланса вагинальной микрофлоры. Особенности диагностики и терапии / А.М. Савичева, Н.И. Тапильская, Е.В. Шипицына, Н.Е. Воробьева // Акушерство и гинекология. – 2017. - №5. – С.24-31.
88. Савченко, Т.Н. Взаимосвязь микробиоценоза слизистых генитального и пищеварительного трактов у женщин с невынашиванием беременности / Т.Н. Савченко, А.З. Хашукоева, С.В. Камоева [и др.] // Лечение и профилактика. – 2013. – Т.2, №6. – С.36-42.
89. Сахаутдинова, И.В. Иммуномодулирующая роль прогестерона в терапии угрозы прерывания беременности / И.В. Сахаутдинова, Л.Р. Ложкина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. – Т.9, №4. – С. 96-99.
90. Сейтханова, Б.Т. Микробиоценоз влагалища и кишечника беременных женщин / Б.Т. Сейтханова, Н.З. Шапамбаев, Р.Р. Олжаева [и др.] // Наука и здравоохранение. - 2014. - № 1. - С.70-71.
91. Сельков, С. А. Иммунологические механизмы контроля развития плаценты / С. А. Сельков, Д. И. Соколов // Журнал акушерства и женских болезней. - 2010. - Т. LIX, № 1. - С. 6-10.

92. Сидельникова, В.М. Привычная потеря беременности / В.М. Сидельникова. – М: Триада-х, 2005. – 285 с.
93. Синчихина, С.П. Современные аспекты бактериального вагиноза / С.П. Синчихина, О.Г. Черникина, О.Б. Мамиев // Акушерство и гинекология. – 2013. – №8. – С. 19-24.
94. Ситкин, С.И. Микробиом, дисбиоз толстой кишки и воспалительные заболевания кишечника: когда функция важнее таксономии / С.И. Ситкин, Т.Я. Вахитов, Е.В. Демьянова // Альманах клинической медицины. - 2018. – Т.46, № 5. - С. 396-425.
95. Ситкин, С.И. Филометаболическое ядро микробиоты кишечника / С.И. Ситкин, Е.И. Ткаченко, Т.Я. Вахитов // Альманах клинической медицины. – 2015. - №40. – С. 12-34.
96. Скрыпник, А.С. Функциональная роль микробиоты кишечника и дифференцированные подходы к коррекции нарушений микробиоценоза / А.С. Скрыпник // Здоровье Украины. – 2009. – Т. 6, №1. – С.51-53.
97. Соколова, М.Ю. Экстрагенитальная патология у беременных / М.Ю. Соколова. – М.: МИА, 2011. – 336 с.
98. Соловьева, А.В. Запоры у беременных. Подходы к терапии / А.В. Соловьева, К.С. Ермоленко // Медицинский совет. - 2020. - № 3 - С. 44-47.
99. Субханкулова, С.Ф. Влияние эндотоксинемии на гестацию и исходы родов при запорах беременных / С.Ф. Субханкулова // Казанский медицинский журнал. – 2006. – Т. 87, № 4. – С. 295-297
100. Субханкулова, С.Ф. Клиническое значение эндотоксинемии при запорах у беременных: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.05 / Субханкулова Саида Фаридовна – Казань, 2009. – 23 с.
101. Тапильская, Н.И. Прегравидарная подготовка супружеской пары с участием обоих партнеров при частых рецидивах бактериального вагиноза / Н.И. Тапильская, М.А. Шахова // Лечащий врач. – 2018. - №2. – С.82.

102. Тетелютина, Ф.К. Современные подходы к лекарственной терапии при невынашивании беременности / Ф.К. Тетелютина, Н.Н. Бушмелева, Н.А. Уракова [и др.] // Медицинский альманах. – 2010. – Т.4, №13. – С. 88-92.

103. Тетруашвили, Н.К. Роль иммунных взаимодействий на ранних этапах физиологической беременности и при привычном выкидыше / Н.К. Тетруашвили // Иммунология. – 2008. - №2. – С. 124-129.

104. Томнюк, О.Н. Профілактика невиношування вагітності та перинатальної патології У жінок із антифосфоліпідним синдромом та ретрохоріальною гематомою / О.Н. Томнюк // Репродуктивное здоровье женщины. – 2020. – Т.3, №43. – С. 36-39.

105. Трифонова, Е.А. Генетические факторы в развитии привычного невынашивания беременности: обзор данных мета-анализов / Е.А. Трифонова, О.А. Ганьжа, Т.В. Габидулина [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2017. - №4. – С.14-20.

106. Тюмина, О.В. Здоровье женщин позднего репродуктивного возраста с бесплодием / О.В. Тюмина, В.А. Мельникова. – М.: Издательский дом «Академия Естествознания», 2016. – 210 с.

107. Усова, А.В. Содержание про- и противовоспалительных цитокинов у женщин с невынашиванием беременности после проведения сохраняющей терапии / А.В. Усова, Ю.В. Начаров, Т.М. Соколова // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. - Т.15, №2. – С. 50-52.

108. Федосенко, С.В. Анализ таксономического состава кишечной микробиоты больных хронической обструктивной болезнью легких / С.В. Федосенко, Л.М. Огородова, В.М. Говорун [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2014. – № 6. – С.168–173.

109. Фемофлор – исследование биоценоза урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени. Методическое пособие для врачей, ДНК-технология. [Электронный ресурс]. Режим доступа: [https://www.dna-technology.ru/files/images/FemoflofS/MY\\_FEMOFLOR-doc.pdf](https://www.dna-technology.ru/files/images/FemoflofS/MY_FEMOFLOR-doc.pdf) (дата обращения: апрель 2020 г.)

110. Харкевич, О.Н. Скрининг, диагностика и коррекция тромбофилических состояний у пациенток с привычной потерей беременности. Методические рекомендации / Харкевич О.Н., Мирон А.И., Голофаст О.Е. – Рязань, 2018. – 41 с.

111. Хаютин, Л.В. Анаэробный дисбиоз влагалища во время беременности: особенности течения и возможности коррекции / Л.В. Хаютин, Е.Э. Плотко, Е.С. Ворошилина // Уральский медицинский журнал. - 2016. – Т. 2, №135. - С. 55-60.

112. Хорошкеева, О.В. Роль антигенов главного комплекса гистосовместимости в реализации привычного выкидыша / О.В. Хорошкеева, Н.К. Тетруашвили, О.В. Бурменская [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2016. - №3. – С.5-10.

113. Циммерман, Я.С. Эубиоз и дисбиоз желудочно-кишечного тракта: мифы и реалии/ Я.С. Циммерман // Клиническая медицина. – 2013. – Т.91, №1. – С. 4-11

114. Чистякова, Г.Н. Оценка продукции цитокинов при беременности, осложненной угрозой прерывания в первом триместре / Г.Н. Чистякова, И.А. Газиева, И.И. Ремизова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2005. – № 5. – С. 96-98.

115. Шаумбергер, С. Эндотоксины: невидимые, но опасные. Разоблачение заблуждений / С. Шаумбергер, М. Тарасов / Комбикорма. – 2012. - № 2. – С. 93-94.

116. Шендеров, Б.А. Медицинская микробная экология: некоторые итоги и перспективы исследований / Б.А. Шендеров // Вестник Российской Академии Медицинских Наук. – 2005. - № 12. – С.13-17.

117. Шумская, Е.И. Анализ цитогенетических факторов привычного невынашивания беременности в Рязанской области за период с 1986 по 2018 гг. / Е.И. Шумская, Г.И. Якубовский, А.И. Кадыкаова, Т.О. Гвоздевская // Акушерство и гинекология. – 2019. - №4 (приложение). – С.100-101.

118. Юдин, С.М. Анализ микробиоты человека. Российский и зарубежный опыт / С.М. Юдин, А.М. Егорова, В.В. Макаров // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2018. - №11. – С. 175-180.

119. Юсупова, А.Н. Преждевременные роды – фактор риска материнской смертности / А.Н. Юсупова, А.В. Ан // Здоровоохранение Российской Федерации. - 2010. - № 5. – С. 38-40.

120. Яковлев, М.Ю. "Эндотоксиновая агрессия" как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных / М.Ю. Яковлев // Успехи современной биологии. – 2003. - Т. 123, № 1. – С.31-40.

121. Яковлев, М.Ю. Кишечный эндотоксин: иммунитет - воспаление - старение, как звенья одной цепи / М.Ю. Яковлев // Патогенез. – 2020. – Т.18, №1. – С.82-94.

122. Altmäe, S. Uterine microbiota: a role beyond infection/ S. Altmäe // EMJ Repro Health. – 2018. – Vol. 6, №1. – P.70-75.

123. Anderson, A.S. Dietary factors in the aetiology and treatment of constipation during pregnancy / A.S. Anderson // Br J Obstet Gynaecol. – 1986. – Vol. 93., №3. – P.245-249.

124. Arora, T. The gut microbiota and metabolic disease: current understanding and future perspectives / T. Arora, F. Bäckhed // J. Intern. Med. – 2016. – Vol. 280, №4. – P.339–349.

125. Asquith, M. An innately dangerous balancing act: intestinal homeostasis, inflammation, and colitis-associated cancer / M. Asquith, F. Powrie // J. Exp. Med. – 2010. – Vol.207, №8. – P.1573-1577.

126. Bahador, M. From therapy to experimental model: a hundred years of endotoxin administration to human subjects / M. Bahador, A.S. Cross // J. Endotoxin Res. – 2007. – Vol. 13, №5. – P.251-279.

127. Baldassarre, M.E. Dysbiosis and Prematurity: Is There a Role for Probiotics? / M.E. Baldassarre [et al.] // Nutrients. – 2019. – Vol. 11, №6. – P.1273.

128. Ball, R.H. The clinical significance of ultrasonographically detected subchorionic hemorrhages / R.H. Ball, C.M. Ade, J.A. Schoenborn // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2016. – Vol. 174, №3. – P.996–1002.

129. Beaman, K. D. Immune etiology of recurrent pregnancy loss and its diagnosis / K. D. Beaman, E. Ntrivalas, T. M. Mallers [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* — 2012. — Vol. 67, №4. — P. 319—325

130. Calleja-Agius, J. Investigation of systemic inflammatory response in first trimester pregnancy failure / J. Calleja-Agius [et all.] // *Human Reproduction.* – 2012. – Vol.27, №2. – P.349-357.

131. Carla R. Taddei Microbiome in normal and pathological pregnancies: A literature overview / Carla R. Taddei [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2018. – Vol. 80, №2. – P.1-9.

132. Chapple, S.J. Effects of 4-hydroxynonenal on vascular endothelial and smooth muscle cell redox signaling and function in health and disease / S.J. Chapple, X. Cheng, G.E. Mann // *Redox Biology.* – 2013. – Vol. 1, №1. – P.319–331.

133. Chow, J. Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease / J. Chow, H. Tang, S.K. Mazmanian // *Curr Opin Immunol.* – 2011. – Vol. 23, №4. – P.473–480.

134. Crusell, M.K.W. Gestational diabetes is associated with change in the gut microbiota composition in third trimester of pregnancy and postpartum / M.K.W. Crusell [et al.] // *Microbiome.* – 2018. – Vol. 6, №1. – P.89.

135. Cui, X. Metagenomic and metabolomic analyses unveil dysbiosis of gut microbiota in chronic heart failure patients. / X. Cui [et al.] // *Sci Rep.* – 2018. – Vol. 8, №1. – P.635.

136. Dauphinee, S.M. Lipopolysaccharide signaling in endothelial cells / S.M. Dauphinee, A. Karsan // *Lab. Invest.* – 2006. – Vol.86, №1. – P.9-22.

137. Derbyshire, E. Diet, physical inactivity and the prevalence of constipation throughout and after pregnancy / E. Derbyshire [et al.] // *Matern Child Nutr.* – 2006. – Vol. 2, №3. – P.127-134.

138. Di Simone, N. Recent Insights on the Maternal Microbiota: Impact on Pregnancy Outcomes/ N. Di Simone [et al.] // *Front Immunol.* – 2020. - Vol. 11. – P.528202. doi: 10.3389/fimmu.2020.528202.
139. Ding J., Yin T., Yan N., Cheng Y., Yang J. FasI on decidual macrophages mediates trophoblast apoptosis: a potential cause of recurrent miscarriage / Ding J. [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2019. – Vol. 43, №6. – C. 2376–2386.
140. Dubinkina, V.B. Metagenomic Analysis of Taxonomic and Functional Changes in Gut Microbiota of Patients with the Alcohol Dependence Syndrome / V.B. Dubinkina [et al.] // *Biomedical Chemistry.* – 2016. – Vol.10, № 2. – P.184–190.
141. Ermisch, C. PIBF – Progesteron induzierter Blockierfaktor / C. Ermisch, U.R. Markert // *Z Geburtsh Neonatol.* – 2011. – Vol. 215, №3. – P.93-97.
142. Freemark, M. Placental hormones and the control of fetal growth / M. Freemark // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2010. – Vol. 95, №5. – P.2054–2057.
143. Fricke, E.M. Lipopolysaccharide-induced maternal inflammation induces direct placental injury without alteration in placental blood flow and induces a secondary fetal intestinal injury that persists into adulthood / E.M. Fricke [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2018. – Vol. 79, №5. – P.16.
144. Garcia-Gomez, E. Role of sex steroid hormones in bacterial-host interactions/ E. Garcia-Gomez, B. Gonzalez-Pedrajo, I. Camacho-Arroyo // *Biomed Research International.* – 2013. – Vol. 2013. – P.1–10. doi: 10.1155/2013/928290.
145. Gevers, D. The human Microbiome Project: A Community Resource for the Healthy Human Microbiome / D. Gevers [et al.] // *PLoS Biol.* – 2012. – Vol. 10, №8.- P.1001-1377.
146. Giri, S.N. Effects of endotoxin infusion on circulating levels of eicosanoids, progesterone, cortisol, glucose and lactic acid, and abortion in pregnant cows / S.N. Giri [et al.] // *Vet. Microbiol.* – 1990. – Vol. 21, №3. – P.211-231.
147. Gomes, A.C. The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity / A.C. Gomes, C. Hoffmann, J.F. Mota // *Gut Microbes.* – 2018. – Vol. 9, №4. – P.308-325.



148. Gygi, D. A cell surface polysaccharide that facilitates rapid population migration by differentiated swarm cells of *Proteus mirabilis* / D. Gygi [et al.] // *Mol. Microbiol.* – 1995. – Vol. 17, №6. – P.1167-1175.
149. Hawrelak, J.A. The causes of intestinal dysbiosis: a review / J.A. Hawrelak, S.P. Myers // *Altern Med Rev.* – 2004. – Vol. 9, №2. – P.180–197.
150. Hein, H. Toll-like receptors and their function in innate and adaptive immunity / H. Hein, E. Lien // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2003. – Vol. 130, №3. – P.180-191.
151. Hudic, I. Maternal serum progesterone-induced blocking factor (PIBF) in the prediction of preterm birth / I. Hudic // *Journal of Reproductive Immunology.* – 2015. – Vol. 109. – P.36–40.
152. Isolauri, E. Modulation of the maturing gut barrier and microbiota: a novel target in allergic disease / E. Isolauri [et al.] / *Curr. Pharm. Des.* — 2008. — Vol. 14, №14. — P.1368–1375.
153. Kabeerdoss, J. Clostridium leptum group bacteria abundance and diversity in the fecal microbiota of patients with inflammatory bowel disease: a case-control study in India / J. Kabeerdoss [et al.] // *BMC Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 13. – P.20.
154. Kalagiri, R.R. Inflammation in Complicated Pregnancy and Its Outcome / R.R. Kalagiri [et al.] // *Am J Perinatol.* – 2016. – Vol. 33, №14. – P.1337-1356.
155. Kamada, N. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease / N. Kamada [et al.] // *Nat Rev Immunol.* – 2013. – Vol. 13, №5. – P.321–35.
156. Khan, K.N. Toll-like receptors in innate immunity: role of bacterial endotoxin and tolllike receptors-4 in endometrium and endometriosis / K.N. Khan [et al.] // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2009. – Vol. 68, №1. – P.40-52.
157. King, K. Detailed analysis of peripheral blood natural killer (NK) cells in women with recurrent miscarriage / K. King, S. Smith, M. Chapman, G. Sacks // *Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 25, №1. – P. 52-58.
158. Kirby, O.T. The Gut Microbiome in Multiple Sclerosis: A Potential Therapeutic Avenue / O. Kirby, Ochoa-Repáraz J. // *Med. Sci.* – 2018. – Vol. 6, №3. – P. 69.

159. Klebanoff, M.A. Vulvovaginal symptoms in women with bacterial vaginosis / M.A. Klebanoff [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2004. – Vol. 104, №2. – P.267-272.
160. Koga, K. Toll-like Receptors at the MaternalFetal Interface in Normal Pregnancy and Pregnancy Complications / K. Koga [et al.] // *American Journal of Reproductive Immunology.* – 2010. – Vol. 72, №2. – P.192-205.
161. Kokcu, A. A panoramic view to relationships between reproductive failure and immunological factors / A. Kokcu, E. Yavuz, H. Celik, D. Bildircin // *Arch. Gynecol. Obstet.* — 2012. — Vol. 286, №5. — P. 1283—1289.
162. Konstantinov, S.R. Do pregnancy-related changes in the microbiome stimulate innate immunity? S.R. Konstantinov [et al.] // *Trends Mol Med.* – 2013. – Vol. 19, №8. – P.454–459.
163. Koren, O. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy/ O. Koren, J.K. Goodrich, T.C. Cullender // *Cell.* – 2012. – Vol. 150, №3. – P.470–480. doi: 10.1016/j.cell.2012.07.008.
164. Liu, J. Remodeling of the gut microbiota and structural shifts in preeclampsia patients in South China / J. Liu, H. Yang, Z. Yin [et al.] // *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* – 2017. – Vol. 36, №4. – P.713–719.
165. Liu, Y. Interactions between gut microbiota and metabolites modulate cytokine network imbalances in women with unexplained miscarriage/ Y. Liu, H. Chen, L. Feng, J. Zhang // *NPJ Biofilms Microbiomes.* – 2021. – Vol. 7, №1. – P.24. doi: 10.1038/s41522-021-00199-3.
166. Lv, L.J. Early-Onset Preeclampsia Is Associated With Gut Microbial Alterations in Antepartum and Postpartum Women / L.J. Lv [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2019. – Vol. 9. – P.224.
167. Mackie, R.I. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract / R.I. Mackie, A. Sghir, H.R. Gaskins // *Am. J. Clin. Nutr.* — 1999. — Vol. 69, №5. — P. 1035–1045.

168. Marshall, J.C. Diagnostics and prognostic implications of endotoxemia in critically illness: results of the MEDIC study / J.C. Marshall [et al.] // *J Infect Dis.* – 2004. – Vol. 190, №3. – P.527-534.
169. Martinez-Lopez, D.G. Lipopolysaccharide and soluble CD14 in cord blood plasma are associated with prematurity and chorioamnionitis / D.G. Martinez-Lopez [et al.] // *Pediatr Res.* – 2014. – Vol. 75, №1-1. – P.67-74.
170. Mayer, E.A. Brain-gut microbiome interactions and functional bowel disorders/ E.A. Mayer, T. Savidge, R.J. Shulman // *Gastroenterology.* – 2014. – Vol. 146, №6. – P.1500–1512. doi: 10.1053/j.gastro.2014.02.037.
171. McDonald, E.A. Endotoxin at the Maternal-Fetal Interface in a Resource-Constrained Setting: Risk Factors and Associated Birth Outcomes / E.A. McDonald [et al.] // *Am J Trop Med Hyg.* – 2018. – Vol. 99, №2. – P.495-501.
172. MetaHIT Project [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.metahit.eu> (дата обращения: апрель 2020 г.)
173. Mission, J.F. Pregnancy risks associated with obesity / J.F. Mission, N.E. Marshall, A.B. Caughey // *Obstet Gynecol Clin North Am.* – 2015. – Vol. 42, №2. – P.335-53.
174. Mor, G. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy / G. Mor, P. Aldo, A.B. Alvero // *Nature Reviews Immunology.* – 2017. – Vol. 17, №8. – P.469-482.
175. Mshvildadze, M. The infant intestinal microbiome: Friend or foe? / M. Mshvildadze, J. Neu // *Early Hum. Dev.* – 2010. – Vol. 86, №1. – P.67-71.
176. Mulak, A. Sex hormones in the modulation of irritable bowel syndrome/ A. Mulak, Y. Tache, M. Larauche // *World Journal of Gastroenterology.* – 2014. – Vol. 20, №10. – P.2433–2448. doi: 10.3748/wjg.v20.i10.2433.
177. Munford, R.S. Sensing gram-negative bacterial lipopolysaccharides: a human disease determinant? / R.S. Munford // *Infect Immun.* – 2008. – Vol. 76, №2. – P.454-465
178. Nagpal, R. Bacterial Translocation from the Gut to the Distant Organs: An Overview / R. Nagpal, H.Yadav // *Ann Nutr Metab.* – 2017. – Vol. 71, №1. – P.11-16.

179. Nakagawa, K. Immunosuppression with tacrolimus improved reproductive outcome of women with repeated implantation failure and elevated peripheral blood TH1/TH2 cell ratios / K. Nakagawa, J. Kwak-Kim, K. Ota [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* — 2015. — Vol. 73, №4. — P. 353—361.
180. Nelson, S.M. Maternal metabolism and obesity: modifiable determinants of pregnancy outcome / S.M. Nelson, P. Matthews, L. Poston // *Hum Reprod Update.* — 2010. — Vol. 16., №3. — P.255–275.
181. Newbern, D. Placental hormones and the control of maternal metabolism and fetal growth / D. Newbern, M. Freemark // *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* — 2011. — Vol. 18., №6. — P.409–416.
182. Noris, M. Mechanisms of disease: pre-eclampsia / M. Noris, N. Perico, G. Remuzzi // *Nat Clin Pract Nephrol.* — 2005. — Vol. 1., №2. — P.98–114.
183. Nuriel-Ohayon, M. Microbial Changes during Pregnancy, Birth, and Infancy / M. Nuriel-Ohayon, H. Neuman, O. Koren // *Front Microbiol.* - 2016. — Vol. 7. — P. 1031. doi: 10.3389/fmicb.2016.01031.
184. Ott, S.J. Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease / S.J. Ott [et al.] // *Gut.* — 2004. — Vol. 53, №5. — P.685–693.
185. Prakash, S. Gut microbiota: next frontier in understanding human health and development of biotherapeutics / S. Prakash [et al.] // *Biologics.* — 2011. — Vol. 5 — P.71–86.
186. Proa, A.D. Autoimmune disease in the era of the metagenome / A.D. Proal, P.J. Albert, T. Marshall // *Autoimmun. Rev.*—2009. — Vol. 8, №8. — P.677–681.
187. Redman, C.W. Latest advances in understanding preeclampsia / C.W. Redman, I.L. Sargent // *Science.* — 2005. — Vol. 308, №5728 — P.1592–1594.
188. Round, J.L. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease / J.L. Round, S.K. Mazmanian // *Nat Rev Immunol.* — 2009. — Vol. 9., №5. — P.313–323.

189. Samuel, Yang. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings / Yang Samuel, E. Rothman Richard // *Lancet Infect Dis.* – 2004. – Vol. 4., №6. – P.337–348.
190. Soderborg, T.K. The gut microbiota in infants of obese mothers increases inflammation and susceptibility to NAFLD / T.K. Soderborg [et al.] // *Nat Commun.* – 2018. – Vol. 9, №1. – P.4462.
191. Spaanderman, M. Preeclampsia and maladaptation to pregnancy: a role for atrial natriuretic peptide? / M. Spaanderman, [et al.] // *Kidney Int.* – 2001. – Vol. 60., №4. – P.1397–1406.
192. Takeda, K. Toll-like receptors in innate immunity / K. Takeda, S. Akira // *International immunology.* – 2005. – Vol. 17, №1. – P.1-14.
193. Talley, N. Definitions, epidemiology, and impact of chronic constipation / N. Talley // *Rev. Gastroenterol. Disord.* – 2004. – Vol. 4, №2. – P.3-10.
194. Toyama, R.P. Dose-dependent sickness behavior, abortion and inflammation induced by systemic LPS injection in pregnant mice / R.P. Toyama [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med.* – 2015. – Vol. 28, №4. – P.426-30.
195. Trowsdale, J. Mother's little helpers: mechanisms of maternal-fetal tolerance / J. Trowsdale, A.G. Betz // *Nat Immunol.* – 2006. – Vol. 7., №3. – P.241–246.
196. Tyakht, A.V. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia / A.V. Tyakht [et al.] // *Nat Commun.* – 2013. – Vol.4. – P.1-9.
197. Vaishnavi, C. Translocation of gut flora and its role in sepsis / C. Vaishnavi // *Indian J Med Microbiol.* – 2013. – Vol. 31, №4. – P.334-342.
198. Van der Meer, W. Hematological indices, inflammatory markers and neutrophil CD64 expression: comparative trends during experimental human endotoxemia / W. Van der Meer [et al.] // *J. Endotoxin Res.* – 2007. – Vol. 13, №2. – P.94-100.

199. Vesey, C.J. Lipopolysaccharide-binding protein and phospholipid transfer protein release lipopolysaccharides from gram-negative bacterial membranes / C.J. Vesey [et al.] // *Infect. Immun.* – 2000. – Vol.68, №5. – P.2410-2417.
200. Wang, J. Toll-Like Receptors and Cancer: MYD88 Mutation and Inflammation / J. Wang [et al.] // *Front Immunol.* – 2014. – Vol. 31, №5. – P.367.
201. Wang, J. Gut microbiota dysbiosis and increased plasma LPS and tmao levels in patients with preeclampsia / J. Wang [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2019. – Vol. 3, №9 – P.409.
202. Wang, X. Endotoxins: lipopolysaccharides of gram-negative bacteria / X. Wang, P.J. Quinn // *Subcell. Biochem.* – 2010. – Vol.53. – P.3-25.
203. Wang, Y-Y. Endotoxin-induced abortion in mice is mediated by activated fetal macrophages / Y-Y. Wang, O. Tawfik, G.W. Wood // *J Leukocyte Biology.* – 1998. – Vol. 63., №1. – P.40-50.
204. Wiest, R. Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis / R. Wiest, M. Lawson, M. Geuking // *J Hepatol.* – 2014. – Vol. 60, №1. – P.197-209.
205. Yakovlev, M.Yu. Elements of endotoxin theory of human physiology and pathology: systemic endotoxemia, endotoxin aggression and endotoxin insufficiency / M.Yu. Yakovlev // *Endotoxin research.* – 2000. – Vol. 6, №2. – P.120.
206. Young, B.C. Pathogenesis of preeclampsia / B.C. Young, R.J. Levine, S.A. Karumanchi // *Annu Rev Pathol.* – 2010. – Vol. 5. – P.173–192.
207. Zhang, D. Intestinal dysbiosis: An emerging cause of pregnancy complications? / D. Zhang, Y. Huang, D. Ye // *Medical Hypotheses.* – 2015. – Vol. 84, №3. – P.223–226.
208. Zhang, D. Factors associated with spontaneous abortion: a cross-sectional study of Chinese populations / Danni Zheng [et al.] // *Reproductive Health.* – 2017. – Vol. 14., №1 – P.33.