

ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА И ИХ СВЯЗЬ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ IL6, IL8 И TNF α У ПАЦИЕНТОК С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

Л. Н. Гуменюк , И. А. Земляная, Алмасуд Рами, Е. С. Бадула, А. Р. Исмаилов, Н. А. Сероштанов, С. С. Кокарева, А. А. Черемисова, Ю. Р. Купрейчук


Медицинская академия имени С. И. Георгиевского (структурное подразделение ФГАУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского»), Симферополь, Россия

Ассоциация микробиоты кишечника и наружного генитального эндометриоза (НГЭ) на сегодняшний день представляет собой особый научный интерес. Целью исследования было оценить изменения таксономического состава микробиоты кишечника и изучить на уровне видов их взаимосвязь с показателями IL6, IL8 и TNF α в плазме крови у пациенток с НГЭ. В одномоментное сравнительное исследование было включено 50 пациенток с НГЭ (основная группа) и 50 здоровых женщин (контрольная группа). Оценивали изменения таксономического состава микробиоты кишечника и уровни IL6, IL8 и TNF α в плазме крови. У пациенток с НГЭ в таксономическом составе микробиоты кишечника обнаружены статистически значимое снижение представленности видов *Coprococcus catu* ($p = 0,009$), *Turicibacter sanguinis* ($p = 0,008$) и *Ruminococcus gnavus* ($p < 0,001$), повышение представленности видов *Eubacterium ramulus* ($p = 0,040$), *Bacterioides dorei* ($p = 0,001$), *Prevotella divia* ($p = 0,008$) и *Shigella flexneri* ($p < 0,001$). Выявлены статистически значимые корреляции показателя IL6 с представленностью *Turicibacter sanguinis* ($r = -0,92$; $p = 0,001$), IL8 и *Shigella flexneri* ($r = 0,72$; $p < 0,001$), TNF α с представленностью *Prevotella divia* ($r = 0,77$; $p = 0,001$). Полученные результаты дополняют имеющиеся литературные сведения о специфике изменений микробиоты кишечника и их сопряженности с некоторыми биомаркерами воспаления при НГЭ, что может стать обоснованием для продолжения исследований в этом направлении и, возможно, открывает новые подходы к лечению этого заболевания.

Ключевые слова: наружный генитальный эндометриоз, микробиота кишечника, IL6, IL8, TNF α

Вклад авторов: Л. Н. Гуменюк — замысел и дизайн исследования; И. А. Земляная, А. Рами, Н. А. Сероштанов — сбор, анализ и интерпретация данных; Е. С. Бадула, А. Р. Исмаилов — статистическая обработка данных; С. С. Кокарева, А. А. Черемисова, Ю. Р. Купрейчук — подготовка статьи.


Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Крымской медицинской академии имени С. И. Георгиевского ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского» (протокол № 10 от 14 ноября 2021 г.), спланировано и проведено в соответствии с Хельсинской декларацией. Все лица, включенные в исследование, подписали добровольное информированное согласие.

 **Для корреспонденции:** Леся Николаевна Гуменюк
бульвар Ленина, 5/7295006, г. Симферополь, Республика Крым, Россия; leya.sorokina@mail.ru

Статья получена: 16.05.2023 **Статья принята к печати:** 01.06.2023 **Опубликована онлайн:** 15.06.2023

DOI: 10.24075/vrgmu.2023.018

GUT MICROBIOTA ALTERATIONS AND THEIR ASSOCIATION WITH IL6, IL8 AND TNF α LEVELS IN PATIENTS WITH EXTERNAL GENITAL ENDOMETRIOSIS

Gumenyuk LN , Zemlyanaya IA, Rami Almasoud, Badula ES, Ismailov AR, Seroshtanov NA, Kokareva SS, Cheremisova AA, Kupreichyuk YuR
SI Georgievsky Medical Academy, VI Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

Today, the association of gut microbiota with external genital endometriosis (EGE) is of special scientific interest. The study was aimed to assess alterations of the gut microbiota taxonomic composition and explore their correlations with plasma levels of IL6, IL8 and TNF α at the species level in patients with EGE. The cross-sectional comparative study involved 50 patients with EGE (index group) and 50 healthy women (control group). The changes in the gut microbiota taxonomic composition and plasma levels of IL6, IL8 and TNF α were assessed. A significant decrease in the abundance of such species, as *Coprococcus catu* ($p = 0.009$), *Turicibacter sanguinis* ($p = 0.008$) and *Ruminococcus gnavus* ($p < 0.001$), along with the increase in the abundance of *Eubacterium ramulus* ($p = 0.040$), *Bacterioides dorei* ($p = 0.001$), *Prevotella divia* ($p = 0.008$) and *Shigella flexneri* ($p < 0.001$) were found in the gut microbiota taxonomic composition in patients with EGE. Significant correlations between the IL6 levels and the abundance of *Turicibacter sanguinis* ($r = -0.92$; $p = 0.001$), IL8 levels and the abundance of *Shigella flexneri* ($r = 0.72$; $p < 0.001$), TNF α levels and the abundance of *Prevotella divia* ($r = 0.77$; $p = 0.001$) were revealed. The findings add to the available literature data on the features of gut microbiota alterations and their association with some inflammation biomarkers in individuals with EGE, which can justify further research in this area and probably open up new approaches to treatment of the disease.

Keywords: external genital endometriosis, gut microbiota, IL6, IL8, TNF α .

Author contribution: Gumenyuk LN — study concept and design; Zemlyanaya IA, Rami A, Seroshtanov NA — data acquisition, analysis, and interpretation; Badula ES, Ismailov AR — statistical data processing; Kokareva SS, Cheremisova AA, Kupreichyuk YuR — manuscript writing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the SI Georgievsky Medical Academy, VI Vernadsky Crimean Federal University (protocol № 10 of 14 November 2021), planned and conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. The informed consent was obtained from all study participants.

 **Correspondence should be addressed:** Lesya N. Gumenyuk
Bulvar Lenina, 5/7295006, Simferopol, Republic of Crimea, Russia; leya.sorokina@mail.ru

Received: 16.05.2023 **Accepted:** 01.06.2023 **Published online:** 15.06.2023

DOI: 10.24075/brsmu.2023.018

Эндометриоз является одной из значимых проблем современной гинекологии и остается предметом активного изучения на протяжении многих десятилетий. По совокупности данных, более 176 млн женщин в мире страдают эндометриозом [1], при этом в последние годы наблюдается его неуклонный рост. Важно отметить, что эндометриоз сопряжен с бесплодием

в 50–80% и хронической тазовой болью — в 50% [1, 2], существенно ухудшающих психосоматическое состояние и качество жизни пациенток [3]. Сложности дифференциальной диагностики эндометриоза часто приводят к задержке постановки диагноза на 4–11 лет, при этом 65% женщин ставят ошибочный диагноз [3, 4], что приводит к прогрессированию заболевания и тяжелым

последствиям [5]. Современные фармакологические и хирургические подходы к лечению эндометриоза сопряжены с риском значительных побочных эффектов и недостаточно эффективны, частота рецидивов остается высокой и достигает 15–21% [3]. Поэтому поиск новых патофизиологических механизмов наружного генитального эндометриоза (НГЭ) и безопасных эффективных способов профилактики и лечения этого заболевания остается актуальным.

НГЭ, характеризующийся разрастанием эктопической ткани эндометрия вне полости матки, классически рассматривают как хроническое эстрогензависимое иммунно-воспалительное заболевание, локально ограниченное областью таза [6]. Однако в настоящее время НГЭ все чаще признают воспалительным системным заболеванием, нередко ассоциированным с гетерогенной полиорганной дисфункцией [3, 7]. Считается, что в патофизиологии синдрома системной воспалительной реакции при НГЭ существенную роль играет абберантное продуцирование цитокинов, сопровождающееся дисрегуляцией иммунного ответа. При этом одними из наиболее значимых считают провоспалительные интерлейкины (IL6, IL8), фактор некроза опухоли альфа (TNF α). Оценка цитокинового профиля крови у пациенток с НГЭ позволила обнаружить повышенные уровни IL6, IL8 и TNF α [8–10]. Кроме этого, повышенный уровень IL6 в плазме был связан с выраженностью болевого синдрома [11], тяжестью заболевания [12] и частотой рецидивов [11] у пациенток с НГЭ. В то время как для уровня IL8 в плазме выявлена ассоциация с размером и количеством активных поражений [13] и бесплодием [14], для TNF α — с выраженностью клинических проявлений, активностью и степенью распространенности НГЭ [15].

Современные исследования свидетельствуют о вовлеченности микробиоты кишечника в патофизиологию НГЭ, что можно объяснить ее фундаментальной ролью в поддержании иммунного гомеостаза и непосредственной сопряженностью с развитием многочисленных воспалительных заболеваний [16]. В экспериментах на мышинной модели гетерологичного инъекционного и хирургического эндометриоза было показано, что микробиота кишечника влияет на развитие и прогрессирование НГЭ [17, 18] посредством модуляции различных звеньев иммунной системы [18]. В частности, введение фекальной нормальной микробиоты мышам с индуцированным эндометриозом и истощением микробиоты кишечника было связано с уменьшением роста эндометриоидных поражений, в то время как введение фекальной микробиоты мышам с эндометриозом приводило к прогрессированию заболевания. Кроме того, истощение кишечных бактерий снижает интенсивность воспалительной реакции, ассоциированной с эндометриозом [17] и модулирует численность иммунных клеток в перитонеуме [18]. Наконец, в работах представлены убедительные доказательства об изменении профиля микробиоты кишечника у мышам [18–20] и людей [18, 19]. В то же время клинические

данные о видовом составе микробиоты кишечника у пациенток с НГЭ носят фрагментарный и противоречивый характер, недостаточны для однозначных выводов. Так, из 16 исследований, посвященных изучению взаимосвязи между НГЭ и микробиомом, только в шести анализировали микробиоту кишечника и лишь четыре работы были проведены на микробиоме кишечника человека [23]. Важно также отметить, что в числе представленных работ отсутствуют исследования, посвященные изучению изменений микробиоты кишечника среди пациенток с НГЭ славянского этноса. В том числе имеются лишь единичные сведения о взаимосвязи между микробиотой кишечника и воспалительными биомаркерами у пациенток с НГЭ.

Цель исследования — оценить изменения таксономического состава микробиоты кишечника и изучить на уровне видов их взаимосвязь с показателями IL6, IL8 и TNF α в плазме крови у пациенток с НГЭ.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Сравнительное одномоментное исследование выполнено на базе Клинического многопрофильного центра Святого Луки (г. Симферополь, Республика Крым). В исследование было включено 50 госпитализированных в гинекологическое отделение пациенток в возрастном диапазоне 18–45 лет с подтвержденным НГЭ I–IV (основная группа) и 50 здоровых женщин, сопоставимых по возрасту, проходивших профилактический медицинский осмотр (контрольная группа). Все пациентки с НГЭ и здоровые женщины подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения пациенток в основную группу: возраст 18–45 лет; наличие лапароскопически и гистологически верифицированного диагноза НГЭ.

Критерии невключения пациенток в основную группу: возраст < 18 или > 45 лет; индекс массы тела >24,9 кг/м²; беременность и период лактации; наличие сахарного диабета I и II типа, коморбидной хронической системной и соматической патологии; наличие в анамнезе психических и поведенческих расстройств; наличие верифицированных функциональных и воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта, гепатобилиарной системы; наличие в анамнезе в предшествующий исследованию месяц инфекционных заболеваний; наличие в анамнезе в предшествующий исследованию месяц нарушения стула (запоры/диарея); прием в предшествующие три месяца до включения в исследование гормональных, оральных, контрацептивных и противовоспалительных средств, антибактериальных пробиотических, пребиотических, противовирусных, симбиотических или кислотоподавляющих средств; прием в предшествующие восемь недель до включения в исследование средств, оказывающих влияние на стул; отказ от участия в исследовании.

Критерии включения пациенток в контрольную группу: возраст от 18 до 45 лет; индекс массы тела < 24,9 кг/м²; отсутствие соматических заболеваний и аллергических

Таблица 1. Характеристика пациенток с наружным генитальным эндометриозом и здоровых женщин

| Показатель | Пациентки с НГЭ (n = 50) | Контрольная группа (n = 50) |
|---|--------------------------|-----------------------------|
| Средний возраст, годы, медиана [25%; 75%] | 37,0 [32,0; 44,0] | 37,7 [32,7; 43,2] |
| Индекс массы тела, кг/м ² , медиана [25%; 75%] | 23,0 [21,0; 24,3] | 22,06 [20,8; 24,1] |
| НГЭ I–II степени распространенности, n (%) | 14 (28,0%) | – |
| НГЭ III–IV степени распространенности, n (%) | 36 (70,0%) | – |

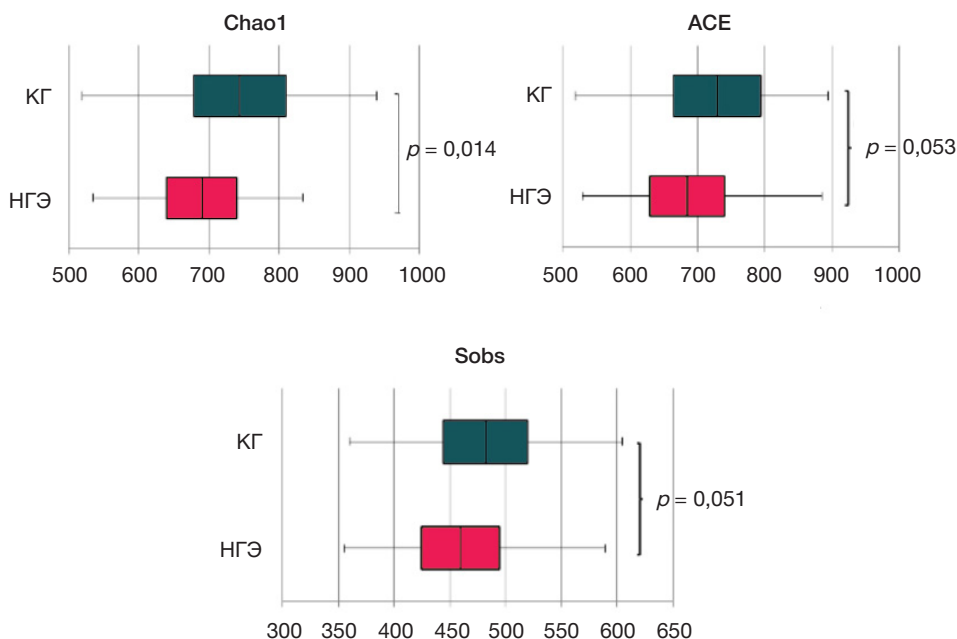


Рис. 1. Филогенетический состав микробиоты кишечника у пациенток с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) и здоровых женщин. КГ — контрольная группа

реакций; отсутствие в предшествующие два месяца до включения в исследование инфекционных и острых заболеваний; отсутствие в анамнезе психических и поведенческих расстройств; отсутствие в предшествующий месяц до включения в исследование нарушений стула (запоры/диарея); отсутствие в предшествующие три месяца до включения в исследование приема гормональных, оральных, контрацептивных и противовоспалительных средств, антибактериальных пробиотических, пребиотических, противовирусных, симбиотических или кислотоподавляющих средств; отсутствие приема в предшествующие восемь недель до включения в исследование средств, оказывающих влияние на стул.

Критерии невключения пациенток в контрольную группу: наличие температуры тела выше 36,9 °С.

Характеристика пациенток с НГЭ и КГ представлена в табл. 1. Группы были сопоставимы по возрасту ($p = 0,94$; χ^2) и индексу массы тела ($p = 0,052$; χ^2). У 36 (70,0%) пациенток НГЭ соответствовал III–IV степени распространенности.

Диагноз эндометриоза был верифицирован интраоперационно согласно критериям классификации Американского общества по репродуктивной медицине (ASRM).

С целью анализа таксономического состава микробиоты кишечника у пациенток с НГЭ и здоровых женщин образцы кала брали утром (с 8.00 до 11.00), при этом у пациенток с НГЭ — в день госпитализации. Образцы кала замораживали и хранили в одноразовых пластиковых контейнерах при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ до проведения метагеномного анализа. Ассигнование тотальной

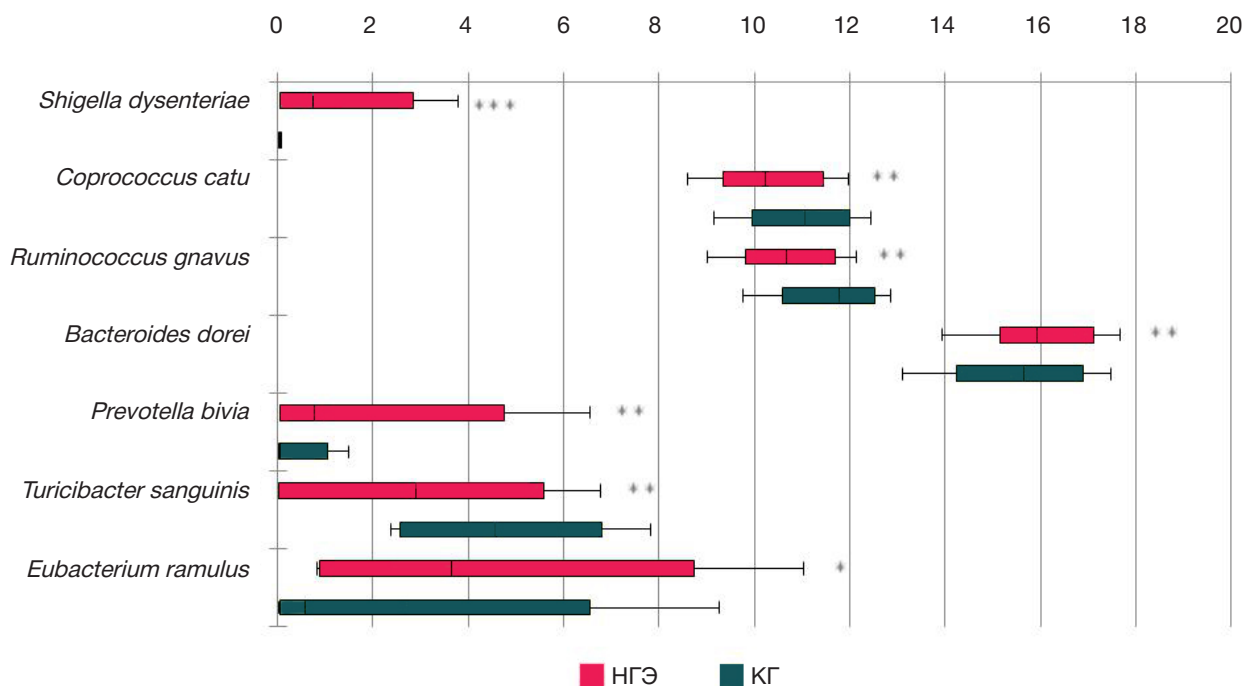


Рис. 2. Видовой состав микробиоты кишечника у пациенток с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) и здоровых женщин. КГ — контрольная группа

Таблица 2. Сравнительный анализ показателей IL6, IL8 и TNF α в плазме крови у пациенток с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) и здоровых женщин. КГ — контрольная группа; p — статистическая значимость различий между показателями в группе пациенток с НГЭ и КГ

| Показатель | Пациентки с НГЭ ($n = 50$) | Контрольная группа ($n = 50$) | P |
|--|------------------------------|---------------------------------|---------|
| IL6, пг/мл, медиана [25%; 75%] | 14,7 [8,1; 18,3] | 3,8 [2,0; 6,6] | < 0,001 |
| IL8, пг/мл, медиана [25%; 75%] | 14,6 [9,6; 28,8] | 2,2 [1,4; 6,8] | < 0,001 |
| TNF α , пг/мл, медиана [25%; 75%] | 17,9 [9,3; 26,5] | 5,2 [2,8; 7,6] | < 0,001 |

ДНК проводили методом фенольной экстракции; нуклеотидную последовательность ДНК устанавливали с использованием высокопроизводительного секвенатора SOLiD5500 Wildfire (Applied Biosystems; США) методом шотгансеквенирования [24].

Фильтрацию прочтений по качеству и их таксономическую классификацию проводили с использованием программного обеспечения QIIME версии 1.9.1 [25]. Таксономическую принадлежность прочтений осуществляли на основе информации двух таксономических баз данных: на 1-ом этапе выполняли подбор референсного блока операционных таксономических единиц (OTE) бактерий на основании сравнения полученных прочтений генов 16S рПНК с базой данных GreenGenes версии 13.5 [26]. На 2-ом этапе идентификацию таксономической принадлежности данных OTE проводили на основе специализированной базы данных кишечной микробиоты человека HITdb с использованием алгоритма RDP [27].

Оценку качественного и количественного состава микробиоты кишечника проводили на основе идентификации видов, родов и фил микроорганизмов; α -разнообразию сообщества оценивали посредством расчета индекса Chao1, показателя числа обнаруженных таксонов (Sobs), индекса, оценивающего реальное количество таксонов (ACE) с помощью программы Mothur v.1.22.0 (<http://www.mothur.org>).

У пациенток с НГЭ и здоровых добровольцев забор крови для иммуноферментного анализа осуществляли путем венопункции утром, натощак, в состоянии покоя (15 мин минимум). Оценивали показатели IL6, IL8 и TNF α в плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью тест-системы «Вектор-Бест»; Новосибирск, Россия). Пробирки с сывороткой крови хранили в замороженном состоянии при температуре -20 °С.

Статистическую обработку проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 8.0 (StatSoft. Inc.; США). Для количественных показателей определяли характер распределения с использованием метода Колмогорова–Смирнова. Ввиду того что большинство количественных признаков не соответствовало нормальному распределению, вычисляли медиану (Me) и интерквартильный диапазон (25-й процентиль; 75-й процентиль). Для качественных признаков определяли долю и абсолютное количество значений. Для сравнения качественных признаков использовали критерий χ^2 , для сравнения количественных признаков — критерий Манна–Уитни. Для оценки взаимосвязи между факторами проводили ранговый корреляционный анализ по Спирмену. Уровень значимости при сравнении качественных и количественных признаков, а также при проведении корреляционного анализа соответствует значениям $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При оценке таксономического состава микробиоты кишечника у пациенток с НГЭ в сравнении со здоровыми

женщинами было обнаружено статистически значимое снижение α -разнообразия бактериального сообщества (индекс Chao1 $p = 0,014$). Кроме того, у пациенток с НГЭ в сравнении со здоровыми женщинами отмечалось снижение индексов ACE и Sobs, без статистически значимых различий между группами ($p = 0,053$; $p = 0,051$ соответственно) (рис. 1).

В ходе сравнительного анализа видового состава кишечной микробиоты у пациенток с НГЭ в сравнении со здоровыми женщинами зафиксировано статистически значимое снижение численности *Coprococcus catu* ($p = 0,009$), *Ruminococcus gnavus* ($p < 0,001$) и *Turicibacter sanguinis* ($p = 0,008$) и повышение численности бактерий вида *Eubacterium ramulus* ($p = 0,040$), *Bacterioides dorei* ($p = 0,001$), *Prevotella divia* ($p = 0,008$) и *Shigella flexneri* ($p < 0,001$) (рис. 2).

Уровни IL6, IL8 и TNF α в плазме крови пациенток с НГЭ были статистически значимо выше в сравнении с показателями здоровых женщин (табл. 2).

При этом нами выявлена обратная тесная корреляция численности *Turicibacter sanguinis* с показателем IL6 ($r = -0,92$; $p = 0,001$); прямая высокая статистически значимая корреляция между повышением численности бактерий рода *Shigella flexneri* и показателем IL8 ($r = 0,72$; $p < 0,001$). Кроме того, была зафиксирована прямая высокая корреляция показателя TNF α с численностью *Prevotella divia* ($r = 0,77$; $p = 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Микробиота кишечника сопряжена со многими воспалительными заболеваниями, включая НГЭ [16–19]. Тем не менее, на сегодняшний день выполнены единичные исследования по этой теме на людях, результаты которых не позволяют сделать консенсусных выводов. Исходя из недостаточной изученности этого вопроса первой задачей нашего исследования стало уточнение изменений таксономического состава микробиоты кишечника в группе пациенток с НГЭ. Проведенное исследование подтвердило, что состав микробиоты кишечника у пациенток с НГЭ значительно отличается от такового у здоровых женщин. По нашим данным, для пациенток с НГЭ по сравнению со здоровыми женщинами характерно более низкое бактериальное α -разнообразие, что является общей отличительной чертой хронических воспалительных заболеваний [28]. Полученные нами результаты соотносятся с данными ранее выполненного исследования [22], но не подтверждают другие данные [21], согласно которым для пациенток с НГЭ было характерно снижение как α -разнообразия, так и β -разнообразия. Результаты настоящего исследования также показали, что у пациенток с НГЭ дисбиотические изменения кишечника характеризуются снижением численности бактерий с иммуномодулирующим потенциалом — представителей вида *Coprococcus catu* и *Turicibacter sanguinis*, которые, как известно, являются продуцентами короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), т. е. ключевых эндогенных

сигнальных молекул поддержания иммунологического гомеостаза хозяина и *Ruminococcus gnavus*. Кроме того, снижение КЦЖК влечет за собой увеличение числа грамотрицательных бактерий и соответственно липополисахарида (ЛПС) [29]. Есть данные, что у мышей с эндометриозом фекалии содержат сниженное количество КЦЖК, в частности бутирата, в то время как введение бутирата ингибирует рост эндометриодных клеток в исследованиях *in vitro* и *in vivo* посредством ингибирования активности гистондеацетилазы и активизации экспрессии белка Rap1GAP, который инактивирует внутриклеточный сигнальный белок Rap1 [19]. Вместе с тем нами идентифицирована повышенная численность бактерий вида *Eubacterium ramulus*, *Bacterioides dorei*, *Prevotella divia* и *Shigella flexneri*. Среди них стоит отметить наличие *Shigella flexneri*, которые ранее были обнаружены в образцах фекалий пациенток с НГЭ III–IV степени распространенности в исследовании [30]. Предполагается роль данного вида как триггера инициации иммунологических изменений, приводящих к развитию и прогрессированию эндометриоза [31]. Полученные нами результаты частично соотносятся с данными ряда других работ. Например, в одном из исследований для пациенток с НГЭ было характерно снижение численности бактерий *Coprococcus* и повышение численности *Bacterioides* [21]. В другой работе для пациенток с НГЭ было характерно повышение численности *Eubacterium* и *Bacterioides* [22]. Несогласованность полученных данных может быть обусловлена тем, что, во-первых, исследования выполняли с участием пациенток различной этнической принадлежности, а во-вторых, в отличие от вышеуказанных авторов, мы не включали пациенток с НГЭ с избыточной массой тела (так как доказано влияние этого фактора на изменения микробиоты кишечника), а также пациенток, принимающих гормональные, контрацептивные и противовоспалительные препараты для исключения их влияния на результаты работы.

Как указывалось ранее, у пациенток с НГЭ обнаруживаются значительно повышенные уровни IL6, IL8 и TNF α в плазме крови, роль которых в развитии и прогрессировании тяжести заболевания доказана [8–10]. В своем исследовании мы тоже установили статистически значимо более высокие плазменные показатели IL6, IL8 и TNF α у пациенток с НГЭ в сравнении со здоровыми женщинами. Между тем дисбиоз кишечника, который все чаще признается одним из факторов развития воспаления, а также аутоиммунных и иммуноопосредованных заболеваний, способен запускать формирование иммуно-воспалительного ответа с увеличением уровня провоспалительных цитокинов на системном уровне [32]. Поэтому второй задачей исследования была оценка взаимосвязи изменений таксономического состава микробиоты кишечника на уровне видов с уровнями IL6, IL8 и TNF α в плазме в группе пациенток с НГЭ. Нами установлено, что некоторые виды микроорганизмов кишечника у пациенток с НГЭ сопряжены с уровнями изучаемых цитокинов в плазме, что может указывать на наличие сопряженности состава микробиоты кишечника с НГЭ. В частности, была выявлена обратная ассоциация между повышением уровня IL6 и численности бактерий *Turicibacter sanguinis*. В литературе нами было найдено возможное объяснение данной зависимости. Как известно, бактерии *Turicibacter* участвуют в образовании метаболитов с протективным эффектом по отношению к эпителию кишечника и репродуктивной системе,

а именно таких КЦЖК, как уксусная, валериановая и масляная кислоты. Снижение уровня последней приводит к активации гистондеацетилазы, связанного с ней транскрипционного ядерного фактора NF- κ B и ингибированию G-белковых рецепторов GPR41, GPR43 и GPR109A, что вызывает экспрессию генов, определяющих синтез провоспалительных цитокинов, включая IL6 [33], и способствует развитию хронического воспаления [16]. Отмеченная ранее [34] сопряженность показателя IL8 с численностью бактерий рода *Subdoligranulum* у пациенток с НГЭ в настоящем исследовании не была подтверждена. По полученным нами данным, для пациенток с НГЭ характерна прямая ассоциация показателя IL8 с численностью бактерий *Shigella flexneri*, что может быть опосредовано способностью последней посредством инициирования паттерн-распознающих рецепторов TLR4 вызывать стойкую активацию ингибиторного киназного комплекса транскрипционного фактора NF- κ B (IKK) и последующую деградацию I- κ B, что, в свою очередь, способствует высвобождению NF- κ B с дальнейшей транслокацией в ядро и запуском транскрипции IL8 [35]. В литературе нами были найдены подобные ассоциации у пациентов с подтвержденной инфекцией шигеллеза, что подтверждала прямые тесные корреляции представленности *Shigella flexneri* с уровнем IL8 в плазме [36]. Контрастирование полученных нами данных с результатами сравниваемой работы, как мы уже указали, возможно, обусловлено различиями в дизайне, а именно избирательным включением в наше исследование пациенток с НГЭ, имеющих нормальный индекс массы тела и без коморбидных экстрагенитальных заболеваний, в то время как в другом исследовании [34] эти характеристики не являлись критериями исключения. Кроме того, различие может быть связано с тем, что мы включали в исследование пациенток с I–IV степенью распространенности НГЭ, в то время как в исследовании [34] приняли участие пациентки с III–IV степенью распространенности НГЭ. Этот факт тоже мог повлиять на отличия ассоциаций IL8 с представителями микробиоты кишечника у пациенток с НГЭ от имеющихся в литературе. Необходимо также отметить малый размер выборки (12 пациенток) в ранее описанном исследовании [34]. Кроме того, в своей работе мы обнаружили прямую высокую связь между уровнем в крови TNF α и численностью *Prevotella divia*. В доступной нам литературе мы не встретили работ, авторы которых изучали этот вопрос при НГЭ. Вместе с тем ранее показано, что обработка клеточной линии моноцитов ЛПС *Prevotella* приводит к одновременной активации трех базовых сигнальных путей митоген-активированной протеинкиназы (MAPK) (внеклеточной сигнальной киназы 1/2 (ERK1/2), с-Jun N-концевой киназы 1/2 (JNK1/2) и p38) с последующим индуцированием экспрессии мРНК TNF α и стимуляцией секреции TNF α [37].

Результаты настоящего исследования позволяют предположить значимую роль микробиоты кишечника в иммуногенезе НГЭ. По-видимому, причинно-следственные связи между микробиотой кишечника и уровнем провоспалительных цитокинов в крови при НГЭ требуют более детальной проработки и продолжения исследований в этом направлении.

ВЫВОДЫ

У пациенток с НГЭ обнаружены значительные нарушения представленности и таксономического состава

микробиоты кишечника. Кроме того, выявленные нами статистически значимые корреляции некоторых видов бактерий с уровнями IL6, IL8 и TNF α в плазме указывают на наличие связи между представленностью и составом микробиоты кишечника с иммунопатогенезом НГЭ.

Необходимо проведение дальнейших исследований для подтверждения роли микробиоты кишечника в патофизиологии НГЭ. Прицельное воздействие на микробиоту кишечника может способствовать повышению эффективности терапевтических подходов в лечении НГЭ.

Литература

- Zondervan KT, Becker CM, Koga K, Missmer SA, Taylor RN, Viganò P. Endometriosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2018; 4: 9.
- Saunders PTK, Horne AW. Endometriosis: Etiology, pathobiology, and therapeutic prospects. *Cell*. 2021; 184 (11): 2807–24.
- Bao C, Wang H, Fang H. Genomic Evidence Supports the Recognition of Endometriosis as an Inflammatory Systemic Disease and Reveals Disease-Specific Therapeutic Potentials of Targeting Neutrophil Degranulation. *Front Immunol*. 2022; 23 (13): 758440.
- Greene R, Stratton P, Cleary SD, Ballweg ML, Sinai N. Diagnostic experience among 4,334 women reporting surgically diagnosed endometriosis. *Fertility and sterility*. 2009; 91 (1): 32–39.
- Greenbaum H, Bat-El L, Galper BEL, Decter DH, Eisenberg VH. Endometriosis and autoimmunity: Can autoantibodies be used as a non-invasive early diagnostic tool? *Autoimmun Rev*. 2021; 20 (5): 102795.
- Clement Philip B. The Pathology of Endometriosis: A Survey of the Many Faces of a Common Disease Emphasizing Diagnostic Pitfalls and Unusual and Newly Appreciated Aspects. *Advances in Anatomic Pathology*. 2007; 14 (4): 241–60.
- Taylor HS, Kotlyar AM, Flores VA. Endometriosis is a chronic systemic disease: clinical challenges and novel innovations. *Lancet*. 2021; 27: 839–52.
- Ярмолинская М. И. Цитокиновый профиль перитонеальной жидкости и периферической крови больных с наружным генитальным эндометриозом. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2008; 57 (3): 30–34.
- Sikora J, Smycz-Kubańska M, Mielczarek-Palacz A, Kondera-Anasz Z. Abnormal peritoneal regulation of chemokine activation — the role of IL8 in pathogenesis of endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2017; 77 (4).
- Cameron MJ, Kelvin DJ. Cytokines and chemokines — their receptors and their genes: an overview. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2003; 520: 8–32.
- Somigliana E, Viganò P, Tirelli AS, Felicetta I, Torresani E, Vignali M, et al. Use of the concomitant serum dosage of CA 125, CA 19-9 and interleukin-6 to detect the presence of endometriosis. Results from a series of reproductive age women undergoing laparoscopic surgery for benign gynaecological conditions. *Human Reproduction*. 2004; 19 (8): 1871–6.
- Dong Hao Lu, Song H, Shi G. Anti-TNF α treatment for pelvic pain associated with endometriosis. *Cochrane database of systematic reviews*. 2010; 3 (3): CD008088.
- Li A, Dubey S, Varney ML, Dave BJ, Singh RK. IL8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis. *Journal of Immunology*. 2003; 170 (6): 3369–76.
- Malvezzi H, Hernandez C, Piccinato CA, Podgaec S. Interleukin in endometriosis-associated infertility-pelvic pain: systematic review and meta-analysis. *Reproduction*. 2019; 158 (1): 1–12.
- Scholl B, Bersinger NA, Kuhn A. Correlation between symptoms of pain and peritoneal fluid inflammatory cytokine concentrations in endometriosis. *Gynecol Endocrinol*. 2009; 25 (11): 701–6.
- Wu HJ, Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes*. 2012; 3 (1): 4–14.
- Chadchan SB, Cheng M, Parnell LA, Yin Y, Schriefer A, Mysorekar IU, et al. Antibiotic therapy with metronidazole reduces endometriosis disease progression in mice: a potential role for gut microbiota. *Hum Reprod*. 2019; 34: 1106–16.
- Chadchan SB, Naik SK, Popli P, et al. Gut microbiota and microbiota-derived metabolites promotes endometriosis. *Cell Death Discov*. 2023; 9: 28.
- Chadchan SB, Popli P, Ambati CR, Tycksen E, Han SJ, Bulun SE, et al. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids protect against the progression of endometriosis. *Life Sci Alliance*. 2021; 30; 4 (12): e202101224.
- Ni Z, Sun S, Bi Y, Ding J, Cheng W, Yu J, et al. Correlation of fecal metabolomics and gut microbiota in mice with endometriosis. *Am J Reprod Immunol*. 2020; 84: e13307.
- Svensson A, Brunkwall L, Roth B, Orho-Melander M, Ohlsson B. Associations Between Endometriosis and Gut Microbiota. *Reprod Sci*. 2021; 28 (8): 2367–77.
- Chen S, Gu Z, Zhang W, Jia S, Wu Y, Zheng P, et al. The study of endometriosis and adenomyosis related microbiota in female lower genital tract in Northern Chinese population. *Gynecology and Obstetrics Clinical Medicine*. 2021; 1 (3): 119–29.
- Ser H-L, Au Yong S-J, Shafiee MN, Mokhtar NM, Ali RAR. Current updates on the role of microbiome in endometriosis: a narrative review. *Microorganisms*. 2023; 11 (2): 360.
- Mitra S, Förster-Fromme K, Damms-Machado A, Scheurenbrand T, Biskup S, Huson, DH, et al. Analysis of the intestinal microbiota using SOLiD16S rRNA gene sequencing and SOLiD shotgun sequencing. *BMC Genomics*. 2013; 14 (5): 16.
- Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*. 2010; 7 (5): 335–6.
- DeSantis TZ, Hugenholtz P, Larsen N. Greengenes, a chimerachecked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72: 5069–72.
- Ritari J, Salojärvi J, Lahti L, de Vos WM. Improved taxonomic assignment of human intestinal 16S rRNA sequences by a dedicated reference database. *BMC Genomics*. 2015; 16 (1): 1056.
- Vallejo V, Ilagan JG. A Postpartum Death Due to Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in the United States. *ObstetGynecol*. 2020; 136 (1): 52–55.
- Kumari R, Ahuja V, Jaishree P. Fluctuations in butyrate-producing bacteria in ulcerative colitis patients of North India. *World J Gastroenterol*. 2013; 19: 3404–14.
- Ata B, Yildiz S, Turkgeldi E, Brocal VP, Dinleyici EC, Moya A, et al. The Endobiota Study: Comparison of Vaginal, Cervical and Gut Microbiota Between Women with Stage 3/4 Endometriosis and Healthy Controls. *Sci Rep*. 2019; 9 (1): 2204.
- Kodati VL, Govindan S, Movva S, Ponnala S, Hasan Q. Role of Shigella infection in endometriosis: a novel hypothesis. *Med Hypotheses*. 2008; 70 (2): 239–43.
- Гуменюк Л. Н., Голод М. В., Силаева Н. В., Сорокина Л. Е., Ильясов С. С., Андрощук Н. А. и др. Изменения микробиоты кишечника и их связь с тяжестью заболевания и некоторыми показателями цитокинового профиля у пациентов с COVID-19. *Вестник РГМУ*. 2022; 1: 23–30.
- Liu P, Gao M, Liu Z, Zhang Y, Tu H, Lei L, et al. Gut microbiome composition linked to inflammatory factors and cognitive functions in first-episode, drug-naïve major depressive disorder patients. *Front Neurosci*. 2022; 28 (15): 800764.
- Shan J, Ni Z, Cheng W, Zhou L, Zhai D, Sun S, et al. Gut microbiota imbalance and its correlations with hormone and inflammatory factors in patients with stage 3/4 endometriosis. *Arch Gynecol Obstet*. 2021; 304: 1363–73.
- Philpott DJ, Yamaoka S, Israël A, Sansonetti PJ. Invasive Shigella flexneri activates NF-kappa B through a lipopolysaccharide-dependent innate intracellular response and leads to IL8 expression in epithelial cells. *J Immunol*. 2000; 165 (2): 903–14.

36. Raqib R, Wretling B, Andersson J, Lindberg AA. Cytokine secretion in acute shigellosis is correlated to disease activity and directed more to stool than to plasma. *J Infect Dis.* 1995; 171: 376–384.
37. Kim SJ, Choi EY, Kim EG, Shin SH, Lee JY, Choi JI, et al.

Prevotella intermedia lipopolysaccharide stimulates release of tumor necrosis factor-alpha through mitogen-activated protein kinase signaling pathways in monocyte-derived macrophages. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007; 51 (2): 407–13.

References

1. Zondervan KT, Becker CM, Koga K, Missmer SA, Taylor RN, Viganò P. Endometriosis. *Nat Rev Dis Primers.* 2018; 4: 9.
2. Saunders PTK, Horne AW. Endometriosis: Etiology, pathobiology, and therapeutic prospects. *Cell.* 2021; 184 (11): 2807–24.
3. Bao C, Wang H, Fang H. Genomic Evidence Supports the Recognition of Endometriosis as an Inflammatory Systemic Disease and Reveals Disease-Specific Therapeutic Potentials of Targeting Neutrophil Degranulation. *Front Immunol.* 2022; 23 (13): 758440.
4. Greene R, Stratton P, Cleary SD, Ballweg ML, Sinaii N. Diagnostic experience among 4,334 women reporting surgically diagnosed endometriosis. *Fertility and sterility.* 2009; 91 (1): 32–39.
5. Greenbaum H, Bat-El L, Galper BEL, Decter DH, Eisenberg VH. Endometriosis and autoimmunity: Can autoantibodies be used as a non-invasive early diagnostic tool? *Autoimmun Rev.* 2021; 20 (5): 102795.
6. Clement Philip B. The Pathology of Endometriosis: A Survey of the Many Faces of a Common Disease Emphasizing Diagnostic Pitfalls and Unusual and Newly Appreciated Aspects. *Advances in Anatomic Pathology.* 2007; 14 (4): 241–60.
7. Taylor HS, Kotlyar AM, Flores VA. Endometriosis is a chronic systemic disease: clinical challenges and novel innovations. *Lancet.* 2021; 27: 839–52.
8. Yarmolinskaya MI. Citokinovyi profil' peritoneal'noy zhidkosti i perifericheskoy krovi bol'nyh s naruzhnym genital'nym ehndometriozom. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney.* 2008; 57 (3): 30–34. Russian.
9. Sikora J, Smycz-Kubarska M, Mielczarek-Palacz A, Kondera-Anasz Z. Abnormal peritoneal regulation of chemokine activation — the role of IL8 in pathogenesis of endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology.* 2017; 77 (4).
10. Cameron MJ, Kelvin DJ. Cytokines and chemokines — their receptors and their genes: an overview. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2003; 520: 8–32.
11. Somigliana E, Viganò P, Tirelli AS, Felicetta I, Torresani E, Vignali M, et al. Use of the concomitant serum dosage of CA 125, CA 19-9 and interleukin-6 to detect the presence of endometriosis. Results from a series of reproductive age women undergoing laparoscopic surgery for benign gynaecological conditions. *Human Reproduction.* 2004; 19 (8): 1871–6.
12. Dong Hao Lu, Song H, Shi G. Anti-TNF α treatment for pelvic pain associated with endometriosis. *Cochrane database of systematic reviews.* 2010; 3 (3): CD008088.
13. Li A, Dubey S, Varney ML, Dave BJ, Singh RK. IL8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis. *Journal of Immunology.* 2003; 170 (6): 3369–76.
14. Malvezzi H, Hernandez C, Piccinato CA, Podgaec S. Interleukin in endometriosis-associated infertility-pelvic pain: systematic review and meta-analysis. *Reproduction.* 2019; 158 (1): 1–12.
15. Scholl B, Bersinger NA, Kuhn A. Correlation between symptoms of pain and peritoneal fluid inflammatory cytokine concentrations in endometriosis. *Gynecol Endocrinol.* 2009; 25 (11): 701–6.
16. Wu HJ, Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes.* 2012; 3 (1): 4–14.
17. Chadchan SB, Cheng M, Parnell LA, Yin Y, Schriefer A, Mysorekar IU, et al. Antibiotic therapy with metronidazole reduces endometriosis disease progression in mice: a potential role for gut microbiota. *Hum Reprod.* 2019; 34: 1106–16.
18. Chadchan SB, Naik SK, Popli P, et al. Gut microbiota and microbiota-derived metabolites promotes endometriosis. *Cell Death Discov.* 2023; 9: 28.
19. Chadchan SB, Popli P, Ambati CR, Tycksen E, Han SJ, Bulun SE, et al. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids protect against the progression of endometriosis. *Life Sci Alliance.* 2021; 30; 4 (12): e202101224.
20. Ni Z, Sun S, Bi Y, Ding J, Cheng W, Yu J, et al. Correlation of fecal metabolomics and gut microbiota in mice with endometriosis. *Am J Reprod Immunol.* 2020; 84: e13307.
21. Svensson A, Brunkwall L, Roth B, Orho-Melander M, Ohlsson B. Associations Between Endometriosis and Gut Microbiota. *Reprod Sci.* 2021; 28 (8): 2367–77.
22. Chen S, Gu Z, Zhang W, Jia S, Wu Y, Zheng P, et al. The study of endometriosis and adenomyosis related microbiota in female lower genital tract in Northern Chinese population. *Gynecology and Obstetrics Clinical Medicine.* 2021; 1 (3): 119–29.
23. Ser H-L, Au Yong S-J, Shafiee MN, Mokhtar NM, Ali RAR. Current updates on the role of microbiome in endometriosis: a narrative review. *Microorganisms.* 2023; 11 (2): 360.
24. Mitra S, Förster-Fromme K, Damms-Machado A, Scheurenbrand T, Biskup S, Huson, DH, et al. Analysis of the intestinal microbiota using SOLiD16S rRNA gene sequencing and SOLiD shotgun sequencing. *BMC Genomics.* 2013; 14 (5): 16.
25. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods.* 2010; 7 (5): 335–6.
26. DeSantis TZ, Hugenholtz P, Larsen N. Greengenes, a chimerachecked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72: 5069–72.
27. Ritari J, Salojärvi J, Lahti L, de Vos WM. Improved taxonomic assignment of human intestinal 16S rRNA sequences by a dedicated reference database. *BMC Genomics.* 2015; 16 (1): 1056.
28. Vallejo V, Ilagan JG. A Postpartum Death Due to Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in the United States. *ObstetGynecol.* 2020; 136 (1): 52–55.
29. Kumari R, Ahuja V, Jaishree P. Fluctuations in butyrate-producing bacteria in ulcerative colitis patients of North India. *World J Gastroenterol.* 2013; 19: 3404–14.
30. Ata B, Yildiz S, Turkgeldi E, Brocal VP, Dinleyici EC, Moya A, et al. The Endobiota Study: Comparison of Vaginal, Cervical and Gut Microbiota Between Women with Stage 3/4 Endometriosis and Healthy Controls. *Sci Rep.* 2019; 9 (1): 2204.
31. Kodati VL, Govindan S, Movva S, Ponnala S, Hasan Q. Role of Shigella infection in endometriosis: a novel hypothesis. *Med Hypotheses.* 2008; 70 (2): 239–43.
32. Gumenyuk LN, Golod MV, Silaeva NV, Sorokina LE, Ilyasov SS, Androschyuk NA, et al. Gut microbiota alterations and their relationship to the disease severity and some cytokine profile indicators in patients with COVID-19. *Bulletin of RSMU.* 2022; 1: 22–9.
33. Liu P, Gao M, Liu Z, Zhang Y, Tu H, Lei L, et al. Gut microbiome composition linked to inflammatory factors and cognitive functions in first-episode, drug-naive major depressive disorder patients. *Front Neurosci.* 2022; 28 (15): 800764.
34. Shan J, Ni Z, Cheng W, Zhou L, Zhai D, Sun S, et al. Gut microbiota imbalance and its correlations with hormone and inflammatory factors in patients with stage 3/4 endometriosis. *Arch Gynecol Obstet.* 2021; 304: 1363–73.
35. Philpott DJ, Yamaoka S, Israël A, Sansonetti PJ. Invasive Shigella flexneri activates NF-kappa B through a lipopolysaccharide-dependent innate intracellular response and leads to IL8 expression in epithelial cells. *J Immunol.* 2000; 165 (2): 903–14.
36. Raqib R, Wretling B, Andersson J, Lindberg AA. Cytokine secretion in acute shigellosis is correlated to disease activity and directed more to stool than to plasma. *J Infect Dis.* 1995; 171: 376–384.
37. Kim SJ, Choi EY, Kim EG, Shin SH, Lee JY, Choi JI, et al. *Prevotella intermedia* lipopolysaccharide stimulates release of tumor necrosis factor-alpha through mitogen-activated protein kinase signaling pathways in monocyte-derived macrophages. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007; 51 (2): 407–13.