

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Крысанова А.А., Сторожева К.В., Будиловская О.В., Хуснутдинова Т.А., Шалепо К.В.,
Тапильская Н.И., Савичева А.М., Беспалова О.Н.

АРХИТЕКТОНИКА МИКРОБИОТЫ ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», 199034, г.
Санкт-Петербург, Россия

Введение. Данные литературы указывают на изменения микробиоты влагалища и эндометрия у пациенток с бесплодием. Цель исследования – определить состав и количественные характеристики микрофлоры полости матки и влагалища у пациенток с разными формами бесплодия.

Материал и методы. В исследовании приняли участие 102 женщины репродуктивного возраста, страдающие бесплодием различного генеза. На основе анамнестических данных женщины разделены на 3 группы: I группа – женщины с внутриматочными синехиями (n=12); II группа – женщины с полипами эндометрия (n=17), III группа – женщины, страдающие другими формами бесплодия (n=73). От каждой женщины получены по два образца: 1) отделяемое влагалища, 2) аспират эндометрия, с использованием метода пайпель-биопсии. Исследование состава микрофлоры эндометрия и влагалища, типирование лактобактерий проводилось с использованием полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты. Бактериальная ДНК выявлена во всех образцах отделяемого влагалища, и в 98% образцов из полости матки. Закономерно чаще и в большей концентрации различные группы микроорганизмов определялись во влагалище относительно полости матки. *Lactobacillus spp.* обнаружены в большинстве образцов – у 79 (77,5%) из 102 женщин в полости матки и у 97 (95,1%) из 102 во влагалище. Наиболее часто и во влагалище, и в полости матки женщин с бесплодием выявлялись *Lactobacillus crispatus* с частотой 77,42% и 70,97%, соответственно. При разных формах бесплодия (наличие синехий или полипов в полости матки), при идиопатическом бесплодии микрофлора влагалища и эндометрия, видовой состав лактобацилл достаточно сходны по составу и количественным характеристикам.

Заключение. Состав микробиоты эндометрия и влагалища у женщин с бесплодием различного генеза достаточно схожи. Необходимы дальнейшие исследования для установления роли микробиома женских половых путей в репродукции человека.

Ключевые слова: микробиота эндометрия; микробиота влагалища; бесплодие; синехии; полипы эндометрия

Для цитирования: Крысанова А.А., Сторожева К.В., Будиловская О.В., Хуснутдинова Т.А., Шалепо К.В., Тапильская Н.И., Савичева А.М., Беспалова О.Н. Архитектоника микробиоты эндометрия у женщин с бесплодием различного генеза. Клиническая лабораторная диагностика. 2024; 69 (9): 478–486.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-478-486>

Для корреспонденции: Крысанова Анна Александровна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. группы экспериментальной микробиологии; e-mail: krusanova.anna@mail.ru.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках научной темы ФНИ «Разработка диагностических критериев прогнозирования и преодоления репродуктивных потерь» (ФНИ № 1021062512052-5-3.2.2).

Поступила 30.05.2024
Принята к печати 16.07.2024
Опубликовано 00.09.2024

*Krysanova A.A., Storozheva K.V., Budilovskaya O.V., Khusnutdinova T.A., Shalepo K.V.,
Tapiil'skaya N.I., Savicheva A.M., Bepalova O.N.*

ARCHITECTONICS OF ENDOMETRIAL MICROBIOTA IN WOMEN WITH INFERTILITY OF VARIOUS GENESIS

D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology, 199034, St. Petersburg, Russia

Introduction. Data from literature sources indicate changes in the microbiota of the vagina and endometrium in patients with infertility. The purpose of the study is to determine the composition and quantitative characteristics of the microflora of the uterine cavity and vagina in patients with different forms of infertility.

Material and methods. The study involved 102 women of reproductive age suffering from infertility of various origins. Based on anamnestic data, all women were divided into 3 groups: Group I - women with intrauterine synechiae (n=12); Group II - women with endometrial polyps (n=17) and Group III - women suffering from other forms of infertility (n=73). Two samples were obtained from each woman: 1) vaginal discharge and 2) endometrial aspirate using the pipell biopsy method. The study of the composition of the microflora of the endometrium and vagina, as well as typing of lactobacilli, was carried out using real-time polymerase chain reaction.

Results. Bacterial DNA was detected in all vaginal discharge samples and in 98% of uterine cavity samples. Naturally, various groups of microorganisms were detected more often and in higher concentrations in the vagina relative to the uterine cavity. *Lactobacillus spp.* were found in the majority of samples - in 79 (77.5%) of 102 women in the uterine cavity and in 97 (95.1%) of 102 in the vagina. *Lactobacillus crispatus* was most often detected in both the vagina and uterine cavity of women with infertility with a frequency of 77.42% and 70.97%, respectively. In different forms of infertility (the presence of synechiae or polyps in the uterine cavity), as well as in idiopathic infertility, the microflora of the vagina and endometrium, as well as the species composition of lactobacilli, were quite similar in composition and quantitative characteristics.

Conclusion. The composition of the endometrial and vaginal microbiota in women with infertility of various origins is quite similar.

Further research is needed to establish the role of the female genital tract microbiome in human reproduction.

Key words: Endometrial microbiota; vaginal microbiota; infertility; synechiae; endometrial polyps

For citation: Krysanova A.A., Storozheva K.V., Budilovskaya O.V., Khusnutdinova T.A., Shalepo K.V., Tapilskaya N.I., Savicheva A.M., Bepalova O.N. Architectonics of endometrial microbiota in women with infertility of various genesis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (9): 478-486 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-478-486>

For correspondence: Krysanova A.A., PhD, MD, Senior Researcher, Experimental Microbiology Group; e-mail: krusanova.anna@mail.ru.

Information about authors:

Krysanova A.A., <https://orcid.org/0000-0003-4798-1881>;
Storozheva K.V., <https://orcid.org/0009-0005-8954-0234>;
Budilovskaya O.V., <https://orcid.org/0000-0001-7673-6274>;
Khusnutdinova T.A., <https://orcid.org/0000-0002-2742-2655>;
Shalepo K.V., <https://orcid.org/0000-0002-3002-3874>;
Tapilskaya N.I., <https://orcid.org/0000-0001-5309-0087>;
Savicheva A.M., <https://orcid.org/0000-0003-3870-5930>;
Bepalova O.N., <https://orcid.org/0000-0002-6542-5953>.

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

Acknowledgment. *The study was conducted within the framework of the FSR theme "Development of diagnostic criteria for predicting and overcoming reproductive losses" (FSR № 1021062512052-5-3.2.2).*

Received 30.05.2024

Accepted 16.07.2024

Published 00.09.2024

Актуальность. Проблема репродуктивного здоровья населения в современном мире остается одной из самых острых несмотря на пристальное внимание к этому вопросу со стороны мирового медицинского сообщества. И хотя на сегодняшний день достигнуты большие успехи в улучшении здоровья в целом, проблема бесплодия по-прежнему затрагивает миллионы людей и оказывает влияние на их семьи. Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), бесплодием страдает около 17,5% взрослого населения, то есть примерно каждый шестой человек в мире [1]. Для России частота бесплодных супружеских пар составляет от 8% до 21%, и в ближайшее время тенденции к снижению не предвидится [2].

Примерно у 85% бесплодных пар причина бесплодия ясна, часто это овуляторная дисфункция, анатомические особенности матки, бесплодие по мужскому фактору и непроходимость маточных труб. Образ жизни и факторы окружающей среды, такие как курение и ожирение, могут отрицательно влиять на фертильность. У оставшихся 15% бесплодных пар наблюдается идиопатическое или «необъяснимое бесплодие» [3].

Задача, поставленная перед исследователями, заключается в поиске скрытых причин бесплодия. Одно из возможных направлений - изучение корреляции микробиоты репродуктивного тракта и бесплодия. В литературе встречаются данные об отличии состава микробиоты женщин с бесплодием как в нижних, так и верхних отделах урогенитального тракта по сравнению со здоровыми женщинами.

Не вызывает сомнения, что микроорганизмы играют важную роль в здоровье и благополучии человека. За счёт производства биоактивных молекул они формируют здоровую микробиоту (совокупность микроорганизмов в определённом локусе), и тем самым образуют синергетическое взаимодействие с клетками организма, регулируя метаболизм, физиологию, иммунные функции ор-

ганизма-хозяина [4]. Эпителиальные клетки влагалища и вагинальные выделения обеспечивают благоприятные условия для размножения и поддержания роста бактерий [5]. Вагинальный микробиом, представляющий собой динамическую экосистему, играет ключевую роль в охране здоровья матери и новорожденного [6]. Основой физиологического микробиоценоза влагалища здоровых женщин репродуктивного возраста является преобладание видов рода *Lactobacillus* spp. Они обладают противомикробными свойствами, поддерживающими стабильность вагинального микробиома за счет контроля над урогенитальными патогенными и условно-патогенными микроорганизмами (УПИМ) [7]. Существенное изменение баланса микроорганизмов вагинального биотопа, сопровождающееся уменьшением количества лактобацилл и размножением факультативных и облигатных анаэробов (*Gardnerella* spp., *Fannyhessea* (*Atopobium*) *vaginae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Prevotella*, *Peptoniphilus*, *Megasphaera*, *Mobiluncus*) ассоциировано с развитием ряда заболеваний. Наиболее распространённое среди них - бактериальный вагиноз [8]. Такое патологическое изменение микробных ассоциаций связано с повышенным риском воспалительных заболеваний органов малого таза, неблагоприятными исходами беременности, увеличением риска заражения возбудителями инфекций, передаваемых половым путем, в том числе вирусом иммунодефицита человека и вирусом папилломы человека [7,8].

Долгое время считалось, что верхние отделы генитального тракта являются стерильными, поскольку цервикальная слизь, обладающая высокой концентрацией провоспалительных цитокинов, иммуноглобулинов, антимикробных пептидов, обеспечивает барьерный эффект [9]. В исследованиях с использованием секвенирования нового поколения (NGS) обнаружено, что полость матки имеет свой уникальный микробиом. Ряд исследований продемонстрировали, что в полости мат-

ки у здоровых женщин обнаруживаются комменсальные микробные сообщества, в то время как микробиом полости матки изменен у женщин, страдающих гинекологическими заболеваниями, такими как рак эндометрия, эндометриоз, аномальные маточные кровотечения, полипы эндометрия, внутриматочные синехии, гиперплазия эндометрия, бесплодие [10].

Патологические изменения при бесплодии различного генеза неизбежно влияют на физиологию и метаболические процессы в полости матки, что вызывает изменения в прилегающих тканях, влияют на разнообразие вагинальной микробиоты. Цель исследования - показать структуру микробиоты эндометрия и влагалища у женщин репродуктивного возраста с бесплодием различного генеза.

Материал и методы. В исследование включены 102 женщины репродуктивного возраста (от 18 до 49 лет, средний возраст составил $36 \pm 4,8$ года), обратившиеся в НИИАГиР им. Д. О. Отта (Санкт-Петербург) в период с сентября 2023 года по январь 2024 года, страдающие бесплодием. Критерии включения: репродуктивный возраст 18-49 лет, отягощённый акушерско-гинекологический анамнез (наличие внутриматочных синехий, полип эндометрия и бесплодие неясного генеза). Критерии исключения: возраст пациенток менее 18 лет и более 49 лет, отказ пациентки от участия в исследовании, наличие противопоказаний к вынашиванию беременности, тяжёлые соматические и онкологические заболевания любой локализации.

Исследование проводилось с добровольного информированного согласия пациенток; протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБНУ Научно-исследовательского института АГиР им. Д.О. Отта (протокол № 114 от 14.12.2021 г.).

На основе анамнестических данных все женщины разделены на группы: I группа - женщины с внутриматочными синехиями ($n=12$); II группа - женщины с полипами эндометрия ($n=17$), III группа - женщины, страдающие другими формами бесплодия ($n=73$).

От каждой женщины для исследования микробиоты получены по 2 образца: 1) отделяемое влагалища; 2) аспират эндометрия, с использованием метода пайпель-биопсии.

Клинические материалы отделяемого влагалища отобраны во время гинекологического осмотра с заднего и боковых сводов влагалища с помощью стерильных тампонов, которые затем помещены в пробирки с транспортной средой с муколитиком.

Аспират эндометрия отбирали на 19-23-й день менструального цикла. После удаления слизистой пробки и обработки шейки матки 0,05% раствором хлоргексидина, с максимальной осторожностью, чтобы не коснуться стенки влагалища, получали материал с помощью гибкого зонда небольшого диаметра, внутри которого находился поршень. За счёт поршня создается отрицательное давление, и биоматериал поступает в зонд. После извлечения зонда материал помещался в пробирки с транспортной средой с муколитиком.

Для выделения ДНК использован комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора», Москва, Россия). Реакцию проводили на детектирующих амплификаторах DT-96 и DTprime (ООО «ДНК-Технология», Россия).

Молекулярно-биологическое исследование методом ПЦР в реальном времени осуществляли с применением мультиплексного теста, позволяющего определить: общую бактериальную массу (ОБМ), представителей нормальной микрофлоры - *Lactobacillus* spp; факультативно-анаэробные микроорганизмы (*Enterobacteriaceae* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp.); облигатно-анаэробные микроорганизмы (*Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp./*Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp./*Mobiluncus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Atopobium vaginae*); другие УПМ (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma hominis*, *Candida* spp.); и один из патогенов - *Mycoplasma genitalium*. Типирование лактобактерий проводили с помощью мультиплексного теста, позволяющего определить: *L. crispatus*, *L. iners*, *L. gasseri*, *L. jensenii*. Учет результатов происходил автоматически.

Статистические методы. Средний возраст пациенток выражали средним арифметическим и стандартным отклонением ($M \pm SD$). В качестве средних величин ОБМ и количеств отдельных групп микроорганизмов использованы медианы и квартили ($Me (Q_1-Q_3)$). Для попарного сравнения концентрации групп микроорганизмов из полости матки и влагалища рассчитаны критерии Вилкоксона в программе Statistics 10.0 (IBM Corp.; США). При сопоставлении показателей, измеренных в номинальной или в порядковой шкале, применён критерий согласия Пирсона (χ^2), при малых выборках данный критерий рассчитан с поправкой Йейтса или рассчитан двусторонний критерий Фишера. Во всех случаях различия интерпретировали как достоверные при $p < 0,05$.

Результаты. У всех женщин в образцах отделяемого влагалища выявлена бактериальная ДНК: общая бактериальная масса (ОБМ) определялась в диапазоне от $10^{5,0}$ до $10^{8,4}$ (медиана $10^{6,9}$) ГЭ/образец. В аспирате эндометрия в двух образцах бактериальная ДНК отсутствовала, поэтому диапазон ОБМ составил $0-10^{7,4}$ (медиана $10^{4,2}$) ГЭ/образец.

При анализе частоты выявления, закономерно чаще различные группы микроорганизмов определялись во влагалище относительно полости матки (рис. 1).

Lactobacillus spp. обнаружены в большинстве образцов - у 79 (77,5%) из 102 женщин в полости матки и у 97 (95,1%) из 102 во влагалище. Кроме лактобацилл в полости матки наиболее часто идентифицировали *Eubacterium* spp. ($n=25$, 24,5%), *Atopobium vaginae* ($n=22$, 21,6%), *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* ($n=17$, 16,7%), *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas* spp. ($n=17$, 16,7%). Удельный вес остальных идентифицируемых микроорганизмов в полости матки не превышал 7,8%.

При анализе микробиоты влагалища установлено, что несмотря на высокую частоту выявления *Lactobacillus* spp., достаточно часто обнаруживались и другие микроорганизмы. Обращает на себя внимание высокая частота обнаружения представителей факультативно-анаэробной микрофлоры: *Eubacterium* spp. ($n=71$, 69,61%), *Streptococcus* spp. ($n=37$, 36,27%) и сем. *Enterobacteriaceae* ($n=36$, 35,29%). Среди облигатно-анаэробных микроорганизмов наиболее часто обнаруживались *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas* spp. - у 55 женщин (53,92%), затем *Mobiluncus* spp./

Corynebacterium spp. - у 47 (46,08%) и *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp. - у 46 женщин из 102 (45,1%). *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp., *Peptostreptococcus* spp. и *Atopobium vaginae* были выявлены у 35 (34,31%), 34 (33,33%) и 31 (30,39%) женщин, соответственно. Реже всего из облигатно-анаэробных микроорганизмов встречались *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp./*Fusobacterium* spp. - у 14 женщин из 102, что составило 13,73%. *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma (urealiticum+parvum)* обнаруже-

ны у 3 (2,94%) и 26 (25,49) женщин, соответственно. В 11,76% случаев обнаружены *Candida* spp. (у 12 женщин из 102). *Mycoplasma genitalium* отсутствовали во всех образцах обследованных пациенток.

У 79 (77,45%) из 97 женщин, у которых обнаружена ДНК *Lactobacillus* spp., эти микроорганизмы обнаружены одновременно и в полости матки, и во влагалище, и лишь у 18 (17,65%) - только в образцах отделяемого влагалища (рис. 2).

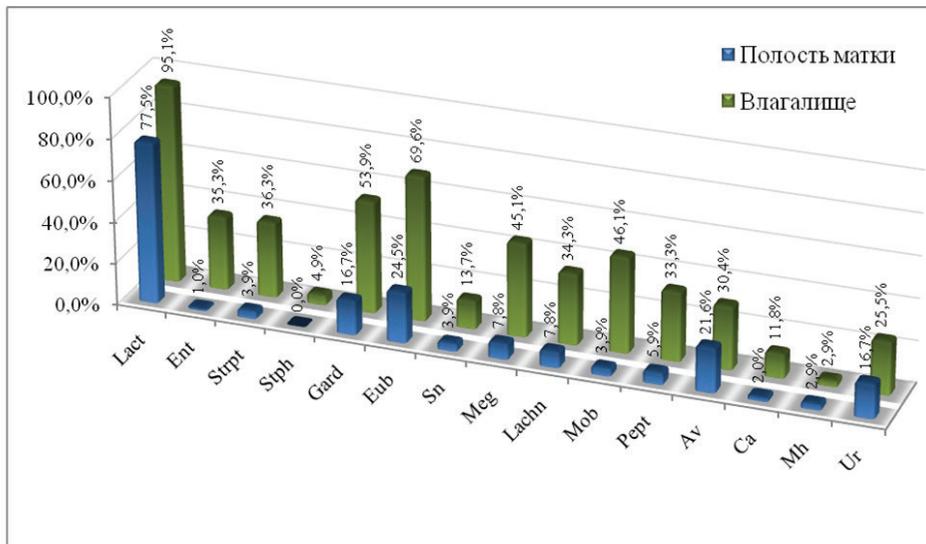


Рис. 1. Частота определения отдельных групп микроорганизмов в полости матки и во влагалище у женщин с бесплодием. Здесь и на рис. 2, 5, 6: Lact - *Lactobacillus* spp.; Ent - сем. *Enterobacteriaceae*; Strpt - *Streptococcus* spp.; Sph - *Staphylococcus* spp.; Gard – *Gardnerella vaginalis*/*Prevotella bivia*/*Porphyromonas* spp.; Eub - *Eubacterium* spp.; Sn - *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp./*Fusobacterium* spp.; Meg - *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp.; Lachn - *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp.; Mob - *Mobilincus* spp./*Corynebacterium* spp.; Pept - *Peptostreptococcus* spp.; Av - *Atopobium vaginae*; Ca - *Candida* spp.; Mh - *Mycoplasma hominis*; Ur - *Ureaplasma (urealiticum+parvum)*.

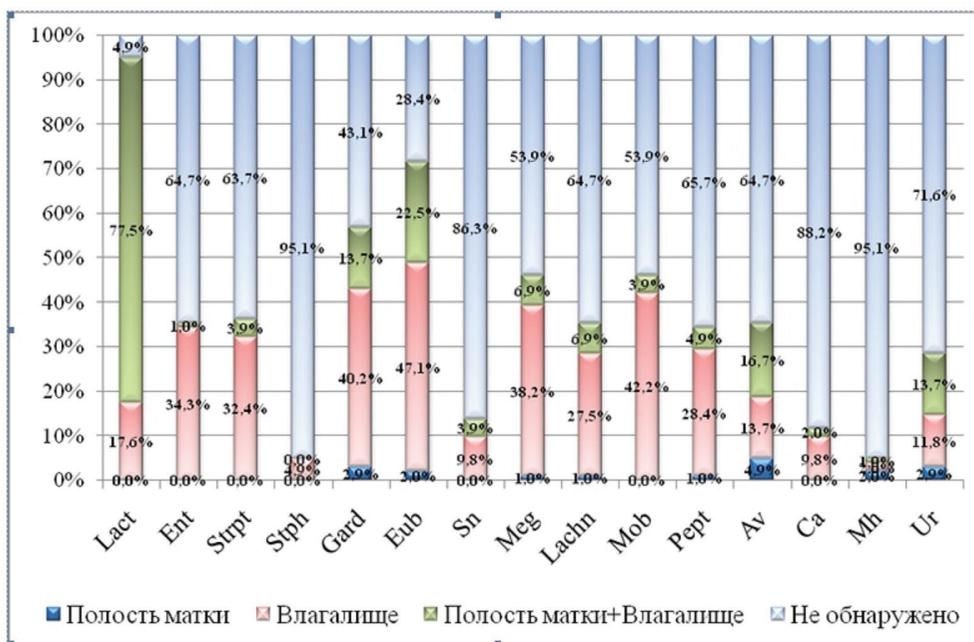


Рис. 2. Сопоставление одновременного выявления микроорганизмов/групп микроорганизмов в образцах отделяемого влагалища и полости матки у одной и той же женщины.

Часто одновременно в двух локусах одной и той же женщины обнаруживались *Eubacterium* spp. ($n=23$; 22,55%). *Atopobium vaginae* ($n=17$; 16,67%), *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* spp. ($n=14$; 13,73%) и *Ureaplasma (urealiticum+parvum)* ($n=14$; 13,73%). В полости матки лактобациллы не выявлены, если они не обнаруживались во влагалище. Только в эндометрии обнаружены: *Atopobium vaginae* у 5 женщин (4,9%), *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/*

Porphyromonas spp. и *Ureaplasma (urealiticum+parvum)* у троих (по 2,94%, соответственно), *Eubacterium* spp. и *Mycoplasma hominis* в двух образцах (по 1,96%, соответственно). В единичных пробах только в полости матки обнаружены *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp.; *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp. и *Peptostreptococcus* spp. (по 0,98%).

Виды лактобацилл, выявляемые во влагалище и в полости матки у женщин с бесплодием представлены на рис. 3.

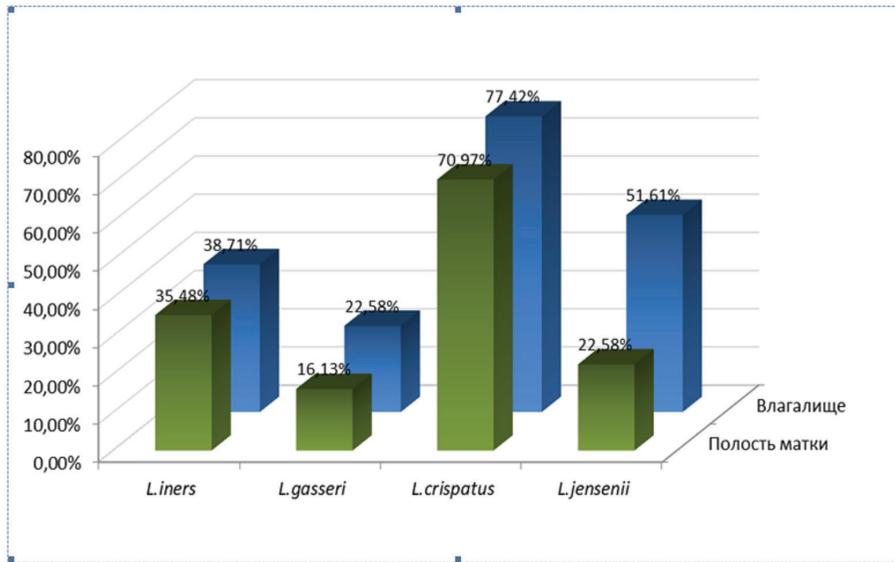


Рис. 3. Частота выявления различных видов *Lactobacillus* spp.

Наиболее часто и во влагалище, и в полости матки выявлялись *Lactobacillus crispatus* (77,42% во влагалище и 70,97% в полости матки), *L. iners* обнаружены у 38,71% и 35,48% женщин, соответственно. Другие виды лактобацилл выявлялись реже.

Наиболее часто в полости матки по сравнению с вагинальным отделяемым обнаружен один вид лактобацилл (54,84% и 29,03%, соответственно), чаще *Lactobacillus crispatus*. Два и три вида лактобацилл чаще выявлялись во влагалище, чем в полости матки (рис. 4).

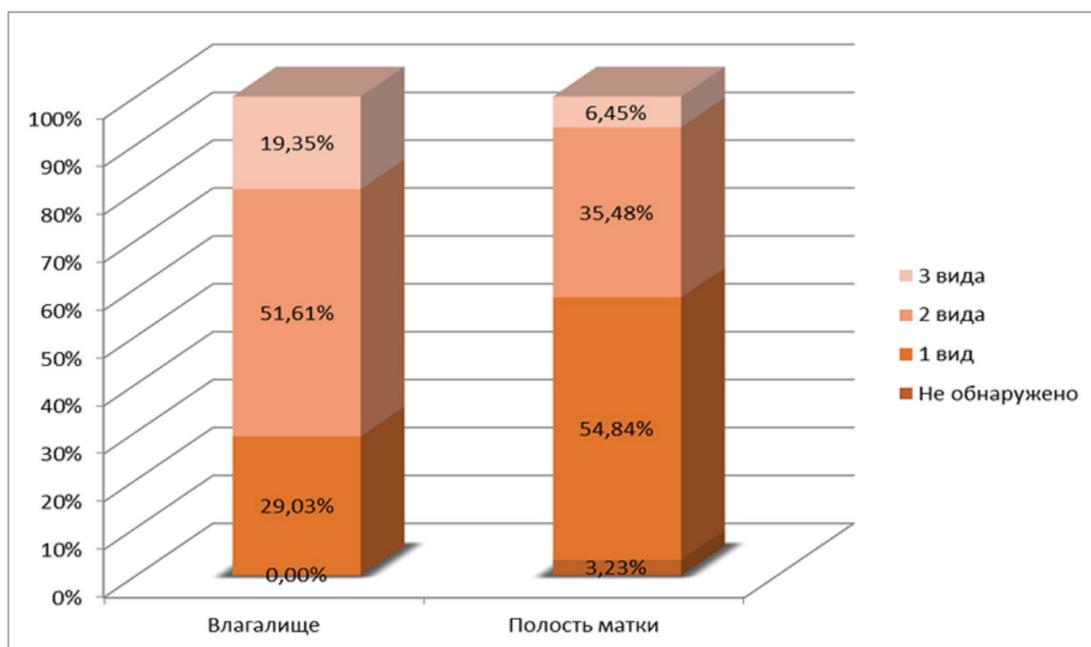


Рис. 4. Число одновременно определяемых различных видов *Lactobacillus* spp. во влагалище и полости матки обследованных женщин.

При рассмотрении разных видов лактобацилл в сравнении с разными формами бесплодия различий не установлено.

Проанализирована частота выявления микроорганизмов в полости матки и во влагалище в зависимости от генеза бесплодия обследованных женщин (рис. 5, 6).

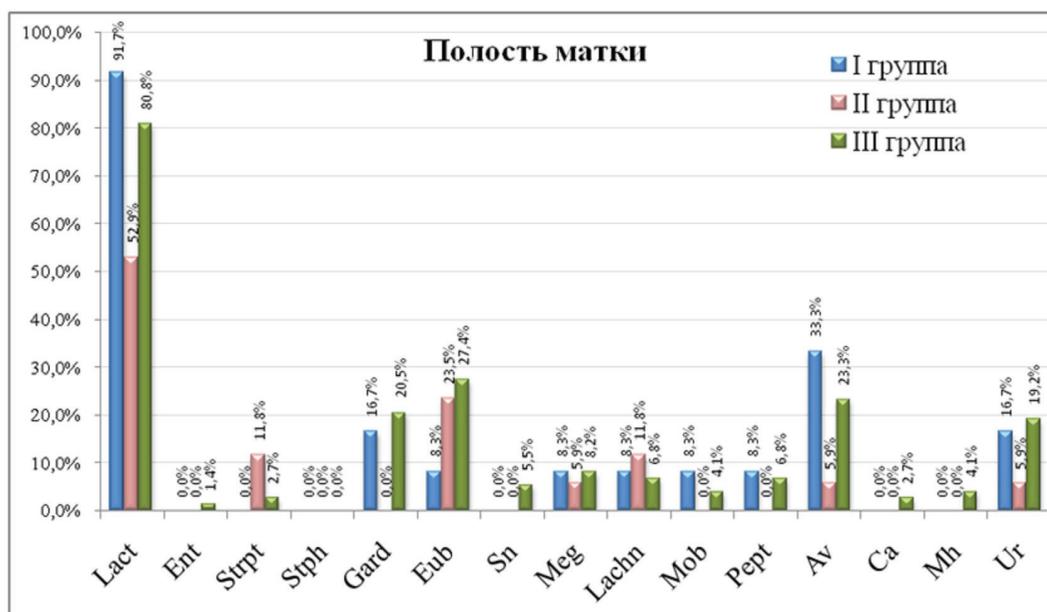


Рис. 5. Частота определения отдельных групп микроорганизмов в полости матки у женщин с бесплодием.

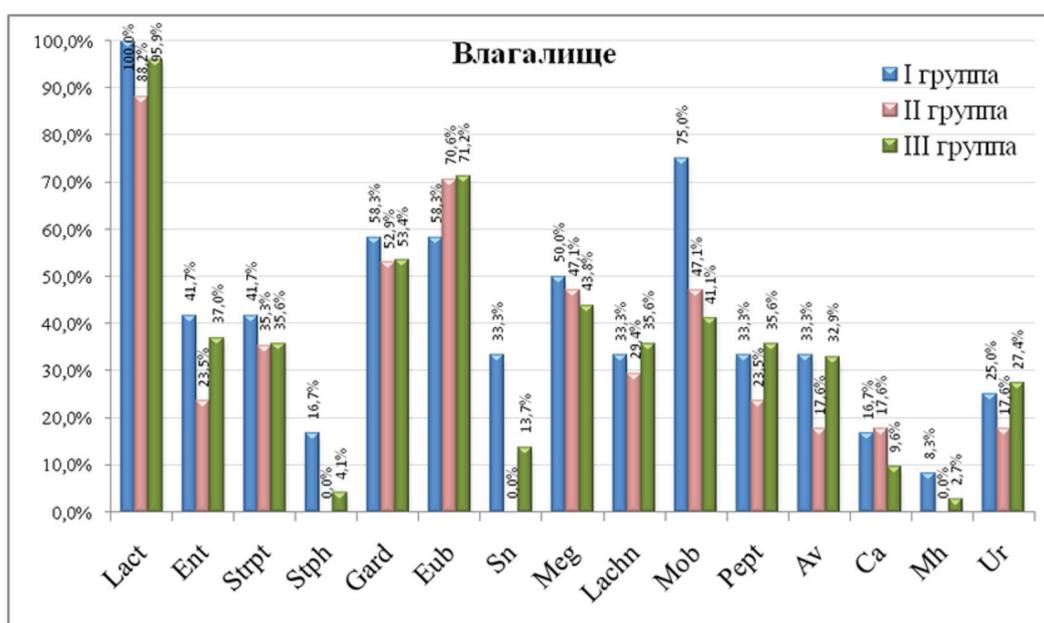


Рис. 6. Частота определения отдельных групп микроорганизмов во влагалище у женщин с бесплодием.

Наиболее часто во всех группах женщин, как в полости матки, так и во влагалище, обнаруживались *Lactobacillus* spp. Частота выявления лактобацилл во влагалище практически не зависела от группы женщин и составила 100% в I, 88,2% во II и почти 96% в III группе. В полости матки частота обнаружения лактобацилл достоверно ниже во II группе относительно двух других ($p < 0,05$). В I и III группах выявляемость лактобацилл в эндометрии достаточно вы-

сока (91,7% и 80,8%, соответственно). Содержание факультативно-анаэробных микроорганизмов во всех трех группах незначительно в обоих локусах, а в полости матки женщин из I группы эти микроорганизмы не выявлены. Obligatно-анаэробные микроорганизмы обнаружены во влагалище всех групп женщин, отмечено особенно высокое содержание *Eubacterium* spp. и кластеров *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas* spp. и *Mobilincus* spp./*Corynebacterium*

spp. Для полости матки характерно незначительное выявление отдельных групп микроорганизмов, за исключением *Atopobium vaginae*, *Eubacterium* spp. и кластера *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* spp. Обращает на себя внимание частое выявление

Ureaplasma (urealiticum+parvum) в полости матки женщин I и III групп. Частота выявления грибов рода *Candida* и *Mycoplasma hominis* незначительная.

Количественные показатели микроорганизмов/групп микроорганизмов представлены в таблице.

Концентрация ДНК микроорганизмов, выявленных во влагалище и полости матки у обследованных женщин разных групп

Микроорганизмы	I группа (n=12)		II группа (n=17)		III группа (n=73)		Всего (n=102)	
	П/м*	Влаг*	П/м*	Влаг*	П/м*	Влаг*	П/м*	Влаг*
ОБМ	4,0 (3,6-7,4)	6,9 (5,1-7,8)	3,9 (3,6-5,9)	6,7 (6,1-7,7)	4,3 (0-6,2)	7,0 (5,0-8,4)	4,2 (0-7,4)	6,9 (5,0-8,4)
<i>Lactobacillus</i> spp.	3,6 (0-7,4)	6,6 (5,0-7,5)	3,3 (0-5,9)	6,6 (0-7,7)	3,8 (0-6,2)	6,7 (0-8,0)	3,7 (0-7,4)	6,6 (0-8,0)
сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	0	0 (0-4,8)	0	0 (0-5,9)	0 (0-5,2)	0 (0-5,8)	0 (0-5,2)	0 (0-5,9)
<i>Streptococcus</i> spp.	0	0 (0-5,5)	0 (0-3,6)	0 (0-6,0)	0 (0-6,0)	0 (0-7,2)	0 (0-6,0)	0 (0-7,2)
<i>Staphylococcus</i> spp.	0	0 (0-5,1)	0	0	0	0 (0-5,6)	0	0 (0-5,6)
<i>G. vaginalis/Prevotella bivia/</i> <i>Porphyromonas</i> spp.	0 (0-5,3)	3,4 (0-6,6)	0	3,1 (0-6,8)	0 (0-5,5)	3,2 (0-8,2)	0 (0-5,5)	3,1 (0-8,2)
<i>Eubacterium</i> spp.	0 (0-5,3)	3,5 (0-6,0)	0 (0-3,3)	3,3 (0-5,6)	0 (0-5,2)	3,6 (0-7,5)	0 (0-5,5)	3,5 (0-7,5)
<i>Sneathia</i> spp./ <i>Leptotrichia</i> spp./ <i>Fusobacterium</i> spp.	0	0 (0-5,2)	0	0	0 (0-5,7)	0 (0-7,7)	0 (0-5,7)	0 (0-7,7)
<i>Megasphaera</i> spp./ <i>Veillonella</i> spp./ <i>Dialister</i> spp.	0 (0-5,2)	1,6 (0-5,7)	0 (0-3,2)	0 (0-6,0)	0 (0-4,8)	0 (0-7,4)	0 (0-5,2)	0 (0-7,4)
<i>Lachnobacterium</i> spp. / <i>Clostridium</i> spp.	0 (0-3,5)	0 (0-4,8)	0 (0-3,5)	0 (0-5,5)	0 (0-4,0)	0 (0-6,1)	0 (0-4,0)	0 (0-6,1)
<i>Mobilincus</i> spp./ <i>Corynebacterium</i> spp.	0 (0-3,9)	3,5 (0-4,7)	0	0 (0-4,7)	0 (0-3,7)	0 (0-6,9)	0 (0-3,9)	0 (0-6,9)
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	0 (0-4,0)	0 (0-4,9)	0	0 (0-3,9)	0 (0-4,5)	0 (0-6,6)	0 (0-4,5)	0 (0-6,6)
<i>Atopobium vaginae</i>	0 (0-2,5)	0 (0-5,7)	0 (0-2,3)	0 (0-2,5)	0 (0-5,1)	0 (0-7,6)	0 (0-5,1)	0 (0-7,6)
<i>Candida</i> spp.	0	0 (0-4,0)	0	0 (0-5,0)	0 (0-3,7)	0 (0-6,5)	0 (3,7)	0 (0-6,5)
<i>Mycoplasma hominis</i>	0	0 (0-2,1)	0	0	0 (0-5,2)	0 (0-7,4)	0 (0-5,2)	0 (0-7,4)
<i>Ureaplasma (urealiticum+parvum)</i>	0 (0-2,6)	0 (0-4,6)	0 (0-2,1)	0 (0-5,0)	0 (0-3,8)	0 (0-5,8)	0 (0-3,8)	0 (0-5,8)

Примечание. * - Концентрация ДНК микроорганизмов (log-трансформированное количество копий на 1 мл), медиана (минимальное-максимальное значение), n - число обследованных.

При попарном сравнении концентраций ДНК микроорганизмов/групп микроорганизмов в образцах из полости матки и отделяемого влагалища разных групп статистически достоверных различий не получено.

Обсуждение. Микроорганизмы являются естественными обитателями организма человека и присутствуют в огромном количестве во всех биотопах организма [11]. Около одной десятой от общего микробиома человека находится в урогенитальном тракте [12]. Считалось, что все микроорганизмы обитают только в нижней части урогенитального тракта; предполагалось, что шейка матки являлась идеальным барьером между влагалищем и верхними отделами половых путей, поддерживающим стерильность полости матки [9]. С развитием методов молекулярной диагностики стало возможным обнаружение микроорганизмов в локусах, ранее считавшихся стерильными [13]. Стало известно, что полость матки содержит малочисленные бактери-

альные сообщества, известные как микробиота с низкой биомассой, однако в этом локусе обнаруживается на 10^2 - 10^4 бактерий меньше, чем во влагалище [14].

В настоящем исследовании бактериальная ДНК в образцах отделяемого влагалища выявлена в диапазоне от $10^{5,0}$ до $10^{8,4}$ (медиана $10^{6,9}$) ГЭ/образец, в аспирате эндометрия - от 0 до $10^{7,4}$ (медиана $10^{4,2}$) ГЭ/образец, что согласуется с данными, полученными ранее другими исследователями [15]. При попарном сравнении бактериальной массы, выявленной из образцов отделяемого влагалища и из полости матки, практически для каждого показателя получены достоверные различия в содержании исследуемых микроорганизмов. Значимых различий не обнаружено только для *Atopobium vaginae* и *Mycoplasma hominis*, что, скорее всего, обусловлено их малой частотой выявления.

Состав микробиоты влагалища связан с акушерскими исходами [16,17]. Достаточное наличие *Lactobacillus*

spp. во влагалище способствует поддержанию состояния здоровья женщины, положительно коррелирует с исходами беременности, и напротив, изменения их количества ассоциированы с рядом гинекологических заболеваний [7,8]. До сих пор не пришли к единому мнению относительно профиля бактериальных патогенов в эндометрии матки, механизмов, с помощью которых они могут препятствовать имплантации эмбриона [18,19]. Авторы расходятся во мнениях относительно наличия и количества лактобацилл в полости матки во время имплантации эмбриона. Некоторые отмечают зависимость между количеством *Lactobacillus* spp. и репродуктивными исходами [20, 21], в то время как другие авторы эту ассоциацию не находят [22,23]. В настоящем исследовании в большинстве образцов обнаружены *Lactobacillus* spp. - у 79 (77,5%) из 102 женщин в полости матки и у 97 (95,1%) из 102 во влагалище, но в разном количестве и концентрации. Наиболее часто выявлялись *Lactobacillus crispatus* и *L. iners*, однако различий в частоте выявления разных видов лактобацилл при разных формах бесплодия нами не обнаружено. Так как все женщины, принявшие участие в исследовании, страдали бесплодием, можно утверждать, что простое наличие лактобацилл, как в полости матки, так и во влагалище, не является гарантом имплантации эмбриона для наступления успешной беременности.

Кроме *Lactobacillus* spp. в полости матки наиболее часто идентифицировали *Eubacterium* spp. ($n=25$, 24,5%), *Atopobium vaginae* ($n=22$, 21,6%), *Ureaplasma (urealiticum+parvum)* ($n=17$, 16,7%), *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas* spp. ($n=17$, 16,7%), но в меньших концентрациях, чем во влагалище, что согласуется с данными литературы [14].

Получено некоторое количество одновременно обнаруженных определенных микроорганизмов и в полости матки, и во влагалище. Техника отбора проб, использованная в исследовании, позволяет минимизировать риск контаминации, но полностью исключить его невозможно. В единичных пробах, только в полости матки обнаружены такие микроорганизмы, как *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp.; *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp. и *Peptostreptococcus* spp. В достаточном количестве образцов, бактерии обнаружены во влагалище, и отсутствуют в пробах из полости матки.

Не получено достоверных различий при попарном сравнении концентраций ДНК микроорганизмов в образцах разных групп обследованных женщин. При разных формах бесплодия (наличие синехий или полипов в полости матки), при идиопатическом бесплодии микрофлора влагалища и эндометрия, видовой состав лактобацилл, достаточно схожи и существенно не различаются.

Заключение. Несмотря на растущее количество доказательств влияния микробиоты на гинекологическое здоровье и акушерские исходы, отсутствует единое мнение о составе и количестве бактериальной микрофлоры в эндометрии и во влагалище, влияющих на имплантацию эмбриона. У женщин с разными формами бесплодия в 98% проб эндометрия обнаружены микроорганизмы. Как и следовало ожидать, общая бактериальная масса в полости матки значительно ниже, чем во влагалище, и составила $0-10^{7.4}$ (в среднем $10^{4.2}$) ГЭ/образец; во влагалище общая бактериальная масса на

несколько порядков выше - $10^{5.0}$ до $10^{8.4}$ (в среднем $10^{6.9}$) ГЭ/образец. Наиболее часто в эндометрии обнаружены *Lactobacillus* spp. (77,5%), во влагалище частота выявления лактобацилл составила 95,1%. В полости матки частота обнаружения лактобацилл достоверно ниже во II группе относительно двух других ($p<0,05$). При видовой идентификации лактобацилл не выявлено различий их определения при разных формах бесплодия. Наиболее часто и во влагалище, и в полости матки женщин с бесплодием выявлялись *Lactobacillus crispatus* с частотой 77,42% и 70,97%, соответственно. Следующим видом лактобацилл по частоте обнаружения являлся вид *L. iners*, выявляемый с частотой 38,71% и 35,48% во влагалище и эндометрии, соответственно. Другие виды лактобацилл выявлялись реже.

Наиболее часто в полости матки по сравнению с вагинальным отделяемым обнаружен один вид лактобацилл (54,84% и 29,03%, соответственно), чаще - *Lactobacillus crispatus*. Два и три вида лактобацилл чаще выявлялись во влагалище, чем в полости матки. Наиболее часто в полости матки по сравнению с вагинальным отделяемым обнаружен один вид лактобацилл (54,84% и 29,03%, соответственно), чаще - *Lactobacillus crispatus*.

Настоящее исследование наряду с другими исследованиями согласуется с данными о наличии микробиоты в верхних отделах женских половых путей. Необходимо дальнейшее исследование для установления роли микробиома женских половых путей в репродукции человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. Infertility. Accessed on 3 April 2023. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>.
2. Эседова А.Э., Меджидова А.М. Аденомиоз и бесплодие. Подходы к лечению. РМЖ. *Мать и дитя*. 2021; 4(2): 110-4. DOI: 10.32364/2618-8430-2021-4-2-110-114.
3. Carson S.A., Kallen A.N. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA*. 2021; 326(1): 65-76. DOI: 10.1001/jama.2021.4788.
4. Исламиди Д.К., Белых Н.С., Ковалев В.В., Миляева Н.М. Вклад микробиоты полости матки в развитие патологических процессов эндометрия. *Уральский медицинский журнал*. 2023; 22(1): 96-103. DOI: 10.52420/2071-5943-2023-22-1-96-103.
5. Nunn K.L., Forney L.J. Unraveling the dynamics of the human vaginal microbiome. *Yale J. Biol. Med.* 2016; 89(3): 331-7.
6. Беляева Н.Р., Будилова О.В., Савичева А.М., Тапильская Н.И., Коган И.Ю. Стабильность вагинальной микробиоты как маркер благополучия беременности. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2023; 72 (4): 71-80. DOI: 10.17816/JOWD117519.
7. Савичева А.М., Будилова О.В., Тапильская Н.И. Роль пероральных пробиотических лактобацилл в поддержании гомеостаза вагинального микробиома. *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение*. 2023; 11 (1): 33-42. DOI: 10.33029/2303-9698-2023-11-1-33-42.
8. Савичева А.М., Крысанова А.А., Шалепо К.В., Савичева Е.В., Будилова О.В., Хуснутдинова Т.А. и др. Применение метода флуоресцентной гибридизации in situ в диагностике бактериального вагиноза. *Акушерство и гинекология*. 2023; 12: 68-77. DOI: 10.18565/aig.2023.129.
9. Чаплин А.В., Ребриков Д.В., Болдырева М.Н. Микробиом человека. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2017; 2: 5-13.
10. Molina N.M., Sola-Leyva A., Saez-Lara M.J., Plaza-Diaz J., Tubić-Pavlović A., Romero B. et al. New opportunities for endometrial health by modifying uterine microbial composition: present or future? *Biomolecules*. 2020; 10(4): 593. DOI: 10.3390/biom10040593.

11. Sender R., Fuchs S., Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* 2016; 14(8): e1002533. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002533.
12. Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The integrative human microbiome project. *Nature.* 2019; 569(7758): 641-8. DOI: 10.1038/s41586-019-1238-8.
13. Aagaard K., Ma J., Antony K.M., Ganu R., Petrosino J., Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci. Transl. Med.* 2014; 6(237): 237ra65. DOI:10.1126/scitranslmed.3008599.
14. Moreno I., Garcia-Grau I., Perez-Villaroya D., Gonzalez-Monfort M., Bahçeci M., Barrionuevo M.J. et al. Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients. *Microbiome.* 2022; 10(1): 1. DOI: 10.1186/s40168-021-01184-w.
15. Chen C., Song X., Wei W., Zhong H., Dai J., Lan Z. et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun.* 2017; 8(1): 875. DOI: 10.1038/s41467-017-00901-0.
16. Сняжкова, А.А., Шипицына Е.В., Будиловская О.В., Болотских В.М., Савичева А.М. Клинико-anamnestические и микробиологические предикторы невынашивания беременности. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2019; 68 (2): 59-70. DOI: 10.17816/JOWD68259-70.
17. Fettweis J.M., Serrano M.G., Brooks J.P., Edwards D.J., Girerd P.H., Parikh H.I. et al. The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat Med.* 2019; 25(6): 1012-21. DOI: 10.1038/s41591-019-0450-2.
18. Benner M., Ferwerda G., Joosten I., van der Molen R.G. How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium. *Hum. Reprod. Update.* 2018; 24(4): 393-415. DOI: 10.1093/humupd/dmy012.
19. Baker J.M., Chase D.M., Herbst-Kralovetz M.M. Uterine microbiota: residents, tourists, or invaders? *Front. Immunol.* 2018; 9: 208. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00208.
20. Kyono K., Hashimoto T., Nagai Y., Sakuraba Y. Analysis of endometrial microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing among infertile patients: a single-center pilot study. *Reprod. Med. Biol.* 2018; 17(3): 297-306. DOI: 10.1002/rmb2.12105.
21. Moreno I., Garcia-Grau I., Bau D., Perez-Villaroya D., Gonzalez-Monfort M., Vilella F. et al. The first glimpse of the endometrial microbiota in early pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020; 222(4): 296-305. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.01.031.
22. Hashimoto T., Kyono K. Does dysbiotic endometrium affect blastocyst implantation in IVF patients? *J. Assist. Reprod. Genet.* 2019; 36(12): 2471-79. DOI: 10.1007/s10815-019-01630-7.
23. Riganelli L., Iebba V., Piccioni M., Illuminati I., Bonfiglio G., Neroni B. et al. Structural variations of vaginal and endometrial microbiota: hints on female infertility. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2020; 10: 350. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00350.
- Sep 30; 89(3): 331-7.
6. Belyaeva N.R., Budilovskaya O.V., Savicheva A.M., Tapil'skaya N.I., Kogan I.Yu. Stability of vaginal microbiota as a marker of pregnancy well-being. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney.* 2023; 72 (4): 71-80. DOI: 10.17816/JOWD117519. (in Russian)
7. Savicheva A.M., Budilovskaya O.V., Tapil'skaya N.I. The role of oral probiotic lactobacilli in maintaining vaginal microbiome homeostasis. *Akusherstvo i ginekologiya. novosti, mneniya, obuchenie.* 2023; 11 (1): 33-42. DOI: 10.33029/2303-9698-2023-11-1-33-42. (in Russian)
8. Savicheva A.M., Krysanova A.A., Shalepo K.V., Spasibova E.V., Budilovskaya O.V., Xusnutdinova T.A. et al. Application of fluorescent in situ hybridization in the diagnosis of bacterial vaginosis. *Akusherstvo i Ginekologiya.* 2023; (12): 68-77. DOI: 10.18565/aig.2023.129. (in Russian)
9. Chaplin A.V., Rebrikov D.V., Boldyreva M.N. The human microbiome. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta.* 2017; 2: 5-13. (in Russian)
10. Molina N.M., Sola-Leyva A., Saez-Lara M.J., Plaza-Diaz J., Tubić-Pavlović A., Romero B. et al. New opportunities for endometrial health by modifying uterine microbial composition: present or future? *Biomolecules* 2020; 10(4): 593. DOI: 10.3390/biom10040593.
11. Sender R., Fuchs S., Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* 2016; 14(8): e1002533. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002533.
12. Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The integrative human microbiome project. *Nature.* 2019; 569(7758): 641-8. DOI: 10.1038/s41586-019-1238-8.
13. Aagaard K., Ma J., Antony K.M., Ganu R., Petrosino J., Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci. Transl. Med.* 2014; 6(237): 237ra65. DOI: 10.1126/scitranslmed.3008599.
14. Moreno I., Garcia-Grau I., Perez-Villaroya D., Gonzalez-Monfort M., Bahçeci M., Barrionuevo M.J. et al. Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients. *Microbiome.* 2022; 10(1): 1. DOI: 10.1186/s40168-021-01184-w.
15. Chen C., Song X., Wei W., Zhong H., Dai J., Lan Z. et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat. Commun.* 2017; 8(1): 875. DOI: 10.1038/s41467-017-00901-0.
16. Snyakova A.A., Shipitsyna E.V., Budilovskaya O.V., Bolotских V.M., Savicheva A.M. Anamnestic and microbiological predictors of miscarriage. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney.* 2019; 68(2): 59-70. DOI: 10.17816/JOWD68259-70. (in Russian)
17. Fettweis J.M., Serrano M.G., Brooks J.P., Edwards D.J., Girerd P.H., Parikh H.I. et al. The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat. Med.* 2019; 25(6): 1012-21. DOI: 10.1038/s41591-019-0450-2.
18. Benner M., Ferwerda G., Joosten I., van der Molen R.G. How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium. *Hum. Reprod. Update.* 2018; 24(4): 393-415. DOI: 10.1093/humupd/dmy012.
19. Baker J.M., Chase D.M., Herbst-Kralovetz M.M. Uterine microbiota: residents, tourists, or invaders? *Front. Immunol.* 2018; 9: 208. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00208.
20. Kyono K., Hashimoto T., Nagai Y., Sakuraba Y. Analysis of endometrial microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing among infertile patients: a single-center pilot study. *Reprod. Med. Biol.* 2018; 17(3): 297-306. DOI: 10.1002/rmb2.12105.
21. Moreno I., Garcia-Grau I., Bau D., Perez-Villaroya D., Gonzalez-Monfort M., Vilella F. et al. The first glimpse of the endometrial microbiota in early pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020; 222(4): 296-305. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.01.031.
22. Hashimoto T., Kyono K. Does dysbiotic endometrium affect blastocyst implantation in IVF patients? *J. Assist. Reprod. Genet.* 2019; 36(12): 2471-9. DOI: 10.1007/s10815-019-01630-7.
23. Riganelli L., Iebba V., Piccioni M., Illuminati I., Bonfiglio G., Neroni B. et al. Structural variations of vaginal and endometrial microbiota: hints on female infertility. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2020; 10: 350. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00350.

REFERENCES

1. World Health Organization. Infertility. Accessed on 3 April 2023. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>.
2. Esedova A.E., Medzhidova A.M. Adenomyosis and infertility. Management strategies. *Mat' i ditya.* 2021; 4(2): 110-4. DOI: 10.32364/2618-8430-2021-4-2-110-114. (in Russian)
3. Carson S.A., Kallen A.N. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA.* 2021; 326(1): 65-76. DOI: 10.1001/jama.2021.4788.
4. Islamidi D.K., Belykh N.S., Kovalev V.V., Milyaeva N.M. Contribution of the microbiota of the uterine cavity to the development of pathological processes of the endometrium. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal.* 2023; 22(1): 96-103. DOI: 10.52420/2071-5943-2023-22-1-96-103. (in Russian)
5. Nunn K.L., Forney L.J. Unraveling the dynamics of the human vaginal microbiome. *The Yale journal of biology and medicine.* 2016