

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРОБЛЕМ
ЗДОРОВЬЯ СЕМЬИ И РЕПРОДУКЦИИ ЧЕЛОВЕКА»

На правах рукописи

Игумнов Илья Андреевич

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА
И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ГИПЕРАНДРОГЕНИЗМОМ
У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА
С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ**

3.3.3 Патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Сутурина Лариса Викторовна

Иркутск – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ СИНДРОМА ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА, РОЛЬ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ, МИКРОБИОТЫ И ГОРМОНОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)...	14
1.1 Синдром поликистозных яичников как модель гиперандрогенизма у женщин репродуктивного возраста.....	14
1.2 Синдром поликистозных яичников и хроническое системное воспаление.....	17
1.3 Роль основных гормонов пищеварительной системы в патогенезе синдрома поликистозных яичников	19
1.4 Микробиоценоз пищеварительной системы и синдром поликистозных яичников	23
1.5 Современные подходы к коррекции нарушений микробиоценоза кишечника при синдроме поликистозных яичников.....	40
1.6 Резюме обзора литературы.....	41
ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	44
2.1 Объекты и дизайн исследования	44
2.2 Методы исследования.....	47
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	52
3.1 Характеристика гормональных показателей, маркеров хронического воспаления и их взаимосвязей у женщин с гиперандрогемией на модели синдрома поликистозных яичников и в группах сравнения	52
3.2 Характеристика изменений микробиоценоза кишечника у женщин репродуктивного возраста с гиперандрогемией	58
3.2.1 Особенности альфа-разнообразия кишечной микробиоты женщин репродуктивного возраста с гиперандрогемией	58

3.2.2 Характеристика изменений микробиоты кишечника у женщин репродуктивного возраста с гиперандрогемией	63
3.3 Результаты оценки взаимосвязей изменений микробиоценоза кишечника, маркеров воспаления и гормональных нарушений при гиперандрогемии на модели синдрома поликистозных яичников	65
3.3.1 Особенности взаимосвязей индексов альфа-разнообразия кишечной микробиоты, гормональных показателей и основных маркеров хронического системного воспаления у женщин репродуктивного возраста с гиперандрогемией	65
3.3.2 Характеристика взаимосвязей изменений микробиоценоза кишечника, маркеров воспаления и гормональных показателей у обследованных женщин репродуктивного возраста.....	68
3.4 Основные микробиом-ассоциированные маркеры гиперандрогемии (на модели синдрома поликистозных яичников) у женщин репродуктивного возраста	79
3.5 Обоснование принципов пациент-ориентированной коррекции изменений микробиоценоза кишечника, ассоциированных с гиперандрогемией у женщин репродуктивного возраста	87
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	89
ВЫВОДЫ	96
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	98
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	99
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	101
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	115
ПРИЛОЖЕНИЕ 2	116
ПРИЛОЖЕНИЕ 3	122

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Одним из актуальных направлений фундаментальной медицины является изучение патогенетических аспектов гиперандрогенизма (ГА), наиболее распространённой формой которого обоснованно считается синдром поликистозных яичников (СПЯ). В зависимости от используемых диагностических подходов СПЯ выявляется у 6,0–19,5 % женщин репродуктивного возраста [111]; при этом с данным синдромом связан высокий риск не только репродуктивных нарушений, но и сахарного диабета, инсулинорезистентности (ИР), метаболического синдрома (МетС), сердечно-сосудистых и других заболеваний [21, 31, 78, 99, 124].

Была сформулирована гипотеза о том, что дисбиоз кишечника и связанная с ним эндотоксемия могут приводить к резистентности к инсулину и гиперсекреции андрогенов [120]. В последние годы роль микробиоценоза пищеварительной системы в развитии гиперандрогенизма является предметом активного изучения [11, 17, 24, 45, 54, 62, 63, 66]. Так, определённые виды бактерий рассматриваются как маркеры СПЯ [18, 38, 56, 60, 86, 106, 116, 122].

С одной стороны, при СПЯ зарегистрировано снижение численности некоторых бактерий, среди которых могут быть потенциальные пробиотики [11, 86]. С другой стороны, роль одних и тех же видов бактерий в патогенезе гиперандрогенизма в исследованиях, проведённых разными группами авторов, расценивается неоднозначно [62, 66].

Имеющиеся данные о роли биоразнообразия кишечной микробиоты свидетельствуют преимущественно в пользу уменьшения значений как минимум одного из индексов альфа-разнообразия при СПЯ [11, 23, 54, 58, 63]. В то же время учёные не отмечают различий некоторых индексов биоразнообразия микробиоты в норме и при гиперандрогенизме [25, 32, 33, 39].

Известно, что связующим звеном между изменениями микробиоценоза, инсулинорезистентностью, ожирением и другими патологическими состояниями является хроническое системное воспаление (ХСВ). Это определяет интерес к оценке роли микробиом-детерминированного ХСВ в развитии гиперандрогенизма, однако имеющиеся данные пока немногочисленны и в основном получены в селективных (госпитальных) группах пациенток или с помощью моделирования на животных [9, 62, 76, 113, 118].

Актуальным направлением исследований является выявление роли дисбаланса гормонов пищеварительной системы в развитии репродуктивных нарушений. Так, грелин, регулирующий пищевое поведение, наряду с этим принимает участие в регуляции функции репродуктивной системы, через контроль секреции гонадотропин-рилизинг гормона (ГнРГ) и гонадотропинов [28]. Отмечено влияние микробиома кишечника на нейропептиды гипоталамуса, включая нейропептид Y, который участвует в контроле за пищевым поведением, а также демонстрирует прямой ингибирующий эффект на апоптоз клеток гранулёзы при экспериментальном СПЯ [92]. Показано, что данный нейропептид экспрессируется и в кишечнике, при этом данный процесс регулируется с участием микробиоты [75]. В то же время сведений о вовлечённости кишечной микробиоты в патогенетические механизмы СПЯ, в которых участвуют грелин и нейропептид Y, недостаточно. Поскольку эндотоксинемия при дисбиозе кишечника ассоциирована с дисфункцией жировой ткани [26], представляется обоснованным определение роли микробиом-ассоциированных изменений продукции лептина и адипонектина у женщин с СПЯ и гиперандрогемией.

Имеющиеся данные пилотных исследований применения пробиотиков при СПЯ указывают перспективность патогенетически обоснованных методов коррекции микробиом-ассоциированных гормональных нарушений у женщин репродуктивного возраста [49, 114, 115], однако до настоящего времени не существует консенсуса относительно оптимального состава потенциальных пробиотических препаратов для применения у пациенток с СПЯ и профилактики гиперандрогенизма.

Степень разработанности темы исследования

В последние годы основные направления исследований роли микробиоты кишечника в патогенезе гиперандрогенизма включают изучение её состава и структуры при СПЯ, выявление микроорганизмов – маркеров данного синдрома и его метаболических осложнений, исследование эффективности влияния на кишечную микробиоту различных диетических вмешательств, а также лекарственных, в том числе пробиотических препаратов [18, 38, 56, 60, 86, 106, 116].

Для характеристики микробиоценоза кишечника в основном применяются современные методы, к которым относится секвенирование ампликонов переменных областей гена 16S рРНК, однако исследования чаще всего выполняются на госпитальных выборках пациенток или с использованием лабораторных животных, что не позволяет экстраполировать полученные данные на популяцию. В ряде зарубежных и отечественных публикаций сообщалось об изменениях биоразнообразия микробиоты кишечника у пациентов с СПЯ, в частности, ассоциированных с инсулинорезистентностью [11, 24, 54, 58, 63, 73, 109, 114, 115], однако не были установлены пороговые значения индексов биоразнообразия, характерные для гиперандрогенемии, ассоциированной с СПЯ.

Кроме того, существующие в настоящее время подходы к оценке вовлеченности микробиома пищеварительной системы в молекулярные механизмы развития СПЯ зачастую недостаточно учитывают фенотипическую гетерогенность данного синдрома, который наряду с гиперандрогенными фенотипами включает варианты, не сопряжённые с избытком андрогенов. Для оценки гиперандрогенемии не все исследователи используют рекомендуемый «золотой стандарт» гормонального анализа – высокоэффективную жидкостную хроматографию с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС), что также может определять разноречивость имеющихся научных данных относительно роли изменений микробиоты кишечника у женщин репродуктивного возраста с синдромом поликистозных яичников и гиперандрогенизмом.

Всё вышеизложенное послужило основанием для проведения настоящего исследования.

Цель исследования

Установить микробиом-ассоциированные механизмы и маркеры гиперандрогенемии на модели синдрома поликистозных яичников у женщин репродуктивного возраста для патогенетического обоснования профилактики и коррекции гиперандрогенизма.

Задачи исследования

1. Определить характер изменений микробиоты кишечника и их патогенетическую связь с гормональными нарушениями и хроническим системным воспалением у женщин репродуктивного возраста с гиперандрогенемией на модели синдрома поликистозных яичников.

2. Установить основные закономерности адаптивной перестройки микробиоты кишечника и саногенеза у женщин с синдромом поликистозных яичников и гиперандрогенемией.

3. Определить наиболее информативные микробиом-ассоциированные маркеры гиперандрогенемии на модели синдрома поликистозных яичников в репродуктивном возрасте.

4. Предложить новые патогенетически обоснованные подходы к пациент-ориентированной профилактике и коррекции гиперандрогенизма у женщин репродуктивного возраста с учётом состояния микробиоты кишечника.

Научная новизна

Получены новые данные о закономерностях изменений биоразнообразия микробиоты кишечника и определены пороговые значения, характерные для снижения основных индексов альфа-разнообразия при овариальной гиперандрогенемии на модели синдрома поликистозных яичников.

Установлено, что микробиоценоз кишечника женщин с синдромом поликистозных яичников и гиперандрогенемией характеризуется увеличением представленности *Lactobacillus* и *Catenibacterium* и дефицитарностью

Faecalibacterium, *Christensenellaceae_R-7_group* и *[Eubacterium] eligens group* класса Clostridia, которые демонстрируют отрицательные связи с основными маркерами гиперандрогенемии и нейропептидом Y и положительно коррелируют с грелином.

Выявлены особенности микробиоты кишечника, ассоциированные с маркерами хронического системного воспаления при гиперандрогенемии у женщин с синдромом поликистозных яичников. Показано, что увеличение представленности в кишечном микробиоценозе *Catenibacterium* ассоциировано со снижением циркулирующего адипонектина, уровень которого, напротив, положительно коррелирует с наличием *Oxalobacter*, при этом наличие *Lactobacillus* негативно связано с уровнем провоспалительного интерлейкина (ИЛ) 8.

На основании результатов исследования дано патогенетическое обоснование новых подходов к профилактике и коррекции гиперандрогенизма у женщин репродуктивного возраста, ассоциированного с изменениями микробиоты кишечника.

Теоретическая и практическая значимость

Установлена патогенетическая значимость снижения биоразнообразия микробиоты кишечника, дефицитарности *Faecalibacterium*, *Christensenellaceae_R-7_group* и *[Eubacterium] eligens group* класса Clostridia и увеличения представленности *Catenibacterium* у женщин с синдромом поликистозных яичников и гиперандрогениемией.

Обнаружен адаптивный характер увеличения количества *Lactobacillus* в кишечном микробиоме и потенциальная роль *Delftia* и *Oxalobacter* в саногенезе при гиперандрогенемии на модели синдрома поликистозных яичников в репродуктивном возрасте.

Установлены микробиом-специфические механизмы гиперандрогенемии на модели синдрома поликистозных яичников в репродуктивном возрасте, ассоциированные с дисбалансом гормонов пищеварительной системы и хроническим системным воспалением. На основании выявленных маркеров

предложены новые, патогенетически обоснованные подходы к коррекции гиперандрогенемии у женщин репродуктивного возраста с синдромом поликистозных яичников с учётом состояния микробиоты кишечника.

Методология и методы исследования

Для решения поставленных задач в исследование были включены 175 женщин репродуктивного возраста – участницы поперечного исследования эпидемиологии и фенотипов СПЯ в Восточной Сибири (2016–2019 гг.), 26 из которых имели гиперандрогенемию, ассоциированную с синдромом поликистозных яичников, и составили основную группу исследования. В работе использованы диагностические критерии СПЯ, принятые в Роттердаме (2003).

Лабораторные методы включали иммуноферментный анализ для определения концентраций глобулина, связывающего половые стероиды, пролактина, гонадотропных гормонов, 17-гидроксипрогестерона (17-ОН-Пр), кортизола, антимюллерового гормона (АМГ), гормонов пищеварительной системы, лептина, маркеров хронического системного воспаления. Исследование дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-С) и инсулина проводилось иммунохемилюминесцентным методом. Для измерения тестостерона (Тс) использовался современный высокоэффективный метод (ВЭЖХ-МС/МС). Гиперандрогенемия диагностировалась при превышении верхних границ нормы концентраций Тс и/или индекса свободных андрогенов (ИСА), и/или ДГЭА-С.

Геномную ДНК выделяли из фекалий с помощью набора Quick-DNA Fecal/Soil Microbe Kit (Zymo Research, США). Амплифицированные фрагменты V1–V3 переменных областей гена 16S рРНК секвенировали на приборе Illumina MiSeq (Illumina, США) с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»; первичные данные депонировали в международной базе данных NCBI SRA (данные: PRJNA899143).

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием методов описательного, сравнительного статистического

анализа и выявления взаимосвязей между показателями. Кроме того, в работе применялся биоинформационный анализ результатов метасеквенирования ампликонов, а также многофакторный анализ с созданием моделей логистической регрессии. В работе использован автоматизированный анализ данных с помощью интернет-ресурсов и программных средств с открытым кодом.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Научные положения и выводы обоснованы достаточным объёмом выполненных исследований с применением корректных современных методов, сертифицированного оборудования и реактивов. Для проверки статистических гипотез использованы: параметрические и непараметрические критерии (t-test Стьюдента, критерий Манна – Уитни, однофакторный анализ вариаций (ANOVA, ANalysis Of VAriance), ранговый анализ вариаций по Краскелу – Уоллису и медианный тест); анализ таблиц сопряжённости; z-критерий; ранговая корреляция по Спирмену. Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью современных программных ресурсов.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на VII международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты репродуктологии» (Иркутск, 2018); II и IV научно-практических конференциях с международным участием «Байкальские семинары по репродуктивной медицине» (Иркутск, 2019, 2021); Российском научно-практическом конгрессе «Гинекологическая эндокринология в возрастном аспекте: проблемы и решения» (Москва, 2021); X Российской научной конференции с международным участием «Персистенция и симбиоз микроорганизмов» (Оренбург, 2023); II Всероссийской научно-практической конференции «Медико-биологические проблемы в Арктике» (Апатиты, 2023); Международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика» (Москва, 2023); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье семьи – здоровье нации: фундаментальные

и прикладные исследования» (Иркутск, 2024); 21-м Всемирном конгрессе гинекологической эндокринологии (Флоренция, Италия, 2024). Основные положения диссертации и результаты работы представлены на заседании отдела охраны репродуктивного здоровья, а также на заседании Учёного совета ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ).

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 9 статей в ведущих научных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, входящих в базу данных Russian Science Citation Index, и в научных журналах, индексируемых в международных базах данных и системах цитирования Scopus и Web of Science. Зарегистрирована одна база данных.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Патогенетически важным звеном гиперандрогемии у женщин репродуктивного возраста является дисбаланс гормонов пищеварительной системы, ассоциированный со снижением биоразнообразия кишечной микробиоты, количества *Faecalibacterium* и *[Eubacterium] eligens group*, а также с уменьшением влияния противовоспалительных адипокинов на фоне избыточной представленности *Catenibacterium*.

2. У женщин с гиперандрогемией установлен адаптивный характер влияния *Lactobacillus*, представленность которых негативно ассоциирована с антимюллеровым гормоном – маркером поликистозной трансформации яичников – и провоспалительным интерлейкином 8. Кроме того, показана потенциальная роль в саногенезе гиперандрогенизма *Delftia*, которые демонстрируют отрицательную связь с уровнем андрогемии, и *Oxalobacter*, положительно ассоциированных с адипокинами с противовоспалительными свойствами.

3. Для повышения биоразнообразия микробиоты кишечника при гиперандрогенизме обосновано использование в составе пробиотических препаратов дефицитарных при гиперандрогемии представителей *Faecalibacterium*, *Christensenellaceae_R-7_group* и *[Eubacterium] eligens group*.

Применение *Delftia*, *Oxalobacter* наряду с *Lactobacillus* является патогенетически обоснованным подходом с учётом их потенциальных протективных свойств.

Внедрение результатов исследования

Материалы исследования, а также разработанная стандартная операционная процедура забора биосубстратов для исследования микробиома кишечника применяются в клинической практике клиники ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск). Полученные научные данные используются при подготовке аспирантов ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, обучающихся по специальности «Патологическая физиология», а также внедрены в учебный процесс на кафедре патологической физиологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (Иркутск).

Личный вклад автора

Автором произведён анализ зарубежной и отечественной литературы для обоснования выбора темы исследования, постановки цели и задач исследования. Личный вклад заключается также в рекрутировании и наблюдении участниц исследования, статистической обработке и интерпретации полученных данных. Автором подготовлены основные публикации и доклады по выполненной работе, сформулированы научные положения и выводы, оформлен текст диссертации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.3.3 Патологическая физиология. Результаты работы соответствуют направлениям исследований, а именно пунктам 2, 8 и 11.

Объём и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, трёх глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы и приложений. Работа изложена на 122 страницах, иллюстрирована 33 таблицами, 7 рисунками. Список литературы содержит 125 источников, в том числе 17 отечественных и 108 зарубежных.

Благодарности

Автор выражает благодарность ведущему научному сотруднику, руководителю лаборатории микробиома и микроэкологии Института эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ кандидату биологических наук, доценту Бельковой Наталье Леонидовне за консультативную помощь при выполнении диссертационной работы.

ГЛАВА 1

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ СИНДРОМА
ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО
ВОЗРАСТА, РОЛЬ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ, МИКРОБИОТЫ
И ГОРМОНОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ
(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

**1.1 Синдром поликистозных яичников как модель гиперандрогенизма
у женщин репродуктивного возраста**

Синдром поликистозных яичников – наиболее распространённая форма гиперандрогенизма у женщин, при которой наряду с репродуктивными нарушениями отмечается высокий риск развития метаболического синдрома, сахарного диабета, сердечно-сосудистых заболеваний и психоэмоциональных расстройств [99].

Частота встречаемости СПЯ колеблется от 6,0 до 19,5 % в зависимости от используемых диагностических критериев. В эпидемиологических исследованиях, проведённых с применением единых диагностических критериев, определяется вариабельность результатов, которая может быть обусловлена расовым разнообразием и методиками набора участников. Наиболее низкая частота встречаемости СПЯ отмечается в азиатских популяциях [111]. В настоящее время признаны критерии, согласно которым диагноз СПЯ ставится при наличии по меньшей мере двух из трёх признаков: гиперандрогенизм (гирсутизм и/или гиперандрогенемия), олиго-/ановуляция (ОА) и поликистозная структура яичников (ПКЯ).

Основным клиническим проявлением гиперандрогенизма является гирсутизм, обозначающий чрезмерный рост терминальных волос у женщин и детей с мужским типом распределения. Для оценки используется модифицированная шкала Ферримана – Галлвея [121], акне и алопецию в качестве

самостоятельных критериев диагностики СПЯ не рассматривают, но принимают во внимание при сочетании с остальными критериями [43].

Гиперандрогенемия прежде всего характеризуется избытком Тс. Для оптимальной оценки концентраций общего Тс используется жидкостная хроматография с масс-спектрометрией. Кроме того, для диагностики гиперандрогенемии рекомендуется дополнительно определять содержание свободного Тс с применением расчётных методов. При нормальных концентрациях общего и свободного Тс дополнительными маркерами ГА могут быть повышенные уровни андростендиона и дегидроэпиандростерона [15].

Диагностика овуляторной дисфункции основана на оценке менструальной и овуляторной функции. Нарушением менструального цикла в репродуктивном возрасте считается менструальный цикл продолжительностью < 21 дня или > 35 дней. Для диагностики также имеет значение наличие менее 8 менструальных циклов в год. При регулярном менструальном цикле для оценки овуляторной функции необходимо не менее чем двукратное измерение прогестерона в лютеиновую фазу [105].

Поликистозная структура яичников устанавливается при проведении ультразвукографии. При использовании датчика частотой 8 МГц основаниями для диагностики считаются наличие ≥ 20 фолликулов хотя бы в одном яичнике, а также объём яичников $\geq 10 \text{ см}^3$ при присутствии доминантных фолликулов, кист или жёлтых тел.

В зависимости от выраженности проявлений СПЯ выделяют четыре фенотипа (Таблица 1).

Таблица 1 – Фенотипы синдрома поликистозных яичников [15]

Симптомы	Фенотип А	Фенотип В	Фенотип С	Фенотип D
Гирсутизм/гиперандрогенемия	+	+	+	–
Овуляторная дисфункция	+	+	–	+
Поликистозная структура яичников	+	–	+	+

Фенотип А (классический) представляет собой наиболее тяжёлую клиническую форму, объединяя в себе все три компонента. Фенотип В (также классический фенотип) выражается в менструальной дисфункции и более высокой частотой инсулинорезистентности, метаболических нарушений по сравнению с негиперандрогенными формами СПЯ. При фенотипе С (овуляторном) у пациенток лабораторно отмечаются повышенные уровни андрогенов и липидов в сыворотке крови, а также умеренная гиперинсулинемия с более низкой частотой МетС и гирсутизма, чем при прочих фенотипах СПЯ. У пациенток с фенотипом D (неандрогенным) показано максимальное количество регулярных менструальных циклов и наиболее низкая степень метаболических нарушений. Кроме этого, у такой группы пациенток регистрируются более низкие значения Тс и соотношения лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов в сыворотке крови, но значительно более высокие уровни глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ), в сравнении с пациентками с первыми двумя фенотипами СПЯ. Определение клинического фенотипа в каждом конкретном случае необходимо с целью выбора наиболее эффективной тактики ведения пациента и предупреждения осложнений [100].

Основные механизмы патогенеза СПЯ включают в себя нарушение стероидпродуцирующей функции яичников с увеличением базальной и стимулированной продукции андрогенов, нарушением их преобразования в эстрогены, развитием гонадотропной дисфункции, выражающейся в ановуляции или недостаточности прогестерона. В свою очередь, для гиперандрогенизма характерно наличие абдоминального типа ожирения и изменений липидного профиля [12, 96]. Эти два состояния могут являться предикторами развития хронического системного воспаления и окислительного стресса [36, 97].

Возникающая при СПЯ гиперстимуляция ЛГ-продуцирующих клеток гипофиза ГнРГ и последующая гиперсекреция ЛГ способствуют увеличению синтеза тека-клетками андрогенов. Развивающаяся гиперандрогения сопровождается кистозной атрезией фолликулов на фоне относительного дефицита ФСГ. Таким образом, запуск избыточной продукции ЛГ можно

рассматривать как триггерный фактор в патогенезе данного синдрома. Причинами активации процесса являются различные нарушения цирхорального ритма выделения ГнРГ и гонадотропинов, подавление дофаминергической регуляции ЛГ, сенсбилизация рецепторов к действию ГнРГ. Высокие концентрации инсулина, приводящие к развитию инсулинорезистентности, способствуют снижению синтеза ГСПС, что, в свою очередь, приводит к повышению ИСА [69, 93, 96].

1.2 Синдром поликистозных яичников и хроническое системное воспаление

Хроническое системное воспаление является ключевым фактором в развитии и формировании многих заболеваний, которые в большинстве случаев ассоциированы с изменениями углеводного и липидного обменов, а также с другими патологическими состояниями, включая метаболические нарушения, такие как ожирение и MetC, а также эндокринные расстройства, например синдром поликистозных яичников [35, 85]. СПЯ, характеризующийся гиперандрогенизмом, является одним из наиболее распространённых эндокринных нарушений у женщин репродуктивного возраста и тесно связан с инсулинорезистентностью, которая, в свою очередь, ассоциируется с хроническим системным воспалением [94, 105].

Литературные данные о взаимосвязи MetC и СПЯ проанализированы нами и опубликованы в статьях «Prevalence of metabolic syndrome in PCOS patients» и «Метаболический синдром: Эпидемиология, критерии диагностики, расовые особенности» [10, 103].

У. Tian et al. изучали непосредственно связь клинического гиперандрогенизма и гиперандрогенемии с ИР и пришли к выводу, что гиперандрогенемия была связана с риском развития сахарного диабета 2-го типа (СД2) [98]. Поскольку ИР как ключевой фактор патогенеза СПЯ тесно связана с хроническим системным воспалением, закономерен интерес к изучению роли ХСВ при ГА. Р. Moghetti et al. утверждают, что СПЯ сопровождается низкоинтенсивным хроническим системным

воспалением, и делают вывод о том, что развитие ХСВ при СПЯ является следствием наличия МетС [44]. Авторы описывают модели, в которых ожирение является определяющим фактором воспалительного процесса. В исследовании O. Paralou et al. было установлено, что метаболический синдром имеет более выраженное влияние на хроническое системное воспаление, чем гиперандрогения, которая, по мнению исследователей, возможно, не оказывает влияния на развитие хронического системного воспаления [123].

Что касается медиаторов ХСВ, в настоящее время известно более 100 цитокинов, и количество их продолжает увеличиваться. Цитокины – это низкомолекулярные белки, которые играют важную роль в развитии и течении разных заболеваний, в том числе и СПЯ [88]. Среди них выделяют: интерфероны (ИФН), ИЛ, факторы некроза опухоли (ФНО), факторы роста, хемокины и другие. Все они связаны между собой, регулируя и запуская сеть взаимодействующих реакций и метаболических процессов.

Несмотря на то, что имеется ограниченное количество исследований по маркерам ХСВ, специфичным для СПЯ, и связанным с ними метаболическим нарушениям, данные получены противоречивые. Некоторые исследования показали, что у женщин с СПЯ уровень циркулирующего адипонектина снижен по сравнению с группой, сопоставимой по индексу массы тела, однако его уровень увеличивается после снижения веса и лечения инсулиносенситайзерами [46].

Неоптерин, который в основном вырабатывается активированными макрофагами, может быть перспективным маркером воспаления при СПЯ, так как его концентрация повышается при этом синдроме независимо от индекса массы тела. Также в сыворотке крови у женщин с СПЯ независимо от наличия или отсутствия ожирения может быть увеличен уровень маркера хронического системного воспаления ИЛ-18. Метаанализ показал, что у женщин с СПЯ наблюдается повышенная концентрация провоспалительных факторов, включая ИЛ-6, которые могут быть использованы в качестве биомаркеров для мониторинга при лечении СПЯ. Кроме того, важно отметить, что гиперинсулинемия, вызванная хронической

воспалительной реакцией, приводит к избыточной выработке андрогенов и нарушает развитие фолликулов, что в конечном итоге приводит к развитию СПЯ [50].

Исследования, посвящённые роли хронического воспаления в патогенезе МетС при ГА, представлены нами в обзоре литературы «Хроническое системное воспаление в патогенезе метаболического синдрома, ассоциированного с гиперандрогенизмом (обзор литературы)» [16].

Таким образом, существует тесная связь между ГА, МетС и его основными компонентами (ожирение, дислипидемия, ИР) и системной воспалительной реакцией. Однако установить причинно-следственные связи между ХСВ, МетС и ГА сложно из-за их многообразия и неоднозначности. Можно предположить, что ХСВ играет значительную роль как в патогенезе СПЯ, так и в реализации его метаболических осложнений. В то же время сведений о специфических маркерах ХСВ, ассоциированных с ГА, в настоящее время недостаточно, и для их выявления требуются дополнительные исследования.

1.3 Роль основных гормонов пищеварительной системы в патогенезе синдрома поликистозных яичников

Известно, что функциональное состояние кишечника может влиять на процессы развития нервной системы и функции мозга [1]. Взаимодействуя, кишечник и мозг формируют сложную двунаправленную коммуникационную систему, действующую с помощью гормональных, иммунологических и нервных сигналов. Центральная нервная система регулирует пищевое поведение через сложное взаимодействие гомеостатических и гедонистических систем, а пищеварительная система – через орексигенные и анорексигенные гормоны желудочно-кишечного тракта. Основные гормоны приведены в Таблице 2.

К орексигенным гормонам, то есть к тем веществам, которые повышают аппетит и формируют чувство голода, относится грелин, в то время как анорексигенные пептиды включают в себя глюкагоноподобный пептид 1 (GLP-1, glucagon-like peptide 1), глюкозозависимый инсулинотропный полипептид, нейропептид Y и лептин.

Таблица 2 – Краткая характеристика основных гормонов и гормоноподобных веществ, которые влияют на потребление пищи и массу тела [67, 112, 119]

Гормоны и гормоноподобные вещества	Рецепторы	Основное место секреции	Влияние на пищевое поведение и массу тела	Другие эффекты
PYY	Y2	L-клетки в кишечнике	↓	Задерживает опорожнение желудка
PP	Y4, Y5	PP-клетки поджелудочной железы	↓	Не отмечены
GLP-1	GLP-1	L-клетки в кишечнике	↓	Инкретин снижает уровень глюкозы в крови, задерживает опорожнение желудка, имеет нейротрофический эффект
GLP-2	GLP-2	L-клетки в кишечнике	↓	Кишечный трофический эффект
OXM	GLP-1	L-клетки в кишечнике	↓	Не отмечены
Глюкагон	GCGR	α-клетки поджелудочной железы	↓	Повышает уровень глюкозы в крови и секрецию инсулина
ССК	ССК-1, -2	I-клетка тонкой кишки	↓	Сокращение желчного пузыря, расслабление сфинктера Одди, поджелудочной железы секрция ферментов
Грелин	GHS	Желудок	↑	Секреция гормона роста
Амилин	AMY1–3	β-клетки поджелудочной железы	↓	Снижает уровень глюкозы в крови
Инсулин	Инсулин	β-клетки поджелудочной железы	↓	Снижает уровень глюкозы в крови, стимулирует синтез гликогена
Лептин	Лептин (Ob-R)	Адиipoцит	↓	Регуляция энергетического обмена
NPY	Y1, Y2, Y4, Y5, Y6	Паравентрикулярные гипоталамические ядра	↑	Ингибируют моторику желудочно-кишечного тракта

Примечание: PYY – пептид YY (peptide YY); PP – полипептид поджелудочной железы (pancreatic polypeptide); OXM – оксинтомодулин (oxyntomodulin); ССК – холецистокинин (cholecystokinin); GCGR – рецептор глюкагона (glucagon receptor); NPY – нейропептид Y (neuropeptide Y)

Грелин – пептидный гормон, принимающий участие в регуляции пищевого поведения за счёт своего центрального и периферического действия. Уровень этого гормона в плазме постепенно нарастает вместе с чувством голода и достигает минимальной концентрации в течение часа после еды [71]. Центральный эффект грелина на репродуктивную систему выражается в снижении секреции и пульсации ГнРГ посредством экспрессии рецепторов, стимулирующих выработку гормона роста. Также имеются данные о стимулирующем действии данного гормона на продукцию ЛГ и/или ФСГ [28]. Примечательно, что, с одной стороны, грелин оказывает периферическое действие, воздействуя на яичники, при этом отмечается снижение уровня эстрогенов и подавление созревания фолликулов. С другой стороны, у пациенток с СПЯ выявляли более низкий уровень грелина, чем в группе здоровых женщин. Результаты метаанализа также указывают на наличие возможной связи и роли грелина в патогенезе СПЯ [83].

Лептин представляет собой полипептидный гормон, состоящий из 167 аминокислот [8]. Наибольшее количество лептина производится жировой тканью, в результате чего его сывороточный уровень напрямую коррелирует с жировой массой и уровнем инсулина [2, 108]. Кроме того, имеются данные о выработке пищеварительного гормона желудком, скелетными мышцами, гипофизом и молочной железой [107]. Рецепторы к нему экспрессируются во многих тканях и органах, что обеспечивает его действие на всех уровнях гуморальной регуляции, однако основной эффект осуществляется путём лептинзависимой передачи сигналов в ядра медиобазального отдела гипоталамуса. Так, реализуется меланокортиновый путь, заключающийся в поступлении лептина из жировой ткани в кровь посредством гематоэнцефалического барьера. В результате лептин оказывает анорексигенный эффект – снижение аппетита и запуск энергетических процессов, а также подавление синтеза и высвобождения нейропептида Y, отвечающего за чувство голода [14]. Наличие мутаций в генах *LEP/LEPR*, *MC3R/MC4R*, *NPY*, *POMC/PC1*,

кодирующих основные компоненты меланокортинового пути, приводит к развитию раннего и тяжело корригируемого ожирения [3].

Помимо этого, зарегистрированы исследования *in vitro*, указывающие на то, что лептин дозозависимо стимулирует выброс лютеинизирующего гормона, фолликулостимулирующего гормона и пролактина в культуре клеток гипофиза [4]. Данный механизм осуществляется путём как прямого влияния на нейроны, секретирующие ГнРГ, так и косвенного, через повышенную секрецию кисспептина и активацию Akt-киназы [82]. У мышей с генетической блокировкой синтеза лептина и его рецепторов отмечаются низкие концентрации гонадотропина, незрелые половые органы и, как следствие, развитие бесплодия. При этом после применения экзогенного лептина наступает восстановление репродуктивной функции и развитие нормальной беременности [6]. Хотя ряд авторов указывают на статистически значимо высокий уровень лептина при СПЯ, его роль в патогенезе ГА окончательно не установлена [125].

Нейропептид Y (NPY, neuropeptide Y) представляет собой полипептидный гормон, состоящий из 36 аминокислот. Он и его рецепторы экспрессируются по всему организму. Наибольшее их количество сконцентрировано в гипоталамической и кортикальной областях, а также в периферической нервной системе, надпочечниках, тромбоцитах и кишечнике. Рецепторы Y1, Y2, Y4 и Y5, расположенные в кишечных нейронах и энтероцитах, регулируют моторную функцию желудка. Нейропептид Y участвует в регуляции пищевого поведения, являясь орексигенным пептидом, участвующим в формировании аппетита [68].

Имеются данные о центральном действии NPY на репродуктивную систему, состоящем в прямом ингибирующем эффекте на субпопуляцию дугообразных нейронов кисспептина, а следовательно, и на продукцию ГнРГ. Также известно о механизме прямого действия данного нейропептида на уровне яичников. Нейропептид Y ингибирует апоптоз клеток гранулёзы [68, 92].

Экспериментальные данные, полученные путём моделирования фенотипа СПЯ на крысах, указывают на то, что дигидротестостерон модулирует экспрессию нейропептида Y, приводя к увеличению его концентрации [98],

тогда как избыток нейропептида и сопровождающее его состояние гиперандрогенемии приводят к снижению андроген-индуцированного апоптоза гранулёзных клеток. Однако большинство современных исследований на эту тему в основном проводились на животных моделях, предоставляющих лишь ограниченные клинические данные, требующие, безусловно, дополнительных исследований. Имеются немногочисленные данные о взаимосвязи данного гормона и кишечной микробиоты. Так, Z. Chen et al. установили, что повышение уровня нейропептида Y ассоциировано с изменением соотношения Firmicutes/Bacteroidetes, увеличением количества потенциально патогенных бактерий Desulfovibrionaceae, продуцирующих липополисахарид, и снижением *Lactobacillus*, вырабатывающих короткоцепочечные жирные кислоты, в то время как антагонист Y1-рецептора нивелировал эти тенденции [91].

1.4 Микробиоценоз пищеварительной системы и синдром поликистозных яичников

Кишечная микробиота является ключевым фактором поддержания здоровья хозяина, включая метаболический гомеостаз, иммунитет и барьерную функцию кишечника [29, 79, 81]. В последние десятилетия активно изучаются микробные сообщества из различных биотопов человека, и показано, что они различаются в норме и при патологии [5, 19, 34, 80]. Метаболические нарушения, в частности, гипергликемия опосредованно приводит к разрушению интестинального барьера и может приводить к усилению распространения патогенных микроорганизмов [70]. Микробиота кишечника представляет собой группу бактерий, которые стабильно существуют в ассоциации с кишечным эпителием. Эти микроорганизмы представляют собой устойчивое сообщество, в рамках которого они реализуют взаимосвязанные и взаимодополняющие функции [84]. Экологические принципы лежат в основе как взаимодействия «хозяин – микроб», так и специфических функций кишечных микроорганизмов. Стабильность и устойчивость любого микробного сообщества обеспечиваются разнообразием

микроорганизмов, их метаболической «гибкостью» и функциональной избыточностью [55].

Разнообразие микроорганизмов в микробиоценозе можно оценить с помощью набора показателей, учитывающих не только количество различных таксонов, присутствующих в сообществе (богатство), но и их однородность и выравненность [40]. Индексы разнообразия Шеннона и Симпсона используются для оценки бактериального разнообразия на основе операционных таксономических единиц (OTU, operational taxonomic unit). Индекс Шеннона описывает видовое богатство и видовое единообразие с акцентом на видовое богатство. Индекс Симпсона даёт оценку видового богатства и видового единообразия с упором на видовое единообразие. Хотя индекс покрытия на основе численности (ACE, abundance-based coverage estimator) и индекс Chao1 используются для оценки видового богатства, они демонстрируют ожидаемые OTU на основе найденных OTU. Индекс Chao1 придаёт больший вес видам с низкой численностью, поэтому он особенно полезен для наборов данных, смещённых в сторону видов с низкой численностью. Индекс ACE делит наблюдаемые частоты на обильные и редкие группы, учитывая только информацию о наличии или отсутствии многочисленных видов, поскольку они всё равно будут обнаружены [20, 41, 42].

Кроме того, изучают биоразнообразие кишечной микробиоты на разном таксономическом уровне. Самый крупный – это филы бактерий и архей. Отмечают, что в кишечном микробиоценозе большинство составляют представители двух фил бактерий – Bacillota (около 65 %) и Bacteroidota (около 23 %). Филы Pseudomonadota, Actinomycetota, Fusobacteriota и Verrucomicrobiota обнаруживаются, но с гораздо меньшей частотой [53]. Основные различия кишечной микробиоты между нормой и различными заболеваниями отмечают на более низком таксономическом уровне – семейств, родов и видов бактерий.

Анализ современных литературных данных позволил выявить 33 публикации на момент написания работы, в которых проводились исследования кишечной микробиоты у пациенток с СПЯ (Таблица 3).

Во всех этих исследованиях авторы выявили связи клинических показателей с биоразнообразием и составом микробиоты кишечника. Однако роль разнообразия кишечной микробиоты при СПЯ окончательно не установлена, а имеющиеся результаты противоречивы. Так, например, авторы шести публикаций отмечали более высокие значения всех анализируемых или хотя бы одного показателя альфа-разнообразия у пациентов с СПЯ по сравнению с контрольной группой. [30, 32, 58, 64, 76, 106]. В половине исследований эти значения были сопоставимы, и немногим более половины авторов исследований отмечали пониженные значения индексов альфа-разнообразия при СПЯ.

В клинических исследованиях сообщалось об уменьшении α -разнообразия и изменении β -разнообразия у пациентов с СПЯ [24, 54]. В. Zeng et al. показали, что при сравнении структурных и функциональных профилей микробного сообщества кишечника в группе пациенток с ИР и СПЯ и с СПЯ без ИР наблюдается меньшее количество OTU и более низкий индекс Шеннона. Они также показали, что иерархическая кластеризация может отличать образцы, полученные в здоровой контрольной группе, от образцов, полученных в группе ИР и СПЯ [109].

Очевидно, что изменения в α - и β -разнообразии микробных сообществ могут привести к изменениям функции кишечника, влияющим на уровень инсулина, толерантность к глюкозе и уровень андрогенов, что может усилить симптомы СПЯ.

Таблица 3 – Исследования микробиома кишечника у пациентов с синдромом поликистозных яичников с результатами оценки индексов альфа-разнообразия и таксономического состава

№ п/п	Ссылка, страна	Описание групп	Индексы альфа-разнообразия			Основные филогиты разного таксономического уровня	Таксоны	
			повышены при СПЯ	понижены при СПЯ	отсутствие связи с СПЯ		повышены при СПЯ	понижены при СПЯ
1	Lindheim L. et al., 2017 [24], Австрия	СПЯ (n = 24) Контроль (n = 19)		Faith's PD; observed OTUs	Мycoplasmatota * Bacteroidota		Мycoplasmatota	
2	Liu R. et al., 2017 [45], Китай	СПЯ (n = 33): с ожирением (n = 21); без ожирения (n = 12) Контроль (n = 15): с ожирением (n = 6); без ожирения (n = 9)		OTUs; Chao		<i>Bacteroides</i> <i>Escherichia/Shigella</i>	<i>Akkermansia</i> <i>Bacteroides</i> <i>Clostridium IV</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Oscillibacter uncl.</i> <i>Ruminococcaceae</i>	
3	Insenser M. et al., 2018 [58], Испания	СПЯ (n = 15): с ожирением (n = 8); без ожирения (n = 7) Контроль (n = 16): с ожирением (n = 8); без ожирения (n = 8)	Shannon	Chao		<i>Candidatus Saccharibacteria Anaerofustis Atopobium Scardovia</i>	<i>Alloprevotella</i> <i>Neisseria</i>	

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Ссылка, страна	Описание групп	Индексы альфа-разнообразия			Основные филогипы разного таксономического уровня	Таксоны	
			повышены при СПЯ	понижены при СПЯ	отсутствие связи с СПЯ		повышены при СПЯ	понижены при СПЯ
4	Torres P. et al., 2018 [54], Польша	СПЯ (n = 73) ПКМЯ (n = 42) Контроль (n = 48)		Observed SVs; Faith PD; Shannon; evenness SVs			<i>Porphyromonas</i> spp. <i>Bacteroides coprophilus</i> <i>Blautia</i> spp. <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> <i>Anaerococcus</i> spp. <i>Odoribacter</i> spp. <i>Roseburia</i> spp. <i>Ruminococcus bromii</i>	
5	Qi X. et al., 2019 [62], Китай	СПЯ (n = 50) Контроль (n = 43)		Shannon		<i>Bacteroides vulgatus</i>		
6	Zeng B. et al., 2019 [109], Китай	СПЯ (n = 17); ИР-СПЯ (n = 9); не-ИР-СПЯ (n = 8) Контроль (n = 8)		Observed OTUs; Shannon	Bacteroidota Bacillota Pseudomonadota	Bacteroidaceae Lachnospiraceae Ruminococcaceae <i>Bacteroides</i>	Prevotellaceae <i>Prevotella</i> <i>Faecalibacterium</i>	
7	Zhang J. et al., 2019 [104], Китай	СПЯ (n = 38) Контроль (n = 26) ¹				<i>Parabacteroides Bacteroides</i> <i>Lactobacillus Oscillibacter Escherichia/ Shigella</i> <i>Clostridium</i>	<i>Faecalibacterium Lachnospira Bifidobacterium Blautia</i>	

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Ссылка, страна	Описание групп	Индексы альфа-разнообразия			Основные филогипы разного таксономического уровня	Таксоны	
			повышены при СПЯ	понижены при СПЯ	отсутствие связи с СПЯ		повышены при СПЯ	понижены при СПЯ
8	Chu W. et al., 2020 [86], Китай	СПЯ (n = 14) Контроль (n = 14)				<i>Bacteroides</i> spp. <i>Escherichia</i> spp. <i>Shigella</i> spp. <i>Parabacteroides merdae</i> <i>Comamonas kerstersii</i>	<i>Blautia hydrogenotrophica</i> <i>Tannerella</i> sp. <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> <i>Alistipes obesi</i>	
9	Euroglu N. et al., 2020 [57], Турция	СПЯ с ожирением (n = 17) Контроль с ожирением (n = 15)	Observed OTUs	Faith PD; Pielou; Shannon		Ruminococcaceae		
10	Наудум С. et al., 2020 [74], Австрия	СПЯ (n = 24) Контроль (n = 20) ¹	Shannon; Faith PD			<i>Oscillospira</i>		
11	Jobira B. et al., 2020 [95], США	СПЯ (n = 37) Контроль (n = 21) ²	OUT; Shannon diversity; Shannon evenness	Richness (Sobs)	Bacillota Bacteroidota Pseudomonadota Streptococcaceae Ruminococcaceae	Actinomycetota Streptococcaceae	Bacteroidota Bacteroidaceae Porphyromonadaceae	

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Ссылка, страна	Описание групп	Индексы альфа-разнообразия			Основные филогиты разного таксономического уровня	Таксоны	
			повышены при СПЯ	понижены при СПЯ	отсутствие связи с СПЯ		повышены при СПЯ	понижены при СПЯ
14	Zhou L. et al., 2020a [32], Китай	СПЯ (n = 60): с ожирением (n = 30); без ожирения (n = 30) Контроль (n = 41): с ожирением (n = 11); без ожирения (n = 30)	Simpson	Sobs; Chao; ACE	Shannon	Fusobacteriota Coproccoccus_2	Mycoplasmatota Synergistota Lactococcus Alloprevotella	
15	Zhou L. et al., 2020b [39], Китай	СПЯ с ожирением (n = 18) Контроль с ожирением (n = 15)		Sobs; Shannon	ACE	Fusobacteriota Lachnocolostridium Fusobacterium Tyzzerella Coproccoccus_2	Bacillota/ Bacteroidota Mycoplasmatota	
16	Chen F. et al., 2021 [106], Китай	СПЯ с ожирением, (n = 50); СПЯ без ожирения (n = 98) Контроль (n = 38)	J indice	Chao1	Bacillota Bacteroidota Pseudomonadota Actinomycetota Bacteroides Faecalibacterium Prevotella_9 Roseburia un_f_Lachnospiraceae Blautia Megamonas	Bacteroidota Pseudomonadota Fusobacteriota Bacteroides Megamonas Escherichia/ Shigella Gemella Granulicatella Prevotella_2 Romboutsia Ruminococcus_gnavus	Bacillota Actinomycetota Faecalibacterium Prevotella_9 Alloprevotella Coproccoccus Lactococcus Maihella Ruminococcus_1 Ruminococcus_gauvreauii Slackia	

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Ссылка, страна	Описание групп	Индексы альфа-разнообразия			Основные филогипы разного таксономического уровня	Таксоны	
			повышены при СПЯ	понижены при СПЯ	отсутствие связи с СПЯ		повышены при СПЯ	понижены при СПЯ
17	Dong S. et al., 2021 [18], Китай	СПЯ (n = 45): с ожирением (n = 31); без ожирения (n = 14) Контроль (n = 37): с ожирением (n = 12); без ожирения (n = 25)		Shannon		<i>Bacteroides vulgatus</i> <i>Prevotella</i>	<p>повышены при СПЯ</p> <p><i>Ruminococcus gnavus</i> <i>Prevotella stercorea</i> <i>Dialister succinatiphila</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Roseburia</i> spp. <i>II SE38</i> <i>Lachnospiraceae</i> <i>bacterium 2_I_58FAA</i></p>	<p>понижены при СПЯ</p> <p>Christensenellaceae Barnesiellaceae Pasteurellaceae <i>Fusicatenibacter Barnesiella</i> <i>Haemophilus Fusicatenibacter saccharivorans Barnesiella</i> <i>intestinihominis Haemophilus parainfluenzae Alistipes obesi Oscillibacter</i> sp. ER4, <i>Blautia</i> sp. Marseille-P3387 <i>Blautia</i> sp. <i>Alistipes uncul. Lachnospiraceae uncul.</i> <i>Christensenellaceae uncul.</i> <i>Ruminococcaceae unid. rumen bacterium 12-110 uncul. bacterium adhufec108 uncul. bacterium adhufec236</i></p>

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Ссылка, страна	Описание групп	Индексы альфа-разнообразия			Основные филогипы разного таксономического уровня	Таксоны	
			повышены при СПЯ	понижены при СПЯ	отсутствие связи с СПЯ		повышены при СПЯ	понижены при СПЯ
18	García-Beltran C. et al., 2021 [61], Испания	СПЯ ($n = 23$) Контроль ($n = 31$) ^{1,2}		Pielou's evenness; Shannon's	ASVs	Bacillota Bacteroidota Actinomycetota	Family XI Prevotellaceae <i>Prevotella</i> <i>Senegalimassilia</i>	
19	He F. et al., 2021 [63], Китай	СПЯ ($n = 26$): не-ИР-СПЯ ($n = 10$); ИР-СПЯ ($n = 14$) Контроль ($n = 12$)		Observed OTUs; Chao		Bacillota Pseudomonadota Actinomycetota Enterococcaceae Peptostreptococcaceae <i>Lactobacillus</i>	<i>Rothia</i> <i>Ruminococcus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Prevotella</i>	
20	Jobira B. et al., 2021 [64], США	СПЯ ($n = 34$): со стеатозом печени ($n = 17$); без стеатоза печени ($n = 17$)	Shannon diversity	Shannon evenness; Richness (Sobs)		Bacteroidota Bacteroidaceae Porphyromonadaceae Ruminococcaceae	Bacteroidota Bacteroidaceae Porphyromonadaceae Ruminococcaceae	
21	Liang Z. et al., 2021 [56], Китай	СПЯ ($n = 20$): с пониженной массой тела ($n = 10$); с избыточным весом ($n = 10$) Контроль ($n = 20$): с пониженной массой тела ($n = 10$); с избыточным весом ($n = 10$)		Observed OTUs; Sobs; Chao; Ace; Shannon		<i>Parabacteroides distasonis</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Parabacteroides distasonis</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Escherichia coli</i>	

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Ссылка, страна	Описание групп	Индексы альфа-разнообразия			Основные филогиты разного таксономического уровня	Таксоны	
			повышены при СПЯ	понижены при СПЯ	отсутствие связи с СПЯ		повышены при СПЯ	понижены при СПЯ
22	Lüll K. et al., 2021 [116], Финляндия	СПЯ (n = 102) Контроль (n = 202)			ASV; Shannon; inverse Simpson	Bacillota Bacteroidota Pseudomonadota Actinomycetota Verrucomicrobiota <i>Bacteroides</i> <i>Alistipes</i> <i>Faecalibacterium</i> <i>Roseburia</i> <i>Blautia</i> <i>Lachnoclostridium</i> <i>Oscillibacter</i> <i>Ruminococcaceae</i> <i>uncult.</i>	<i>Dorea</i> <i>Ruminococcus torques</i> group <i>Lachnospiraceae</i> <i>UCC-004</i>	
23	Mammadova G. et al., 2021 [33], Турция	СПЯ, фенотип А (n = 24) Контроль (n = 22)			Shannon; Simpson; Chao; Faith's PD; observed OTUs	<i>Clostridium</i> cluster XIVb <i>Clostridium</i> cluster XVII <i>Granulicatella</i> <i>Veilonella</i> <i>Butyrivibrio</i> <i>Haemophilus</i> <i>Erysipelotrichaceae</i> <i>incertae sedis</i> <i>Lachnospiraceae</i> <i>incertae sedis</i>	Pseudomonadota Verrucomicrobiota Gammaproteobacteria Gemmales Bacillales Erysipelotrichia Erysipelotrichaceae Enterobacteriaceae Planococcaceae <i>Clostridium</i> cluster XVII	<i>Clostridium sensu stricto</i> <i>Roseburia</i>

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Ссылка, страна	Описание групп	Индексы альфа-разнообразия			Основные филогиты разного таксономического уровня	Таксоны	
			повышены при СПЯ	понижены при СПЯ	отсутствие связи с СПЯ		повышены при СПЯ	понижены при СПЯ
24	Ni Z. et al., 2021 [72], Китай	СПЯ с ожирением и спленомегалией ($n = 15$) ⁵			Sobs; Chao; Shannon; Simpson	Spirochaetota [<i>Eubacterium</i>] <i>rectale group</i> <i>Escherichia/Shigella</i> <i>Megamonas</i>	<i>Megamonas</i>	
25	Yang Y. et al., 2021 [76], Китай	СПЯ ($n = 56$) Контроль ($n = 31$)	Chao; Faith's PD; observed OTUs			<i>Bacteroides</i>		
26	Zhu X. et al., 2021 [102], Китай	СПЯ ($n = 54$): с высоким уровнем ЛПНП ($n = 16$); с низким уровнем ЛПНП ($n = 38$) Контроль ($n = 33$): с высоким уровнем ЛПНП ($n = 15$); с низким уровнем ЛПНП ($n = 18$)		Shannon	Actinomycetaceae Enterobacteriaceae Streptococcaceae	<i>Bacillota</i> <i>Bacteroidota</i> <i>Actinomycetota</i> <i>Pseudomonadota</i> Enterobacteriaceae Bacteroidaceae <i>Clostridia_UCG014</i> Ruminococcaceae Bifidobacteriaceae <i>Bifidobacterium</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Sarcina</i> <i>Megasphaera</i> <i>Collinsella</i> <i>Paraprevotella</i>		

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Ссылка, страна	Описание групп	Индексы альфа-разнообразия			Основные филогипы разного таксономического уровня	Таксоны	
			повышены при СПЯ	понижены при СПЯ	отсутствие связи с СПЯ		повышены при СПЯ	понижены при СПЯ
27	Hassan S. et al., 2022 [30], Индия	СПЯ (n = 20) Контроль (n = 20)	Shannon			Bacillota Bacteroidota Actinomycetota Pseudomonadota <i>Lactobacillus</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Sarcina</i> <i>Megasphaera</i> <i>Collinsella</i> <i>Paraprevotella</i>	Sarcina Megasphaera Bifidobacterium Collinsella Paraprevotella	Aerococcaceae Peptococcaceae
28	Li G. et al., 2022 [25], Китай	СПЯ (n = 31); СПЯ F (n = 12); СПЯ T (n = 19) Контроль (n = 27)		ACE; Chao; Shannon; Simpson	<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i> <i>Faecalibacterium</i>	Gammaproteobacteria Enterobacteriaceae Peptostreptococcaceae <i>Weissella</i> <i>Klebsiella</i>	<i>Ruminococcaceae</i> <i>UCG 013</i> <i>Prevotellaceae UCG 001</i> <i>Howardella</i> <i>Erysipelatoclostridium</i> (совр.) <i>Thomasclavelia</i>	

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Ссылка, страна	Описание групп	Индексы альфа-разнообразия			Основные филогипы разного таксономического уровня	Таксоны	
			повышены при СПЯ	понижены при СПЯ	отсутствие связи с СПЯ		повышены при СПЯ	понижены при СПЯ
29	Tayachew B. et al., 2022 [37], США	СПЯ с ожирением ($n = 29$): «случай» – использование оральных контрацептивов ($n = 8$); контроль – отсутствие лечения СПЯ ($n = 21$) ²			Shannon diversity; Shannon evenness; richness (Sobs)	<i>Pseudobutyrvibrio</i>	<i>Pseudobutyrvibrio</i>	
30	Wang X. et al., 2022 [66], Китай	СПЯ ($n = 25$): группа W – СПЯ с диетой ($n = 14$); группа A – СПЯ с диетой и акарбозой ($n = 11$)		Observed ASVs; Shannon		<i>Bifidobacterium</i> <i>Lactobacillus</i>	<i>Bacteroides vulgatus</i> <i>Alistipes</i> <i>Blautia</i> <i>Lachnospira</i> <i>Roseburia</i>	
31	Yang Z. et al., 2022 [90], Китай	СПЯ ($n = 32$) Контроль ($n = 18$)		Shannon; Simpson		Bacillota Bacteroidota Pseudomonadota Actinomycetota	<i>Actinomycetota</i> <i>Blautia</i> <i>Coprobacillus</i> <i>Actinomyces</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Enterococcus</i> <i>Erysipelatoclostridium</i> <i>Gordonibacter</i>	<i>Faecalibacterium</i> <i>Roseburia</i> <i>Parabacteroides</i> <i>Phascolarctobacterium</i> <i>Odoribacter</i> <i>Paraprevotella</i>

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Ссылка, страна	Описание групп	Индексы альфа-разнообразия			Основные филогиты разного таксономического уровня	Таксоны	
			повышены при СПЯ	понижены при СПЯ	отсутствие связи с СПЯ		повышены при СПЯ	понижены при СПЯ
32	Gan J. et al., 2023 [87], Китай	СПЯ ($n = 29$): СОМ – группа, метфонмин + эксенатид ($n = 14$); MF – группа метформин ($n = 15$) Контроль (н/д)				Vacillota Bacteroidota Actinomycetota Pseudomonadota Uroviricota	<i>Lactococcus</i> <i>Anaerotignum</i>	<i>Bacteroides</i> <i>Clostridium</i> <i>Phocaeicola</i> <i>Parabacteroides</i> <i>Hungatella</i> <i>Oscillospira</i>
33	Wang Q. et al., 2023 [65], Китай	Всего ($n = 48$): СПЯ ($n = 24$); контроль ($n = 24$)			Observed OTUs; ACE; Chao; Shannon		<i>Agathobacter</i> <i>Prevotella</i>	<i>Bacteroides</i>

Примечание: ПКЯ – поликистозные яичники; SV – варианты последовательности (sequence variants); ASV – вариант последовательности ампликона (amplicon sequence variant); Faith PD – филогенетическое разнообразие Faith (Faith phylogenetic diversity); * – в таблице представлены названия фил в соответствии с современной таксономией; синонимичные названия, использованные авторами в оригинальных статьях: Actinomycetota (син. Actinobacteria); Vacillota (син. Firmicutes); Bacteroidota (син. Bacteroidetes); Candidatus Melainobacteriota (син. Melainabacteria/Суанобактерия); Fusobacteriota (син. Fusobacteria); Mucorplasmata (син. Tenericutes); Pseudomonadota (син. Proteobacteria); Spirochaetota (син. Spirochaetes); Synergistota (син. Synergistetes); Verrucomicrobiota (син. Verrucomicrobia)

Y. Guo et al. на экспериментальной модели СПЯ продемонстрировали, что у крыс с СПЯ содержание в кишечнике таких бактерий, как *Lactobacillus*, *Ruminococcus* и *Clostridium*, ниже, тогда как уровень *Prevotella* выше, чем у здоровых животных [27]. В этом же исследовании показано снижение выраженности гиперандрогенемии после лечения экспериментальных животных с СПЯ с помощью назначения *Lactobacillus* и трансплантации фекальной микробиоты от здоровых крыс. Сдвиги в составе кишечной микробиоты были описаны в экспериментах с модельными мышами (letrozole-induced PCOS mouse model) [27, 117] и в экспериментах по трансплантации фекальной микробиоты от модельных мышей стерильным (germfree) мышам, что предполагает тесную связь состава и структуры кишечного микробиома с уровнями половых гормонов хозяина, эструсами и морфологическими изменениями яичников [27].

Также в клинических исследованиях показана взаимосвязь между СПЯ и численностью некоторых представителей кишечной микробиоты на уровне филы, семейства или рода. В кишечных микробиомах женщин с СПЯ до 90 % составляют представители двух фил – Bacillota и Bacteroidota, существенно меньше представлены филы Actinomycetota и Pseudomonadota. В модельных экспериментах с мышами S. Kelley et al. [117] были первыми, кто подтвердил изменения кишечной микробиоты у мышей с СПЯ, индуцированным летрозолом, что проявилось в значительном снижении общего количества видов кишечных микроорганизмов и их филогенетического разнообразия. В основном в клинических исследованиях авторы отмечают уменьшение представленности Bacteroidota и увеличение – Bacillota. Следует отметить, что увеличение представленности Bacillota тесно связано с возникновением и развитием ожирения, СД2 и MetC. L. Lindheim et al. наблюдали уменьшение количества бактерий из фил Mycoplasmatota (отряд ML615J) и Bacteroidota (семейство S24–7) среди представителей с относительной численностью > 1 %, хотя значительных различий в таксонах более низкого таксономического уровня не было [24]. На уровне семейства лактобациллы и бифидобактерии являются полезными бактериями, которые действуют за счёт повышения иммунитета и усвоения

питательных веществ. Представленность этих бактерий значительно снижена у пациенток с СПЯ. В. Zeng et al. наблюдали резкое снижение количества Prevotellaceae у пациенток с СПЯ по сравнению со здоровыми женщинами [109]. Однако в моделях СПЯ на крысах уровень Prevotellaceae был повышен [27]. На уровне рода Р. Torres et al. идентифицировали четыре таксона (*Anaerococcus*, *Odoribacter*, *Roseburia* и *Ruminococcus*), численность которых была ниже у пациентов с СПЯ [54]. Аналогичным образом J. Zhang et al. выявили, что содержание *Faecalibacterium* (в частности *Faecalibacterium prausnitzii*), *Bifidobacterium* и *Blautia* было ниже у пациентов с СПЯ [104]. Уменьшение количества этих бактерий может привести к изменениям в продукции короткоцепочечных свободных жирных кислот, что может повлиять на целостность кишечного барьера. Фактически известно, что грамотрицательные бактерии продуцируют липополисахариды, которые могут вызывать воспаление, инсулинорезистентность и ожирение, попадая в кровоток. Примечательно, что R. Liu et al. отмечали, что численность некоторых грамотрицательных бактерий, принадлежащих к родам *Bacteroides* и *Escherichia/Shigella*, была значительно выше в кишечнике пациентов с СПЯ [45]. X. Qi et al. сообщали, что уровень *Bacteroides vulgatus* был значительно повышен в микробиоте кишечника у пациенток с СПЯ, что сопровождалось снижением уровней гликодезоксихолевой и тауроурсодезоксихолевой кислот [62]. В этом же исследовании отмечено, что метаболизм желчных кислот является одним из важнейших метаболических путей, на которые влияют изменения микробиоты кишечника у пациенток с СПЯ.

Таким образом, очевидно, что метаболизм кишечной микробиоты тесно связан с возникновением и развитием такого заболевания, как СПЯ. Однако полное понимание механизма влияния микробиоты кишечника у пациентов с СПЯ отсутствует.

1.5 Современные подходы к коррекции нарушений микробиоценоза кишечника при синдроме поликистозных яичников

В последнее время активно изучается влияние пробиотиков или синбиотиков, в том числе и при СПЯ, на связанные с ним метаболические нарушения. Так, было показано, что приём декстрина (пребиотика) в течение шести месяцев снижал массу тела у пациентов с СПЯ [47]. Другое исследование показало, что инулин снижает массу тела и уровень тестостерона, повышает уровень эстрадиола и облегчает симптомы СПЯ у мышей с данной патологией [77]. Лечение лактобактериями и трансплантация фекальной микробиоты крысам с СПЯ снижали уровень андрогенов и восстанавливали эстральные циклы, что свидетельствует об улучшении функции яичников [27].

Экспериментально было доказано, что как у женщин с СПЯ, так и у модельных животных с СПЯ отмечается меньшее количество бифидобактерий и лактобактерий. Многие виды кишечной микробиоты, особенно бифидобактерии и лактобактерии, обладают полезными для здоровья свойствами и обычно считаются «хорошими» или «полезными» бактериями [101]. Пробиотик *Bifidobacterium lactis V9* модулирует микробиом кишечника и регулирует секрецию половых гормонов у женщин с СПЯ [104].

Не меньший интерес представляет использование неживых бактерий и их метаболитов. Например, парапробиотики, содержащие инактивированные, неживые микробные клетки или клеточные фракции, такие как пептидогликаны, тейхоевые кислоты и поверхностные белки, могут улучшать здоровье организма хозяина. Показано, что *Lactobacillus gasseri CP2305* (CP2305) – парапробиотик, первоначально выделенный из образца стула здорового добровольца, – проявляет активность в отношении коррекции изменений, связанных со стрессом [48]. Эти наблюдения позволяют предположить возможное влияние парапробиотиков на функции центральной нервной системы и способность модулировать ось гипоталамус – гипофиз – гонады (яичники). Помимо этого, имеются данные об улучшении клинических симптомов у пациентов с синдромом раздражённого

кишечника и течения СПЯ, изменении состава желудочно-кишечной микробиоты за счёт регулирования вегетативной активности.

Кроме того, другие виды анаэробных бактерий, например *Akkermansia muciniphila*, также представляют несомненный интерес. Данная бактерия недавно выделена из человеческих фекалий, её характерной особенностью является способность к разложению муцина, продукты которого регулируют иммунный ответ хозяина посредством таких маркеров воспаления, как ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-10 и ИЛ-4 [22]. Помимо этого, данные исследования на мышах указывают на роль *Akkermansia muciniphila* в метаболизме жиров [89]. Всё вышеперечисленное указывает на возможность использования этого облигатного анаэроба как пробиотика.

1.6 Резюме обзора литературы

Проведённый обзор литературных данных по тематике диссертационной работы указывает на актуальность изучаемой нами проблемы – патогенетических аспектов гиперандрогенизма на модели СПЯ. СПЯ характеризуется значительной распространённостью [111], и необходимость как коррекции состояния, так и разработки новых терапевтических мишеней и диагностических маркеров не ставится под сомнение, поскольку СПЯ может сочетаться с сахарным диабетом, репродуктивными нарушениями и сердечно-сосудистыми заболеваниями [21, 31, 78, 99, 124].

В первой подглаве нашего литературного обзора мы освещаем основные диагностические подходы и ранее известные патогенетические механизмы формирования синдрома поликистозных яичников. Последующие же подглавы освещают сформулированные ранее гипотезы о роли хронического системного воспаления, кишечного микробиоценоза и отдельных гормонов и гормоноподобных веществ, влияющих на потребление пищи и массу тела, в формировании СПЯ.

Хроническое системное воспаление является предиктором формирования различных состояний, характеризующихся нарушением углеводного и липидного

обменов, а также эндокринных нарушений [35, 85], в том числе синдрома поликистозных яичников. Состояние эндотоксемии на фоне дисбиоза кишечника определяет интерес к оценке микробиом-детерминированного ХСВ. В свою очередь, ХСВ может запускать процесс формирования гиперандрогенизма, однако данные пока немногочисленны и представлены в основном на моделях животных или госпитальных группах пациенток [9, 62, 76, 113, 118]. В обзоре литературы мы подробно осветили медиаторы ХСВ, в том числе и те, которые можно считать специфичными для СПЯ и связанных с ним метаболических нарушений, а также обсудили механизмы формирования гиперандрогенизма.

Повышенный интерес к изучению как качественного, так и количественного состава кишечного микробиоценоза проявляется в большом количестве опубликованных работ [11, 17, 24, 45, 54, 62, 63, 66]. Так, некоторые представители пищеварительного микробиома рассматриваются как маркеры СПЯ [18, 38, 56, 60, 86, 106, 116, 122], а другие – как потенциальные пробиотики ввиду их меньшей представленности при СПЯ [11, 86]. В то же время роль одних и тех же видов бактерий в проведённых разными группами авторов исследованиях расценивается неоднозначно [62, 66].

Нами проведён анализ 33 публикаций, доступных на момент написания работы, в которых представлены исследования кишечной микробиоты у пациенток с СПЯ. Во всех работах были выявлены изменения кишечного биоразнообразия и состава микробиоты кишечника, однако данные были противоречивы. Так, авторы шести публикаций отмечали более высокие значения всех анализируемых или хотя бы одного показателя альфа-разнообразия у пациенток с СПЯ по сравнению с контрольной группой [30, 32, 58, 64, 76, 106]. В половине исследований эти значения были сопоставимы, и немногим более половины авторов исследований отмечали пониженные значения индексов альфа-разнообразия при СПЯ.

Ещё одним актуальным направлением исследований является роль гормонов пищеварительной системы и их дисбаланса в реализации репродуктивных нарушений. В недавних исследованиях продемонстрировано

влияние микробиома кишечника на нейропептиды гипоталамуса, включая нейропептид Y, который наравне с орексигенным демонстрирует прямой ингибирующий эффект на апоптоз клеток гранулёзы при экспериментальном СПЯ [92].

Последняя подглава литературного обзора посвящена современным подходам коррекции кишечного микробиоценоза. На сегодняшний день имеются данные о применении как пробиотиков], так и неживых бактерий с их метаболитами [47, 48, 49, 104, 114, 115]. Однако имеющиеся пилотные исследования, основанные на патогенетически обоснованных методах коррекции микробиом-ассоциированных нарушений, не отражают единого мнения относительно состава используемых препаратов для применения у женщин с СПЯ.

ГЛАВА 2

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты и дизайн исследования

Исследование проведено в ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск) в 2018–2023 гг. в рамках выполнения государственных бюджетных тем «Раннее выявление и коррекция нейро-эндокринно-обменных и психоэмоциональных проявлений репродуктивных нарушений, ассоциированных с гиперандрогенией» (2017–2019 гг.; № государственной регистрации АААА-А18-118011990043-5), «Раннее выявление и профилактика метаболического синдрома, ассоциированного с гиперандрогенизмом и эстроген-дефицитными состояниями у женщин репродуктивного и постменопаузального возраста» (2020–2022 гг.; № государственной регистрации АААА-А20120120790036-3) и «Прогнозирование метаболических и психоэмоциональных нарушений у женщин различных возрастных групп с гиперандрогенными расстройствами для разработки персонализированных подходов к профилактике и лечению» (2023-2025 гг.; № государственной регистрации 123051600030-1).

Все участники исследования ($n = 175$) были рекрутированы в ходе многоцентрового поперечного исследования эпидемиологии и фенотипа СПЯ в Восточной Сибири, проведённого в Иркутской области и Республике Бурятия (ClinicalTrials.gov ID: NCT05194384), которое проводилось в соответствии с этическими принципами медицинских исследований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013) и было одобрено локальным этическим комитетом (ЛЭК) ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск) (протокол № 2.1 от 24.02.2016). Диссертационное исследование одобрено ЛЭК ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (протокол № 1.1 от 24.12.2018).

Критерии включения: возраст от 18 до 44 лет включительно; прохождение ежегодного медицинского осмотра по месту работы; предоставление подписанной формы информированного согласия; доступность во время исследования; соблюдение всех процедур исследования. Критерии невключения/исключения: беременность или лактация; гистерэктомия; двусторонняя оофорэктомия; абляция эндометрия; эмболизация маточных артерий; текущий или предыдущий (в течение 3 мес.) приём гормональных препаратов или инсулиносенситайзеров; приём антибиотиков в течение 3 месяцев до начала исследования; отзыв информированного согласия.

Дизайн исследования эпидемиологии и фенотипа СПЯ Восточной Сибири (ESPER, Eastern Siberia PCOS Epidemiology and Phenotype Study) опубликован с нашим участием в статье «Ethnicity and the prevalence of polycystic ovary syndrome: The Eastern Siberia PCOS Epidemiology and Phenotype Study» [52].

Для решения поставленных задач нами были сформированы основная группа ($n = 26$), в которую вошли женщины с ГА и СПЯ (фенотипы А, В, С), и группа сравнения ($n = 149$), состоящая из женщин без ГА (Рисунок 1).

На следующем этапе (Рисунок 2) среди женщин группы сравнения ($n = 149$) нами были идентифицированы практически здоровые женщины, которые вошли в группу контроля ($n = 19$). Критерии включения в группу контроля: отсутствие признаков СПЯ; регулярный 21–35-дневный менструальный цикл; гирсутное число по модифицированной шкале Ферримана – Галлвея (mF-G, modified Ferriman – Gallwey) < 3 ; отсутствие алопеции и акне; объём яичников по данным ультразвукового исследования (УЗИ) органов малого таза $< 10 \text{ см}^3$ и количество антральных фолликулов (AFC, antral follicle count) < 12 . Критерии исключения из группы контроля: хронические заболевания в анамнезе; индекс массы тела (ИМТ) < 18 или $\geq 30 \text{ кг/м}^2$; повышенное артериальное давление (АД); аномальные уровни андрогенов, глюкозы натощак, пролактина (ПРЛ), ФСГ, тиреотропного гормона (ТТГ) и 17-ОН-Пр.

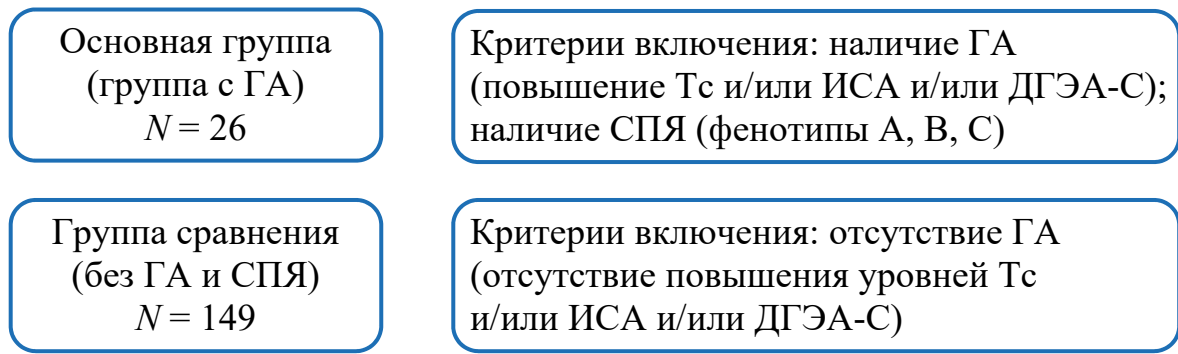


Рисунок 1 – Дизайн исследования: группа с гиперандрогемией (фенотипы СПЯ А, В, С) и группа сравнения (без гиперандрогемии)

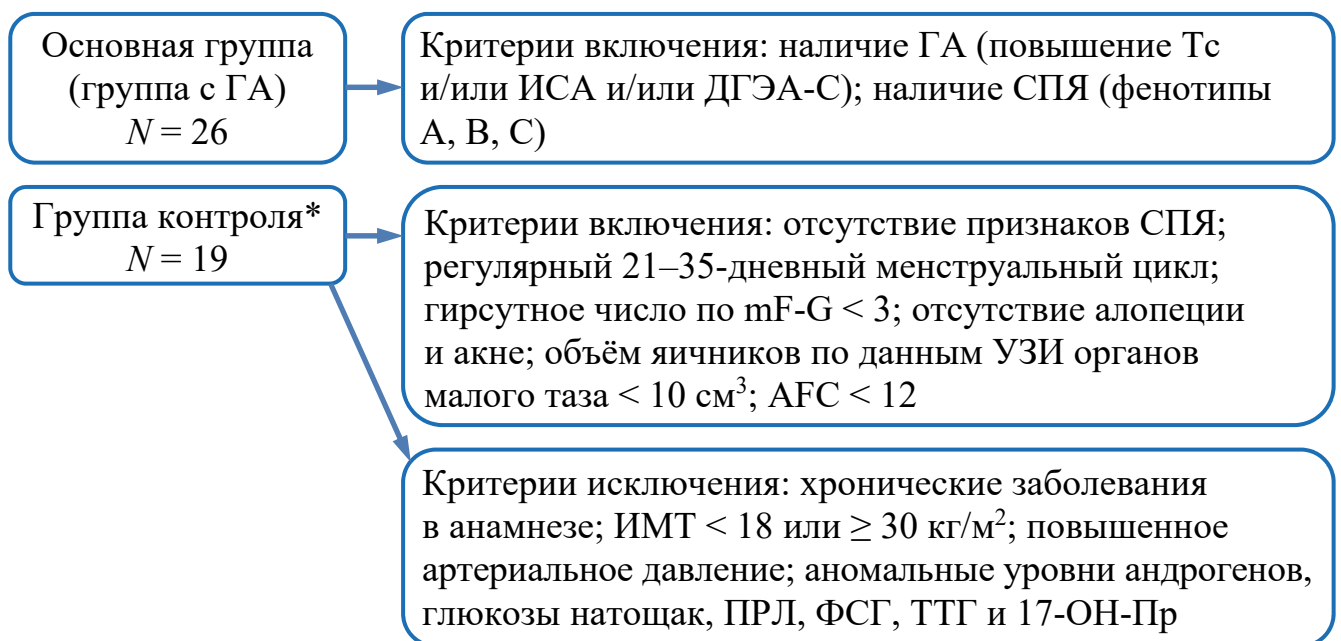


Рисунок 2 – Дизайн исследования: группа с гиперандрогемией (фенотипы СПЯ А, В, С) и группа контроля; * – группа контроля идентифицирована среди женщин из группы сравнения

Для диагностики СПЯ были использованы Роттердамский консенсус (2003): наличие любых двух из трёх критериев (гиперандрогенизм, олиго/ановуляция, поликистоз яичников) при отсутствии заболеваний с похожими симптомами (гиперпролактинемия, гипотиреоз, неклассическая врождённая гиперплазия коры надпочечников, преждевременная недостаточность яичников). Фенотипы СПЯ определялись на основании сочетания клинических и биохимических признаков

СПЯ следующим образом: фенотип А – клинический и/или биохимический ГА, ОА/менструальная дисфункция (МД) и ПКЯ; фенотип В – ГА и ОА/МД; фенотип С – ГА и ПКЯ; фенотип D – ОА/МД и ПКЯ [15].

Социо-демографические характеристики женщин, включённых в исследование, представлены в Таблице П1 (Приложение 1).

2.2 Методы исследования

Клинические методы исследования включали: анкетный опрос, общий медицинский и гинекологический осмотры.

Метод анкетного опроса осуществлялся с использованием анкет, которые включали демографические данные, сведения о менструальном и репродуктивном анамнезе, перенесённых и сопутствующих заболеваниях, историю приёма лекарственных препаратов и прочие данные.

При объективном осмотре проводилась оценка гирсутного числа с использованием mF-G в соответствии со стандартизированной технологией подсчёта баллов. Массу тела испытуемых измеряли с точностью до 0,1 кг с помощью электронных стандартизированных напольных весов. Для измерения роста использовали фиксированный ростомер, калиброванный в сантиметрах. Значения ИМТ определяли по общепринятой формуле (отношение массы тела в килограммах к длине тела в метрах, возведённой в квадрат; Brey G., 1978). Измерение АД проводилось в положении сидя, после 5 минут отдыха на недоминирующей руке. Всем женщинам гинекологом проведены оценка состояния молочных желёз и гинекологическое бимануальное исследование органов малого таза.

Инструментальные методы исследования включали УЗИ органов малого таза (аппарат Mindray M7; Mindray Bio-Medical Electronics Co., Китай) с трансвагинальным (5,0–8,0 МГц) или трансабдоминальным (2,5–5,0 МГц) датчиком с определением объёма яичников и количества фолликулов в яичниках для верификации ПКЯ.

Лабораторные методы

Для гормональных исследований у каждой пациентки натощак, с 8 до 9 часов утра, после 15-минутного отдыха (согласно общепринятой методике), с учётом фаз менструального цикла проводился забор крови из локтевой вены с помощью одноразовых вакуумных систем (BD Vacutainer; BD, США). После взятия венозная кровь своевременно доставлялась в лабораторию. При комнатной температуре время доставки не превышало 60 мин после взятия крови. В случаях, когда доставка крови осуществлялась в течение дня, она хранилась при температуре от +4 °С до +6 °С (в холодильнике) и далее в специальных транспортных контейнерах доставлялась в лабораторию. Дальнейшую работу проводили с сывороткой крови, которые получали путём центрифугирования пробирок при 3000 об/мин в течение 10 мин. Полученный биоматериал хранился в одноразовых пробирках типа Eppendorf в морозильной камере при температуре –80 °С. Размораживание образцов при необходимости производили не более одного раза.

Лабораторные методы исследования для оценки андрогенемии

Исследование общего Тс выполнялось с использованием ВЭЖХ/МС LCMS-8060 (Shimadzu, Япония), исследование ГСПГ – с использованием тест-систем «Алкор-Био» (Россия) на микропланшетном фотометре Elx808 (США). Расчёт ИСА производился по формуле:

$$\text{ИСА} = \frac{\text{Тс}}{\text{ГСПГ}} \times 100.$$

Исследование ДГЭА-С проводилось иммунохемилюминисцентным методом с помощью набора Siemens HealthCare Diagnostics Products GmbH (Германия) на анализаторе Immulite 1000 (Siemens Healthineers, США). Критерием гиперандрогенемии было наличие превышения верхних нормальных значений хотя бы одного из следующих показателей: общий Тс, ИСА, ДГЭА-С. В качестве верхней границы нормы (ВГН) для андрогенов использовался 98-й перцентиль

сывороточного ТТГ, ДГЭА-С и ИСА, определённый в группе здоровых женщин. Результаты разработки ВГН опубликованы с нашим участием [51].

Другие гормональные методы исследования

Определение концентраций ТТГ, ЛГ, ФСГ, ПРЛ, 17-ОН-Пр, кортизола осуществлялось с использованием метода конкурентного твёрдофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «Алкор-Био» (Россия) на микропланшетном фотометре Elx808 (США). Исследование концентраций эстрадиола выполнялось с использованием иммуноферментного метода, тест-системы «Хема» (Россия) на анализаторе ELx808 (BioTek Instruments, США). Определение концентраций инсулина осуществлялось с использованием набора реагентов на иммунохимическом анализаторе Immulite 1000 (Siemens Healthineers, США), лептина – с использованием тест-систем Diagnostics Biochem Canada Inc. (Канада), нейропептида Y – с помощью наборов ВМА Biomedicals (Швейцария) на анализаторе ELx808 (BioTek Instruments, США). Концентрация грелина исследовалась с использованием иммуноферментного метода, тест-систем LSI Medience Corporation (Япония) на анализаторе ELx808 (BioTek Instruments, США). Иммуноферментным методом на анализаторе ELx808 (BioTek Instruments, США) определяли уровень АМГ с использованием наборов Beckman Coulter Inc. (США).

Лабораторные методы исследования маркеров хронического воспаления

ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО- α , ИФН- γ , С-реактивный белок (СРБ) определяли иммуноферментным методом на анализаторе ELx808 (BioTek Instruments, США) с помощью тест-систем «Вектор-Бест» (Россия). Количественное определение концентрации адипонектина выполняли с использованием тест-систем Diagnostics Biochem Canada Inc. (Канада)

Исследование микробиома кишечника

Все стадии работы с фекалиями проведены согласно стандартным операционным процедурам (Приложение 2), предложенным в рамках проекта «Международные стандарты микробиома человека» (IHMS, International Human

Microbiome Standards) и Manual of Procedures for Human Microbiome Project (Core Microbiome Sampling Protocol A, HMP Protokol N 07-001).

ДНК выделяли из фекалий с использованием набора Quick-DNA Fecal/Soil Microbe Kit (Zymo Research, США). Подготовку библиотеки и секвенирование проводили в соответствии с рекомендациями производителя: амплифицированные фрагменты индексировали с помощью набора Nextera XT Index kit v. 2 (набор A-D), отдельные библиотеки смешивали в эквимольных количествах и секвенировали на приборе Illumina MiSeq (Illumina, США) с использованием набора MiSeq® Reagent Kit v. 3 (600 циклов) с двухсторонним считыванием (2×300).

Секвенирование ампликонов V1–V3 переменных областей гена 16S рРНК выполнено на оборудовании ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»; первичные данные депонированы в международную базу данных NCBI SRA (PRJNA899143).

Биоинформационный анализ

Обработку метагеномных данных проводили с использованием программного обеспечения FLASH v. 1.2.7 (<https://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>), Qiime v. 1.7.0 (https://qiime.org/scripts/split_libraries_fastq.html) и Uparse v. 7.0.1001 (<https://drive5.com/uparse/>). Последовательности с гомологией $\geq 97\%$ были определены в одну операционную таксономическую единицу – вариант последовательности ампликона (ASV, amplicon sequence variant). Ближайших гомологов определяли по референсной базе данных SILVA Database (<https://www.arb-silva.de/>) с аннотацией на каждом таксономическом уровне (threshold 0,8~1) (phylum, class, order, family, genus, species). Индексы альфа-разнообразия Chao1, Shannon, Simpson и ACE рассчитаны с помощью QIIME v. 1.7.0.

Статистические методы

Расчёт объёма выборки произведён с использованием интерактивной программы PS: Power and Sample Size Calculation версии 3.1.2 (Vanderbilt University, США, 2014). Ввод данных исследования и управление ими (создание

отчётов, экспорт данных для статистического анализа) осуществляли при помощи информационной системы REDCap.

Методы статистического анализа включали в себя описательную статистику, тестирование статистических гипотез, анализ связей между переменными, построение статистических моделей. Для определения близости распределения случайных величин к Гауссовой кривой использовался критерий Колмогорова – Смирнова. Данные, выраженные в непрерывных шкалах, представлены средним арифметическим (M), стандартным отклонением (SD , standard deviation), медианой (Me) и интерквартильным размахом (IQR , interquartile range).

Для проверки статистической гипотезы о равенстве двух независимых выборок использован параметрический критерий Стьюдента (t -test) или непараметрический критерий Манна – Уитни. При сравнении более двух независимых групп применён анализ ANOVA или непараметрический ранговый анализ вариаций по Краскелу – Уоллису и медианный тест.

Для проверки нулевой статистической гипотезы о равенстве относительных частот в двух популяциях использован z -критерий. При анализе таблиц сопряжённости 2×2 использованы критерий χ^2 , критерий χ^2 с поправкой Йетса, двусторонний точный критерий Фишера. Для анализа связи двух количественных признаков применена ранговая корреляция по Спирмену с использованием классификации силы корреляции в зависимости от значения коэффициента корреляции r [13]. В работе также использован многофакторный анализ с созданием моделей логистической регрессии с представлением результатов моделирования в виде значений отношения шансов (ОШ) и 95%-х доверительных интервалов (95% ДИ). Кроме того, применяли автоматизированный анализ данных с помощью интернет-ресурсов и программных средств с открытым кодом.

ГЛАВА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Характеристика гормональных показателей, маркеров хронического воспаления и их взаимосвязей у женщин с гиперандрогемией на модели синдрома поликистозных яичников и в группах сравнения

Для определения микробиом-специфических маркеров и механизмов гиперандрогемии и ассоциированных с ним метаболических нарушений на модели синдрома поликистозных яичников все участницы исследования были распределены на две группы с учётом наличия (основная группа) или отсутствия (группа сравнения) у них СПЯ и гиперандрогемии. Критерием гиперандрогемии было превышение верхних нормальных значений хотя бы одного из следующих показателей: общий Тс, ИСА, ДГЭА-С.

Среди участниц исследования, которые входили в группу сравнения, были идентифицированы женщины без гиперандрогемии, с регулярным 21–35-дневным менструальным циклом, гирсутным числом по шкале mF-G < 3, без алопеции и акне, с объёмом яичников по данным УЗИ органов малого таза < 10 см³ и AFC < 12, которые вошли в группу контроля. В группу контроля не включались испытуемые с хроническими заболеваниями в анамнезе, ИМТ < 18 или ≥ 30 кг/м², повышенным АД, аномальными уровнями андрогенов, глюкозы натощак, ПРЛ, ФСГ, ТСГ и 17-ОН-Пр.

Основные социодемографические характеристики обследованных женщин в зависимости от наличия или отсутствия у них гиперандрогемии представлены в Таблице П2 (Приложение 3). Из таблицы видно, что женщины с гиперандрогемией были несколько моложе, что определило впоследствии необходимость введения поправок на возраст при дальнейшем анализе. По месту проживания, образованию и профессии группы были сопоставимы. Независимо от наличия или отсутствия ГА среди участниц доминировали женщины

европеоидной этнической принадлежности, что отражало распределение по данному признаку всей популяции.

По антропометрическим характеристикам женщины с гиперандрогемией существенно не отличались от женщин группы сравнения в целом и здоровых женщин в частности. При оценке основных характеристик СПЯ в группах обследованных женщин выявлены закономерно более высокие значения объёмов яичников и количества фолликулов при гиперандрогемии, а также существенно большая доля женщин с гирсутизмом, ОА и ПКЯ по УЗИ (Таблица 4). У всех пациенток с гиперандрогемией имелся СПЯ в соответствии с выбранной моделью ГА с сопоставимой частотой фенотипов А, В и С: 11/26 (42,31 %), 6/26 (23,08 %) и 9/26 (34,62 %) соответственно (все $p > 0,05$).

Далее нами были охарактеризованы основные гормональные показатели и маркеры воспаления у обследованных женщин с гиперандрогемией на модели СПЯ, у женщин с отсутствием ГА и у идентифицированных среди них практически здоровых участниц исследования, которые составили контрольную группу (Таблица 5). Как видно из Таблицы 5, в основной группе при сравнении медиан показателей выявлено снижение уровня грелина относительно группы сравнения и контроля, а также более низкие значения ИЛ-1, чем в группе с отсутствием ГА. Наряду с этим основная группа характеризовалась возрастанием концентрации ФНО и нейропептида Y по сравнению с группой контроля.

При проведении корреляционного анализа гормональных показателей и маркеров системного воспаления в объединённой группе обследованных женщин (Таблица 6) нами обнаружены положительные связи параметров андрогенного статуса (Тс, ИСА), ЛГ, АМГ и уровней провоспалительных цитокинов при наличии отрицательных корреляционных связей с данным классом цитокинов ГСПГ. Установлена положительная направленность связи маркеров воспаления и нейропептида Y. При этом адипоцитокин с противовоспалительными свойствами – адипонектин – положительно коррелировал с гормоном пищеварительной системы грелином, а также с кортизолом и ГСПГ.

Таблица 4 – Фенотипическая характеристика женщин с гиперандрогемией, без гиперандрогемии и в группе контроля

Параметры*	Основная группа (с ГА) (n = 26)	Группа сравнения (без ГА) (n = 149)	Контроль (n = 19)	p
	1	2	3	
Рост (см)	163 ± 8,2 165 (158; 169)	164 ± 6,0 165 (160; 168)	163 ± 6,0 160 (158; 166)	#0,62 ₁₋₂ #0,78 ₁₋₃
Масса тела (кг)	71,5 ± 17,0 68,4 (62,8; 78,5)	71,4 ± 15,0 68,7 (60,5; 78,8)	65,7 ± 12,5 65,7 (53,4; 74,0)	#0,27 ₁₋₃ #0,96 ₁₋₂
ИМТ (кг/м ²)	26,9 ± 6,1 25,9 (22,4; 31,3)	26,4 ± 5,4 25,8 (22,0; 29,0)	24,6 ± 3,5 25,1 (21,3; 27,4)	#0,70 ₁₋₂ #0,22 ₁₋₃
Систолическое АД (мм рт. ст.)	125 ± 14,0 125 (115; 133)	124 ± 13,2 124 (113; 132)	117 ± 11,7 114 (110; 124)	#0,64 ₁₋₂
Процент жира (%)	38,9 ± 9,3 40,0 (34,1; 46,2)	35,8 ± 10,3 37,8 (30,6; 42,7)	35,8 ± 6,7 36,2 (30,9; 42,0)	#0,13 ₁₋₂ #0,18 ₁₋₃
Висцеральный жир (%)	6,0 ± 2,6 6,0 (4,3; 8,0) 1,0–12,0	6,7 ± 5,7 6,0 (4,0; 7,0) 1,0–42,7	5,3 ± 1,7 6,0 (4,0; 6,5) 2,0–8,0	#0,94 ₁₋₂ #0,42 ₁₋₃
Объём правого яичника (см ³)	11,6 ± 5,0 10,8 (9,1; 13,5)	10,8 ± 10,9 8,5 (5,9; 11,7)	6,4 ± 1,7 6,1 (5,0; 7,3)	#0,016 ₁₋₂ #0,000 ₁₋₃
Объём левого яичника (см ³)	8,6 ± 3,3 8,6 (6,7; 9,5)	9,4 ± 8,5 7,4 (5,5; 10,6)	6,2 ± 2,0 6,4 (4,7; 7,2)	#0,486 ₁₋₂ #0,009 ₁₋₃
Количество фолликулов в правом яичнике	11,4 ± 3,8 12,0 (9,0; 14,0)	9,1 ± 4,3 8,0 (6,0; 12,0)	6,6 ± 3,1 6,0 (5,0; 7,5)	#0,006 ₁₋₂ #0,000 ₁₋₃
Количество фолликулов в левом яичнике	10,6 ± 3,2 12,0 (8,0; 13,0)	8,4 ± 4,0 7,0 (5,0; 12,0)	6,5 ± 2,5 6,0 (5,0; 8,0)	#0,003 ₁₋₂ #0,000 ₁₋₃
Гиперандрогемия, n/N (%)	26/26 (100,0 %)	0/149 (0,0 %)	0/19 (0,0 %)	###0,000 ₁₋₃ ##0,000 ₁₋₂
Гирсутизм, n/N (%)	10/26 (38,5 %)	19/149 (12,7 %)	0/19 (0,0 %)	###0,002 ₁₋₃ ##0,003 ₁₋₂
ОА, n/N (%)	17/26 (65,4 %)	49/149 (32,9 %)	1/19 (5,3 %)	###0,000 ₁₋₃ ##0,004 ₁₋₂
ПКЯ по УЗИ, n/N (%)	20/26 (76,9 %)	67/149 (45,0 %)	3/19 (15,8 %)	###0,000 ₁₋₃ ###0,002 ₁₋₂
СПЯ, n/N (%)	26/26 (100,0 %)	37/149 (24,8 %)	0/19 (0,0 %)	###0,000 ₁₋₃ ##0,000 ₁₋₂
Фенотип А, n/N (%)	11/26 (42,3 %)	10/149 (6,7 %)	0/19 (0,0 %)	###0,001 ₁₋₃ ##0,000 ₁₋₂
Фенотип В, n/N (%)	6/26 (23,1 %)	0/149 (0,0 %)	0/19 (0,0 %)	###0,032 ₁₋₃ ##0,000 ₁₋₂
Фенотип С, n/N (%)	9/26 (34,6 %)	5/149 (3,4 %)	0/19 (0,0 %)	###0,006 ₁₋₃ ##0,000 ₁₋₂
Фенотип D, n/N (%)	0/26 (0,0 %)	22/149 (14,8 %)	0/19 (0,0 %)	##0,048 ₁₋₂

Примечание: * – данные представлены в виде $M \pm SD$ и Me (IQR); # – U-критерий Манна – Уитни; ## – двусторонний критерий Фишера; ### – критерий χ^2

Таблица 5 – Основные гормональные показатели и маркеры воспаления у женщин с гиперандрогемией, без гиперандрогемии и в группе контроля

Параметры*	Основная группа (с ГА) (n = 26)	Группа сравнения (без ГА) (n = 149)	Контроль (n = 19)	P [#]
	1	2	3	
ЛГ (мМЕ/мл)	13,0 ± 11,2 10,0 (6,3; 15,5)	7,6 ± 7,4 5,6 (3,2; 9,2)	6,5 ± 5,2 5,8 (3,9; 6,9)	0,00 ₁₋₂ 0,00 ₁₋₃
ФСГ (мМЕ/л)	5,9 ± 1,8 5,9 (5,0; 7,2)	5,8 ± 5,4 5,1 (3,7; 6,4)	5,7 ± 1,8 6,1 (4,4; 6,8)	0,04 ₁₋₂ 0,79 ₁₋₃
ПРЛ (мЕД/л)	322 ± 161 291 (233; 435)	336 ± 189 286 (215; 408)	296 ± 132 248 (189; 418)	0,95 ₁₋₂ 0,73 ₁₋₃
ТТГ (МЕ/л)	1,6 ± 0,8 1,6 (0,9; 1,9)	1,8 ± 1,6 1,5 (1,1; 1,9)	1,5 ± 0,7 1,6 (1,0; 1,9)	0,76 ₁₋₂ 0,94 ₁₋₃
17-ОН-Пр (нмоль/л)	5,4 ± 3,2 4,9 (2,7; 7,5)	5,3 ± 3,5 5,0 (2,6; 7,3)	3,9 ± 2,8 3,3 (2,0; 5,6)	0,72 ₁₋₂ 0,11 ₁₋₃
Тс (нг/дл)	62,8 ± 28,8 55,6 (44,5; 81,1)	27,7 ± 14,7 26 (17,9; 36,5)	23,5 ± 11,8 25,6 (16,2; 28,4)	< 0,001 ₁₋₂ < 0,001 ₁₋₃
ГСПГ (нмоль/л)	65,3 ± 52,9 40,3 (31,3; 89,8)	78,9 ± 51,3 69,7 (43,1; 99,3)	89,1 ± 46,9 68,7 (59,3; 108)	0,032 ₁₋₂ 0,018 ₁₋₃
ИСА	5,3 ± 3,8 4,6 (2,2; 6,7)	1,6 ± 1,2 1,3 (0,8; 2,2)	1,1 ± 0,8 1,0 (0,5; 1,4)	0,00 ₁₋₂ 0,00 ₁₋₃
ДГЭА-С (мкг/дл)	274 ± 144 213 (151; 389)	172,9 ± 71,8 168 (117; 222)	173,5 ± 65,9 186 (122; 208)	0,00 ₁₋₂ 0,04 ₁₋₃
АМГ (нг/мл)	6,8 ± 5,8 4,6 (2,5; 8,6)	4,5 ± 5,0 2,7 (1,0; 6,1)	2,8 ± 2,1 2,0 (1,3; 3,6)	0,01 ₁₋₂ 0,00 ₁₋₃
НРУ (нг/мл)	9,0 ± 7,3 7,6 (3,5; 11,9)	6,1 ± 4,3 6,6 (2,1; 8,5)	1,1 ± 0,8 0,8 (0,6; 1,3)	0,31 ₁₋₂ 0,01 ₁₋₃
Лептин (нг/мл)	22,9 ± 22,6 14,6 (9,2; 30,4)	20,9 ± 16,3 16,6 (9,8; 26,4)	22,6 ± 16,9 20,6 (7,1; 37,5)	0,77 ₁₋₂ 0,82 ₁₋₃
Кортизол (нмоль/л)	372 ± 219 323 (165; 525)	446 ± 330 374 (196; 535)	580 ± 387 478 (383; 568)	0,48 ₁₋₂ 0,07 ₁₋₃
Инсулин (мкЕД/мл)	7,8 ± 5,8 6,6 (4,8; 9,6)	6,8 ± 3,2 7,1 (5,0; 8,1)	6,0 ± 4,0 5,3 (2,8; 9,70)	1,00 ₁₋₂ 1,00 ₁₋₃
Грелин (нг/мл)	11,8 ± 17,9 6,7 (5,3; 10,3)	11,1 ± 5,0 10,6 (7,7; 14,7)	13,0 ± 3,7 13,5 (9,4; 16,1)	0,01 ₁₋₂ 0,00 ₁₋₃
Адипонектин (нг/мл)	10,4 ± 8,3 9,4 (3,9; 13,2)	14,4 ± 11,7 11,1 (6,3; 19,2)	14,2 ± 9,7 12,8 (6,5; 17,0)	0,06 ₁₋₂ 0,10 ₁₋₃
ИЛ-8 (пг/мл)	30,7 ± 59,0 9,2 (4,5; 28,5)	34,9 ± 53,6 16,0 (8,3; 33,2)	59,7 ± 84,4 22,3 (12,0; 45,7)	0,10 ₁₋₂ 0,05 ₁₋₃
ИЛ-1 (пг/мл)	1,7 ± 2,4 0,6 (0,2; 2,8)	2,5 ± 3,7 1,6 (0,8; 2,9)	2,1 ± 2,4 1,3 (0,8; 1,9)	0,03 ₁₋₂ 0,11 ₁₋₃
ИЛ-6 (пг/мл)	3,4 ± 4,5 1,8 (0,8; 3,6)	2,5 ± 3,2 1,4 (0,8; 2,9)	1,6 ± 1,8 1,2 (0,6; 1,5)	0,41 ₁₋₂ 0,10 ₁₋₃
ИЛ-10 (пг/мл)	3,4 ± 3,7 2,2 (1,7; 4,0)	3,4 ± 5,4 2,2 (1,4; 3,3)	1,7 ± 1,0 1,8 (0,7; 2,4)	0,59 ₁₋₂ 0,09 ₁₋₃
ФНО (пг/мл)	6,9 ± 11,7 3,4 (1,5; 6,3)	3,3 ± 3,7 1,9 (1,4; 4,2)	1,8 ± 0,8 1,7 (1,3; 2,1)	0,16 ₁₋₂ 0,03 ₁₋₃
ИФН-γ (пг/мл)	1,0 ± 0,8 0,9 (0,4; 1,6)	1,5 ± 2,7 0,9 (0,5; 1,5)	0,8 ± 0,5 0,9 (0,5; 1,0)	0,72 ₁₋₂ 0,50 ₁₋₃
СРБ (мг/л)	4,7 ± 7,4 1,6 (0,8; 3,9)	3,1 ± 4,1 1,4 (0,7; 3,1)	2,2 ± 2,5 1,5 (0,8; 2,5)	0,79 ₁₋₂ 0,65 ₁₋₃

Примечание: * – данные представлены в виде M ± SD и Me (IQR); # – U-критерий Манна – Уитни

Таблица 6 – Результаты корреляционного анализа гормональных показателей и маркеров хронического системного воспаления в объединённой группе обследованных женщин

Параметры	<i>r</i>	<i>p</i>
ИЛ-10 и ИСА	0,22	< 0,001
ФНО и ЛГ	0,24	< 0,001
ФНО и Тс	0,35	< 0,001
ФНО и ГСПГ	-0,23	< 0,001
ФНО и ИСА	0,4	< 0,001
ФНО и ДГЭА-С	0,24	< 0,001
ФНО и АМГ	0,39	< 0,001
СРБ и ГСПГ	-0,3	< 0,001
СРБ и ИСА	0,25	< 0,001
СРБ и лептин	0,39	< 0,001
Адипонектин и ГСПГ	0,2	0,01
Адипонектин и кортизол	0,19	0,01
ИЛ-1 и лептин	-0,18	0,01
ИЛ-10 и ГСПГ	-0,2	0,01
ФНО и нейропептид Y	0,21	0,01
Молекулы средней массы 3 и ТТГ	-0,19	0,01
ИЛ-1 и кортизол	-0,18	0,02
ИЛ-6 и лептин	0,18	0,02
ИЛ-10 и АМГ	0,18	0,02
ИФН-γ и кортизол	-0,18	0,02
Адипонектин и грелин	0,16	0,04
ИЛ-8 и лептин	-0,16	0,04
ИЛ-1 и пролактин	0,15	0,04
ИЛ-6 и АМГ	0,16	0,04
Адипонектин и лептин	-0,15	0,05

При гиперандрогемии, как представлено в Таблице 7, наиболее сильные положительные корреляционные связи с ДГЭА-С, нейропептидом Y и инсулином демонстрируют провоспалительные цитокины. Адипонектин при ГА положительно коррелирует с ДГЭА-С и кортизолом, а его ассоциация с ГСПГ, характерная для отсутствия ГА, отсутствует.

Таблица 7 – Результаты корреляционного анализа гормональных показателей и маркеров хронического системного воспаления в группах с гиперандрогенизмом и без гиперандрогенизма

Параметры	Основная группа (с ГА) (n = 26)		Группа сравнения (без ГА) (n = 149)	
	r	p	r	p
ФНО и ДГЭА-С	0,55	< 0,001	н/з	н/з
ИЛ-8 и НPY	0,5	0,01	н/з	н/з
ФНО и инсулин	0,53	0,01	н/з	н/з
СРБ и лептин	0,48	0,01	н/з	н/з
Адипонектин и ДГЭА-С	0,43	0,03	н/з	н/з
Адипонектин и кортизол	0,42	0,03	н/з	н/з
ИЛ-10 и НPY	0,42	0,03	н/з	н/з
ФНО и НPY	0,44	0,03	н/з	н/з
ФНО и пролактин	0,38	0,05	н/з	н/з
ИЛ-1 и кортизол	н/з	н/з	-0,23	< 0,001
ИЛ-10 и ИСА	н/з	н/з	0,24	< 0,001
ФНО и ЛГ	н/з	н/з	0,28	< 0,001
ФНО и Тс	н/з	н/з	0,37	< 0,001
ФНО и ГСПГ	н/з	н/з	-0,23	< 0,001
ФНО и ИСА	н/з	н/з	0,41	< 0,001
ФНО и АМГ	н/з	н/з	0,39	< 0,001
СРБ и ГСПГ	н/з	н/з	-0,34	< 0,001
СРБ и ИСА	н/з	н/з	0,3	< 0,001
СРБ и лептин	н/з	н/з	0,37	< 0,001
ИЛ-8 и Тс	н/з	н/з	0,21	0,01
ИЛ-1 и лептин	н/з	н/з	-0,21	0,01
ИЛ-10 и ГСПГ	н/з	н/з	-0,22	0,01
СРБ и ТТГ	н/з	н/з	0,22	0,01
ИЛ-8 и лептин	н/з	н/з	-0,19	0,02
ИЛ-8 и инсулин	н/з	н/з	-0,18	0,02
Адипонектин и ГСПГ	н/з	н/з	0,18	0,03
ИЛ-8 и ТТГ	н/з	н/з	-0,18	0,03
ИЛ-10 и ЛГ	н/з	н/з	0,18	0,03
Адипонектин и инсулин	н/з	н/з	-0,17	0,04
ИЛ-1 и Тс	н/з	н/з	0,17	0,04
ИЛ-10 и АМГ	н/з	н/з	0,17	0,04
ИФН-γ и кортизол	н/з	н/з	-0,16	0,05
СРБ и кортизол	н/з	н/з	0,16	0,05

Примечание: н/з – различия статистически не значимы

Кроме того, при оценке корреляционных связей гормональных показателей и маркеров ХСВ в группах с ГА и без ГА нами отмечены положительные корреляционные зависимости небольшой силы ФНО с уровнем ДГЭА-С, инсулином и нейропептидом Y в основной группе, тогда как в группе сравнения эти связи характеризовались как статистически не значимые.

У женщин без ГА можно отметить слабовыраженные положительные связи ФНО, ИЛ-8 и ИЛ-10 с ЛГ, тестостероном и ИСА соответственно и одновременно отрицательную связь ИЛ-10 с ГСПГ. Концентрации адипонектина в данной группе женщин положительно коррелировали с ГСПГ, а также демонстрировали отрицательную связь с инсулином.

3.2 Характеристика изменений микробиоценоза кишечника у женщин репродуктивного возраста с гиперандрогемией

3.2.1 Особенности альфа-разнообразия кишечной микробиоты женщин репродуктивного возраста с гиперандрогемией

Пять индексов альфа-разнообразия (ASV, Shannon, Simpson, Chao и ACE) были оценены для микробиоты кишечника у всех участниц с помощью ампликонного метасеквенирования (Таблица 8).

Таблица 8 – Результаты оценки индексов биоразнообразия кишечной микробиоты женщин репродуктивного возраста с гиперандрогенизмом и без гиперандрогенизма и в группе контроля

Индексы*	Основная группа (с ГА) (n = 26)	Группа сравнения (без ГА) (n = 149)	Контроль (n = 19)	p [#]
	1	2	3	
ASV	106 ± 26,4 104 (83,0; 128)	118 ± 37,2 114 (91,0; 138)	137 ± 55,4 131 (94,5; 166)	0,13 ₁₋₂ 0,07 ₁₋₃
Shannon	5,3 ± 0,8 5,4 (4,8; 5,9)	5,4 ± 0,8 5,5 (4,9; 6,0)	5,9 ± 0,8 6,0 (5,4; 6,5)	0,33 ₁₋₂ 0,01 ₁₋₃
Simpson	0,9 ± 0,0 0,9 (0,9; 1,0)	0,9 ± 0,0 0,9 (0,9; 1,0)	1,0 ± 0,0 1,0 (0,9; 1,0)	0,53 ₁₋₂ 0,02 ₁₋₃
Chao	112 ± 31,1 109 (91,2; 130)	126 ± 43,9 118 (99,0; 154)	151 ± 61,3 139 (114; 189)	0,12 ₁₋₂ 0,03 ₁₋₃
ACE	106 ± 26,6 98,0 (90,0; 126,5)	117 ± 37,8 113 (92,0; 141)	140 ± 55,0 136 (105; 166)	0,16 ₁₋₂ 0,03 ₁₋₃

Примечание: * – данные представлены в виде M ± SD и Me (IQR); # – U-критерий Манна – Уитни

Как представлено в Таблице 8, в группе с ГА регистрируются существенно более низкие относительно контроля значения 4 из 5 оцениваемых индексов биоразнообразия. Далее нами были установлены точки отсечения значений индексов разнообразия, ассоциированные с гиперандрогемией (Таблица 9).

Таблица 9 – Точки отсечения значений индексов разнообразия, ассоциированные с гиперандрогемией

Индексы	Точка отсечения	Чувствительность; специфичность	95% ДИ	AUC	95% ДИ
ASV	122,5	0,80; 0,63	(103,00; 184,00)	0,65	(0,48; 0,82)
Shannon	5,8	0,80; 0,68	(5,20; 6,49)	0,74	(0,59; 0,88)
Simpson	1,0	0,89; 0,63	(0,90; 0,98)	0,73	(0,58; 0,88)
Chao	135,0	0,80; 0,68	(110,00; 184,50)	0,69	(0,53; 0,85)
ACE	131,5	0,80; 0,63	(98,50; 168,00)	0,68	(0,52; 0,85)

Примечание: AUC – площадь под кривой (area under curve)

Как видно из Таблицы 9, наибольшую чувствительность при умеренной специфичности с высоким значением площади под кривой (AUC, area under curve), удалось установить для индексов Shannon и Simpson, что позволяет классифицировать женщин с наличием или отсутствием гиперандрогемии. Наибольшая чувствительность зарегистрирована для индекса Simpson, однако оптимальный баланс чувствительности и специфичности зарегистрирован для индекса Shannon при оценке данных показателей относительно повышения общего тестостерона (Таблица 10), тогда как относительно повышения ИСА была показана статистическая значимость индексов Chao и ACE (Таблица 11).

Данные результаты совместно с соавторами опубликованы нами в статье «Gut microbiota biodiversity indices as markers of hyperandrogenemia in women of reproductive age» [59].

При анализе ассоциаций индексов разнообразия с повышением ДГЭА-С отмечена их высокая чувствительность, однако для полученных точек отсечения как маркеров гиперандрогемии выявлена низкая специфичность (Таблица 12).

Таблица 10 – Точки отсечения значений индексов разнообразия, ассоциированные с повышением общего тестостерона (не изолированным)

Индексы	Точка отсечения	Чувствительность; специфичность	95% ДИ	AUC	95% ДИ
ASV	122,00	0,90; 0,63	(103,50; 129,00)	0,70	(0,52; 0,88)
Shannon	5,66	0,81; 0,68	(4,45; 6,43)	0,77	(0,62; 0,91)
Simpson	0,97	0,90; 0,63	(0,90; 0,98)	0,74	(0,59; 0,90)
Chao	113,50	0,81; 0,74	(106,00; 184,50)	0,73	(0,56; 0,89)
ACE	108,50	0,81; 0,74	(98,50; 153,00)	0,74	(0,57; 0,91)

Таблица 11 – Точки отсечения значений индексов разнообразия, ассоциированные с повышением индекса свободных андрогенов (не изолированным)

Индексы	Точка отсечения	Чувствительность; специфичность	95% ДИ	AUC	95% ДИ
ASV	115,00	0,88; 0,63	(100,00; 155,00)	0,70	(0,52; 0,88)
Shannon	5,74	0,81; 0,74	(4,78; 6,29)	0,78	(0,63; 0,93)
Simpson	0,97	0,88; 0,68	(0,90; 0,98)	0,75	(0,59; 0,91)
Chao	114,50	0,88; 0,74	(106,00; 158,50)	0,78	(0,61; 0,94)
ACE	108,81	0,94; 0,68	(94,50; 150,00)	0,75	(0,58; 0,92)

Таблица 12 – Точки отсечения значений индексов разнообразия, ассоциированные с повышением дегидроэпиандростерон-сульфата (не изолированным).

Индексы	Точка отсечения	Чувствительность; специфичность	95% ДИ	AUC	95% ДИ
ASV	152,50	0,91; 0,37	(106,00; 185,00)	0,52	(0,31; 0,73)
Shannon	6,15	1,00; 0,47	(5,25; 6,60)	0,62	(0,41; 0,82)
Simpson	0,98	1,00; 0,47	(0,92; 0,98)	0,63	(0,43; 0,83)
Chao	155,50	0,91; 0,47	(110,50; 230,00)	0,56	(0,35; 0,77)
ACE	145,50	0,91; 0,47	(108,00; 213,00)	0,54	(0,33; 0,75)

Далее в исходных группах с гиперандрогемией и её отсутствием нами были выделены подгруппы (Таблица 13): подгруппы 1а и 2а – снижено альфа-

разнообразие кишечной микробиоты (критерий – снижение хотя бы одного из индексов (Shannon и Simpson) ниже точек отсечения); подгруппы 1б и 2б – альфа-разнообразие кишечной микробиоты не снижено. Для формирования данных подгрупп использованы определённые нами ранее точки отсечения значений индексов разнообразия, ассоциированные с гиперандрогемией: для Shannon < 5,84, для Simpson < 0,97.

Таблица 13 – Основные характеристики женщин с гиперандрогемией и без гиперандрогемии с учётом альфа-разнообразия микробиоценоза кишечника

Параметры*	Основная группа (с ГА) (n = 26)		p _{1а-1б}	Группа сравнения (без ГА) (n = 149)		p _{2а-2б}
	1а	1б		2а	2б	
ИМТ (кг/м ²), n/N (%)	2/20 (10%)	0/6 (0%)	#0,98	1/104 (0,96%)	1/45 (2,2%)	#0,68
Окружность талии (см)	81,7 ± 14,8 77,5 (73,0; 91,3)	77,3 ± 8,1 75,5 (72,8; 83,5)	#0,52	79,2 ± 12,1 78,0 (70,0; 85,3)	80,4 ± 14,2 79,0 (71,0; 86,0)	#0,81
Объём правого яичника (см ³)	12,3 ± 4,8 11,4 (9,8; 13,8)	9,6 ± 5,8 8,2 (5,5; 10,6)	#0,19	10,6 ± 9,9 8,8 (6,2; 11,7)	11,2 ± 13,2 7,3 (5,8; 10,2)	#0,33
Объём левого яичника (см ³)	9,0 ± 3,3 8,7 (6,9; 10,2)	7,4 ± 3,5 7,2 (4,9; 8,8)	#0,44	10,2 ± 9,8 8,0 (5,9; 10,8)	7,8 ± 4,3 6,4 (5,3; 8,3)	#0,05
Количество фолликулов в правом яичнике	12,4 ± 3,5 12,5 (11,8; 14,3)	8,2 ± 3,1 8,0 (6,3; 10,5)	#0,02	9,6 ± 4,5 9,0 (6,0; 12,0)	8,0 ± 3,9 7,0 (5,0; 8,0)	#0,03
Количество фолликулов в левом яичнике	11,4 ± 3,1 12,0 (10,0; 14,0)	7,6 ± 1,5 8,0 (6,0; 9,0)	#0,02	8,6 ± 3,7 8,0 (6,0; 12,0)	7,8 ± 4,4 7,0 (5,0; 10,0)	#0,13
ЛГ (мМЕ/мл)	14,1 ± 12,2 10,1 (6,5; 16,5)	9,5 ± 6,3 9,5 (6,4; 11,3)	#0,65	8,0 ± 8,2 5,6 (3,4; 9,3)	6,7 ± 5,4 5,6 (3,0; 7,9)	#0,53
ФСГ (мМЕ/л)	6,1 ± 1,9 5,9 (5,0; 7,3)	5,5 ± 1,8 6,1 (5,3; 6,3)	#0,78	5,5 ± 2,9 5,3 (3,8; 6,5)	6,4 ± 8,8 4,9 (3,3; 5,7)	#0,33
ПРЛ (мЕД/л)	309 ± 161 291 (188; 433)	365 ± 171 292 (241; 447)	#0,50	345 ± 204 284 (218; 408)	316 ± 148 299 (198; 407)	#0,64
ТТГ (МЕ/л)	1,7 ± 0,7 1,6 (1,0; 2,0)	1,4 ± 1,1 1,1 (0,7; 1,7)	#0,25	1,9 ± 1,8 1,5 (1,2; 2,0)	1,7 ± 1,0 1,4 (1,0; 1,8)	#0,30
17-ОН-Пр (нмоль/л)	5,6 ± 3,0 5,1 (3,8; 7,3)	4,9 ± 4,0 3,4 (2,0; 8,4)	#0,52	5,3 ± 3,1 5,1 (2,6; 7,3)	5,4 ± 4,3 4,4 (2,6; 7,9)	#0,67
Тс	651 ± 304 604 (425; 853)	552 ± 235 477 (468; 537)	#0,56	276 ± 135 258 (185; 366)	278 ± 173 264 (139; 357)	#0,97
ГСПГ (нмоль/л)	52,0 ± 38,8 37,8 (29,5; 60,0)	110 ± 72,2 142 (60,0; 142)	#0,15	76,0 ± 48,7 68,7 (41,7; 94,7)	85,6 ± 56,8 74,4 (44,2; 107)	#0,30
ИСА	5,6 ± 3,3 5,1 (3,3; 7,0)	4,2 ± 5,2 1,6 (1,2; 4,2)	#0,06	1,7 ± 1,3 1,3 (0,9; 2,4)	1,4 ± 1,0 1,3 (0,7; 2,0)	#0,35

Продолжение Таблицы 13

Параметры*	Основная группа (с ГА) (n = 26)		p _{1a-1б}	Группа сравнения (без ГА) (n = 149)		p _{2a-2б}
	1а	1б		2а	2б	
ДГЭА-С (мкг/дл)	281 ± 136 213 (185; 393)	251 ± 182 242 (93,1; 378)	#0,41	178 ± 68,7 169 (125; 228)	160 ± 77,9 132 (113; 212)	#0,10
АМГ (нг/мл)	7,4 ± 6,2 5,0 (2,7; 8,9)	4,6 ± 3,7 3,2 (2,1; 5,7)	#0,27	4,9 ± 5,1 3,1 (1,1; 6,7)	3,5 ± 4,7 2,1 (0,10; 3,7)	#0,05
НРУ (нг/мл)	10,0 ± 9,2 4,7 (3,5; 13,9)	7,6 ± 4,0 7,6 (7,6; 7,7)	#1,00	6,9 ± 4,4 7,6 (3,3; 9,2)	3,9 ± 3,0 3,6 (1,2; 6,7)	#0,05
Лептин (нг/мл)	21,9 ± 22,1 13,0 (9,2; 33,6)	26,2 ± 26,3 17,5 (10,9; 25,2)	#0,73	20,2 ± 14,7 16,6 (10,3; 26,5)	22,3 ± 19,4 16,6 (9,6; 25,1)	#0,98
Кортизол (нмоль/л)	412,9 ± 216 442 (282; 533)	234 ± 184 151 (128; 29,3)	#0,11	426 ± 316 355 (193; 535)	483 ± 356 414 (246; 539)	#0,27
Грелин (нг/мл)	12,4 ± 19,9 6,3 (5,2; 10,3)	9,5 ± 4,6 8,4 (6,7; 11,1)	#0,50	10,9 ± 5,6 10,7 (7,1; 14,3)	11,5 ± 4,1 10,4 (8,05; 15,0)	#0,49
Адипонектин (нг/мл)	10,9 ± 8,8 9,5 (4,1; 14,7)	8,9 ± 6,8 8,2 (4,0; 12,6)	#0,74	14,1 ± 11,7 9,9 (5,9; 19,1)	15,1 ± 12,0 13,0 (6,7; 19,4)	#0,50
ИЛ-8 (пг/мл)	24,4 ± 43,1 9,8 (4,9; 25,8)	51,6 ± 98,5 8,3 (4,5; 30,6)	#1,00	30,1 ± 43,2 16,0 (9,2; 32,8)	44,1 ± 69,2 16,0 (5,5; 37,0)	#0,87
ИЛ-1 (пг/мл)	1,4 ± 2,5 0,5 (0,1; 1,2)	2,6 ± 1,8 2,6 (1,5; 3,5)	#0,06	2,1 ± 2,4 1,6 (0,7; 2,7)	3,1 ± 5,3 1,7 (1,0; 3,1)	#0,47
ИЛ-6 (пг/мл)	3,6 ± 4,8 2,2 (1,0; 3,7)	2,6 ± 3,7 1,4 (0,7; 1,8)	#0,38	2,4 ± 2,5 1,5 (0,9; 2,9)	2,8 ± 4,3 1,3 (0,8; 2,9)	#0,75
ИЛ-10 (пг/мл)	3,8 ± 4,1 2,3 (1,7; 4,4)	2,2 ± 1,2 2,3 (1,8; 2,5)	#0,58	3,8 ± 6,4 2,2 (1,4; 3,2)	2,9 ± 2,6 2,2 (1,5; 3,4)	#0,97
ФНО (пг/мл)	6,4 ± 10,8 3,6 (2,0; 6,4)	8,4 ± 15,4 1,5 (1,4; 5,0)	#0,45	3,7 ± 4,2 2,3 (1,6; 5,1)	2,5 ± 2,3 1,8 (1,3; 2,3)	#0,07
ИНФ-γ (пг/мл)	0,9 ± 0,8 0,8 (0,4; 1,4)	1,5 ± 0,8 1,3 (0,8; 2,1)	#0,13	1,4 ± 2,2 1,0 (0,5; 1,45)	1,6 ± 3,5 0,9 (0,5; 1,6)	#0,64
СРБ (мг/л)	5,2 ± 8,4 1,2 (0,4; 5,3)	3,1 ± 1,3 2,8 (2,3; 3,3)	#0,14	3,3 ± 4,3 1,4 (0,7; 3,2)	2,8 ± 3,7 1,5 (0,7; 3,0)	#0,85

Примечание: * – данные представлены в виде $M \pm SD$ и Me (IQR); # – U-критерий Манна – Уитни

Как представлено в Таблице 13, по основным гормональным показателям и маркерам хронического воспаления женщины с ГА, учитывая наличие или отсутствие снижения альфа-разнообразия микробиоценоза кишечника, существенно не отличались. При этом увеличение числа фолликулов в яичниках при снижении альфа-разнообразия было более характерно для участниц исследования с ГА. В группе сравнения при отсутствии ГА наблюдалась лишь

тенденция к зависимости AFC от состояния альфа-разнообразия кишечного микробиоценоза.

3.2.2 Характеристика изменений микробиоты кишечника у женщин репродуктивного возраста с гиперандрогемией

На первом этапе нами была дана характеристика микробиоценоза кишечника обследованных женщин на уровне фил, классов и родов. Как показано в Таблице 14, представленность филы Bacteroidota была статистически значимо выше в группе ГА по сравнению с группой контроля; вместе с тем филы Bacillota выявлялась значительно реже при ГА, чем в группе контроля.

В кишечном микробиоценозе женщин с ГА мы не обнаружили Verrucomicrobiota, тогда как при отсутствии ГА эта филы, хотя и незначительно, но была представлена. По количественным характеристикам долей фил Pseudomonadota, Actinomycetota, Fusobacteriota, Candidatus Melainobacteriota, Desulfobacterota в микробиоценозах кишечника женщины сравниваемых групп не отличались.

Таблица 14 – Характеристика микробиоценоза кишечника на уровне фил с учётом наличия гиперандрогемии и в группе контроля

Филы (тип)	Основная группа (с ГА) ($n = 26$)	Группа сравнения (без ГА) ($n = 149$)	Контроль ($n = 19$)	$p^{\#}$
	1	2	3	
	M \pm SD; Me (IQR)			
Bacteroidota	42,7 \pm 24,7 41,7 (25,0; 66,4)	36,3 \pm 24,4 36,8 (12,6; 56,7)	26,7 \pm 17,0 28,3 (12,1; 36,6)	0,23 ₁₋₂ 0,04 ₁₋₃
Bacillota	52,8 \pm 25,6 50,9 (31,4; 73,4)	58,4 \pm 26,1 56,7 (37,0; 83,4)	70,2 \pm 18,7 69,8 (59,7; 85,3)	0,29 ₁₋₂ 0,03 ₁₋₃

Примечание: в таблице представлены только статистически значимые различия;

– U-критерий Манна – Уитни

Таблица 15 – Характеристика микробиоценоза кишечника на уровне классов

Классы	Основная группа (с ГА) (n = 26)	Группа сравнения (без ГА) (n = 149)	Контроль (n = 19)	p [#]
	1	2	3	
	M ± SD; Me (IQR)			
Clostridia	42,0 ± 22,0 32,7 (27,5; 55,7)	49,9 ± 25,5 47,1 (28,2; 69,8)	63,1 ± 18,3 64,1 (50,5; 80,7)	0,14 ₁₋₂ 0,00 ₁₋₃

Примечание: в таблице представлены только статистически значимые различия;

– U-критерий Манна – Уитни

Данные Таблицы 15 иллюстрируют различия в представленности разных классов в кишечных микробиоценозах обследованных женщин – в группе с ГА отмечается статистически значимо меньшая представленность Clostridia в сравнении с группой контроля. Количественные характеристики долей других представленных классов в кишечных микробиомах женщин сравниваемых групп статистически значимо не отличались.

При оценке микробиоценоза кишечника обследованных женщин на уровне родов в группе с ГА относительно группы без ГА статистически значимое увеличение представленности было отмечено для *Catenibacterium* (класс Bacilli), *Lactobacillus* (класс Bacilli), а также для *Oxalobacter* класса Gammaproteobacteria. В то же время при ГА значительно реже представлены *Faecalibacterium* (класс Clostridia), *Acidaminococcus* (класс Negativicutes), *Delftia* (класс Gammaproteobacteria), *Ruminococcaceae_Incertae Sedis* (класс Clostridia).

В группе контроля отмечается статистически значимое увеличение относительно основной группы представленности *Faecalibacterium*, *Christensenellaceae_R-7_group* и [*Eubacterium*] *eligans_group* класса Clostridia, а также *Oscillospirales_UCG-010* (класс Clostridia) и *Delftia*. Наравне с этим при ГА отмечается статистически значимо большая представленность *Catenibacterium* по сравнению с группой контроля (Таблица 16).

Таблица 16 – Характеристика микробиоценоза кишечника обследованных женщин на уровне родов

Род	Основная группа (с ГА) ($n = 26$)	Группа сравнения (без ГА) ($n = 149$)	Контроль ($n = 19$)	$p^{\#}$
	1	2	3	
<i>Catenibacterium</i>	0,05 ± 0,1 0,0 (0,0; 0,03)	0,02 ± 0,08 0,0 (0,0; 0,00)	0,01 ± 0,03 0,0 (0,0; 0,00)	0,02 ₁₋₂ 0,04 ₁₋₃
<i>Faecalibacterium</i>	0,07 ± 0,12 0,03 (0,01; 0,05)	0,13 ± 0,17 0,06 (0,02; 0,18)	0,23 ± 0,23 0,14 (0,07; 0,30)	0,03 ₁₋₂ < 0,001 ₁₋₃
<i>Christensenellaceae_</i> <i>R-7 group</i>	0,01 ± 0,01 0,00 (0,00; 0,01)	0,03 ± 0,06 0,01 (0,00; 0,03)	0,04 ± 0,06 0,02 (0,00; 0,07)	0,28 ₁₋₂ 0,03 ₁₋₃
<i>Lactobacillus</i>	0,01 ± 0,04 0,0 (0,0; 0,00)	0,00 ± 0,01 0,0 (0,0; 0,0)	0,001 ± 0,004 0,0 (0,0; 0,0)	0,01 ₁₋₂ 0,15 ₁₋₃
<i>[Eubacterium]</i> <i>eligans group/</i>	0,003 ± 0,01 0,0 (0,0; 0,00)	0,004 ± 0,01 0,0 (0,0; 0,004)	0,007 ± 0,02 0,00 (0,0; 0,01)	0,21 ₁₋₂ 0,02 ₁₋₃
<i>Oscillospirales</i> <i>UCG-010</i>	0,00 ± 0,00 0,0007 (0,0; 0,003)	0,0031 ± 0,01 0,001 (0,0; 0,0043)	0,01 ± 0,01 0,004 (0,0004; 0,00898)	0,77 ₁₋₂ 0,04 ₁₋₃
<i>Acidaminococcus</i>	0,00076 ± 0,001 0,0 (0,0; 0,001)	0,0012 ± 0,00604 0,0 (0,0; 0,0)	2e-05 ± 7e-05 0,0 (0,0; 0,0)	0,04 ₁₋₂ 0,19 ₁₋₃
<i>Delftia</i>	0,0001 ± 0,00034 0,0 (0,0; 0,0)	0,0004 ± 0,00172 0,0 (0,0; 0,00026)	0,0002 ± 0,00027 0,0 (0,0; 0,00046)	0,04 ₁₋₂ 0,02 ₁₋₃
<i>Ruminococcaceae_</i> <i>Incertae Sedis</i>	0,00021 ± 0,00085 0,0 (0,0; 0,0)	0,0005 ± 0,00144 0,0 (0,0; 0,00041)	0,00026 ± 0,00053 0,0 (0,0; 0,00015)	0,04 ₁₋₂ 0,40 ₁₋₃
<i>Oxalobacter</i>	0,00057 ± 0,00098 0,0 (0,0; 0,00073)	0,00029 ± 0,00094 0,0 (0,0; 0,0)	2e-05 ± 9e-05 0,0 (0,0; 0,0)	0,02 ₁₋₂ 0,02 ₁₋₃

Примечание: в таблице представлены только статистически значимые различия;

$\#$ – U-критерий Манна – Уитни

3.3 Результаты оценки взаимосвязей изменений микробиоценоза кишечника, маркеров воспаления и гормональных нарушений при гиперандрогемии на модели синдрома поликистозных яичников

3.3.1 Особенности взаимосвязей индексов альфа-разнообразия кишечной микробиоты, гормональных показателей и основных маркеров хронического системного воспаления у женщин репродуктивного возраста с гиперандрогемией

Для оценки степени межсистемных взаимоотношений в группе обследованных женщин в целом и в зависимости от наличия или отсутствия у них ГА был проведён корреляционный анализ с вычислением непараметрического

коэффициента ранговой корреляции Спирмена r_s . Статистически значимые корреляционные связи индексов альфа-разнообразия, гормональных показателей и маркеров воспаления приведены в Таблице 17.

Оценка тесноты связи производилась следующим образом: $0,01 \leq r \leq 0,29$ – слабая теснота связи; $0,3 \leq r \leq 0,69$ – связь средней силы; $0,7 \leq r \leq 1,00$ – сильная связь между признаками. Если связь между признаками прямая, то коэффициент корреляции положителен (положительное число) [7]. Статистическая значимость корреляционных связей считалась установленной при $p < 0,05$.

Таблица 17 – Статистически значимые корреляционные связи индексов альфа-разнообразия, гормональных показателей и маркеров воспаления обследованных женщин ($n = 175$)

Параметры	r_s	p
ASV и ТТГ	-0,21	0,01
Shannon и ТТГ	-0,18	0,02
Shannon и АМГ	-0,19	0,01
Simpson и ТТГ	-0,16	0,04
Simpson и АМГ	-0,22	< 0,001
Chao и ФСГ	-0,17	0,03
Chao и ТТГ	-0,2	0,01
Chao и грелин	0,15	0,05
АСЕ и ФСГ	-0,15	0,05
АСЕ и ТТГ	-0,2	0,01
АСЕ и грелин	0,15	0,04
Simpson и ФНО	-0,21	< 0,001
Shannon и ФНО	-0,18	0,02
Chao и ИЛ-1	0,18	0,02
АСЕ и ИЛ-1	0,17	0,02
ASV и ИЛ-1	0,17	0,03
Shannon и ИЛ-1	0,16	0,03
Simpson и ИЛ-1	0,16	0,03
Chao и адипонектин	0,16	0,03
АСЕ и адипонектин	0,16	0,03

При анализе корреляционных связей индексов биоразнообразия микробиоценоза кишечника, гормональных показателей и маркеров воспаления в объединённой группе обследованных женщин нами не обнаружено статистически значимых связей вышеуказанных параметров с андрогенами.

В то же время некоторые индексы демонстрировали слабые отрицательные связи с АМГ и ФСГ, отражающими состояние фолликулярного аппарата яичников, а также с ТТГ, что может косвенно отражать участие микробиоценоза кишечника в регуляции тиреотропной функции гипофиза.

Концентрации гормона пищеварительной системы грелина находились в положительной корреляционной зависимости от индексов Chao и ACE, однако теснота связи была слабой.

Разнонаправленность корреляционных связей индексов биоразнообразия микробиоценоза кишечника с про- и противовоспалительными цитокинами и адипокинами может быть обусловлена неоднородностью объединённой группы обследованных женщин.

Тем не менее, необходимо отметить, что индексы разнообразия находились в отрицательной корреляционной зависимости с фактором некроза опухоли, и в положительной – с адипокином с преимущественно противовоспалительными свойствами – адипонектином.

С учётом неоднородности объединённой группы обследованных женщин далее была проведена оценка взаимосвязей изменений альфа-разнообразия, гормональных показателей и маркеров воспаления обследованных женщин в подгруппах с ГА и без ГА.

Как представлено в Таблице 18, характер взаимосвязей индексов разнообразия микробиоценоза кишечника и гормональных показателей у женщин репродуктивного возраста с ГА и при его отсутствии существенно отличались. Так, при ГА выявлена отрицательная корреляционная связь средней силы между индексами Chao и ASV с концентрациями тестостерона и уровнем индекса связанных андрогенов. При этом отмечена положительная ассоциация индекса Shannon и грелина.

Таблица 18 – Статистически значимые корреляционные связи индексов альфа-разнообразия, гормональных показателей и маркеров воспаления обследованных женщин в зависимости от наличия или отсутствия гиперандрогенемии

Параметры	Основная группа (с ГА) ($n = 26$)		Группа сравнения (без ГА) ($n = 149$)	
	1		2	
	r	p	r	p
Chao и ИСА	-0,44	0,03	н/з	–
ASV и Тс	-0,4	0,04	н/з	–
Shannon и грелин	0,41	0,04	н/з	–
Shannon и АМГ	н/з	–	-0,2	0,01
Simpson и АМГ	н/з	–	-0,24	< 0,001

Примечание: н/з – различия статистически не значимы ($p > 0,05$)

Данные закономерности не были характерны для женщин без гиперандрогенемии, у которых, напротив, была зарегистрирована отрицательная корреляционная связь слабой силы между индексами разнообразия и АМГ, маркером поликистозной трансформации яичников. Эти особенности могут рассматриваться как проявление наличия неких микробиом-ассоциированных протективных механизмов, препятствующих развитию ГА.

3.3.2 Характеристика взаимосвязей изменений микробиоценоза кишечника, маркеров воспаления и гормональных показателей у обследованных женщин репродуктивного возраста

При анализе ассоциаций представителей микробиоценоза кишечника на уровне фил с гормональными показателями и маркерами воспаления сильных связей выявлено не было (Таблица 19).

Таблица 19 – Статистически значимые корреляционные связи представителей микробиоценоза кишечника на уровне фил, гормональных показателей и маркеров воспаления у обследованных женщин ($n = 175$)

Параметры	r_s	p
Bacteroidota и АМГ	0,23	< 0,001
Bacteroidota и нейропептид Y	0,16	0,03
Bacteroidota и грелин	-0,16	0,04
Bacillota и АМГ	-0,22	< 0,001
Bacillota и нейропептид Y	-0,1	0,2
Pseudomonadota и ДГЭА-С	-0,16	0,03
Actinomycetota и ТТГ	-0,21	< 0,001
Actinomycetota и АМГ	-0,2	0,01
Actinomycetota и инсулин	-0,18	0,02
Candidatus Melainobacteriota и ФНО	-0,17	0,03
Bacteroidota и ИЛ-6	0,25	< 0,001
Bacteroidota и ИЛ-10	0,18	0,02
Bacteroidota и ФНО	0,36	< 0,001
Bacillota и ИЛ-6	-0,26	< 0,001
Bacillota и ИЛ-10	-0,19	0,01
Bacillota и ФНО	-0,35	< 0,001
Pseudomonadota и Адипонектин	0,21	0,01
Pseudomonadota и ИЛ-8	0,18	0,02
Pseudomonadota и ФНО	0,18	0,02
Actinomycetota и ФНО	-0,25	< 0,001
Candidatus Melainobacteriota и ИЛ-6	0,15	0,04
Candidatus Melainobacteriota и ФНО	0,18	0,02

Как представлено в Таблице 19, при оценке корреляционных связей представителей микробиоценоза кишечника на уровне фил, гормональных показателей и маркеров воспаления определяется разнонаправленность связей. Так, показано, что представленность филы Candidatus Melainobacteriota имеет

слабую отрицательную связь с ФСГ, а также положительные связи с провоспалительным цитокином ИЛ-6 и ФНО. Вместе с тем определялась ассоциация *Bacillota* со снижением уровней ФНО, ИЛ-6 и ИЛ-10, а также отрицательная связь с АМГ, характеризующего функцию яичников. Кроме этого, фила *Actinomycetota* имела отрицательную связь слабой силы с уровнем ТТГ и АМГ. По-видимому, данные бактерии способны оказывать дополнительное влияние на продукцию гормонов эндокринными железами.

Уровни таких пищеварительных гормонов, как грелин и инсулин, находились в отрицательной корреляционной зависимости от наличия *Actinomycetota* и *Bacteroidota* соответственно, тогда как нейропептид Y имел слабую положительную связь с *Bacteroidota* и отрицательную – с *Bacillota*. С учётом неоднородности полученных данных и цели получения статистически значимых связей на разных уровнях классификации представителей кишечного микробиома далее была проведена оценка взаимосвязей изменений кишечных бактерии с гормонами, маркерами воспаления в подгруппах с ГА и без ГА.

Данные Таблицы 20 указывают на существенные различия характера взаимосвязей представителей микробиоценоза кишечника на уровне фил и гормональных показателей, маркеров воспаления у женщин репродуктивного возраста с ГА и его отсутствием. При ГА отмечается положительная корреляционная связь средней силы *Bacteroidota* с тестостероном, а также *Candidatus Melainobacteriota* с кортизолом.

У женщин без гиперандрогемии данные связи определяются как статистически не значимые, однако имеется положительная зависимость слабой силы *Actinomycetota* от уровня ГСПГ и положительная – от АМГ, представляющего собой маркер поликистозной трансформации яичников.

Также зарегистрирована отрицательная связь *Pseudomonadota* с ДГЭА-С и АМГ. Наравне с этим ряд представителей кишечного микробиома в группе пациенток без ГА, напротив, демонстрировали положительные зависимости с описанным гормонами – например, *Bacillota*.

Таблица 20 – Статистически значимые корреляционные связи представителей микробиоценоза кишечника на уровне фил, гормональных показателей и маркеров воспаления у обследованных женщин в зависимости от наличия или отсутствия гиперандрогенемии

Параметры	Основная группа (с ГА) ($n = 26$)		Группа сравнения (без ГА) ($n = 149$)	
	1		2	
	r	p	r	p
Bacteroidota и Тс	0,48	0,01	–	–
Bacteroidota и грелин	–0,43	0,03	–	–
Candidatus Melainobacteriota и кортизол	0,43	0,03	–	–
Bacteroidota и лептин	–0,38	0,05	–	–
Bacteroidota и адипонектин	0,61	< 0,001	–	–
Bacillota и адипонектин	–0,55	< 0,001	–	–
Bacteroidota и ФНО	0,52	0,01	–	–
Bacillota и ФНО	–0,45	0,02	–	–
Pseudomonadota и адипонектин	0,45	0,02	–	–
Actinomycetota и ФНО	–0,42	0,03	–	–
Actinomycetota и ТТГ	–	–	–0,25	< 0,001
Bacteroidota и АМГ	–	–	0,2	0,01
Bacillota и АМГ	–	–	–0,21	0,01
Desulfobacterota и ТТГ	–	–	–0,22	0,01
Pseudomonadota и АМГ	–	–	0,19	0,02
Actinomycetota и АМГ	–	–	–0,19	0,02
Bacteroidota и нейропептид Y	–	–	0,17	0,03
Bacillota и ДГЭА-С	–	–	0,18	0,03
Actinomycetota и ГСПГ	–	–	0,17	0,03
Actinomycetota и грелин	–	–	0,18	0,03
Pseudomonadota и ДГЭА-С	–	–	–0,17	0,04
Bacteroidota и ТТГ	–	–	0,16	0,05
Verrucomicrobiota и нейропептид Y	–	–	0,16	0,05

Уровни грелина и лептина у женщин с установленным ГА имели отрицательные связи средней силы с Bacteroidota, тогда как в группе сравнения регистрировалась положительная зависимость грелина и Actinomycetota. Помимо этого, характерной особенностью в группе сравнения являлись положительные связи Verrucomicrobiota и Bacteroidota с нейропептидом Y.

При оценке корреляционных связей кишечной микробиоты на уровне фил и маркеров воспаления статистически значимые связи были установлены только в группе женщин с гиперандрогемией, которые можно описать как разнонаправленные. Адипонектин имел положительные связи средней силы с Pseudomonadota и Bacteroidota, тогда как ФНО – отрицательные с Bacillota и Actinomycetota.

Результаты изучения ассоциаций представителей микробиоценоза кишечника на уровне классов с гормональными показателями и маркерами воспаления представлены в Таблице 21.

Как видно из Таблицы 21, корреляционные связи представителей микробиоценоза кишечника на уровне классов с гормональными показателями и маркерами воспаления характеризуются неоднородностью и слабой силой.

Уровни таких гормонов, как тестостерон, АМГ, и индекс свободных андрогенов имели отрицательные взаимосвязи слабой и средней силы с Clostridia. Также нами отмечены ассоциации этого класса с уровнями провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО. При этом наличие Coriobacteriia характеризовалось рядом отрицательных связей – с АМГ, ТТГ и инсулином. Vampirivibrionia имели отрицательную ассоциацию с ФСГ и положительную – с ФНО. Наличие Gammaproteobacteria было ассоциировано с увеличением практически всех оцененных нами маркеров воспаления. Нейропептид Y имел слабую положительную зависимость от Negativicutes и отрицательную связь такой же силы – с Actinobacteria и Vampirivibrionia. Вышеизложенное позволяет предположить наличие микробиом-ассоциированных механизмов, влияющих на процессы гормональной регуляции и воспаление.

Таблица 21 – Статистически значимые корреляционные связи представителей микробиоценоза кишечника на уровне классов с гормональными показателями и маркерами воспаления у обследованных женщин ($n = 175$)

Параметры	r_s	p
Clostridia и Tc	-0,15	0,05
Clostridia и ИСА	-0,15	0,04
Clostridia и АМГ	-0,31	< 0,001
Clostridia и грелин	0,19	0,01
Bacilli и ТТГ	-0,28	< 0,001
Negativicutes и АМГ	0,15	0,05
Negativicutes и нейропептид Y	0,15	0,05
Gammaproteobacteria и ДГЭА-С	-0,15	0,05
Alphaproteobacteria и ГСПГ	-0,17	0,03
Coriobacteriia и ТТГ	-0,22	< 0,001
Coriobacteriia и АМГ	-0,19	0,01
Coriobacteriia и инсулин	-0,16	0,03
Actinobacteria и АМГ	-0,16	0,04
Actinobacteria и нейропептид Y	-0,17	0,03
Vampirivibrionia и ФСГ	-0,17	0,02
Vampirivibrionia и нейропептид Y	-0,15	0,05
Clostridia и ИЛ-6	-0,18	0,02
Clostridia и ИЛ-10	-0,19	0,01
Clostridia и ФНО	-0,33	< 0,001
Clostridia и молекулы средней массы 3	0,15	0,04
Bacilli и ФНО	-0,21	0,01
Gammaproteobacteria и адипонектин	0,15	0,04
Gammaproteobacteria и ИЛ-8	0,18	0,02
Gammaproteobacteria и ИЛ-1	0,16	0,03
Gammaproteobacteria и ФНО	0,19	0,01
Alphaproteobacteria и ИЛ-6	0,19	0,01
Coriobacteriia и ФНО	-0,25	< 0,001
Vampirivibrionia и ИЛ-6	0,19	0,01
Vampirivibrionia и ФНО	0,17	0,02

Таблица 22 – Статистически значимые корреляционные связи представителей микробиоценоза кишечника на уровне классов с гормональными показателями и маркерами воспаления у обследованных женщин в зависимости от наличия или отсутствия гиперандрогенемии

Параметры	Основная группа (с ГА) ($n = 26$)		Группа сравнения (без ГА) ($n = 149$)	
	1		2	
	r	p	r	p
Vampirivibrionia и ФСГ	-0,45	0,02	-	-
Vampirivibrionia и кортизол	0,44	0,02	-	-
Bacilli и кортизол	-0,42	0,03	-	-
Clostridia и грелин	0,41	0,04	-	-
Bacilli и адипонектин	-0,56	< 0,001	-	-
Bacilli и ФНО	-0,56	< 0,001	-	-
Gammaproteobacteria и адипонектин	0,45	0,02	-	-
Coriobacteriia и ФНО	-0,42	0,03	-	-
Vampirivibrionia и ФНО	0,42	0,03	-	-
Bacilli и ИЛ-8	-0,41	0,04	-	-
Alphaproteobacteria и ИЛ-6	0,41	0,04	-	-
Clostridia и АМГ	-	-	-0,29	< 0,001
Bacilli и ТТГ	-	-	-0,29	< 0,001
Gammaproteobacteria и АМГ	-	-	0,2	0,01
Actinobacteria и Тс	-	-	0,2	0,01
Coriobacteriia и ТТГ	-	-	-0,2	0,01
Coriobacteriia и ГСПГ	-	-	0,19	0,02
Negativicutes и ЛГ	-	-	0,18	0,03
Negativicutes и АМГ	-	-	0,18	0,03
Coriobacteriia и АМГ	-	-	-0,18	0,03
Coriobacteriia и грелин	-	-	0,17	0,03
Verrucomicrobiae и нейропептид Y	-	-	0,18	0,03
Actinobacteria и нейропептид Y	-	-	-0,17	0,04
Actinobacteria и ДГЭА-С	-	-	0,16	0,05

Результаты, представленные в Таблице 22, демонстрируют разнонаправленные связи в группах женщин с ГА и без ГА.

В группе с ГА между представителями микробиоценоза кишечника и гормонами выявлены немногочисленные статистически значимые корреляционные связи различной направленности. Так, имелась отрицательная корреляционная связь *Vampirivibrionia* с ФСГ и положительная – с кортизолом. *Bacilli* была негативно ассоциирована с кортизолом, а наличие *Clostridia* коррелировало с гормоном пищеварительной системы грелином. При оценке взаимосвязей различных классов бактерий и маркеров ХСВ отмечена отрицательная корреляция *Bacilli* и *Coriobacteriia* с провоспалительными цитокинами, в то же время *Bacilli* демонстрировали отрицательную связь с адипонектином. Количество *Vampirivibrionia* и *Alphaproteobacteria* находилось в положительной корреляционной зависимости от провоспалительных цитокинов, а *Gamma*proteobacteria, напротив, коррелировали с концентрациями адипонектина.

В группе без ГА зарегистрированы потенциально протективные ассоциации *Clostridia* и *Coriobacteriia* с АМГ с отрицательной направленностью корреляционной связи, а также связь *Actinobacteria* с нейропептидом Y. Присутствие *Bacilli*, *Coriobacteriia* и *Clostridia* отрицательно коррелировало с ТТГ, что может свидетельствовать о возможном влиянии данных представителей микробиоценоза на тиреотропную функцию гипофиза.

Несмотря на то, что в данной группе гиперандрогенемия не была зарегистрирована, нами отмечены статистически значимые, хотя и слабые, положительные корреляционные связи *Actinobacteria* и тестостерона, *Actinobacteria* и ДГЭА-С, *Gamma*proteobacteria и АМГ, *Negativicutes* с ЛГ и АМГ, а также положительная ассоциация *Verrucomicrobiae* и нейропептида Y. Отсутствие реализации потенциальной патогенетической роли данных связей в группе женщин без ГА, по-видимому, связано с преобладанием протективных механизмов.

Результаты ассоциаций представителей микробиоценоза кишечника на уровне родов с гормональными показателями и маркерами воспаления представлены в Таблице 23.

Таблица 23 – Статистически значимые корреляционные связи представителей микробиоценоза кишечника на уровне родов с гормональными показателями и маркерами воспаления обследованных женщин ($n = 175$)

Параметры	r_s	p
<i>Faecalibacterium</i> и ИСА	-0,16	0,03
<i>Faecalibacterium</i> и АМГ	-0,33	< 0,001
<i>Faecalibacterium</i> и нейропептид Y	-0,16	0,04
<i>Faecalibacterium</i> и кортизол	0,21	0,01
<i>Faecalibacterium</i> и грелин	0,25	< 0,001
<i>Christensenellaceae_R-7_group</i> и ИСА	-0,16	0,03
[<i>Eubacterium</i>] <i>eligens group</i> и Tc	-0,16	0,03
[<i>Eubacterium</i>] <i>eligens group</i> и ИСА	-0,17	0,02
[<i>Eubacterium</i>] <i>eligens group</i> и АМГ	-0,23	< 0,001
[<i>Eubacterium</i>] <i>eligens group</i> и грелин	0,16	0,03
<i>Delftia</i> и ЛГ	-0,17	0,02
<i>Delftia</i> и ФСГ	-0,23	< 0,001
<i>Delftia</i> и ГСПГ	0,19	0,01
<i>Delftia</i> и ИСА	-0,21	0,01
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i> и ЛГ	-0,25	< 0,001
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i> и ФСГ	-0,18	0,02
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i> и пролактин	-0,25	< 0,001
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i> и ГСПГ	0,22	< 0,001
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i> и ИСА	-0,16	0,03
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i> и инсулин	-0,2	0,01
<i>Oxalobacter</i> и АМГ	0,2	0,01
<i>Oxalobacter</i> и нейропептид Y	0,27	< 0,001
<i>Oxalobacter</i> и кортизол	-0,16	0,04
<i>Faecalibacterium</i> и ФНО	-0,25	< 0,001
<i>Lactobacillus</i> и ИЛ-1	-0,17	0,03
<i>Lactobacillus</i> и ИЛ-10	-0,21	0,01
[<i>Eubacterium</i>] <i>eligens group</i> и ФНО	-0,2	0,01
<i>Delftia</i> и ФНО	-0,15	0,05
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i> и ФНО	-0,24	< 0,001
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i> и ИФН- γ	-0,18	0,02
<i>Oxalobacter</i> и ФНО	0,18	0,02

При оценке корреляционных связей представителей кишечной микробиоты на уровне родов с концентрацией гормонов в объединённой группе женщин определялись разнонаправленные связи слабой и средней силы. Например, ИСА

и АМГ имели отрицательную взаимосвязь с *Faecalibacterium*, что можно рассматривать как потенциально протективную связь в отношении развития ГА и поликистозной трансформации яичников, однако этот же представитель кишечного микробиома имел дополнительную положительную связь с кортизолом.

Нами также обнаружены отрицательные связи слабой силы [*Eubacterium eligens group*] с АМГ, ИСА и тестостероном, но, в отличие от описанной выше бактерии, данный представитель кишечной микробиоты имел дополнительную отрицательную связь с маркером воспаления – ФНО. Помимо этого, уровни таких гормонов, как ЛГ, ФСГ, а также ИСА и ГСПГ имели отрицательные связи слабой силы с *Delftia*.

При оценке связей бактерий на уровне родов с гормональными показателями и маркерами воспаления нами отмечены и множественные связи *Ruminococcaceae_Incertae Sedis*. Так, пролактин и ЛГ, а также ФНО и ИФН- γ характеризовались слабыми отрицательными связями с фило типом *Ruminococcaceae_Incertae Sedis*.

При оценке ассоциаций грелина и нейропептида Y выявлены разнонаправленные связи. Грелин, как и кортизол, положительно зависел от *Faecalibacterium*, тогда уровень нейропептида Y, напротив, имел отрицательную корреляционную связь с данным родом. В то же время бактерии *Oxalobacter* положительно коррелировали с нейропептидом Y. В дополнение ко всему описанному ранее нами были установлены единичные корреляционные связи *Lactobacillus* с ИЛ-10 и ИЛ-1.

В Таблице 24 представлены корреляционные связи представленности различных представителей микробиоценоза кишечника на уровне родов у женщин с и без ГА и в группе сравнения.

В группе, в которую были включены пациентки с диагностированным ГА, нами выявлены положительные связи средней силы *Delftia* с провоспалительными цитокинами в то же время положительная связь была зарегистрирована и с ГСПГ с закономерной отрицательной ассоциацией с ИСА.

Таблица 24 – Статистически значимые корреляционные связи представителей микробиоценоза кишечника на уровне родов с гормональными показателями и маркерами воспаления обследованных женщин в зависимости от наличия или отсутствия гиперандрогенемии

Параметры	Основная группа (с ГА) ($n = 26$)		Группа сравнения (без ГА) ($n = 149$)	
	1		2	
	r	p	r	p
<i>Lactobacillus</i> и АМГ	-0,42	0,03	–	–
<i>Delftia</i> и ГСПГ	0,4	0,04	–	–
<i>Delftia</i> и ИСА	-0,39	0,05	–	–
<i>Catenibacterium</i> и адипонектин	-0,44	0,02	–	–
<i>Oxalobacter</i> и адипонектин	0,43	0,03	–	–
<i>Lactobacillus</i> и ИЛ-8	-0,41	0,04	–	–
<i>Delftia</i> и ИЛ-8	0,41	0,04	–	–
<i>Delftia</i> и ИЛ-1	0,41	0,04	–	–
<i>Christensenellaceae_R-7_group</i> и ИЛ-8	0,39	0,05	–	–
<i>Oscillospirales_UCG-010</i> и адипонектин	0,39	0,05	–	–
<i>Faecalibacterium</i> и АМГ	–	–	-0,37	< 0,001
<i>[Eubacterium] eligens_group</i> и АМГ	–	–	-0,24	< 0,001
<i>Delftia</i> и ФСГ	–	–	-0,24	< 0,001
<i>Ruminococcaceae_Incertae_Sedis</i> и пролактин	–	–	-0,24	< 0,001
<i>Ruminococcaceae_Incertae_Sedis</i> и ГСПГ	–	–	0,23	< 0,001
<i>Oxalobacter</i> и нейропептид Y	–	–	0,25	< 0,001
<i>Ruminococcaceae_Incertae_Sedis</i> и ЛГ	–	–	-0,22	0,01
<i>Ruminococcaceae_Incertae_Sedis</i> и ФСГ	–	–	-0,2	0,01
<i>Faecalibacterium</i> и грелин	–	–	0,18	0,02
<i>Oxalobacter</i> и АМГ	–	–	0,19	0,02
<i>Faecalibacterium</i> и нейропептид Y	–	–	-0,17	0,04
<i>Faecalibacterium</i> и кортизол	–	–	0,17	0,04
<i>Ruminococcaceae_Incertae_Sedis</i> и инсулин	–	–	-0,17	0,04
<i>Oxalobacter</i> и кортизол	–	–	-0,17	0,04
<i>Catenibacterium</i> и кортизол	–	–	-0,16	0,05
<i>Lactobacillus</i> и инсулин	–	–	-0,16	0,05
<i>Delftia</i> и ЛГ	–	–	-0,16	0,05
<i>Faecalibacterium</i> и ФНО	–	–	-0,28	< 0,001
<i>Lactobacillus</i> и ИЛ-10	–	–	-0,21	0,01
<i>[Eubacterium] eligens_group</i> и ФНО	–	–	-0,22	0,01
<i>Ruminococcaceae_Incertae_Sedis</i> и ФНО	–	–	-0,22	0,01
<i>Ruminococcaceae_Incertae_Sedis</i> и ИФН- γ	–	–	-0,19	0,02
<i>Christensenellaceae_R-7_group</i> и ИЛ-6	–	–	-0,16	0,05

Выявленная отрицательная корреляционная связь между *Lactobacillus* и маркером поликистозной трансформации яичников АМГ, по-видимому, свидетельствует о протективном влиянии данных микроорганизмов.

Наравне с этим выявлены разнонаправленные корреляционные связи различных представителей кишечного микробиома с адипонектином, эффект которого выражается в противовоспалительном действии. Так, *Oxalobacter* и *Oscillospirales UCG-010* имели с адипонектином положительную зависимость средней силы, а *Catenibacterium* – отрицательную.

Опираясь на полученные данные, мы можем предположить наличие протективных механизмов в отношении ГА у некоторых других бактерий, например, у *Ruminococcaceae_Incertae Sedis*, которые в группе сравнения имеют ряд отрицательных зависимостей с инсулином и ЛГ, однако теснота связи оценена как слабая.

В группе женщин с ГА не были выявлены статистически значимые связи микробиоты с фактором некроза опухоли, тогда как в группе сравнения имелись отрицательные зависимости слабой силы [*Eubacterium*] *elicens group*, *Ruminococcaceae_Incertae Sedis* и *Faecalibacterium*.

Нейропептид Y, гормон как центрального, так и кишечного происхождения, у женщин с ГА имел статистически значимую связь, выражающуюся в положительной зависимости средней силы от *Oscillospirales UCG-010*.

На основании этого можно предположить, что некоторые бактерии способны участвовать либо в развитии воспаления, либо в его длительном поддержании, а другие могут проявлять протективные свойства.

3.4 Основные микробиом-ассоциированные маркеры гиперандрогемии (на модели синдрома поликистозных яичников) у женщин репродуктивного возраста

Для определения наиболее информативных микробиом-ассоциированных маркеров гиперандрогемии (на модели синдрома поликистозных яичников)

нами использован метод логистической регрессии с ГА в качестве зависимой переменной и с учётом основных потенциальных кофаундеров.

В качестве зависимой переменной использовали наличие или отсутствие гиперандрогенемии. Выбор независимых переменных был обусловлен результатами исследований, представленных выше.

Независимыми переменными были следующие:

- 1) индексы альфа-разнообразия – ASV, Shannon, Simpson, Chao, ACE;
- 2) наличие родов:
 - *Catenibacterium*;
 - *Lactobacillus*;
 - *Faecalibacterium*;
 - *Christensenellaceae_R-7_group*;
 - *Eubacterium] eligens group*;
 - *Ruminococcaceae_Incertae Sedis*;
 - *Oscillospirales UCG-010*;
 - *Delftia*;
 - *Oxalobacter*;
 - *Acidaminococcus*.

Основными кофаундерами являлись возраст и ИМТ. В результате применения метода логистической регрессии были созданы следующие модели:

- 1-я модель – исходная (Таблица 25, Рисунок 3);
- 2-я модель – с поправкой на возраст (Таблица 27, Рисунок 4);
- 3-я модель – с поправкой на ИМТ (Таблица 29, Рисунок 5);
- 4-я модель – с поправкой на возраст и ИМТ (Таблица 31, Рисунок 6).

Для каждой модели и независимой переменной рассчитывали ОШ наличия ГА с 95%-м доверительным интервалом (Таблицы 26, 28, 30, 32). Для моделей определяли точность классификации, чувствительность и специфичность.

Таблица 25 – Исходная модель логистической регрессии

	Estimate	Std. error	z	Pr(> z)
(Intercept)	-6,279983	9,633657	-0,652	0,5145
ASV	-0,023090	0,031500	-0,733	0,4636
Shannon	-0,330142	1,183639	-0,279	0,7803
Simpson	6,760808	14,876938	0,454	0,6495
Chao	-0,021440	0,031493	-0,681	0,4960
ACE	0,034479	0,046767	0,737	0,4610
<i>Catenibacterium</i>	0,925272	0,514245	1,799	0,0720
<i>Faecalibacterium</i>	0,489561	0,981213	0,499	0,6178
<i>Christensenellaceae_R7_group</i>	-0,000361	0,711814	-0,001	0,9996
<i>Lactobacillus</i>	1,160836	0,570287	2,036	0,0418*
<i>[Eubacterium] eligens group</i>	0,035391	0,523616	0,068	0,9461
<i>Oscillospirales_UCG010</i>	0,010404	0,673882	0,015	0,9877
<i>Acidaminococcus</i>	0,554148	0,569473	0,973	0,3305
<i>Delftia</i>	-0,427041	0,855278	-0,499	0,6176
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i>	-0,998904	0,688505	-1,451	0,1468
<i>Oxalobacter</i>	0,937361	0,613423	1,528	0,1265

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$

Таблица 26 – Расчёт отношения шансов с 95%-м доверительным интервалом для исходной модели логистической регрессии

	ОШ	2,5 %	97,5 %
(Intercept)	0,002	0,000	2,687688e+04
ASV	0,977	0,918	1,039000e+00
Shannon	0,719	0,066	7,254000e+00
Simpson	863,340	0,000	1,437977e+17
Chao	0,979	0,918	1,040000e+00
ACE	1,035	0,945	1,137000e+00
<i>Catenibacterium</i>	2,523	0,922	7,050000e+00
<i>Faecalibacterium</i>	1,632	0,271	1,435300e+01
<i>Christensenellaceae_R7_group</i>	1,000	0,242	4,106000e+00
<i>Lactobacillus</i>	3,193	1,037	9,936000e+00
<i>[Eubacterium] eligens group</i>	1,036	0,366	2,909000e+00
<i>Oscillospirales_UCG010</i>	1,010	0,275	3,993000e+00
<i>Acidaminococcus</i>	1,740	0,549	5,245000e+00
<i>Delftia</i>	0,652	0,090	3,027000e+00
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i>	0,368	0,078	1,266000e+00
<i>Oxalobacter</i>	2,553	0,763	8,688000e+00

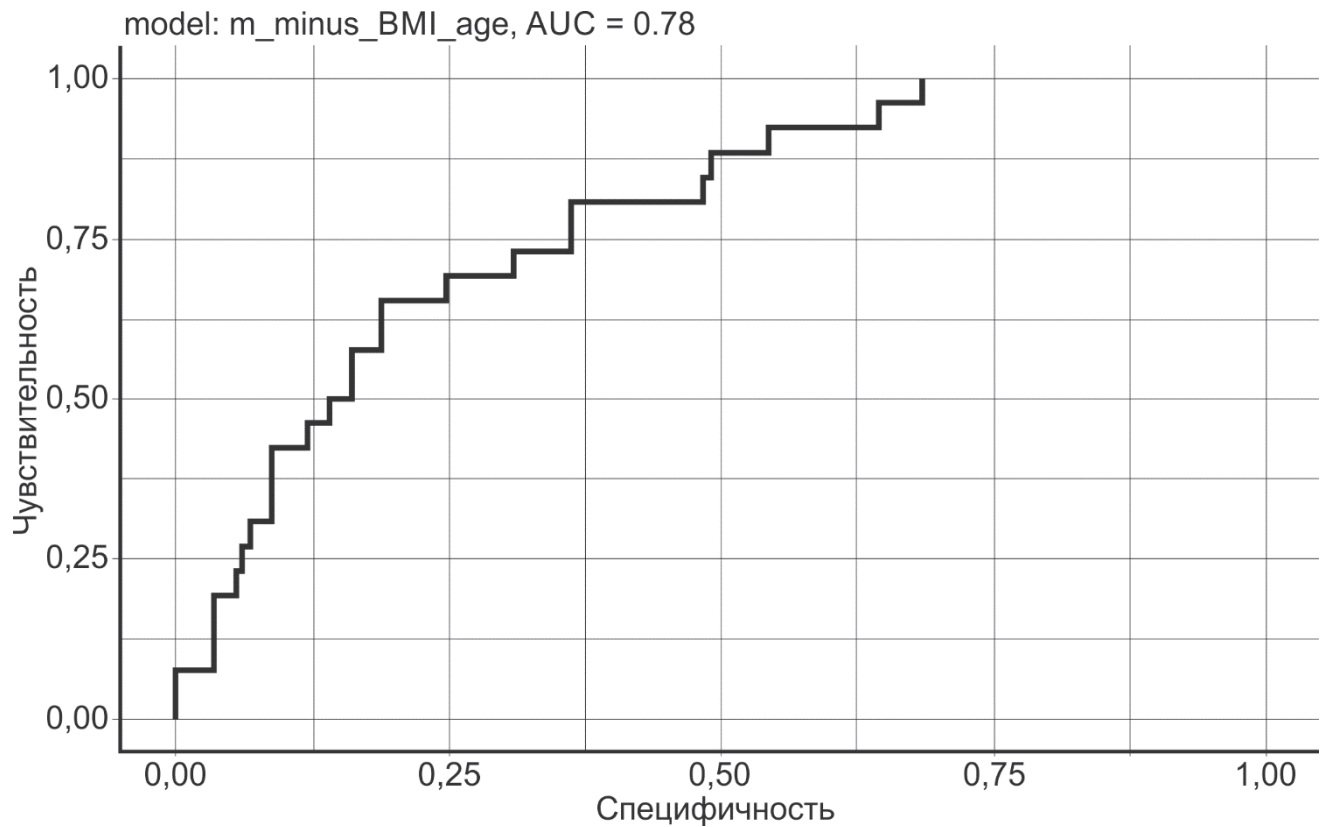


Рисунок 3 – Чувствительность и специфичность исходной модели
логистической регрессии

Таблица 27 – Модель логистической регрессии с поправкой на возраст

	Estimate	Std. error	<i>z</i>	Pr(> <i>z</i>)
(Intercept)	-6,09487	10,74480	-0,567	0,5706
Возраст	-0,08665	0,04139	-2,094	0,0363 *
ASV	-0,02152	0,03196	-0,673	0,5007
Shannon	-0,62006	1,29292	-0,480	0,6315
Simpson	10,75555	16,67754	0,645	0,5190
Chao	-0,01204	0,03298	-0,365	0,7150
ACE	0,02438	0,04804	0,507	0,6118
<i>Catenibacterium</i>	1,09211	0,53581	2,038	0,0415 *
<i>Faecalibacterium</i>	0,74451	1,04017	0,716	0,4741
<i>Christensenellaceae_R7_group</i>	-0,15117	0,74424	-0,203	0,8390
<i>Lactobacillus</i>	1,43244	0,61494	2,329	0,0198 *
<i>[Eubacterium] eligens group</i>	0,14182	0,53652	0,264	0,7915
<i>Oscillospirales_UCG010</i>	-0,05499	0,69527	-0,079	0,9370
<i>Acidaminococcus</i>	0,38169	0,59200	0,645	0,5191
<i>Delftia</i>	-0,42538	0,87040	-0,489	0,6250
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i>	-0,99876	0,69538	-1,436	0,1509
<i>Oxalobacter</i>	0,91117	0,63400	1,437	0,1507

Таблица 28 – Расчёт отношения шансов с 95%-м доверительным интервалом для модели логистической регрессии с поправкой на возраст

	ОШ	2,5 %	97,5 %
(Intercept)	0,002	0,000	2,249833e+05
Возраст	0,917	0,843	9,920000e-01
ASV	0,979	0,918	1,042000e+00
Shannon	0,538	0,039	6,470000e+00
Simpson	46889,570	0,000	3,471424e+20
Chao	0,988	0,924	1,053000e+00
ACE	1,025	0,933	1,129000e+00
<i>Catenibacterium</i>	2,981	1,052	8,776000e+00
<i>Faecalibacterium</i>	2,105	0,317	2,102600e+01
<i>Christensenellaceae_R7_group</i>	0,860	0,191	3,704000e+00
<i>Lactobacillus</i>	4,189	1,268	1,454500e+01
<i>[Eubacterium] eligens group</i>	1,152	0,398	3,334000e+00
<i>Oscillospirales_UCG010</i>	0,946	0,247	3,918000e+00
<i>Acidaminococcus</i>	1,465	0,439	4,590000e+00
<i>Delftia</i>	0,654	0,088	3,139000e+00
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i>	0,368	0,077	1,285000e+00
<i>Oxalobacter</i>	2,487	0,715	8,838000e+00

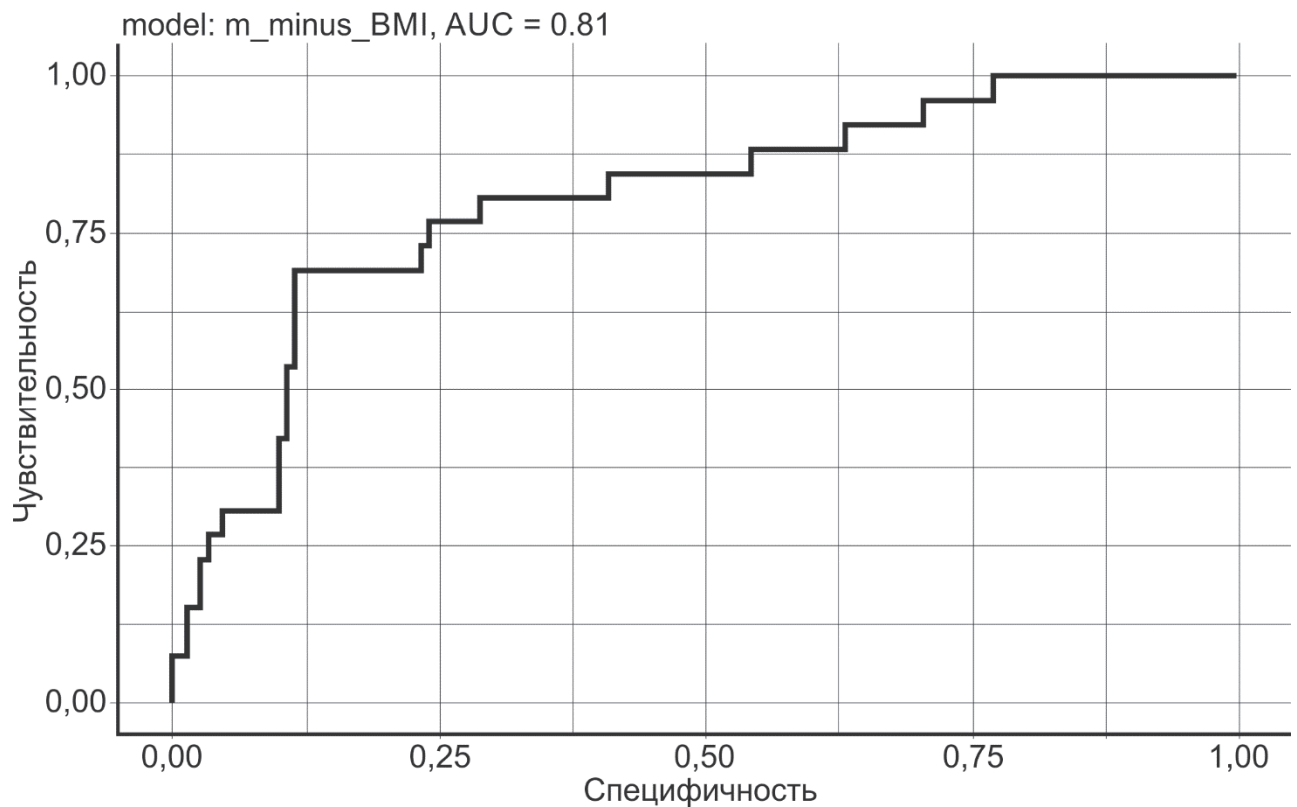


Рисунок 4 – Чувствительность и специфичность модели логистической регрессии с поправкой на возраст

Таблица 29 – Модель логистической регрессии с поправкой на индекс массы тела

	Estimate	Std. error	z	Pr(> z)
(Intercept)	-5,28713	9,93265	-0,532	0,5945
ИМТ	-0,02113	0,04411	-0,479	0,6320
ASV	-0,02264	0,03138	-0,721	0,4707
Shannon	-0,26868	1,19723	-0,224	0,8224
Simpson	5,99643	15,08262	0,398	0,6909
Chao	-0,02076	0,03143	-0,661	0,5089
ACE	0,03195	0,04684	0,682	0,4952
<i>Catenibacterium</i>	0,99129	0,53438	1,855	0,0636
<i>Faecalibacterium</i>	0,55799	0,99959	0,558	0,5767
<i>Christensenellaceae_R7_group</i>	0,01042	0,71516	0,015	0,9884
<i>Lactobacillus</i>	1,16973	0,57096	2,049	0,0405*
<i>[Eubacterium] eligens group</i>	0,06830	0,52755	0,129	0,8970
<i>Oscillospirales_UCG010</i>	-0,02206	0,67652	-0,033	0,9740
<i>Acidaminococcus</i>	0,56346	0,57115	0,987	0,3239
<i>Delftia</i>	-0,45917	0,85848	-0,535	0,5927
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i>	-0,97870	0,68869	-1,421	0,1553
<i>Oxalobacter</i>	0,97057	0,61848	1,569	0,1166

Таблица 30 – Расчёт отношения шансов с 95%-м доверительным интервалом для модели логистической регрессии с поправкой на индекс массы тела

	ОШ	2,5 %	97,5 %
(Intercept)	0,005	0,000	1,639635e+05
ИМТ	0,979	0,895	1,066000e+00
ASV	0,978	0,918	1,040000e+00
Shannon	0,764	0,069	7,916000e+00
Simpson	401,989	0,000	9,941129e+16
Chao	0,979	0,919	1,041000e+00
ACE	1,032	0,943	1,135000e+00
<i>Catenibacterium</i>	2,695	0,951	7,869000e+00
<i>Faecalibacterium</i>	1,747	0,282	1,599600e+01
<i>Christensenellaceae_R7_group</i>	1,010	0,243	4,185000e+00
<i>Lactobacillus</i>	3,221	1,046	1,004800e+01
<i>[Eubacterium] eligens group</i>	1,071	0,375	3,028000e+00
<i>Oscillospirales_UCG010</i>	0,978	0,265	3,885000e+00
<i>Acidaminococcus</i>	1,757	0,553	5,315000e+00
<i>Delftia</i>	0,632	0,087	2,949000e+00
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i>	0,376	0,080	1,294000e+00
<i>Oxalobacter</i>	2,639	0,783	9,099000e+00

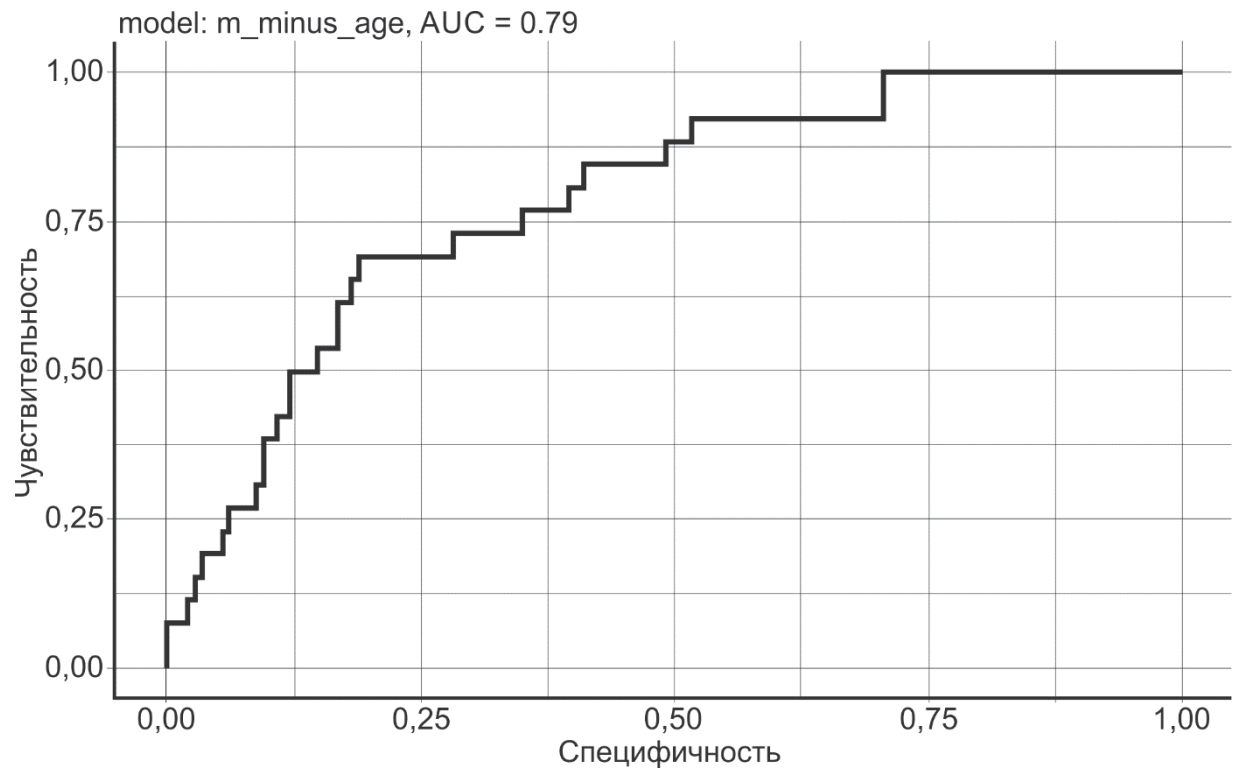


Рисунок 5 – Чувствительность и специфичность модели логистической регрессии с поправкой на индекс массы тела

Таблица 31 – Модель логистической регрессии с поправкой на возраст и индекс массы тела

	Estimate	Std. error	<i>z</i>	Pr(> <i>z</i>)
(Intercept)	-6,378187	10,937178	-0,583	0,5598
Возраст	-0,088218	0,043075	-2,048	0,0406*
ИМТ	0,006123	0,046153	0,133	0,8945
ASV	-0,021534	0,032007	-0,673	0,5011
Shannon	-0,642839	1,302866	-0,493	0,6217
Simpson	11,044256	16,793222	0,658	0,5108
Chao	-0,012082	0,033030	-0,366	0,7145
ACE	0,024886	0,048280	0,515	0,6062
<i>Catenibacterium</i>	1,074252	0,552003	1,946	0,0516
<i>Faecalibacterium</i>	0,727894	1,047085	0,695	0,4870
<i>Christensenellaceae_R7_group</i>	-0,157976	0,746279	-0,212	0,8324
<i>Lactobacillus</i>	1,436984	0,616723	2,330	0,0198*
<i>[Eubacterium] eligens_group</i>	0,132014	0,541821	0,244	0,8075
<i>Oscillospirales_UCG010</i>	-0,046415	0,698757	-0,066	0,9470
<i>Acidaminococcus</i>	0,378071	0,592562	0,638	0,5235
<i>Delftia</i>	-0,412116	0,876016	-0,470	0,6380
<i>Ruminococcaceae_Incertae_Sedis</i>	-1,009486	0,700910	-1,440	0,1498
<i>Oxalobacter</i>	0,906116	0,634948	1,427	0,1536

Таблица 32 – Расчёт отношения шансов с 95%-м доверительным интервалом для модели логистической регрессии с поправкой на возраст и индекс массы тела

	ОШ	2,5 %	97,5 %
(Intercept)	0,002	0,000	2,991357e+05
Возраст	0,916	0,838	9,940000e-01
ИМТ	1,006	0,916	1,099000e+00
ASV	0,979	0,918	1,042000e+00
Shannon	0,526	0,038	6,476000e+00
Simpson	62583,438	0,000	4,707958e+20
Chao	0,988	0,924	1,053000e+00
ACE	1,025	0,933	1,130000e+00
<i>Catenibacterium</i>	2,928	1,004	8,917000e+00
<i>Faecalibacterium</i>	2,071	0,308	2,091800e+01
<i>Christensenellaceae_R7_group/</i>	0,854	0,189	3,691000e+00
<i>Lactobacillus</i>	4,208	1,270	1,468600e+01
<i>[Eubacterium] eligens group</i>	1,141	0,390	3,332000e+00
<i>Oscillospirales_UCG010</i>	0,955	0,248	3,984000e+00
<i>Acidaminococcus</i>	1,459	0,437	4,579000e+00
<i>Delftia</i>	0,662	0,089	3,225000e+00
<i>Ruminococcaceae_Incertae Sedis</i>	0,364	0,076	1,283000e+00
<i>Oxalobacter</i>	2,475	0,710	8,812000e+00

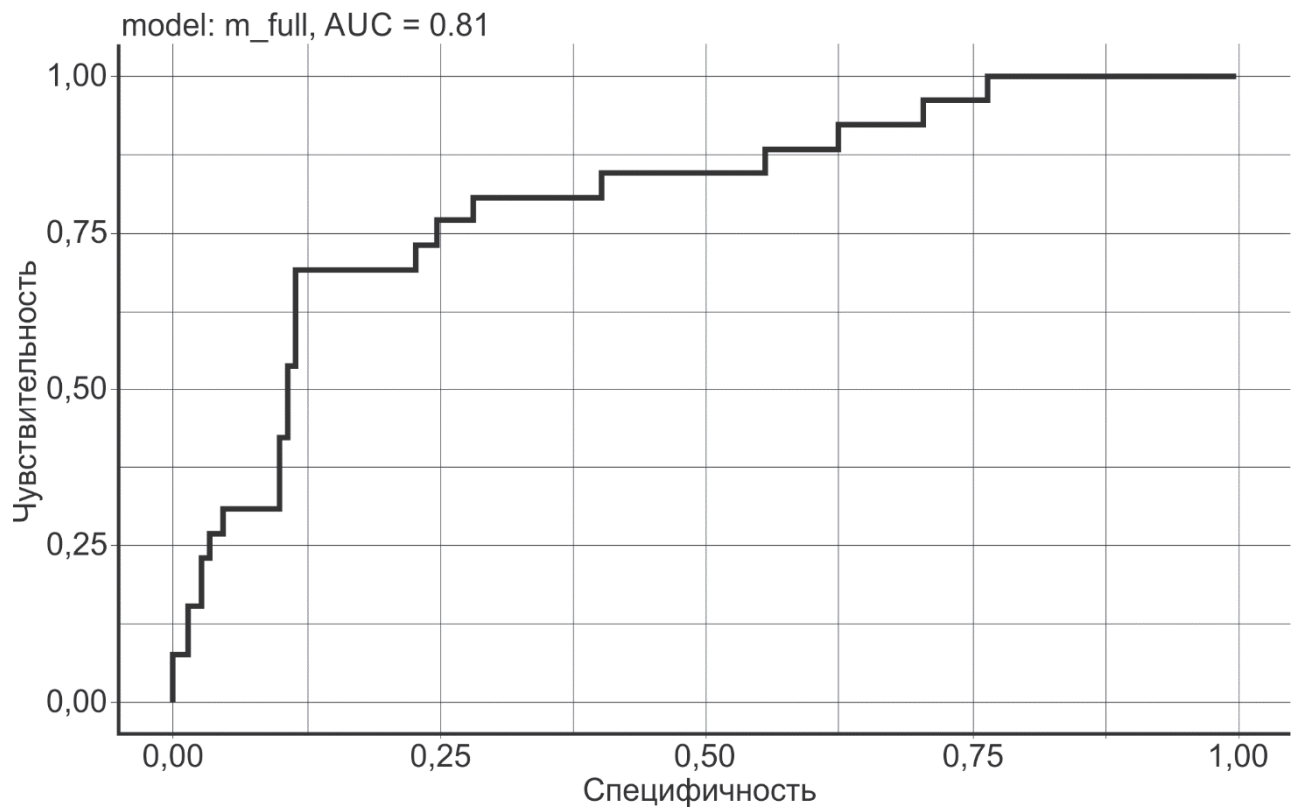


Рисунок 6 – Чувствительность и специфичность модели с поправкой на возраст и индекс массы тела

Таблица 33 – Сравнительная характеристика моделей логистической регрессии

Модель	Точность классификации	Чувствительность	Специфичность
Модель 1	0,84	0,08	0,97
Модель 2	0,86	0,15	0,99
Модель 3	0,85	0,15	0,97
Модель 4	0,86	0,15	0,99

Как представлено в таблицах, наиболее статистически значимыми маркерами дизадаптивных изменений кишечного микробиоценоза, ассоциированными с гиперандрогемией у женщин репродуктивного возраста, являются *Lactobacillus* и *Catenibacterium* класса Bacilli. Наибольшая точность классификации получена для моделей, в которые в качестве кофаундера был включён возраст обследуемых, тогда как влияния ИМТ не прослеживалось.

3.5 Обоснование принципов пациент-ориентированной коррекции изменений микробиоценоза кишечника, ассоциированных с гиперандрогемией у женщин репродуктивного возраста

В ходе анализа полученных данных нами разработаны патогенетически обоснованные подходы к коррекции изменений кишечного микробиома у женщин репродуктивного возраста с ГА.

С целью повышения биооразнообразия мы предлагаем применение пробиотиков для воздействия на установленные нами микробиом-ассоциированные механизмы гиперандрогенизма. Так, при оценке корреляционных связей выявлены отрицательные зависимости *Lactobacillus* и уровней АМГ и провоспалительного ИЛ-8 ($r = -0,41$), а также положительно направленные связи *Delftia* и ГСПГ ($r = 0,4$) и одновременно – отрицательные связи *Delftia* с ИСА ($r = -0,39$). Данные связи могут рассматриваться как потенциально протективные, направленные на снижение уровня андрогенов и коррекцию ХСВ. Несмотря на большую представленность *Lactobacillus* в основной группе, мы выдвигаем предположение о саногенетическом действии

некоторых представителей кишечного микробиома в развитии ГА, которое возможно использовать с целью дополнительной коррекции.

Помимо этого, обосновано введение дефицитарных бактерий *Faecalibacterium*, *Christensenellaceae_R-7_group* и *[Eubacterium] eligens group* класса Clostridia, поскольку полученные данные при проведении корреляционного анализа также указывают на потенциально хорошие зависимости в отношении развития ГА. Данные бактерии имеют отрицательные зависимости с гиперандрогемией (ИСА), а отдельные представители, например *Faecalibacterium*, – отрицательные связи средней силы с маркером поликистозной трансформации яичников АМГ, а *[Eubacterium] eligens group* – отрицательные связи слабой силы с тестостероном.

Таким образом, повышение биоразнообразия микробиоты кишечника за счёт бактерий, имеющих потенциально протективные свойства, патогенетически обосновано для коррекции у женщин репродуктивного возраста с ГА, поскольку имеется механизм воздействия на основные мишени, выраженный в снижении уровня АМГ, восстановлении баланса гормонов пищеварительной системы и устранении избыточного влияния некоторых из них, а также устранении ХСВ – как напрямую, посредством снижения уровня провоспалительных цитокинов, так и опосредованно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синдром поликистозных яичников является наиболее частой причиной гиперандрогенизма у женщин репродуктивного возраста, оказывая существенное влияние на различные аспекты их здоровья. При данном состоянии отмечается высокий риск не только репродуктивных потерь, но и развития сердечно-сосудистых заболеваний, системных эндокринных нарушений в виде сахарного диабета и метаболического синдрома.

Проведённый обзор литературных данных по тематике диссертационной работы указывает на актуальность проблемы выявления микробиом-зависимых механизмов гиперандрогенемии, ассоциированных с дисбалансом гормонов пищеварительной системы и хроническим системным воспалением, на модели синдрома поликистозных яичников. Несомненный интерес представляют имеющиеся сведения о центральном и периферическом влиянии гормонов пищеварительной системы на репродуктивную систему при отсутствии достаточных данных об их вовлечённости в патогенез гиперандрогенемии.

В настоящее время имеются противоречивые данные о роли конкретных микроорганизмов в развитии гиперандрогенизма, но, тем не менее, у отдельных представителей кишечного микробиома регистрируются потенциально протективные свойства. Важно, что одни и те же бактерии в различных работах рассматриваются как в качестве патобионтов, так и в качестве нормобионтов, что также определяет необходимость проведения исследований в этой области. В современных условиях с целью коррекции нарушений микробиоценоза кишечника при синдроме поликистозных яичников имеются перспективы применения как живых, так и неживых бактерий или их метаболитов, однако нет достоверно установленных механизмов действия подобных препаратов.

На основании проведённого анализа литературных данных нами была определена следующая цель исследования – установить микробиом-

ассоциированные механизмы и маркеры гиперандрогенемии на модели синдрома поликистозных яичников у женщин репродуктивного возраста для патогенетического обоснования профилактики и коррекции гиперандрогенизма.

В рамках поставленной цели нами последовательно решались задачи по определению патогенетической связи изменений микробиома кишечника с гиперандрогенизмом, дисрегуляцией липидного и углеводного обменов и показателей хронического системного воспаления у женщин репродуктивного возраста. Также была поставлена задача по выявлению наиболее информативных микробиом-ассоциированных маркеров гиперандрогенизма и обоснованию новых подходов к пациент-ориентированной профилактике и коррекции гиперандрогенизма у женщин репродуктивного возраста.

Рекрутинг участниц исследования осуществлялся в ходе многоцентрового поперечного исследования эпидемиологии и фенотипа СПЯ в Восточной Сибири (ESPER), на территориях Иркутской области и Республики Бурятия в 2016–2019 гг. (ClinicalTrials.gov ID: NCT05194384), что определило оптимальную репрезентативность выборки. После отбора, согласно критериям включения и исключения из исследования, была сформирована группа женщин ($n = 175$), проходивших ежегодный медицинский осмотр по месту работы и предоставивших подписанную форму информированного согласия на все процедуры в ходе исследования. Для определения микробиом-специфических маркеров и механизмов гиперандрогенемии нами были выделены основная группа ($n = 26$), состоящая из женщин с гиперандрогенемией на модели СПЯ (фенотипы А, В, С), и группа сравнения ($n = 149$) – женщины без гиперандрогенемии. Дополнительно среди женщин группы сравнения выделена группа контроля ($n = 19$).

Для решения поставленных задач каждая участница подвергалась комплексному обследованию, включавшему в себя как клинические, так и инструментальные и лабораторные методы исследования. В ходе работы произведена оценка уровней гипофизарных, тиреоидных и половых гормонов,

гормонов надпочечников и пищеварительной системы, лептина и маркеров системного воспаления. С целью изучения микробиоценоза кишечника произведён забор фекалий, при этом все этапы работы проведены, согласно стандартным операционным процедурам, предложенным в рамках проекта «Международные стандарты микробиома человека» и Manual of Procedures for Human Microbiome Project (Core Microbiome Sampling Protocol A, HMP Protokol No. 07-001). В нашем исследовании у всех участниц с помощью высокопроизводительного секвенирования V1–V3 переменных фрагментов гена 16S рРНК нами изучен характер изменений микробиоценоза пищеварительной системы.

В ранее проведённых исследованиях регистрировалось изменения некоторых гормонов пищеварительной системы и маркеров воспаления у пациенток с СПЯ. Некоторые механизмы центрального и периферического действия этих гормонов на репродуктивную систему, а также их возможный вклад в развитие синдрома были установлены в эксперименте. Так, имеются данные об увеличении экспрессии нейропептида Y под действием дигидротестостерона. В свою очередь, грелин способствует пролиферации, дифференцировки клеток гранулёзы и теки, что может приводить к развитию гиперандрогенемии. В ходе решения поставленных задач нами выявлено статистически значимое снижение относительно контрольных значений сывороточных концентраций грелина и адипонектина с одновременным возрастанием в сыворотке крови содержания нейропептида Y и ИЛ-1 в группе пациенток с ГА, что свидетельствует о вовлечении гормонов пищеварительной системы и ХСВ в патогенез ГА.

При анализе корреляционных связей гормональных показателей и маркеров ХСВ в общей популяции женщин репродуктивного возраста нами описана положительная корреляция адипонектина, обладающего противовоспалительным действием, с грелином, а также нейропептида Y – с маркерами воспаления. В основной группе, состоящей из женщин с диагностированной ГА, эти связи не были определены как статистически значимые, но регистрировались, напротив,

положительные корреляции провоспалительных цитокинов с ДГЭА-С, нейропептидом Y и инсулином.

При оценке пяти индексов разнообразия кишечной микробиоты (ASV, Shannon, Simpson, Chao и ACE) установлены точки отсечения значений индексов разнообразия для классификации женщин с учётом уровня сывороточного тестостерона и наличия ГА в целом. Для индексов Shannon и Simpson наибольшая чувствительность при умеренной специфичности с высоким значением AUC установлена для точек отсечения 5,66–5,8 и 0,97–1,0 соответственно. Такие же закономерности обнаружены и при оценке данных индексов относительно повышения общего тестостерона, тогда как для повышения ИСА дополнительно была показана значимость Chao и ACE. По результатам проведённого анализа нами были сформированы подгруппы женщин с нормальным и сниженным альфа-разнообразием кишечного микробиоценоза.

В результате проведённых исследований у женщин с гиперандрогемией на модели СПЯ (фенотипы А, В, С) и сниженным биоразнообразием кишечной микробиоты, установленным при понижении менее установленных точек отсечения хотя бы одного из индексов – Shannon и Simpson, нами отмечено большое количество атрезированных фолликулов в структуре яичников. Полученные нами данные дают основание считать биоразнообразие кишечного микробиома важным фактором, ассоциированным с поликистозной трансформацией яичников у женщин репродуктивного возраста.

При проведении корреляционного анализа индексов альфа-разнообразия и гормональных показателей зарегистрированы отрицательные зависимости средней силы индексов Chao и ASV при ГА с уровнями ИСА ($r = -0,44$) и тестостерона ($r = -0,4$) соответственно, при этом уровень грелина положительно коррелировал с индексом Shannon (все $p < 0,05$).

При оценке микробиоценоза кишечника обследованных женщин на уровне родов при ГА отмечается статистически значимое увеличение относительно группы сравнения представленности *Catenibacterium* и *Lactobacillus* ($p = 0,02$ и $p = 0,01$ соответственно), а также *Oxalobacter* ($p = 0,02$). В то же время при ГА

значительно реже представлены *Faecalibacterium* ($p = 0,03$), *Acidaminococcus* ($p = 0,04$), *Delftia* ($p = 0,04$) и *Ruminococcaceae_Incertae_Sedis* ($p = 0,04$). В группе контроля отмечается статистически значимое увеличение относительно основной группы представленности *Faecalibacterium*, *Christensenellaceae_R-7_group* и *[Eubacterium] eligens group* ($p < 0,001$, $p = 0,03$ и $p = 0,02$ соответственно) а также *Oscillospirales UCG-010* и *Delftia* ($p = 0,04$ и $p = 0,02$ соответственно). Наравне с этим при ГА отмечается статистически значимо большая представленность *Catenibacterium* по сравнению с группой контроля.

На следующем этапе оценивались корреляционные связи представителей микробиоценоза кишечника на уровне родов с гормональными показателями и маркерами воспаления обследованных женщин. В целом у обследованных женщин представленность ряда бактерий, которые являются дефицитарными при ГА, имела отрицательную зависимость от ИСА, при этом отдельные представители, например *Faecalibacterium*, демонстрировали также отрицательные связи с маркером поликистозной трансформации яичников АМГ ($r = -0,33$) и нейропептидом Y ($r = -0,16$) и положительную – с грелином ($r = 0,25$), а *[Eubacterium] eligens group* – отрицательные связи слабой силы с тестостероном ($r = -0,16$) и АМГ ($r = -0,23$) и положительную – с уровнем грелина ($r = 0,16$).

При наличии ГА выявлены отрицательные связи представленности *Lactobacillus* с уровнями АМГ и провоспалительного ИЛ-8 ($r = -0,41$), а также положительно направленные связи *Delftia* и ГСПГ ($r = 0,4$) и одновременно – отрицательные связи с ИСА ($r = -0,39$). Для *Oxalobacter* и *Oscillospirales UCG-010* зарегистрированы положительные связи средней силы с адипонектином ($r = 0,43$ и $r = 0,39$ соответственно). В группе сравнения (без ГА) данные закономерности выявлены не были, однако была отмечена отрицательная корреляционная связь между представленностью *Faecalibacterium* и АМГ ($r = -0,37$).

Для определения наиболее информативных микробиом-ассоциированных маркеров гиперандрогенемии (на модели синдрома поликистозных яичников) в репродуктивном возрасте нами использован метод логистической регрессии

с ГА в качестве зависимой переменной и с учётом основных потенциальных кофаундеров. В качестве наиболее значимых маркеров дизадаптивных изменений кишечного микробиоценоза, ассоциированными с гиперандрогемией у женщин репродуктивного возраста, установлены *Lactobacillus* и *Catenibacterium*, а оптимальные характеристики модели гиперандрогемии получены при введении поправки на возраст.

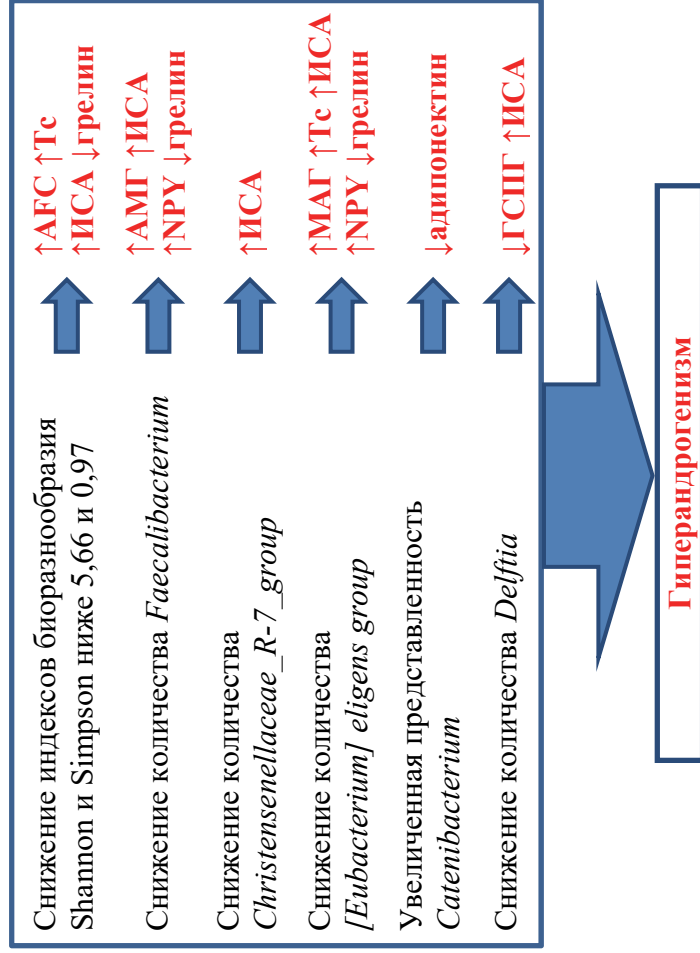
Таким образом, в результате проведённого исследования установлены как дизадаптивные, так и адаптивные микробиом-специфичные механизмы перестройки микробиоты кишечника у женщин с гиперандрогемией.

Снижение биоразнообразия кишечной микробиоты и изменения её состава у женщин репродуктивного возраста ассоциированы не только с гиперандрогемией и увеличением АМГ и количества атрезированных фолликулов в структуре яичников, но и с дисбалансом про- и противовоспалительных цитокинов и гормонов пищеварительной системы.

Статистически значимым проявлением адаптивной перестройки кишечной микробиоты является увеличение представленности *Lactobacillus* при ГА, негативно коррелирующее с АМГ и ИЛ-8, при этом потенциальное саногенетическое влияние отмечено и для *Oxalobacter*.

Изложенные выше результаты исследования стали основанием для создания концептуальной схемы взаимосвязи изменений микробиоты кишечника и ГА и обоснования новых подходов к повышению биоразнообразия за счёт применения пробиотиков, которые, в свою очередь, смогут оказывать саногенетическое влияние на ХСВ, дисбаланс гормонов пищеварительной системы с предотвращением формирования поликистозных яичников и ГА (Рисунок 7).

Дизадаптивная перестройка микробиоты у женщин с ГА



Адаптивная перестройка микробиоты у женщин с ГА

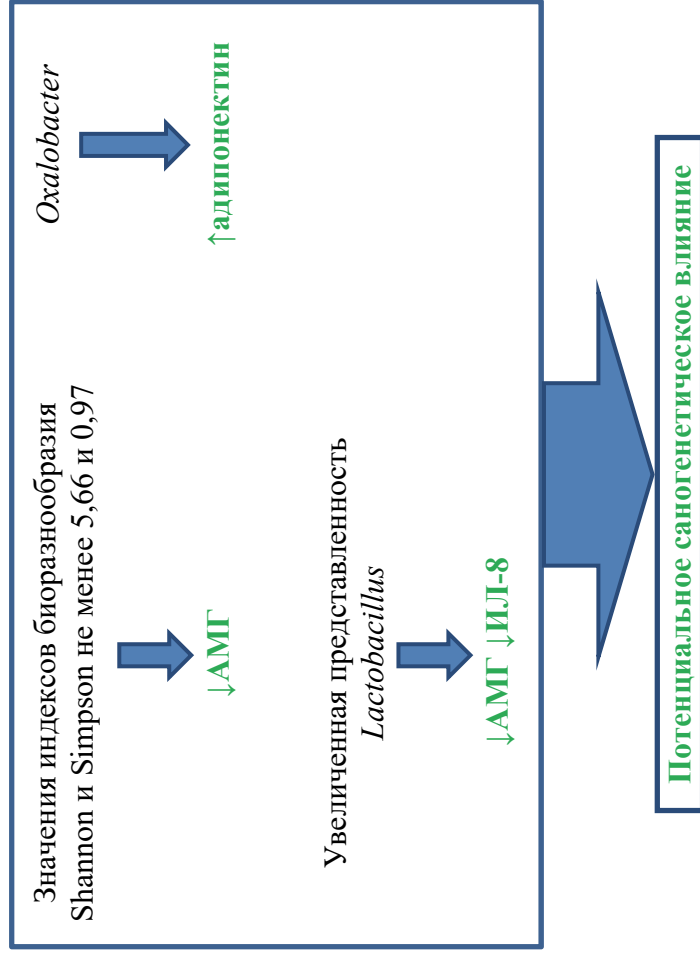


Рисунок 7 – Концептуальная схема взаимосвязи изменений микробиоты кишечника и гиперандрогенизма

ВЫВОДЫ

1. Гиперандрогенемия у женщин репродуктивного возраста с синдромом поликистозных яичников сопровождается снижением относительно контрольных значений концентраций в сыворотке крови грелина (в 2 раза) и интерлейкина-1 (в 2 раза относительно группы сравнения) с одновременным возрастанием относительно контроля содержания нейропептида Y (в 9,5 раза) и фактора некроза опухоли (в 2 раза).

2. Состояние кишечной микробиоты женщин репродуктивного возраста с гиперандрогенемией характеризуется более низкими относительно контроля значениями индексов биоразнообразия. Установлены точки отсечения индексов биоразнообразия для идентификации женщин с гиперандрогенемией с учётом уровня сывороточного тестостерона для индексов Shannon (5,66) и Simpson (0,97) и с учётом наличия гиперандрогенемии в целом (5,8 и 1,0 соответственно).

3. Снижение биоразнообразия кишечной микробиоты у женщин с синдромом поликистозных яичников и гиперандрогенемией ассоциировано с большим количеством атрезированных фолликулов в структуре яичников. Для индексов Chao и ASV при гиперандрогенемии зарегистрированы статистически значимые отрицательные корреляционные связи с уровнями индекса свободных андрогенов ($r = -0,44$) и тестостерона ($r = -0,4$) соответственно, при этом концентрация грелина положительно коррелировала с индексом Shannon ($r = 0,41$).

4. В кишечном микробиоценозе женщин с гиперандрогенемией представленность *Lactobacillus* и *Catenibacterium* класса Bacilli статистически значимо выше в сравнении с таковой при отсутствии гиперандрогенемии и в контроле, при этом обнаружено меньшее количество *Faecalibacterium*, *Christensenellaceae_R-7_group* и *[Eubacterium] eligens group* класса Clostridia в сравнении с группой без гиперандрогенемии и контролем.

5. Количество *Faecalibacterium* в кишечном микробиоме женщин репродуктивного возраста коррелирует с уровнями индекса свободных андрогенов ($r = -0,16$), антимюллерового гормона ($r = -0,33$), нейропептида Y ($r = -0,16$) и грелина ($r = 0,25$); представленность *Christensenellaceae_R-7_group* – с индексом свободных андрогенов ($r = -0,16$); *[Eubacterium] eligens group* – с тестостероном ($r = -0,16$), индексом свободных андрогенов ($r = -0,17$), антимюллеровым гормоном ($r = -0,23$) и уровнем грелина ($r = 0,16$).

6. При синдроме поликистозных яичников с гиперандрогемией установлены отрицательные корреляционные связи представленности *Lactobacillus* и уровней антимюллерового гормона ($r = -0,42$) и провоспалительным интерлейкином-8 ($r = -0,41$); положительная корреляционная связь *Delftia* и глобулина, связывающего половые гормоны ($r = 0,4$) и одновременно отрицательная связь с индексом свободных андрогенов ($r = -0,39$); а также отрицательная связь *Catenibacterium* с адипонектином ($r = -0,44$) при наличии положительной корреляционной связи *Oxalobacter* с адипонектином ($r = 0,43$).

7. Наиболее значимыми маркерами изменений кишечного микробиоценоза, ассоциированными с гиперандрогемией у женщин репродуктивного возраста с синдромом поликистозных яичников, установленными с помощью моделирования с использованием логистической регрессии, являются *Lactobacillus* и *Catenibacterium*.

8. Установлено потенциальное саногенетическое влияние *Lactobacillus*, *Delftia*, *Oxalobacter*, а также *Faecalibacterium*, *Christensenellaceae_R-7_group* и *[Eubacterium] eligens group* относительно формирования гиперандрогемии, ассоциированной с синдромом поликистозных яичников, у женщин репродуктивного возраста.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется производить оценку биоразнообразия кишечного микробиоценоза у женщин репродуктивного возраста с гиперандрогенизмом для идентификации лиц, которым показано применение патогенетически обоснованных методов коррекции синдрома поликистозных яичников.

2. В качестве критериев снижения биоразнообразия кишечной микробиоты рекомендуется использовать следующие точки отсечения значений индексов биоразнообразия: с учётом уровня сывороточного тестостерона для индексов Shannon 5,66 и Simpson 0,97 и с учётом наличия гиперандрогенемии в целом (5,8 и 1,0 соответственно).

3. У женщин с синдромом поликистозных яичников и установленным сниженным кишечным биоразнообразием обосновано применение пробиотических препаратов, включающих в себя *Lactobacillus* и представителей микробного сообщества с потенциальным сапогенетическим влиянием (*Faecalibacterium*, *Christensenellaceae_R-7_group*, [*Eubacterium*] *eligens_group*).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

17-ОН-Пр – 17-гидроксипрогестерон

95% ДИ – 95%-й доверительный интервал

ACE – индекс покрытия на основе численности (abundance-based coverage estimator)

AFC – количество антральных фолликулов (antral follicle count)

ANOVA – анализ вариаций (ANalysis Of Variance)

ASV – вариант последовательности ампликона (amplicon sequence variant)

AUC – площадь под кривой (area under curve)

ССК – холецистокинин (Cholecystokinin)

СРБ – С-реактивный белок

ESPER – Исследование эпидемиологии и фенотипа синдрома поликистозных яичников Восточной Сибири (Eastern Siberia PCOS Epidemiology and Phenotype Study)

GCGR – рецептор глюкагона (glucagon receptor)

GLP – глюкагоноподобный пептид (glucagon-like peptide)

IQR – интерквартильный размах (interquartile range).

Me – медиана (median)

NPY – нейропептид Y (neuropeptide Y)

OTU – операционная таксономическая единица (operational taxonomic unit)

PP – полипептид поджелудочной железы (pancreatic polypeptide)

PYY – пептид YY (peptide YY)

SD – стандартное отклонение (standard deviation)

АД – артериальное давление

АМГ – антимюллеров гормон

ВГН – верхняя граница нормы

ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография
с тандемной масс-спектрометрией

ГА – гиперандрогенизм

ГнРГ – гонадотропин-рилизинг гормон

ГСПГ – глобулин, связывающий половые гормоны

ДГЭА-С – дегидроэпиандростерон-сульфат

ИЛ – интерлейкин

ИМТ – индекс массы тела

ИР – инсулинорезистентность

ИСА – индекс свободных андрогенов

ИФН – интерферон

ЛГ – лютеинизирующий гормон

М – среднее арифметическое (mean)

МД – менструальная дисфункция

МетС – метаболический синдром

ОА – олиго-/ановуляция

ОХМ – оксинтомодулин (oxuntomodulin)

ОШ – отношение шансов

ПКЯ – поликистозная структура яичников

ПРЛ – пролактин

СД2 – сахарный диабет 2-го типа

СПЯ – синдром поликистозных яичников

Тс – тестостерон

ТТГ – тиреотропный гормон

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ – ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи
и репродукции человека»

ФНО – фактор некроза опухоли

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ХСВ – хроническое системное воспаление

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Булгакова, С. В. Психонейроиммуноэндокринология и иммунный гомеостаз: ось кишечник – головной мозг, ожирение и когнитивные функции / С. В. Булгакова, Н. П. Романчук, О. К. Помазанова // Бюллетень науки и практики. – 2020. – Т. 6, № 12. – С. 125–154.
2. Вавилова, Т. П. Биологическая роль адипокинов как маркеров патологических состояний / Т. П. Вавилова, А. П. Плетень, Р. К. Михеев // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86, № 2. – С. 5–13.
3. Генетические маркеры ожирения и связанных с ним репродуктивных осложнений: современное состояние проблемы / Ю. С. Артеменко, М. Б. Хамошина, М. Р. Оразов [и др.] // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. – 2021. – Т. 9, № 3. – С. 48–55.
4. Гормон лептин и проблемы репродукции / Е. В. Передереева, А. А. Лушникова, А. Д. Фрыкин, А. А. Пароконная // Злокачественные опухоли. – 2012. – № 2. – С. 35–39.
5. Дисбиоз кишечника: современное состояние проблемы / В. В. Скворцов, А. В. Сабанов, Б. Н. Левитан [и др.] // Врач. – 2022. – Т. 33, № 10. – С. 36–39.
6. Елагин, И. Б. Патогенез нарушения фертильности у женщин с ожирением / И. Б. Елагин, М. Р. Оразов, П. А. Семенов // Трудный пациент. – 2020. – Т. 18, № 1-2. – С. 36–43.
7. Зайцев, В. М. Прикладная медицинская статистика: учебное пособие ; 2-е изд. / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский, В. И. Маринкин. – СПб. : ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2006. – 432 с.
8. Иевлева, К. Д. Роль лептина и ядерного рецептора PPAR γ в патогенезе синдрома поликистоза яичников / К. Д. Иевлева, И. Н. Данусевич, Л. В. Сутурина // Проблемы эндокринологии. – 2020. – Т. 66, № 6. – С. 74–80.

9. Кишечная микробиота и хроническое субклиническое воспаление у пациенток с СПКЯ / Е. Д. Кириллова, В. В. Муравьева, Е. Л. Исаева [и др.] // Профилактическая медицина – вчера, сегодня, завтра : Материалы Всероссийской конференции с международным участием. – М., 2023.

10. Метаболический синдром: Эпидемиология, критерии диагностики, расовые особенности / Н. И. Вильсон, Л. В. Беленькая, Л. Ф. Шолохов [и др.] // Acta biomedica scientifica. – 2021. – Т. 6, № 4. – С. 180–191. – doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.16

11. Особенности микробиоты кишечника у пациенток с синдромом поликистозных яичников / Е. Д. Кириллова, В. В. Муравьева, Е. Л. Исаева [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2023. – Т. 78, № 4. – С. 269–280.

12. Особенности функционального состояния гипофизарно-яичниковой системы у женщин с синдромом поликистозных яичников в различные периоды репродуктивного возраста / О. В. Круско, Л. Ф. Шолохов, Л. В. Беленькая [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2020. – Т. 75, № 6. – С. 653–660.

13. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. – М. : Медиа Сфера, 2002. – 312 с.

14. Роль лептина в нарушении репродуктивной функции при ожирении / Д. Милич, Г. Цвийович, А. Кендерешки [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2006. – Т. 3, № 3. – С. 2–8.

15. СПКЯ в репродуктивном возрасте: фенотипическое разнообразие и диагностические подходы (обзор литературы) / Л. М. Лазарева, Э. М. Шарифулин, Л. В. Беленькая, Л. В. Сутурина // Доктор.Ру. – 2020. – Т. 19, № 6. – С. 50–56. – doi: 10.31550/1727-2378-2020-19-6-50-56

16. Хроническое системное воспаление в патогенезе метаболического синдрома, ассоциированного с гиперандрогенизмом (обзор литературы)

/ И. А. Игумнов, Э. М. Шарифулин, Л. В. Беленькая [и др.] // Патогенез. – 2020. – Т. 18, № 3. – С. 12–18. – doi: 10.25557/2310-0435.2020.03.12-18

17. Чернуха, Г. Е. Синдром поликистозных яичников и микробиота кишечника / Г. Е. Чернуха, Е. Д. Мирошина, Т. В. Припутневич // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 3. – С. 36–43.

18. 16s rDNA full-length assembly sequencing technology analysis of intestinal microbiome in polycystic ovary syndrome / S. Dong, J. Jiao, S. Jia, G. Li [et al.] // Front. Cell Infect. Microbiol. – 2021. – Vol. 11. – P. 634981.

19. A metagenomic meta-analysis reveals functional signatures of health and disease in the human gut microbiome / C. Armour, S. Nayfach, K. Pollard, T. Sharpton // mSystems. – 2019. – Vol. 4, N 4. – P. e00332–18.

20. Abundance-based similarity indices and their estimation when there are unseen species in samples / A. Chao, R. Chazdon, R. Colwell, T. Shen // J. Biometrics. – 2006. – Vol. 62. – P. 361–371.

21. Agrawal 4th, A. Type 2 diabetes mellitus in patients with polycystic ovary syndrome / A. Agrawal 4th, A. Dave, A. Jaiswal // Cureus. – 2023. – Vol. 15(10). – P. e46859. – doi: 10.7759/cureus.46859

22. *Akkermansia muciniphila* is a promising probiotic / T. Zhang, Q. Li, L. Cheng [et al.] // Microb. Biotechnol. – 2019. – Vol. 12, N 6. – P. 1109–1125.

23. Alterations in gut and genital microbiota associated with gynecological diseases: A systematic review and meta-analysis / Z. Zhou, Y. Feng, L. Xie [et al.] // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2024. – Vol. 22(1). – P. 13. – doi: 10.1186/s12958-024-01184-z

24. Alterations in gut microbiome composition and barrier function are associated with reproductive and metabolic defects in women with polycystic ovary syndrome (PCOS): A pilot study / L. Lindheim, M. Bashir, J. Münzker [et al.] // PLoS One. – 2017. – Vol. 12, N 1. – P. e0168390. – doi: 10.1371/journal.pone.0168390

25. Alterations of gut microbiome and fecal fatty acids in patients with polycystic ovary syndrome in Central China / G. Li, Z. Liu, F. Ren [et al.] // Front. Microbiol. – 2022. – Vol. 13. – P. 911992. – doi: 10.3389/fmicb.2022.911992

26. Are gut dysbiosis, barrier disruption, and endotoxemia related to adipose tissue dysfunction in metabolic disorders? Overview of the mechanisms involved / D. Rosendo-Silva, S. Viana, E. Carvalho [et al.] // *Intern. Emerg. Med.* – 2023. – Vol. 18(5). – P. 1287–1302. – doi: 10.1007/s11739-023-03262-3

27. Association between polycystic ovary syndrome and gut microbiota / Y. Guo, Y. Qi, X. Yang [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, N 4. – P. e0153196.

28. Athar, F. Metabolic hormones are integral regulators of female reproductive health and function / F. Athar, M. Karmani, N. Templeman // *Biosci. Rep.* – 2024. – Vol. 44, N 1. – P. BSR20231916.

29. Belizário, J. Gut microbiome dysbiosis and immunometabolism: New frontiers for treatment of metabolic diseases / J. Belizário, J. Faintuch, M. Garay-Malpartida // *Mediators Inflamm.* – 2018. – P. 2037838. – doi: 10.1155/2018/2037838

30. Bifidobacterium is enriched in gut microbiome of Kashmiri women with polycystic ovary syndrome / S. Hassan, M. Kaakinen, H. Draisma [et al.] // *Genes (Basel).* – 2022. – Vol. 13, N 2. – P. 379.

31. Cardio-metabolic disease and polycystic ovarian syndrome (PCOS): A narrative review / S. Sangaraju, D. Yepez, X. Grandes [et al.] // *Cureus.* – 2022. – Vol. 14, N 5. – P. e25076.

32. Characteristic gut microbiota and predicted metabolic functions in women with PCOS / L. Zhou, Z. Ni, W. Cheng [et al.] // *Endocr. Connect.* – 2020a. – Vol. 9. – P. 63–73. – doi: 10.1530/EC-19-0522

33. Characterization of gut microbiota in polycystic ovary syndrome: Findings from a lean population / G. Mammadova, C. Ozkul, S. Yilmaz Isikhan [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2021. – Vol. 51, N 4. – P. e13417.

34. Cho, I. The human microbiome: At the interface of health and disease / I. Cho, M. Blaser // *Nat. Rev. Genet.* – 2012. – Vol. 13, N 4. – P. 260–270.

35. Chronic inflammation in PCOS: The potential benefits of specialized pro-resolving lipid mediators (SPMs) in the improvement of the resolutive response / P. A. Regidor, A. Mueller, M. Sailer [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 22(1). – P. 384. – doi: 10.3390/ijms22010384

36. Chronic low grade inflammation in pathogenesis of PCOS / E. Rudnicka, K. Suchta, M. Grymowicz [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, N 7. – P. 3789.
37. Combined oral contraceptive treatment does not alter the gut microbiome but affects amino acid metabolism in sera of obese girls with polycystic ovary syndrome / B. Tayachew, B. Vanden, Y. Garcia-Reyes [et al.] // *Front. Physiol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 887077.
38. Comprehensive analysis of gut microbiota alteration in the patients and animal models with polycystic ovary syndrome / J. Zhou, X. Qiu, X. Chen [et al.] // *J. Microbiol. (Seoul, Korea)*. – 2023. – Vol. 61(9). – P. 821–836. – doi: 10.1007/s12275-023-00079-9
39. Correlation between fecal metabolomics and gut microbiota in obesity and polycystic ovary syndrome / L. Zhou, Z. Ni, J. Yu [et al.] // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2020b. – Vol. 11. – P. 628. – doi: 10.3389/fendo.2020.00628
40. Costa, M. Methods and basic concepts for microbiota assessment / M. Costa, J. Weese // *Vet. J.* – 2019. – Vol. 249. – P. 10–15.
41. Counting the uncountable: Statistical approaches to estimating microbial diversity / J. Hughes, J. Hellmann, T. Ricketts, B. Bohannan // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2001. – Vol. 67, N 10. – P. 4399–4406.
42. Deciphering diversity indices for a better understanding of microbial communities / B. Kim, J. Shin, R. Guevarra [et al.] // *J. Microbiol. Biotechnol.* – 2017. – Vol. 27, N 12. – P. 2089–2093.
43. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: An endocrine society clinical practice guideline / R. Legro, S. Arslanian, D. Ehrmann [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2013. – Vol. 98, N 12. – P. 4565–4592.
44. Divergences in insulin resistance between the different phenotypes of the polycystic ovary syndrome / P. Moghetti, F. Tosi, C. Bonin [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2013. – Vol. 98, N 4. – P. E628-E637.
45. Dysbiosis of gut microbiota associated with clinical parameters in polycystic ovary syndrome / R. Liu, C. Zhang, Y. Shi [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 324. – doi: 10.3389/fmicb.2017.00324

46. Effect of metformin on adiponectin in PCOS: A meta-analysis and a systematic review / X. Duan, M. Zhou, G. Zhou [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2021. – Vol. 267. – P. 61–67.

47. Effect of prebiotic on anthropometric indices in women with polycystic ovarian syndrome: A triple-blind, randomized, controlled clinical trial / S. Shamasbi, P. Dehghan, S. Mohammad-Alizadeh Charandabi [et al.] // *Iran. Red Crescent Med. J.* – 2018. – Vol. 20. – P. e67270.

48. Effects of lactobacillus gasseri CP2305 on mild menopausal symptoms in middle-aged women / D. Sawada, T. Sugawara, T. Hirota, Y. Nakamura // *Nutrients.* – 2022. – Vol. 14, N 9. – P. 1695.

49. Effects of probiotic supplementation on pancreatic β -cell function and C-reactive protein in women with polycystic ovary syndrome: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial / T. Shoaee, M. Heidari-Beni, H. G. Tehrani [et al.] // *Int. J. Prev. Med.* – 2015. – Vol. 6. – P. 27. – doi: 10.4103/2008-7802.153866

50. Escobar-Morreale, H. Circulating inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: A systematic review and metaanalysis / H. Escobar-Morreale, M. Luque-Ramírez, F. González // *Fertil. Steril.* – 2011. – Vol. 95, N 3. – P. 1048–58.e1-2.

51. Establishing normative values to determine the prevalence of biochemical hyperandrogenism in premenopausal women of different ethnicities from Eastern Siberia / L. Suturina, D. Lizneva, A. Atalyan [et al.] // *Diagnostics (Basel).* – 2023. – Vol. 13. – P. 33. – doi: 10.3390/diagnostics13010033

52. Ethnicity and the prevalence of polycystic ovary syndrome: The Eastern Siberia PCOS Epidemiology and Phenotype Study / L. Suturina, D. Lizneva, L. Lazareva [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2024. – Vol. 110(1). – P. e32–e43. – doi: 10.1210/clinem/dgae424

53. Frank, D. Gastrointestinal microbiology enters the metagenomics era / D. Frank, N. Pace // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 24, N 1. – P. 4-10.

54. Gut microbial diversity in women with polycystic ovary syndrome correlates with hyperandrogenism / P. Torres, M. Siakowska, B. Banaszewska [et al.] // *J. Clin.*

Endocrinol. Metab. – 2018. – Vol. 103(4). – P. 1502–1511. – doi: 10.1210/jc.2017-02153

55. Gut microbiome stability and resilience: Elucidating the response to perturbations in order to modulate gut health / M. Fassarella, E. Blaak, J. Penders [et al.] // Gut. – 2021. – Vol. 70, N 3. – P. 595–605.

56. Gut microbiota alterations reveal potential gut-brain axis changes in polycystic ovary syndrome / Z. Liang, N. Di, L. Li, D. Yang // J. Endocrinol. Invest. – 2021. – Vol. 44(8). – P. 1727–1737. – doi: 10.1007/s40618-020-01481-5

57. Gut microbiota and oral contraceptive use in overweight and obese patients with polycystic ovary syndrome / N. Eyupoglu, K. Ergunay, A. Acikgoz [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2020. – Vol. 105, N 12. – P. dgaa600.

58. Gut microbiota and the polycystic ovary syndrome: influence of sex, sex hormones, and obesity / M. Insenser, M. Murri, R. Del Campo [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2018. – Vol. 103, N 7. – P. 2552–2562. – doi: 10.1210/jc.2017-02799

59. Gut microbiota biodiversity indices as markers of hyperandrogenemia in women of reproductive age / I. A. Igumnov, N. L. Belkova, A. V. Atalyan [et al.] // Acta biomedica scientifica. – 2024. – Vol. 9(4). – P. 12–18. – doi: 10.29413/ABS.2024-9.4.2

60. Gut microbiota dysbiosis in polycystic ovary syndrome: Association with obesity – a preliminary report / Y. Liang, Q. Ming, J. Liang [et al.] // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 2020. – Vol. 98, N 11. – P. 803–809.

61. Gut microbiota in adolescent girls with polycystic ovary syndrome: Effects of randomized treatments / C. Garcia-Beltran, R. Malpique, B. Carbonetto [et al.] // Pediatr. Obes. – 2021. – Vol. 16, N 4. – P. e12734.

62. Gut microbiota-bile acid-interleukin-22 axis orchestrates polycystic ovary syndrome / X. Qi, C. Yun, L. Sun [et al.] // Nat. Med. – 2019. – Vol. 25, N 8. – P. 1225–1233. – doi: 10.1038/s41591-019-0562-8

63. He, F. The gut microbial composition in polycystic ovary syndrome with insulin resistance: Findings from a normal-weight population / F. He, Y. Li // *J. Ovarian Res.* – 2021. – Vol. 14(1). – P. 50. – doi: 10.1186/s13048-021-00799-9

64. Hepatic steatosis relates to gastrointestinal microbiota changes in obese girls with polycystic ovary syndrome / B. Jobira, D. Frank, L. Silveira [et al.] // *PLoS One.* – 2021. – Vol. 16, N 1. – P. e0245219.

65. High dietary copper intake induces perturbations in the gut microbiota and affects host ovarian follicle development / Q. Wang, Y. Sun, A. Zhao [et al.] // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2023. – Vol. 255. – P. 114810.

66. High-fiber diet or combined with acarbose alleviates heterogeneous phenotypes of polycystic ovary syndrome by regulating gut microbiota / X. Wang, T. Xu, R. Liu [et al.] // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2022. – Vol. 12. – P. 806331. – doi: 10.3389/fendo.2021.806331

67. Holzer, P. Neuropeptide Y, peptide YY and pancreatic polypeptide in the gut-brain axis / P. Holzer, F. Reichmann, A. Farzi // *Neuropeptides.* – 2012. – Vol. 46, N 6. – P. 261–274.

68. Holzer, P. Neuropeptides and the microbiota-gut-brain axis / P. Holzer, A. Farzi // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2014. – Vol. 817. – P. 195–219. – doi: 10.1007/978-1-4939-0897-4_9

69. Hyperandrogenemia and insulin resistance: The chief culprit of polycystic ovary syndrome / J. Wang, D. Wu D, H. Guo, M. Li // *Life Sci.* – 2019. – Vol. 236. – P. 116940.

70. Hyperglycemia drives intestinal barrier dysfunction and risk for enteric infection / C. Thaiss, M. Levy, I. Grosheva, D. Zheng [et al.] // *Science.* – 2018. – Vol. 359, N 6382. – P. 1376–1383.

71. Ibrahim, M. Evaluation of the role of ghrelin and leptin as biochemical markers in female with polycystic ovarian syndrome / M. Ibrahim, A. Alobaidi // *Antiinflamm. Antiallergy Agents Med. Chem.* – 2021. – Vol. 20, N 4. – P. 373–379.

72. Impact of buzhong yiqi prescription on the gut microbiota of patients with obesity manifesting polycystic ovarian syndrome / Z. Ni, W. Cheng, J. Ding [et al.] // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 6671367.

73. Impact of gut microbiota and SCFAs in the pathogenesis of PCOS and the effect of metformin therapy / E. Kukaev, E. Kirillova, A. Tokareva [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2024. – Vol. 25(19). – P. 10636. – doi: 10.3390/ijms251910636

74. Impact of short-term isoflavone intervention in polycystic ovary syndrome (PCOS) patients on microbiota composition and metagenomics / C. Haudum, L. Lindheim, A. Ascani [et al.] // *Nutrients.* – 2020. – Vol. 12, N 6. – P. 1622.

75. Influence of the gut microbiome on appetite-regulating neuropeptides in the hypothalamus: Insight from conventional, antibiotic-treated, and germ-free mouse models of anorexia nervosa / R. Roubalová, P. Procházková, T. Kovářová [et al.] // *Neurobiol. Dis.* – 2024. – Vol. 193. – P. 106460. – doi: 10.1016/j.nbd.2024.106460

76. Intestinal flora is a key factor in insulin resistance and contributes to the development of polycystic ovary syndrome / Y. Yang, W. Zhou, S. Wu [et al.] // *Endocrinology.* – 2021. – Vol. 162(10). – P. bqab118. – doi 10.1210/endo/bqab118

77. Inulin and metformin ameliorate polycystic ovary syndrome via anti-inflammation and modulating gut microbiota in mice / J. Xue, X. Li, P. Liu [et al.] // *Endocr. J.* – 2019. – Vol. 66. – P. 859–870.

78. Investigating the causal impact of polycystic ovary syndrome on gestational diabetes mellitus: A two-sample Mendelian randomization study / G. Guixue, P. Yifu, T. Xiaofeng [et al.] // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2024. – Vol. 15. – P. 1337562. – doi: 10.3389/fendo.2024.1337562

79. Intestinal flora: a potential pathogenesis mechanism and treatment strategy for type 1 diabetes mellitus / S. Huang, F. Li, C. Quan [et al.] // *Gut Microbes.* – 2024. – Vol 16(1). – P. 2423024. – doi: 10.1080/19490976.2024.2423024

80. Kho, Z. The human gut microbiome – a potential controller of wellness and disease / Z. Kho, S. Lal // *Front. Microbiol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1835.

81. Kim, B. Current status and future promise of the human microbiome / B. Kim, Y. Jeon, J. Chun // *Pediatr. Gastroenterol. Hepatol. Nutr.* – 2013. – Vol. 16, N 2. – P. 71–79.

82. Leptin's effect on puberty in mice is relayed by the ventral premammillary nucleus and does not require signaling in Kiss1 neurons / J. Donato, R. Cravo, R. Frazão [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2011. – Vol. 121, N 1. – P. 355–368.

83. Low circulating ghrelin levels in women with polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis / T. Gao, L. Wu, F. Chang, G. Cao // *Endocr. J.* – 2016. – Vol. 63, N 1. – P. 93–100.

84. Martínez, I. Long-term temporal analysis of the human fecal microbiota revealed a stable core of dominant bacterial species / I. Martínez, C. Muller, J. Walter // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, N 7. – P. e69621.

85. Mechanisms of oxidative stress in metabolic syndrome / S. Masenga, L. Kabwe, M. Chakulya, A. Kirabo // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24, N 9. – P. 7898.

86. Metagenomic analysis identified microbiome alterations and pathological association between intestinal microbiota and polycystic ovary syndrome / W. Chu, Q. Han, J. Xu [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2020. – Vol. 113, N 6. – P. 1286–1298.

87. Metagenomics study on taxonomic and functional change of gut microbiota in patients with obesity with PCOS treated with exenatide combination with metformin or metformin alone / J. Gan, J. Chen, R. L. Ma [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2023. – Vol. 39, N 1. – P. 2219342.

88. Mitochondrial dysfunction and chronic inflammation in polycystic ovary syndrome / S. Dabravolski, N. Nikiforov, A. Eid [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, N 8. – P. 3923.

89. Modulation of mucosal immune response, tolerance, and proliferation in mice colonized by the mucin-degrader *Akkermansia muciniphila* / M. Derrien, P. Van Baarlen, G. Hooiveld [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2011. – N 2. – P. 166.

90. Multi-omics analyses reveal the specific changes in gut metagenome and serum metabolome of patients with polycystic ovary syndrome / Z. Yang, H. Fu, H. Su [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 1017147.

91. Neuropeptide Y-mediated gut microbiota alterations aggravate postmenopausal osteoporosis / Z. Chen, M. Lv, J. Liang [et al.] // *Adv. Sci. (Weinh)*. – 2023. – Vol. 10, N 33. – P. e2303015.

92. Neuropeptide Y directly reduced apoptosis of granulosa cells, and the expression of NPY and its receptors in PCOS subjects / Y. Urata, R. Salehi, B. Wyse [et al.] // *J. Ovarian Res.* – 2023. – Vol. 16, N 1. – P. 182.

93. New perspectives on the pathogenesis of PCOS: Neuroendocrine origins / K. Walters, R. Gilchrist, W. Ledger [et al.] // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2018. – Vol. 29, N 12. – P. 841–852.

94. Normo- and hyperandrogenic women with polycystic ovary syndrome exhibit an adverse metabolic profile through life / P. Pinola, K. Puukka, T. Piltonen, J. Puurunen [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2017. – Vol. 107, N 3. – P. 788–795.

95. Obese adolescents with PCOS have altered biodiversity and relative abundance in gastrointestinal microbiota / B. Jobira, D. Frank, L. Pyle [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2020. – Vol. 105, N 6. – P. e2134–e2144.

96. Obesity and its impact on female reproductive health: Unraveling the connections / L. Zheng, L. Yang, Z. Guo [et al.] // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2024. – Vol. 14. – P. 1326546.

97. Pathophysiological roles of chronic low-grade inflammation mediators in polycystic ovary syndrome / M. Rostamtabar, S. Esmaeilzadeh, M. Tourani [et al.] // *J. Cell. Physiol.* – 2021. – Vol. 236, N 2. – P. 824–838.

98. PCOS-GWAS susceptibility variants in THADA, INSR, TOX3, and DENND1A are associated with metabolic syndrome or insulin resistance in women with PCOS / Y. Tian, J. Li, S. Su [et al.] // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2020. – Vol. 11. – P. 274.

99. Polycystic ovarian syndrome: Long-term health consequences / T. Zore, N. Joshi, D. Lizneva, R. Azziz // *Semin. Reprod. Med.* – 2017. – Vol. 35, N 3. – P. 271–281.

100. Polycystic ovary syndrome / R. Azziz, E. Carmina, Z. Chen [et al.] // *Nat. Rev. Dis. Primers.* – 2016. – Vol. 2. – P. 16057.

101. Prebiotic effects metabolic and health benefits / M. Roberfroid, G. Gibson, L. Hoyles [et al.] // Br. J. Nutr. – 2010. – Vol. 104. – P. 1–63.
102. Prediction of gut microbial community structure and function in polycystic ovary syndrome with high low-density lipoprotein cholesterol / X. Zhu, Y. Li, Y. Jiang [et al.] // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2021. – Vol. 11. – P. 665406.
103. Prevalence of metabolic syndrome in PCOS patients / I. Igumnov, N. Kurashova, L. Belenkaya [et al.] // Int. J. Biomed. – 2022. – Vol. 12. N 1. – P. 95–99. – doi: 10.21103/Article12(1)_RA5
104. Probiotic *Bifidobacterium lactis* V9 regulates the secretion of sex hormones in polycystic ovary syndrome patients through the gut-brain axis / J. Zhang, Z. Sun, S. Jiang [et al.] // mSystems. – 2019. – Vol. 4. – P. e00017- e00019.
105. Recommendations from the 2023 international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome / H. J. Teede, C. T. Tay, J. Laven [et al.] // Fertil. Steril. – 2023. – Vol. 120(4). P. 767–793. – doi: 10.1016/j.fertnstert.2023.07.025
106. Reduced stress-associated FKBP5 DNA methylation together with gut microbiota dysbiosis is linked with the progression of obese PCOS patients / F. Chen, Z. Chen, M. Chen [et al.] // NPJ Biofilms Microbiomes. – 2021. – Vol. 7(1). – P. 60. – doi: 10.1038/s41522-021-00231-6
107. Reidy, S. Leptin: An essential regulator of lipid metabolism / S. Reidy, J. Weber // Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. – 2000. – Vol. 125, N 3. – P. 285–298.
108. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans / R. Considine, M. Sinha, M. Heiman, A. Kriauciunas // N. Engl. J. Med. – 1996. – Vol. 334. – P. 292–295.
109. Structural and functional profiles of the gut microbial community in polycystic ovary syndrome with insulin resistance (IR-PCOS): A pilot study / B. Zeng, Z. Lai, L. Sun [et al.] // Res. Microbiol. – 2019. – Vol. 170, Iss. 1. – P. 43–52. – doi: 10.1016/j.resmic.2018.09.002

110. Study on the intervention effect of qi gong wan prescription on patients with phlegm-dampness syndrome of polycystic ovary syndrome based on intestinal flora / N. Zhang, C. Li, Y. Guo, H. C. Wu // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 6389034.
111. Suturina, L. The epidemiology of polycystic ovary syndrome / L. Suturina // In : Kovacs G. T., Fauser B., Legro R. S. (eds). *Polycystic ovary syndrome* ; 3rd ed. – Cambridge, UK : Cambridge University Press, 2022. – P. 21–28. – doi: 10.1017/9781108989831.003
112. Tanaka, M. The role of neuropeptide Y in the nucleus accumbens / M. Tanaka, S. Yamada, Y. Watanabe // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, N 14. – P. 7287.
113. Thaïss, C. A. Microbiome dynamics in obesity / C. A. Thaïss // *Science.* – 2018. – Vol. 362(6417). – P. 903–904. – doi: 10.1126/science.aav6870
114. The beneficial effects of *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *Paracasei* DSM 27449 in a letrozole-induced polycystic ovary syndrome rat model / Y. Z. Lee, S. H. Cheng, Y. F. Lin [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2024. – Vol. 25(16). – P. 8706. – doi: 10.3390/ijms25168706
115. The effects of time-restricted eating alone or in combination with probiotic supplementation in comparison with a calorie-restricted diet on endocrine and metabolic profiles in women with polycystic ovary syndrome: A randomized clinical trial / S. Talebi, S. Shab-Bidar, A. Moini [et al.] // *Diabetes Obes. Metab.* – 2024. – Vol. 26(10). – P. 4468–4479. – doi: 10.1111/dom.15801
116. The gut microbiome in polycystic ovary syndrome and its association with metabolic traits / K. Lüll, R. Arffman, A. Sola-Leyva [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2021. – Vol. 106, N 3. – P. 858–871.
117. The gut microbiome is altered in a letrozole-induced mouse model of polycystic ovary syndrome / S. Kelley, D. Skarra, A. Rivera [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, N 1. – P. e0146509.
118. The novel insight of gut microbiota from mouse model to clinical patients and the role of NF- κ B pathway in polycystic ovary syndrome / F. S. Kong, P. Huang,

J. H. Chen, Y. Ma // *Reprod. Sci.* – 2024. – Vol. 31(11). – P. 3323–3333. – doi: 10.1007/s43032-024-01562-3

119. The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation / K. Suzuki, K. Simpson, J. Minnion [et al.] // *Endocr. J.* – 2010. – Vol. 57, N 5. – P. 359–372.

120. Tremellen, K. Dysbiosis of gut microbiota (dogma) – a novel theory for the development of polycystic ovarian syndrome / K. Tremellen, K. Pearce // *Med. Hypotheses.* – 2012. – Vol. 79, N 1. – P. 104–112.

121. Visually scoring hirsutism / B. O. Yildiz, S. Bolour, K. Woods [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2010. – Vol. 16(1). – P. 51–64. – doi: 10.1093/humupd/dmp024

122. Wang, B. Meta-analysis of gut microbiota biodiversity in patients with polycystic ovary syndrome based on medical images / B. Wang, L. Hu, P. Dong // *SLAS Technol.* – 2024. – Vol. 29(4). – P. 100178. – doi: 10.1016/j.slant.2024.100178

123. White blood cells levels and PCOS: Direct and indirect relationship with obesity and insulin resistance, but not with hyperandrogenemia / O. Papalou, S. Livadas, A. Karachalios [et al.] // *Hormones (Athens).* – 2015. – Vol. 14, N 1. – P. 91–100.

124. Xu, Y. Association of insulin resistance and elevated androgen levels with polycystic ovarian syndrome (PCOS): A review of literature / Y. Xu, J. Qiao // *Healthc Eng.* – 2022. – Vol. 2022. – P. 9240569.

125. Zheng, S. Leptin levels in women with polycystic ovary syndrome: A systematic review and a meta-analysis / S. Zheng, D. Du, X. Li // *Reprod. Sci.* – 2017. – Vol. 24, N 5. – P. 656–670.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Таблица П1 – Социодемографические характеристики женщин, включённых в исследование

Параметры	<i>n</i> = 175
Возраст (лет), $M \pm SD$	33 ± 6,2
Этническая принадлежность, <i>n/N</i> (%)	
– европеоиды	128/175 (73,1)
– азиаты	28/175 (16)
– смешанная раса	19/175 (10,8)
Место жительства, <i>n/N</i> (%)	
– город	105/175 (60)
– сельская местность	70/175 (40)
Семейное положение, <i>n/N</i> (%)	
– не замужем	54/175 (30,9)
– замужем	82/175 (46,9)
– гражданский брак	23/175 (13,1)
– раздельное проживание	1/175 (0,6)
– в разводе	14/175 (8,0)
– вдова	1/175 (0,6)
– предпочитаю не говорить	0/175 (0,0)
Профессия, <i>n/N</i> (%)	
– законодатели крупные чиновники руководители	4/175 (2,3)
– специалисты высшего уровня квалификации	75/175 (42,9)
– специалисты среднего уровня квалификации	29/175 (16,6)
– служащие офисные и по обслуживанию клиентов	31/175 (17,7)
– работники сферы торговли и услуг	14/175 (8,0)
– квалифицированные работники сельского лесного хозяйства и рыбоводства	2/175 (1,1)
– квалифицированные рабочие, занятые ручным трудом	9/175 (5,1)
– квалифицированные рабочие, использующие машины и механизмы	3/175 (1,7)
– неквалифицированные рабочие всех отраслей	6/175 (3,4)
– военнослужащие	2/175 (1,1)
Образование, <i>n/N</i> (%)	
– послевузовское	4/175 (2,3)
– высшее	75/175 (42,8)
– неполное высшее	29/175 (16,6)
– среднее профессиональное	31/175 (17,7)
– начальное профессиональное	14/175 (8,0)
– среднее (полное) общее	2/175 (1,1)
– основное общее	9/175 (5,1)
– начальное общее	3/175 (1,7)

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Стандартная операционная процедура забора биосубстратов для исследования микробиома кишечника

1. Подготовка пациента к процедуре

- Пациент не должен употреблять антибактериальные и химиотерапевтические препараты за 3 месяца до проведения процедуры. В случае, когда данное условие выполнить невозможно, исследование можно провести, но не ранее чем через 12 часов после отмены препаратов, с обязательной пометкой о нестандартных условиях.

- За 3–4 дня до исследования пациенту необходимо исключить приём любых медикаментов, влияющих на перистальтику и секреторные процессы (слабительные, ферменты, симпатомиметики, препараты висмута и железа, ректальные свечи).

- Если по результатам исследования биосубстрата кишечника нужно установить наличие скрытой крови, то за 3 дня до исследования пациент должен исключить из своего рациона питания следующие продукты: мясо, рыба, зелёные овощи, помидоры, а также все лекарства, в состав которых входят металлы (железо, медь).

- Процедуру по сбору биосубстрата кишечника противопоказано проводить у пациентов с кровотечениями, вызванными геморроем, длительными запорами, заболеваниями дёсен с признаками кровоточивости или в период менструации у женщин.

- Пациенту, прошедшему рентгенологическое исследование желудка и кишечника, можно выполнить процедуру забора образцов для исследования биосубстрата кишечника только через 2 суток после обследования.

- Перед процедурой пациенту необходимо ознакомиться и подписать добровольное информированное согласие на проведение процедуры забора образцов для исследования биосубстрата кишечника.

- Для проведения процедуры пациенту выдаётся специальный набор для забора образцов для исследования биосубстрата кишечника (см. раздел «Необходимые условия, инструменты и материалы для проведения забора микробиома кишечника»).

2. Проведение процедуры

1. Недопустимо производить сбор кала после целенаправленно вызванного акта дефекации, т. е. при применении слабительных препаратов или клизмы. Для сбора образца для исследования биосубстрата кишечника необходим кал, собранный только после самопроизвольной дефекации.

2. Перед тем, как произвести дефекацию, пациенту следует помочиться в унитаз и смыть, чтобы не допустить в дальнейшем, при сборе пробы, примеси мочи и выделений из половых органов.

3. Процедура забора образца для исследования биосубстрата кишечника выполняется пациентом самостоятельно строго по инструкции

4. Пациент доставляет собранный биоматериал медицинскому работнику или в лабораторию в течение 2 часов после его забора при условии хранения при температуре от 2 до 8 °С и транспортировки на хладоэлементе, согласно инструкции.

3. Рекомендуемые условия, инструменты и материалы

3.1. Необходимые условия, инструменты и материалы для проведения процедуры забора образцов для исследования биосубстрата слюны

Процедура забора образцов для исследования биосубстрата слюны может быть проведена как медицинским работником, в условиях медучреждения, так и самостоятельно пациентом, в домашних условиях при строгом соблюдении инструкции подготовки и осуществления забора пробы.

Для осуществления процедуры необходим специальный, индивидуальный, предварительно собранный медицинским работником для пациента набор,

предназначенный для взятия образца слюны с последующим исследованием её биосубстрата. Этот набор включает в себя:

- 1) zip-lock пакет 10 × 15 см;
- 2) стерильная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся крышкой и маркировкой объема на уровне 0,5 мл;
- 3) стерильная трубочка;
- 4) бумажная салфетка – 2 шт.;
- 5) направление в лабораторию;
- 6) инструкция для пациента – при самостоятельном сборе пробы.

3.2. Необходимые условия, инструменты и материалы для проведения забора биоматериала из зубодесневых карманов, зубодесневой борозды

Процедура забора биоматериала из зубодесневых карманов и/или зубодесневой борозды может быть проведена только стоматологом в условиях медучреждения. Для этого необходимо следующее оборудование и материалы:

- 1) стандартное стоматологическое кресло с хорошим освещением;
- 2) комплект для осмотра, содержащий по крайней мере одно стоматологическое зеркало, стоматологический зонд, пинцет, ватные диски, ватные валики, перчатки медицинские одноразовые;
- 3) стандартные бумажные штифты № 25;
- 4) стерильные пробирки типа Eppendorf объемом 1,5 мл с защёлкивающейся крышкой – 6 штук на каждого пациента;
- 5) штатив для пробирок;
- 6) хладоэлемент МХД-1 медицинский гелевый многократного применения объемом 0,5 кг;
- 7) zip-lock пакет размером 10 × 15 см;
- 8) предварительно напечатанный протокол объективного стоматологического обследования;
- 9) направление в лабораторию;
- 10) пишущие принадлежности (ручка и маркер).

3.3. Необходимые условия, инструменты и материалы для проведения забора микробиома кишечника

Для проведения процедуры пациенту выдаётся специальный, индивидуальный, предварительно собранный медицинским работником набор для забора образцов для исследования биосубстрата кишечника (Рисунок П1), который включает в себя:

- 1) zip-lock пакет размером 35 × 25 см;
- 2) пакет для транспортировки биологических материалов;
- 3) полимерный стерильный контейнер для сбора кала с завинчивающейся крышкой и ложкой в индивидуальной упаковке;
- 4) хладоэлемент МХД-1 медицинский гелевый многократного применения объёмом 0,5 кг;
- 5) одноразовая простыня или салфетка размером 30 × 40 см;
- 6) пакет для утилизации медицинских отходов (класс Б) объёмом 60 л, размером 700 × 800 мм;
- 7) пакет с воздушной подушкой размером 16 × 23 см;
- 8) инструкция по сбору кала для пациента;
- 9) бланк направления в лабораторию.



Рисунок П1 – Набор для забора образцов для исследования биосубстрата кишечника

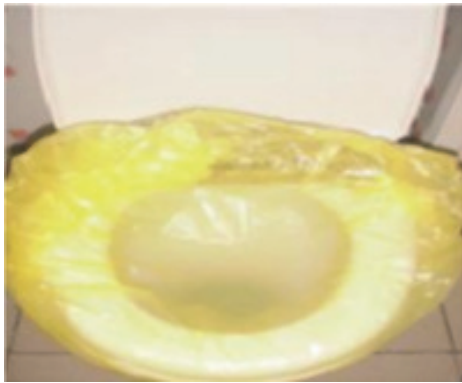
Инструкция по сбору утреннего кала для пациента

Важно! При проведении микробиологических исследований недопустимо употребление антибиотиков в течение последних 3 месяцев!!! Проинформируйте врача, если вы принимали антибиотики.

1. С вечера нужно положить хладоэлемент в холодильник (не в морозильную камеру).

2. Утром перед сбором анализа необходимо опорожнить мочевой пузырь.

3. Перед дефекацией во избежание контакта кала с водой на унитаз надеть жёлтый пакет и положить на ободок голубую салфетку для сбора кала.



4. Помыть руки.

5. Приготовить стерильную банку с ложечкой, два полиэтиленовых пакета. Вынуть из холодильника охлаждающий элемент.

6. После дефекации с голубой салфетки необходимо взять 3 ложечки кала и поместить их в стерильную банку.



7. Стерильную банку плотно закрыть!!!!

8. Стерильную банку и бланк направления с маркировкой положить в небольшой полиэтиленовый пакет.

9. Небольшой пакет с банкой и направлением вместе с охлаждающим элементом положить в большой пакет с воздушной подушкой.

10. До доставки в пункт медосмотра хранить пакет в холодильнике при температуре 0–2 °С (не в морозильной камере).

11. Пакет с образцом доставить в пункт медосмотра в соответствии с расписанием его работы. Общая продолжительность хранения биоматериала при температуре 0–2 °С и транспортировки в лабораторию после его забора – не более 4 часов.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Таблица П2 – Антропометрические характеристики женщин с гиперандрогениемией и без гиперандрогениемии

Параметры	Основная группа	Группа сравнения	<i>p_U</i>
	1	2	
M ± SD; Me (IQR)			
Рост (см)	163 ± 8,2 165 (158; 169)	164 ± 6,0 165 (160; 168)	0,62 ₁₋₂
Масса тела (кг)	71,5 ± 17,0 68,4 (62,8; 78,5)	71,4 ± 15,0 68,7 (60,5; 78,8)	0,96 ₁₋₂
ИМТ (кг/м ²)	26,9 ± 6,1 25,9 (22,4; 31,3)	26,4 ± 5,4 25,8 (22,0; 29,0)	0,70 ₁₋₂
Окружность талии (см)	80,7 ± 13,5 76,5 (72,5; 89,5)	79,6 ± 12,7 78,0 (70,0; 86,0)	0,76 ₁₋₂
Окружность бёдер (см)	101 ± 10,6 98,5 (92,5; 108)	101 ± 10,2 100 (94,0; 105)	0,73 ₁₋₂
Систолическое АД (мм рт. ст.)	125 ± 14,0 125 (115; 133)	124 ± 13,2 124 (113; 132)	0,64 ₁₋₂
Процент жира (%)	38,9 ± 9,3 40,0 (34,1; 46,2)	35,8 ± 10,3 37,8 (30,6; 42,7)	0,13 ₁₋₂
Висцеральный жир (%)	6,0 ± 2,6 6,0 (4,3; 8,0)	6,7 ± 5,7 6,0 (4,0; 7,0)	0,94 ₁₋₂
Параметры	Основная группа	Контроль	<i>p_U</i>
	1	2	
Рост (см)	163 ± 8,2 165 (158; 169)	163 ± 6,0 160 (158; 166)	0,78 ₁₋₂
Масса тела (кг)	71,5 ± 17,0 68,4 (62,8; 78,5)	65,7 ± 12,5 65,7 (53,4; 74,0)	0,27 ₁₋₂
ИМТ (кг/м ²)	26,9 ± 6,1 25,9 (22,4; 31,3)	24,6 ± 3,5 25,1 (21,3; 27,4)	0,22 ₁₋₂
Окружность талии (см)	80,7 ± 13,5 76,5 (72,5; 89,5)	76,0 ± 8,9 76,0 (68,5; 82,5)	–
Окружность бёдер (см)	101 ± 10,6 98,5 (92,5; 108)	98,1 ± 8,3 96,0 (93,5; 104)	–
Систолическое АД (мм рт. ст.)	125 ± 14,0 125 (115; 133)	117 ± 11,7 114 (110; 124)	–
Процент жира (%)	38,9 ± 9,3 40,0 (34,1; 46,2)	35,8 ± 6,7 36,2 (30,9; 42,0)	–
Висцеральный жир (%)	6,0 ± 2,6 6,0 (4,3; 8,0)	5,3 ± 1,7 6,0 (4,0; 6,5)	0,94 ₁₋₂

Примечание: *p_U* – критерий Манна – Уитни