

На правах рукописи

КУНГУРЦЕВА
Екатерина Александровна

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОБИОЦЕНОЗОВ
РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ У ЖЕНЩИН
С ХРОНИЧЕСКИМ ЭНДОМЕТРИТОМ**

14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Иркутск – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск).

Научный руководитель:

доктор биологических наук

Даренская Марина Александровна

Научный консультант:

доктор медицинских наук

Лещенко Ольга Ярославна

Официальные оппоненты:

Дубровина Валентина Ивановна, доктор биологических наук

(Федеральное казённое учреждение здравоохранения «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория патофизиологии, заведующая)

Маркова Юлия Александровна, доктор биологических наук

(ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, лаборатория растительно-микробных взаимодействий, заведующая)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга

Защита диссертации состоится «___» _____ 2019 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 001.038.02 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» по адресу: 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» и на сайте <http://health-family.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2019 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук



Гребенкина Людмила Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень её разработанности

Хронический эндометрит (ХЭ) относится к клинико-морфологическим синдромам, характеризующимся множеством морфофункциональных изменений в слизистой оболочке тела матки. Среди данного рода изменений выделяют нарушения механизмов клеточной пролиферации, апоптоз, ангиогенез и фиброз, нарушающие циклическую трансформацию и рецептивность слизистой оболочки [Добренская Г. С., 2009; Amrita D. et al., 2009; Петров Ю. А., 2012; Cicinelli E. et al., 2015; Козырева Е. В., 2017; Радзинский В. Е., 2017].

В основном ХЭ диагностируется у женщин репродуктивного возраста, и его частота в среднем составляет около 14 % от всех воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ), колеблясь от 10 до 85 % случаев [Кира Е. Ф., 2013; Данусевич И. Н., 2014; Cicinelli E., 2016; Петров Ю. А., 2017; Манухин И. Б., 2018]. Наиболее высокие показатели распространённости ХЭ выявлены у женщин с диагнозом «привычное невынашивание беременности» (33,5–86,7 %) [Сухих Г. Т., 2013; Бочков В. В., 2015; Сычева М. В., 2016].

В настоящее время выяснены основные патогенетические механизмы развития данного заболевания. Так, в работах сотрудников ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск) у женщин с хроническим эндометритом показаны изменения в системе нейроэндокринной регуляции, иммунитета, цитокиновой регуляции, а также в процессах перекисного окисления липидов [Колесникова Л. И., 2013; Сутурина Л. В., 2017; Данусевич И. Н., 2018].

Известно, что в основе ХЭ лежит воспалительный процесс, характеризующийся длительным течением с преобладанием бессимптомных и субклинических форм [Kannar V., 2012; Торубаров С. Ф., 2013; Радзинский В. Е., 2017; Дудниченко Т. А., 2018]. К данному моменту установлен факт тесной взаимосвязи воспаления слизистой оболочки матки с нарушениями микробиома целостного организма [Пестрикова Т. Ю., 2009; Сидорова И. С., 2010; Ravel J., 2011; Шуршалина А. В., 2013; Янковский Д. С., 2015; Wang B., 2017].

Совокупность всех микробиоценозов человека рассматривают как своеобразную жизненно необходимую многофункциональную микробно-метаболическую систему, которая напрямую участвует в реализации физиологических функций, обеспечивающих гомеостатическое состояние организма в целом [Хуснутдинова Л. М., 2007; Wang B., 2017]. Изменение взаимодействий макроорганизма и бактерий приводит к трансформации качественного состава последних и появлению штаммов с наличием факторов патогенности [Бухарин О. В., 2012; Бондаренко В. М., 2013; Янковский Д. С., 2013; Wang B., 2017]. В результате в организме накапливаются атипичные штаммы, формируются патологические сообщества, изменяются физиологические, биохимические и иммунологические показатели [Янковский Д. С., 2010; Бухарин О. В., 2012; Bengmark S., 2013; Ternak G., 2013; Wang B., 2017].

В настоящее время получены данные об изменениях этиологической структуры микробиоценозов при ХЭ, таких, например, как значительное количественное увеличение вирусной и условно-патогенной микрофлоры и преобладание микробных ассоциаций с более выраженными патогенными свойствами в микрофлоре влагалища [Баранов В. Н., 2002; Белокриницкая Т. Е., 2002; Бондаренко В. М., 2007; Ravel J.,

2011; Радзинский В. Е., 2017]. Имеются также результаты относительно изучения остальных микробиоценозов при ХЭ, но эти данные зачастую разрозненны и противоречивы, касаются отдельного биотопа и не отражают анализа взаимодействий биотопов различной локализации.

Значимыми представителями условно-патогенной микробиоты, населяющей вагинальный биотоп, являются энтерококки, которые способны вызывать серьёзные гнойно-воспалительные процессы [Ubeda C., 2012; Batistao D. W., 2012; Бухарин О. В., 2013; Уварова Е. В., 2017]. Эти бактерии часто обнаруживаются при воспалительных заболеваниях урогенитального тракта у гинекологических больных, при эндокардите, остеомиелите и других заболеваниях [Колоджиева В. В., 2006; Giridhara P. M., 2010; Габриэлян Н. И., 2012; Шалепо К. В., 2016]. Высока частота встречаемости данных микроорганизмов и при ХЭ [Гомболевская Н. А., 2012; Cicinelli E., 2016]. Известно, что энтерококки обладают широким набором генов патогенности, определяющих способность вызывать тяжёлый патологический процесс [Бугеро Н. В., 2012; Бухарин О. В., 2013; Зайцева Е. А., 2017]. Однако в литературе отсутствуют сведения относительно результатов исследования генов патогенности энтерококков при ХЭ, а также относительно взаимосвязей данных факторов с морфологическими признаками, подтверждающими ХЭ.

В связи с вышеизложенным была сформулирована **цель исследования:** установить при формировании хронического эндометрита закономерности нарушений микробиоценозов вагинального, кишечного и носоглоточного биотопов для патогенетического обоснования принципов их коррекции.

Для решения поставленной цели решались следующие **задачи:**

1. Определить у женщин с хроническим эндометритом особенности структуры микробиоты вагинального, кишечного и носоглоточного биотопов.

2. Оценить у женщин с хроническим эндометритом частоту встречаемости генов патогенности энтерококков (*asa1*, *cytM*, *gelE*, *sprE*) в вагинальном, кишечном и носоглоточном биотопах.

3. Выявить у женщин с хроническим эндометритом в исследованных биотопах взаимосвязь генов патогенности энтерококков с морфологическими изменениями эндометрия.

4. Установить у женщин репродуктивного возраста с хроническим эндометритом наиболее информативные показатели изменений микробиоценозов вагинального, кишечного и носоглоточного биотопов и генов патогенности энтерококков.

Научная новизна

Впервые установлено, что у пациенток с хроническим эндометритом изменения микробного консорциума проявляются расширением видового спектра и частотой встречаемости патогенных и условно-патогенных видов (с доминированием в вагинальном, кишечном и носоглоточном биотопах условно-патогенного микросимбионта видов *E. faecalis* и *E. faecium*) на фоне отсутствия или дефицита нормофлоры в исследованных биотопах.

Выявлено, что у женщин с ХЭ во всех исследованных биотопах представители нормофлоры состоят в синергетических взаимоотношениях с условно-патогенной микробиотой, что говорит о снижении колонизационной резистентности нормофлоры и её неспособности конкурировать с патологической биотой с последующим формированием патологических симбиозов и дисбиозов.

Приоритетными являются данные о наличии у женщин с ХЭ повышенного уровня патогенности у доминирующих видов *E. faecalis* и *E. faecium* в разных биотопах (вагинальный, кишечный и носоглотка), по сравнению с группой женщин без ХЭ, что проявляется в увеличении количества аутоштаммов энтерококков с нуклеотидными последовательностями гена патогенности, синтезирующего сериновую протеиназу (*sprE*) (пенетрация, колонизация, повреждение тканей).

Новыми являются данные о том, что наличие морфологических признаков ХЭ (воспалительных инфильтратов, фиброза стромы эндометрия, склеротических изменений стенок артерий и плазматических клеток) ассоциируется с наличием гена сериновой протеиназы (*sprE*) у преобладающих энтерококков в вагинальном, кишечном и носоглоточном биотопах.

На основе микробиологических критериев сформулирована концептуальная схема развития нарушений микробиоценозов вагинального, кишечного и носоглоточного биотопов у женщин с хроническим эндометритом.

Выявление наиболее информативных показателей нарушений микробиоценозов исследуемых биотопов позволило разработать математическую модель, способную патогенетически обосновать необходимость их коррекции у женщин с хроническим эндометритом.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные данные расширяют и углубляют представления о структуре и характере взаимодействий микробиоты влагалища, кишечника и носоглотки, что позволит оптимизировать диагностику, профилактику и коррекцию нарушений микробиоты.

Доказано, что для оценки объективной информации о циркуляции энтерококков с наличием детерминант патогенности целесообразно проведение детекции генов *asa1*, *cytM*, *gelE*, *sprE* и других генов патогенности у энтерококков.

Результаты исследования могут быть использованы в составлении методических рекомендаций для практического здравоохранения по прогнозированию риска развития нарушений микробиоты различных биотопов с целью разработки новых схем лечения женщин с хроническим эндометритом.

Материалы диссертации внедрены в учебный процесс кафедры нормальной физиологии и кафедры патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, а также используются в лекционных курсах и научно-исследовательской работе и производственной практике студентов специальности 06.03.01 Биология (профили «физиология» и «микробиология») биолого-почвенного факультета ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет».

Методология и методы исследования

Использованы бактериологические (выявление показателя постоянства как способ интегральной оценки микробиоценоза и коэффициента сходства Жаккара (в целях определения характера взаимодействия между членами микробиоценоза), молекулярно-генетические (детекция генов патогенности в аутоштаммах энтерококков) и статистические методы исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У женщин с хроническим эндометритом структура микробиоценозов характеризуется определёнными нарушениями в различных биотопах: преобладанием

аутоштаммов энтерококков и стафилококков – в вагинальном; наличием дисбиоза 1-й и 2-й степени – в кишечном; высокой частотой встречаемости энтерококков и дефицитом нормобиоты – в носоглоточном.

2. У женщин с хроническим эндометритом морфологические изменения в тканях эндометрия (воспалительные инфильтраты, плазматические клетки, фиброз стромы эндометрия и склеротические изменения стенок артерий) ассоциируются с наличием гена сериновой протеиназы (*sprE*) у преобладающих энтерококков в вагинальном, кишечном и носоглоточном биотопах.

3. Наиболее информативными показателями нарушений микробиома у женщин с хроническим эндометритом в вагинальном биотопе являются бактерии рода *Corynebacterium* spp., *CNS*, *Lactobacterium* spp. и грибы рода *Candida*; в кишечном – бактерии вида *Enterococcus faecalis* и грибы рода *Candida*; в носоглоточном – *Neisseria* spp., *Streptococcus* β-гемолитический и *Enterococcus faecium*.

Степень достоверности

Научные положения и выводы обоснованы достаточным объёмом исследований, выполненных с использованием современных методов, сертифицированного оборудования и реактивов. Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета современных статистических компьютерных программ.

Апробация диссертационных материалов проведена на расширенном заседании Учёного совета ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Основные материалы диссертации представлены на: межрегиональной научно-практической конференции молодых учёных, посвящённой 10-летию организации Научных центров ВСНЦ СО РАМН и проходящей в рамках «Декады молодёжи» (Иркутск, 2008); межрегиональной конференции молодых учёных Иркутского научно-исследовательского противочумного института и специалистов ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН (Иркутск, 2013); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины», посвящённой 60-летию Читинской государственной медицинской академии (Чита, 2013); 3-й международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты в репродуктологии» (Иркутск – Листвянка, 2014); I межрегиональной научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 2014); Всероссийской научной конференции с международным участием «Экосистемы озера Байкал и Восточной Азии», посвящённой юбилею биолого-почвенного факультета Иркутского государственного университета (Иркутск, 2014); II межрегиональной научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 2016); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии» (Санкт-Петербург, 2017); V конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Новосибирск, 2018); V междисциплинарном форуме с международным участием «Шейка матки и вульвовагинальные болезни. Эстетическая гинекология» (Москва, 2018).

Личный вклад соискателя

Автору принадлежит ведущая роль в проведении экспериментов, анализе и обобщении полученных результатов. В работах вклад автора является

определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от постановки задач, их экспериментально-теоретической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и докладах.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, из них 9 – в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикаций материалов диссертационных работ, из которых 5 работ – в ведущих зарубежных рецензируемых изданиях, индексируемых в международной базе данных Scopus.

Объём и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав собственных исследований и обсуждения результатов, заключения, выводов и списка использованных литературных источников. Работа изложена на 128 страницах машинописного текста, иллюстрирована 13 таблицами и 7 рисунками. Список использованной литературы включает 219 отечественных и 72 зарубежных источника литературы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в лаборатории микробиома и микроэкологии и в Центре инновационной медицины клиники ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» в период с 2013 по 2017 гг.

Объектами настоящего исследования явились 116 женщин с подозрением на хронический эндометрит, обратившиеся с жалобами в Центр инновационной медицины. Из них были сформированы 2 группы. Основную группу составили 73 женщины с хроническим эндометритом (средний возраст – $31,0 \pm 5,3$ года). Диагноз ХЭ верифицирован по результатам патогистологического исследования эндометрия, проводимого на 4–9-й день менструального цикла путём пайпель-аспирации полости матки. Дополнительными критериями ХЭ являлись данные УЗИ-исследования. Обследование проводилось в соответствии с общепринятыми стандартами обследования пациенток с ХЭ (N71). В группу сравнения вошли 43 женщины (средний возраст – $31,5 \pm 5,9$ года), у которых хронический эндометрит не был подтверждён гистологически.

Критериями включения в группы являлись: репродуктивный возраст; наличие информированного согласия на исследование; жалобы на перименструальные и/или межменструальные кровянистые выделения; тянущие боли внизу живота; бесплодие (первичное или вторичное); невынашивание беременности; данные анамнеза, свидетельствующие о наличии острого эндометрита в послеродовом периоде; внутриматочные манипуляции (лечебно-диагностические выскабливания, гистероскопии, медицинские аборты).

Критерии исключения: эндокринные причины репродуктивных нарушений; врождённые тромбофилии; антифосфолипидный синдром; острые воспалительные заболевания органов малого таза на момент исследования.

Женщины исследованных групп были сопоставимы по возрасту, индексу массы тела и социальному статусу, то есть отобраны по типу «копия – пара».

При работе с больными соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical

Association Declaration of Helsinki (1964, 2008 ред.). Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике при ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 7.5 от 24.04.2013 г.).

Материалом для исследования явились мазки из влагалища, носоглотки, а также копропробы. Первичный посев мазков осуществляли на 5%-й кровяной агар, желточно-солевой агар и агар Сабуро. Посевы исследуемого материала просматривали после 24–48-часовой инкубации при 37 °С в термостате. Культивирование микрофлоры проводили в аэробных и микроаэрофильных условиях. Учитывали количество выросших колоний, соотношение отдельных ассоциантов, описывали характер колоний. Выделяли чистые культуры микроорганизмов, проводили их родовую и видовую идентификацию с использованием коммерческих тест-систем (STREPTOtest, STAPHtest, ENTEROtest, LACHEMA, Чехия) и определяли чувствительность к антибактериальным препаратам.

Бактериологический анализ содержимого кишечника (качественный и количественный составы) проводили, согласно Стандарту 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». Идентификацию выделенных культур семейства *Enterobacteriaceae* проводили с помощью общепринятых схем как с использованием классического метода, так и на коммерческих тест-системах СИБ (НИИЭМ, г. Нижний Новгород), ENTEROtest 16 и ENTEROtest 24 (PLIVA-Lachema, Чехия), а также с использованием сред Гисса.

Выделение бактериальной ДНК из суспензий исследуемых микроорганизмов (бактерий видов *E. faecalis* и *E. faecium*) осуществляли с помощью комплекта реагентов «ДНК-сорб-АМ» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва).

ПЦР-амплификацию фрагментов генома бактерий видов *E. faecalis* и *E. faecium* проводили с использованием коммерческого набора AmpliSens-200-1 (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва). Реакционная смесь в объёме 15 мкл включала: 3 мкл 5 × ПЦР-буфера; 1,5 мкл MgSO₄; 7,2 мкл H₂O; 0,3 мкл dNTPmix; по 1 мкл F-R-праймеров; 0,05 мкл Taq-полимеразы; 2 мкл ДНК исследуемого микроорганизма. Бактерии тестировали ПЦР-методом на наличие генов патогенности. Использовали 4 пары специфических праймеров (Таблица 1), определяющих наличие генов, ассоциированных с «островами» патогенности: ген *asa1*, кодирующий участие в процессе адгезии и последующей инвазии; гены *sprE* и *gelE*, отвечающие за проникновение и разрушение тканей; ген *cylM*, вызывающий гемолиз и токсигенность. Праймеры синтезированы в ЗАО «ЕврогенРу» (г. Москва).

Термическая программа цикла амплификации проводилась на амплификаторе (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycles) и определялась подбором оптимальных программ, при которых результат был наиболее чётким.

Таблица 1 – Характеристики праймеров, использованных в работе

Виды, гены	Последовательности ДНК праймеров (5'-3')	Размер ампликона, п. н.	
<i>asa1</i>	F	CCAGCCAACSTATGGCGGAATC	529
	R	CCTGTTCGCAAGATCGACTGTA	
<i>gelE</i>	F	ACCCCGTATCATTTGGTTT	419
	R	ACGCATTGCTTTTCCATC	
<i>cylM</i>	F	GATTGGAATGTGGGAATCCTAA	825
	R	ACTTCCGGCAACSTTTAGTGTA	
<i>sprE</i>	F	GCGTCAATCGGAAGAATCAT	233
	R	CGGGGAAAAGCTACATCAA	

ПЦР проводили в условиях: 95 °С – 2 мин; 95 °С – 20 с; 50–55 °С – 20 с; 72 °С – 30 с; 35 циклов.

Продукты амплификации анализировали путём электрофоретического разделения в 1,5%-м агарозном геле, окрашенном бромистым этидием (10 мг/мл). В качестве маркера использовали O'Range Ruler 100 bp DNA Ladder (Fermentas, Литва), в качестве отрицательного контроля – реакцию смесь, не содержащую ДНК. Результаты визуализировали в ультрафиолетовом свете и документировали с помощью программы inVCR на трансиллюминаторе UVT 1 biokom.

Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США), BioStat v. 5.0.1.2008 (правообладатель лицензии – ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»).

Характер распределения (нормальность) оценивали методами Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро – Уилка. Для качественной оценки использовали абсолютные и относительные показатели (доли, %). Биометрический анализ включал анализ таблиц сопряжённости с оценкой значений статистики Пирсона хи-квадрат (χ^2) или точного одностороннего критерия Фишера. Внутригрупповые взаимосвязи количественных признаков определяли корреляционным анализом Пирсона (для нормально распределённых величин) и непараметрическим методом Спирмена [Зайцев В. М., 2006].

Для оценки рисков использовали четырёхпольные таблицы сопряжённости. Воздействие конкретного фактора оценивали по величине относительного риска (ОР) и 95%-го доверительного интервала (ДИ). Подсчёт 95% ДИ для частот и долей производился с использованием онлайн-калькулятора, разработанного J. Sauro в 2005 г. [Sauro J., 2005].

Для оценки качества классификации и выбора наиболее информативных признаков с целью отнесения женщин, больных ХЭ, в группы риска по возникновению нарушений микробиома при ХЭ был использован многофакторный дискриминантный анализ. Различия сравниваемых показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе мы оценивали структуру микрофлоры различных биотопов у женщин с ХЭ (Таблица 2). Для этой цели использовали следующие показатели: коэффициент постоянства (С) (доля участия разных видов в структуре биоценоза); показатель популяционной плотности (степень обсеменённости образцов выражали в виде десятичного логарифма на 1 г материала (lg КОЕ/г)).

Характеристика микробиоценоза вагинального тракта у женщин с хроническим эндометритом

При анализе количественно-качественного состава микробиоты вагинального биотопа женщин группы с ХЭ по отношению к данным группы без ХЭ был выявлен более высокий процент встречаемости энтерококков ($\chi^2 = 6,001$; $p = 0,014$) и коагулазоотрицательных стафилококков ($\chi^2 = 7,902$; $p = 0,005$), низкий процент выделения лактобактерий в пределах нормы ($\chi^2 = 4,565$; $p = 0,033$) и ниже нормы или полное отсутствие лактобактерий ($\chi^2 = 4,355$; $p = 0,037$) (Таблица 2). Представленные данные рассчитаны при помощи критерия χ^2 .

Полученные результаты подтверждают снижение колонизационной резистентности индигенной микробиоты влагалища и, как следствие, заселение его условно-патогенными микроорганизмами (УПМ) (энтерококки, стафилококки и др.). Наши результаты согласуются с данными ряда исследований, на основании которых основными этиологическими факторами ХЭ являются именно такие виды УПМ, как стафилококки, энтерококки и др. Доминирующее положение этих видов свидетельствует о снижении иммуностимулирующей активности у лактобактерий и другой нормобиоты, что является одной из причин развития вагинального дисбиоза у женщин группы с ХЭ [Глухова Е. В., 2008; Гомболевская Н. А., 2012]. Установленные нарушения экосистемы влагалища в дальнейшем могут способствовать формированию хорошо структурированной полимикробной плёнки (биоплёнки), которая может блокировать воспалительные процессы, снижать активность иммунцитов, позволяя бактериям достигать высоких концентраций и увеличивать риск присутствия УПМ в эндометрии пациенток, и развитию хронических воспалительных процессов [Гомболевская Н. А., 2012; Шалепо К. В., 2016].

Таблица 2 – Частота выделения и популяционная плотность микроорганизмов вагинального биотопа у женщин исследованных групп

Наименование микроорганизма	Группа с ХЭ		Группа без ХЭ	
	Коэффициент постоянства (С), % (n = 61)	Показатель популяционной плотности, lg КОЕ/г	Коэффициент постоянства (С), % (n = 38)	Показатель популяционной плотности, lg КОЕ/г
<i>Индигенная микробиота</i>				
<i>Lactobacterium</i> spp., в т. ч.:	59 (96,7)	4,4	37 (97,4)	6,3
в пределах нормы (≥ 6 lg КОЕ/г)	27 (44,3)	6,3	26 (68,4)*	6,3
дефицит (≤ 6 lg КОЕ/г)	32 (52,5)	2,7	11 (28,9)*	2,4
<i>Условно-патогенная микробиота</i>				
<i>E. faecalis, E. faecium</i>	36 (59)	4,5	12 (31,6)*	4,0
<i>CNS</i>	35 (57,4)	3,4	10 (26,3)*	2,8
<i>Streptococcus</i> spp.	12 (19,7)	4,5	4 (10,5)	4,0
<i>E. coli</i>	12 (19,7)	4,6	9 (23,7)	3,4
<i>Enterobacter, Klebsiella</i>	8 (13,1)	4,6	0	0
Грибы рода <i>Candida</i>	7 (11,5)	4,5	7 (18,4)	3,9
<i>S. aureus</i>	4 (6,6)	3,3	1 (2,6)	3,0
<i>Corynebacterium</i> spp.	2 (3,3)	3,0	6 (15,8)	3,0

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

Высокий процент выделения энтерококков в группе с ХЭ может быть обусловлен их природной способностью к подавлению фагоцитоза и защите от иммуноглобулинов, а также риском появления штаммов с наличием факторов

патогенности, вызывающих инфекционные процессы [Тапильская Н. И., 2014; Бочков В. В., 2015].

Анализ межмикробных взаимоотношений с помощью коэффициента Жаккара подтвердил, что в группе женщин с ХЭ лактобактерии не проявляли антагонистической активности по отношению к УПМ (*Enterococcus* spp. и *CNS*), а напротив, формировали патологические симбиозы с ней, тогда как в группе без ХЭ выявлен антагонизм между данными видами, что подтверждает способность лактобактерий успешно конкурировать с факультативной и транзиторной микробиотой и выполнять ключевую роль в поддержании нормального функционирования микроэкосистемы урогенитального тракта женщины [Бондаренко В. М., 2007; Бугеро Н. В., 2012; Черкасов С. В., 2012].

Склонность к совместному сосуществованию и высокая экологическая общность отмечены также между энтерококками и *CNS*, *E. coli* и *CNS* в группе с ХЭ, что способствовало их доминированию в данном биотопе этих женщин.

Ассоциации различных микроорганизмов рассматривают в качестве этиологических факторов, это обосновывается тем, что в ассоциациях микробные продукты действуют синергически, способствуя росту и размножению бактерий, и экспрессии факторов патогенности [Бухарин О. В., 2012].

Так, в группе с ХЭ в 2 раза чаще, чем в группе без ХЭ, нами были выявлены ассоциации УПМ ($\chi^2 = 10,563$; $p = 0,001$).

Таким образом, в группе с ХЭ нами было установлено снижение популяционной плотности и дефицит индигенной микробиоты (лактобактерий), персистенция УПМ и формирование ими многокомпонентных ассоциаций и патологических симбиозов с нормофлорой. Такой дисбаланс вносит определённый вклад в развитие и прогрессирование воспалительных заболеваний влагалища и расположенных выше органов малого таза, что подтверждается многими источниками [Глухова Е. В., 2008; Мясоедова С. С., 2011; Гомболевская Н. А., 2012].

Структура биоценоза кишечника у женщин с хроническим эндометритом

По результатам бактериологического исследования копрологических проб нами были выявлены нарушения состава индигенной микробиоты кишечника практически у всех женщин исследованных групп (Таблица 3). Нарушения проявлялись в снижении популяционной плотности на 1–2 порядка от физиологической нормы. Частота выделения энтерококков в группе с ХЭ была в 2 раза выше, чем в группе без ХЭ ($\chi^2 = 6,370$; $p = 0,012$). Статистически значимых различий в частоте встречаемости другой микробиоты выявлено не было.

При более подробном анализе спектра и концентрации выявленной микробиоты у каждой пациентки нами были обнаружены дисбиотические изменения (1-я или 2-я степень дисбиоза) или нормоценоз (эубиоз). Дисбиотические изменения (1-я или 2-я степень дисбиоза) в составе микробиоты кишечника были чаще зарегистрированы в группе с ХЭ ($\chi^2 = 6,882$; $p = 0,009$). Нормоценоз кишечника был выявлен, наоборот, статистически значимо чаще в группе без ХЭ ($\chi^2 = 8,626$; $p = 0,003$) (Рисунок 1).

Таблица 3 – Частота выделения и популяционная плотность микроорганизмов кишечного биотопа у женщин исследованных групп

Наименование микроорганизмов	Группа с ХЭ		Группа без ХЭ	
	Коэффициент постоянства (С), % (n = 37)	Показатель популяционной плотности, lg КОЕ/г	Коэффициент постоянства (С), % (n = 17)	Показатель популяционной плотности, lg КОЕ/г
<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	23 (62,2)	6,3	5 (29,4)*	6,2
<i>Bifidobacterium</i> spp. (в пределах нормы)	17 (46)	9,0	7 (41,2)	9,0
N <i>E. coli</i> (общее количество)	35 (91,9)	5,6	13 (76,5)	4,7
N <i>E. coli</i> (в пределах нормы)	15 (40,5)	7,2	5 (29,4)	7,2
<i>E. coli</i> с атипичными свойствами:	12 (32,4)	7,3	3 (17,6)	7,0
<i>E. coli</i> слф.	8 (21,6)	6,8	2 (11,8)	7,0
<i>E. coli</i> гем+	4 (10,8)	7,8	1 (5,9)	7,0
<i>Klebsiella</i> spp.	7 (18,9)	5,7	3 (17,6)	5,0
Грибы рода <i>Candida</i> spp.	4 (10,8)	4,8	4 (23,5)	4,0
<i>Enterobacter</i> spp.	4 (10,8)	5,3	1 (5,9)	6,0
<i>Clostridium</i> spp.	3 (8,1)	3,0	0	–
<i>Citrobacter</i> spp.	2 (5,4)	6,5	1 (5,9)	5,0
<i>P. aeruginosa</i>	2 (5,4)	6,5	1 (5,9)	5,0
Дефицит N <i>E. coli</i>	19 (51,4)	5,2	8 (47,1)	5,6
Дефицит бифидобактерий	20 (54,1)	7,1	10 (58,8)	8,1
Дефицит лактобактерий	1 (2,7)	6,9	0	–

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$; N *E. coli* – нормальная кишечная палочка; *E. coli* слф. – слабоферментативная кишечная палочка; *E. coli* гем+ – гемолитическая кишечная палочка.

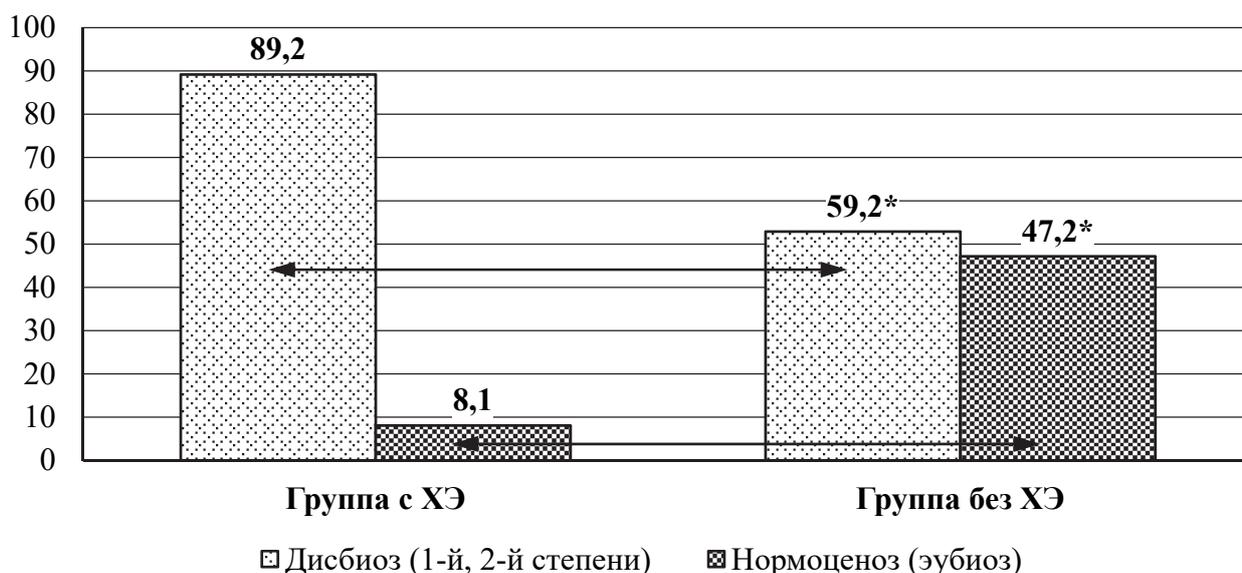


Рисунок 1 – Микрoэкологическое состояние кишечной микробиоты у женщин исследованных групп: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$

Анализ межмикробных взаимоотношений в составе данного биотопа с помощью коэффициента Жаккара также показал, что в группе с ХЭ представители нормофлоры – бифидобактерии – не проявляли антагонизма по отношению к УПМ, а находились в симбиотических отношениях с атипичной *E. coli* и энтерококками, играющие неоднозначную роль в организме человека [Бондаренко В. М. и др., 2012; Бугеро Н. В. и др., 2012]. Полученные данные являются одной из причин патобиоценоза кишечника и определяют доминирующее положение энтерококков у женщин группы с ХЭ.

У женщин группы без ХЭ, напротив, бифидобактерии проявляли антагонизм к УПМ, а симбиотические отношения формировались только между атипичной *E. Coli* и представителями семейства *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp.). Полученные нами результаты свидетельствуют о сохранении защитной роли индигенной микробиоты у женщин без хронического воспаления эндометрия. Данная способность бифидофлоры заключается в увеличении иммуномодулирующего эффекта на организм посредством IgA-реакции к патогенной грамотрицательной микробиоте, противодействуя адгезии, росту и перемещению в другие системы организма [Олескин А. В., 2009; Янковский Д. С., 2010; Bengmark S., 2013].

Далее мы определяли, какие ассоциации были образованы УПМ у женщин исследованных групп. В основном ассоциации состояли из 2–3 компонентов. У 35 % женщин в группе с ХЭ в кишечнике встречались двухкомпонентные ассоциации, состоящие преимущественно из атипичных *E. coli* и *Clostridium* spp., *E. coli* и *Citrobacter* spp. или *Enterobacter* spp.

В группе без ХЭ двухкомпонентные ассоциации встречались только в 2 (11,8 %) случаях и состояли из *Klebsiella* spp. и атипичной *E. coli*, *Klebsiella* spp. и грибов рода *Candida*. В основном в этой группе УПМ не формировали ассоциации, а были выявлены в моноварианте (35,3 % случаев). Значимых различий не было выявлено.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии дисбиотических изменений в микробиоте кишечника у женщин с ХЭ, которые в первую очередь характеризовались дефицитом представителей нормофлоры, высокой частотой встречаемости ассоциаций УПМ и симбиотическими взаимоотношениями между индигенной и условно-патогенной микробиотой. При этом энтерококки как кишечного, так и вагинального биотопов этих женщин имели статус доминирующего (постоянного) вида.

Особенности носоглоточного микробиоценоза у женщин с хроническим эндометритом

При оценке состояния носоглоточной микробиоты в группе женщин с ХЭ по отношению к аналогичным данным женщин группы без ХЭ нами были выявлены следующие статистически значимые отличия: низкий процент встречаемости индигенной микробиоты – бактерий вида *Streptococcus* гр. *oralis* ($\chi^2 = 7,353$; $p = 0,007$), *Neisserii* spp. ($\chi^2 = 25,077$; $p = 0,000$) и *Corynebacterium* spp. ($\chi^2 = 24,074$; $p = 0,000$); высокое содержание патогенного стрептококка – *S. pneumoniae* ($p = 0,027$) (Таблица 4). Процент встречаемости остальных представителей микробиоценоза не имел статистически значимых отличий ($p > 0,05$).

С помощью коэффициента постоянства (*C*, %) у женщин с ХЭ в качестве постоянных участников в носоглоточном микробиоценозе были определены энтерококки ($C = 74,5$ %), а также *CNS* ($C = 72,3$ %), непатогенный стрептококк

(*Streptococcus* гр. *oralis*) ($C = 55,3\%$) и абсолютный патоген – *S. aureus* ($C = 63,8\%$). *S. pneumoniae*, вызывающий инфекционные заболевания, у женщин группы с ХЭ не только встречался в 3 раза чаще, но и относился к добавочным видам ($C = 25,5\%$), а *S. pyogenes* – этиологический агент воспалительных заболеваний носоглотки и наиболее опасный в плане различных осложнений – был выделен только у женщин этой группы. Остальные виды УПМ входили в группу случайных видов.

Таким образом, преобладание патогенной кокковой флоры у женщин с ХЭ может быть ассоциировано с наличием хронического тонзиллита, который занимает одно из первых мест как по частоте, так и по разнообразию патогенных воздействий на другие органы и системы, в том числе и на репродуктивную [Воропаев Е. А., 2008; Салтанова Ж. Е., 2013].

Таблица 4 – Частота выделения и популяционная плотность микроорганизмов носоглоточного биотопа у женщин исследованных групп, абс. (%)

Наименование микроорганизма	Группа с ХЭ		Группа без ХЭ	
	Коэффициент постоянства (C), % (n = 47)	Показатель популяционной плотности, lg КОЕ/г	Коэффициент постоянства (C), % (n = 27)	Показатель популяционной плотности, lg КОЕ/г
CNS	34 (72,3)	3,4	20 (74,1)	3,0
<i>S. oralis</i>	26 (55,3)	5,2	24 (88,9)*	5,8
<i>Neisseria</i> spp.	12 (25,5)	4,9	24 (88,9)*	5,0
<i>Corynebacterium</i> spp.	8 (17,0)	4,3	21 (77,8)*	4,3
<i>S. pneumoniae</i>	12 (25,5)	4,6	2 (7,4)*	6,0
<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	35 (74,5)	4,6	16 (59,2)	4,9
<i>S. aureus</i>	30 (63,8)	3,3	11 (40,7)	3,5
<i>Streptococcus</i> β-гем.	21 (44,7)	4,6	16 (59,3)	5,2
Грибы рода <i>Candida</i> spp.	7 (14,9)	3,1	1 (3,7)	2
<i>S. pyogenes</i>	5 (10,6)	4	0	0
<i>E. coli</i>	2 (4,3)	4	0	0
<i>Klebsiella</i> spp.	2 (4,3)	5	1 (3,7)	3

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

Далее анализ количественного взаимодействия с использованием коэффициента Жаккара у женщин с ХЭ показал, что входящий в группу постоянных видов *S. гр. oralis*, являющийся представителем нормофлоры, проявлял антагонистическую активность по отношению к другим представителям нормобиоты (*Neisseria* spp. и *Corynebacterium* spp.) и вступал в симбиотические отношения с УПМ (*S. aureus* и *Enterococcus* spp.). Данные отношения способствуют дефициту нормобиоты и формированию патологических симбиозов и приводят к дисбиотическим нарушениям в носоглоточном биотопе женщин.

В группе без ХЭ, напротив, между представителями нормобиоты нами были выявлены синергетические отношения, что является нормой и определило их доминирование в биотопе. Однако синергизм, выявленный между *Streptococcus* гр. *oralis* и *S. aureus*, как и в группе с ХЭ, указывает на неблагополучие в данном биотопе и на формирование патологических симбиозов.

У женщин обеих групп чаще встречались трёх- и четырёхкомпонентные ассоциации. Статистически значимых различий выявлено не было.

Таким образом, проведённый сравнительный анализ микробиоты носоглотки выявил: дефицит нормобиоты с наличием антагонистических отношений между видами у женщин с ХЭ; присутствие в составе постоянной микробиоты представителей транзиторной УПМ (*S. aureus* и *Enterococcus* spp.), которые вступали в симбиотические взаимоотношения как с индигенной микрофлорой, так и друг с другом; высокую частоту выделения *CNS* и *S. aureus* из носоглотки у женщин обеих групп, которая свидетельствует об иммунодефицитном состоянии у данных женщин, что в свою очередь обуславливает благоприятные условия для внедрения и персистенции другой УПМ.

Резюмируя вышесказанное, можно заключить, что нарушения состава микробиоты и патологические взаимоотношения в данном биотопе женщин оказывают существенное влияние на течение воспалительных заболеваний не только в носоглотке, но и в репродуктивном тракте. Подобные нарушения в кишечном и вагинальном биотопах подтверждают взаимное влияние микробиоты всех систем и единый дисбиотический процесс в организме женщин с ХЭ.

Характеристика генетических детерминант патогенности в аутоштаммах бактерий рода *Enterococcus* spp., выделенных из различных биотопов у женщин исследованных групп

В нашем исследовании было показано, что энтерококки преобладали (доминировали) во всех изучаемых нами биотопах у женщин с ХЭ. Важно отметить, что энтерококки, обладая высокой протеолитической активностью, способны вызывать токсическое повреждение тканей и формировать рубцовые изменения в различных органах [Зайцева Е. А., 2017]. Поэтому на втором этапе нами был проведён анализ частоты встречаемости генов патогенности (*asa1*, *cytM*, *gelE*, *sprE*) – гистоповреждающих субстанций у аутоштаммов энтерококков у женщин с хроническим эндометритом.

Проведённый анализ показал, что во всех трёх биотопах из аутоштаммов энтерококков у женщин с ХЭ чаще других был детектирован ген сериновой протеиназы (*sprE*) ($\chi^2 = 3,910$; $p = 0,048$) (Рисунок 2), способствующей пенетрации (проникновению), колонизации и токсическому повреждению тканей.

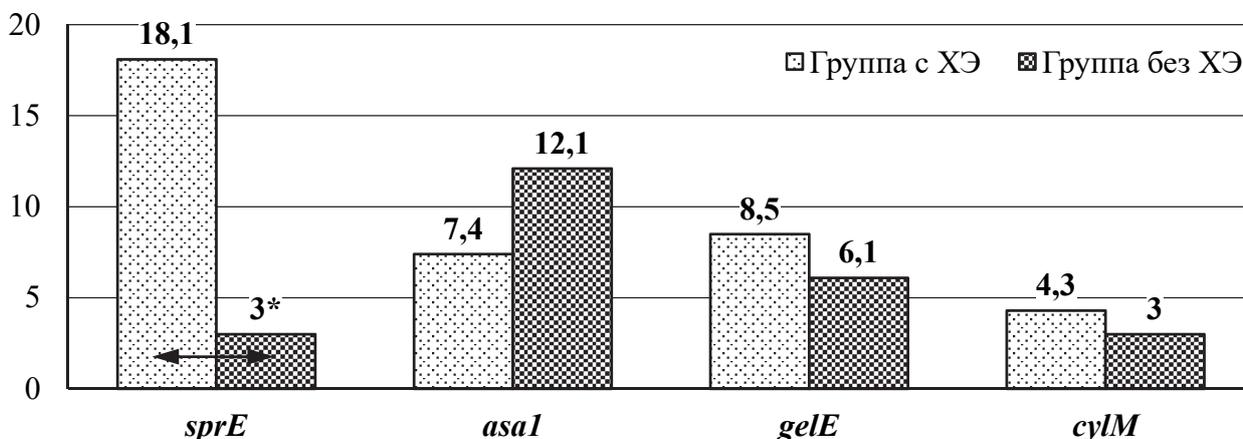


Рисунок 2 – Частота детекции генов патогенности (суммарно) в изученных биотопах у женщин исследованных групп (%): * – различия статистически значимы при $p < 0,05$ [Manson J. M., 2010; Мироненко Л. Г., 2013].

Вероятно, данный ген патогенности может быть причастен к гистологическим повреждениям эндометрия у женщин с ХЭ. Остальные гены были детектированы с меньшей частотой и не обнаруживали статистически значимых различий по частоте с аналогичными показателями в группе без ХЭ.

Далее с помощью расчёта ОР было проанализировано, какие из генов патогенности энтерококка (*asa1*, *cytM*, *gelE*, *sprE*) как факторы риска, взятые в исследование, могли быть ассоциированы с выявлением морфологических признаков хронического эндометрита у женщин исследованных групп (Таблица 5).

Таблица 5 – Ассоциации генов патогенности с морфологическими признаками хронического воспаления эндометрия

Гены патогенности	Группа с ХЭ (морф. признаки +)	Группа без ХЭ (морф. признаки –)	ОР	ДИ (нижняя граница)	ДИ (верхняя граница)
<i>sprE</i>	15	1*	1,616	1,311	1,993
<i>gelE</i>	5	3	0,993	0,569	1,731
<i>asa1</i>	6	2	1,209	0,789	1,852
<i>cytM</i>	5	1	1,348	0,916	1,985

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

Так, у женщин с наличием у энтерококков гена *sprE* в 1,6 раза чаще диагностировались морфологические признаки ХЭ, чем у женщин без гена *sprE* (ОР > 1; 95% ДИ = 1,311–1,993). Уровень статистической значимости данной взаимосвязи соответствует $p < 0,05$, так как 95% ДИ не включает в себя единицу.

Данный показатель ОР свидетельствует о прямой связи между наличием у энтерококков гена сериновой протеиназы (*sprE*) и высокой вероятностью появления в эндометрии морфологических признаков ХЭ.

Остальные гены (*asa1*, *cytM* и *gelE*) не были значимыми факторами, так как отсутствует статистическая значимость влияния данных генов на частоту исхода, т. е. на выявление морфологических признаков, подтверждающих ХЭ ($p > 0,05$).

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что гистологические изменения в эндометрии матки женщин с ХЭ ассоциированы с наличием у энтерококков гена *sprE* (сериновая протеиназа) как одного из факторов риска развития ХЭ.

Взаимосвязи индигенной и условно-патогенной микробиоты, генетических детерминант патогенности энтерококков и морфологических признаков хронического эндометрита у женщин с хроническим эндометритом

Корреляционный анализ показал, что у пациенток с хроническим воспалением эндометрия в исследованных областях – вагинальном, кишечном и носоглоточном микробиоценозах – наблюдается потеря межсистемных взаимосвязей, характерных для группы без ХЭ, и увеличение количества новых корреляционных связей преимущественно положительного характера за счёт вовлечения всех исследованных признаков – условно-патогенной микробиоты, генов патогенности энтерококков и морфологических признаков ХЭ. У пациенток без хронического воспаления эндометрия взаимодействие осуществлялось в 3 раза меньшим числом корреляций.

Возникновение большого числа дополнительных корреляционных связей у женщин с ХЭ обусловлено формированием новых патологических взаимоотношений между нормофлорой, видами агрессивной микробиоты, генами патогенности энтерококков и морфологическими признаками ХЭ. Большое число патологических связей усложняет систему взаимоотношений внутри каждого биотопа и между собой, усугубляя процесс при ХЭ.

Определение наиболее информативных показателей микробиоценозов различных биотопов у женщин с хроническим эндометритом

На завершающем этапе работы был применён дискриминантный анализ, с помощью которого были вычислены линейные классификационные функции, зависящие от нескольких наиболее информативных показателей, максимально разграничивающих данные группы.

С помощью линейной классификационной функции были рассчитаны линейные классификационные формулы (для отнесения объекта к одной из групп):

$$F_1 = -19,01 + 1,71 \times x_1 - 0,25 \times x_2 + 0,86 \times x_3 + 5,02 \times x_4 + 0,56 \times x_5 + 1,08 \times x_6 - 0,05 \times x_7 + 1,26 \times x_8 + 0,62 \times x_9;$$

$$F_2 = -15,92 + 1,32 \times x_1 - 0,69 \times x_2 + 1,40 \times x_3 + 4,69 \times x_4 + 0,80 \times x_5 + 0,82 \times x_6 - 0,33 \times x_7 + 0,91 \times x_8 + 0,79 \times x_9,$$

где: F_1 – линейная классификационная формула для отнесения женщин репродуктивного возраста в группу без ХЭ; F_2 – линейная классификационная формула для отнесения женщин репродуктивного возраста в группу с ХЭ; x_1 – *Neisseria* spp. (носоглоточный биотоп); x_2 – *Corynebacterium* spp. (вагинальный биотоп); x_3 – CNS(вагинальный биотоп); x_4 – *Lactobacterium* spp. (вагинальный биотоп); x_5 – *Enterococcus faecalis* (кишечный биотоп); x_6 – *Streptococcus* β -гемолитический (носоглоточный биотоп); x_7 – грибы рода *Candida* (вагинальный биотоп); x_8 – грибы рода *Candida* (кишечный биотоп); x_9 – *Enterococcus faecalis* (кишечный биотоп).

Отнесение пациенток с ХЭ к определённой группе производилось по максимальному значению ЛКФ после расчёта по имеющемуся набору переменных. Объект будет относиться к той группе, где максимальный F_i ($i = 1, k$); k – количество групп ($k = 2$).

Для определения диагностической значимости отобранных показателей и построенных классификационных уравнений в оценке риска возникновения нарушений микробиома у женщин с ХЭ были определены: чувствительность (86,2 %), специфичность (54,8 %), точность теста (71,4 %), прогностическая ценность положительного результата (77,2 %), прогностическая ценность отрицательного результата (69,2 %).

Таким образом, включение микробиологических показателей в уравнения классификационных функций можно рассматривать как дополнительные диагностические критерии, которые обладают высокой чувствительностью, специфичностью и позволяют включать женщин с ХЭ в группу риска развития нарушений микробиома с точностью 71,4 %. Выявление наиболее информативных показателей микробиома различных биотопов позволяет построить математическую модель, с помощью которой возможно патогенетически обосновать способы коррекции изменений микробиома у женщин с ХЭ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные нами результаты согласуются с исследованиями ряда авторов относительно наличия тесных взаимосвязей параметров различных биотопов и подразумевают необходимость комплексного подхода в изучении микробиома у женщин с хроническим эндометритом. Выявление наиболее информативных показателей микробиома различных биотопов позволило построить математическую модель, с помощью которой возможно патогенетически обосновать способы коррекции изменений микробиома у женщин с хроническим эндометритом и репродуктивными нарушениями.

Резюмируя полученные результаты, а также литературные данные, нами предложена следующая концептуальная схема развития нарушений микробиома у женщин при ХЭ (Рисунок 3).

Под влиянием различных неблагоприятных факторов, в том числе реакций окислительного стресса, нарушений в системе нейроэндокринной регуляции, наличия сопутствующих соматических заболеваний и т. д., развиваются системные нарушения механизмов гомеостаза, способствующие дизадаптивной перестройке микробиоты, что выражается количественно-качественными изменениями в исследуемых микробиоценозах. Как следствие, происходит срыв компенсаторно-приспособительных механизмов, в результате чего снижается резистентность организма женщины и транслокация УПМ между слизистыми биотопами. Всё это нарушает структуру эндометрия и создаёт условия для воспалительного хронического процесса. Так формируется замкнутый порочный круг. Для его устранения необходима коррекция микробиоты одновременно в различных биотопах у женщин с ХЭ, что будет способствовать нормализации качественного состава микробиоценозов и взаимоотношений между их компонентами, а это в свою очередь повысит резистентность организма к внешним факторам и увеличит вероятность преобладания саногенетических механизмов над патогенетическими.



Рисунок 3 – Концептуальная схема нарушений микробиома у женщин с ХЭ: * – по литературным данным

ВЫВОДЫ

1. У женщин с хроническим эндометритом микробиота вагинального биотопа характеризуется дефицитом лактобактерий (52,5 %; $p = 0,037$), низкой концентрацией лактобактерий в пределах нормы (44,3 %; $p = 0,033$), высокой частотой выделения энтерококков (59 %; $p = 0,014$), коагулазонегативных стафилококков (57,4 %; $p = 0,005$) и многокомпонентных ассоциаций (67,2 %; $p = 0,001$); микробиота кишечного биотопа характеризуется высокой частотой энтерококков (62,2 %; $p = 0,012$) и дисбиозом 1-й и 2-й степени (89,2 %; $p = 0,009$); микробиота носоглоточного биотопа характеризуется дефицитом индигенной флоры – *Streptococcus* гр. *oralis* (55,3 %; $p = 0,007$), *Neisseria* spp. (25,5 %; $p = 0,000$) и *Corynebacterium* spp. (17 %; $p = 0,000$); высокой частотой *S. pneumoniae* (25,5 %; $p = 0,027$).

2. У женщин с хроническим эндометритом представители нормобиоты во всех исследованных биотопах состоят в симбиотических отношениях с УПМ (коэффициент сходства Жаккара (q) ≥ 30 %), что свидетельствует о снижении колонизационной резистентности нормобиоты и её неспособности подавлять патогенную биоту.

3. У женщин с хроническим эндометритом суммарная частота встречаемости гена патогенности энтерококков – сериновой протеиназы (*sprE*) – в исследованных биотопах (вагинальном, кишечном и носоглоточном) выше (18,1 %; $p = 0,048$), чем у женщин без хронического эндометрита (3 %).

4. Морфологические признаки хронического эндометрита (воспалительные инфильтраты, фиброз стромы эндометрия, склеротические изменения стенок артерий и плазматические клетки) в 1,6 раза чаще диагностировались среди женщин с наличием гена *sprE* у энтерококков, чем у женщин без гена *sprE* ($OR > 1$; 95% ДИ = 1,311–1,993; $p < 0,05$).

5. У женщин с хроническим эндометритом во всех исследованных биотопах – вагинальном, кишечном и носоглоточном – наблюдается потеря межсистемных взаимосвязей, характерных для группы без хронического эндометрита, и увеличение количества новых зависимостей за счёт вовлечения условно-патогенной микробиоты, генов патогенности энтерококков и морфологических признаков ХЭ, что может свидетельствовать о формировании новых патологических взаимоотношений.

6. У женщин с хроническим эндометритом в прогностическую модель риска развития нарушений микробиома включены: для вагинального биотопа – бактерии рода *Corynebacterium* spp., *CNS*, *Lactobacterium* spp. и грибы рода *Candida*; для кишечного биотопа – бактерии вида *Enterococcus faecalis* и грибы рода *Candida*; для носоглоточного биотопа – *Neisseria* spp., *Streptococcus* β -гемолитический и *Enterococcus faecium*.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в ведущих научных рецензируемых журналах, определённых ВАК Минобрнауки РФ:

1. Микроэкология влагалища женщин с неспецифическими воспалительными заболеваниями гениталий и нарушениями репродуктивной функции / **Е. А. Кунгурцева**, О. Я. Лещенко, И. Н. Данусевич [и др.] // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 2-2 (90). – С. 197–201.
2. Кунгурцева, Е. А. Взаимоформирование микрофлоры слизистых оболочек открытых полостей различных биотопов у женщин как важный фактор их репродуктивного здоровья / **Е. А. Кунгурцева**, С. М. Попкова, О. Я. Лещенко // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2014. – Т. 69, № 9-10. – С. 27–32. (**Scopus**)
3. Детекция генов патогенности симбионтной микрофлоры смежных биотопов у женщин с хроническим эндометритом и репродуктивными нарушениями / **Е. А. Кунгурцева**, О. Я. Лещенко, Ю. П. Джигоев [и др.] // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2015. – № 3 (103). – С. 43–47.
4. Гены патогенности бактерий рода *Enterococcus*, выделенные из вагинального биотопа женщин с хроническим эндометритом и репродуктивными нарушениями / **Е. А. Кунгурцева**, М. А. Даренская, Е. И. Иванова [и др.] // Acta Biomedica Scientifica. – 2017. – Т. 2, № 5 (1). – С. 88–92.
5. Детерминанты патогенности *Enterococcus* spp., изолированных из копропроб популяции городского населения Прибайкальского региона / Е. И. Иванова, **Е. А. Кунгурцева**, У. М. Немченко, Е. В. Григорова // Журнал инфектологии. – 2017. – Т. 9, № S1. – С. 72–73. (**Scopus**)
6. Микробиота носоглотки и вагинального тракта у женщин с репродуктивными нарушениями и хроническим эндометритом / **Е. А. Кунгурцева**, О. Я. Лещенко, Е. И. Иванова, А. В. Загвозкина // Журнал инфектологии. – 2017. – Т. 9, № S1. – С. 90–91. (**Scopus**)
7. Структура условно-патогенной микробиоты носоглотки и вагинального тракта у женщин с репродуктивными нарушениями и хроническим эндометритом / **Е. А. Кунгурцева**, Н. Л. Белькова, А. А. Приставка [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2017. – Т. 62, № 4. – С. 252–256. (**Scopus**)
8. Выявление патогенетически значимых показателей микробиома при хроническом эндометрите у женщин с репродуктивными нарушениями / Л. И. Колесникова, **Е. А. Кунгурцева**, М. А. Даренская [и др.] // Патогенез. – 2018. – Т. 16, № 3. – С. 66–71.
9. Патогенный потенциал микробиоты различных биотопов женщин с репродуктивными нарушениями и хроническим эндометритом / **Е. А. Кунгурцева**, Л. И. Колесникова, М. А. Даренская [и др.] // Журнал инфектологии. – 2018. – Т. 10, № 2. – С. 67. (**Scopus**)

Публикации в прочих изданиях:

10. Патогенный потенциал симбионтной микрофлоры открытых полостей различных биотопов у женщин с хроническим эндометритом / **Е. А. Кунгурцева**, А. В. Загвозкина // Экология и здоровье населения : Сб. тр. Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований». – 2015. – С. 94–101.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CNS	– коагулазоотрицательные или коагулазонегативные стафилококки
ВЗОМТ	– воспалительные заболевания органов малого таза
ДИ	– доверительный интервал
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
КОЕ/г	– колониобразующая единица на 1 г клинического материала
ЛПС	– липополисахарид
ОР	– относительный риск
п. н.	– пара нуклеотидов
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
УПМ	– условно-патогенные микроорганизмы
ХЭ	– хронический эндометрит

Подписано в печать ##.##.2019. Бумага офсетная. Формат 60×84^{1/16}.

Гарнитура Таймс. Усл. печ. л. 1,0

Тираж 100 экз. Заказ № 004-19.

РИО ИНЦХТ

(Иркутск, ул. Борцов Революции, 1. Тел. 29-03-37. E-mail: arleon58@gmail.com)